



Dr hab. Lidia Piechowicz, prof. Uczelni
Zakład Mikrobiologii Lekarskiej,
Katedra Mikrobiologii
Gdański Uniwersytet Medyczny
ul. Dębowa 25, 80-204 Gdańsk,
tel. 58 349 18 31, fax 58 349 18 29

Gdańsk, dnia 8 sierpnia 2025 r.

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

mgr inż. Natalii Bagińskiej

pt. „Izolacja oraz określenie potencjału terapeutycznego fagów specyficznych wobec szczepów
Acinetobacter baumannii”

sporządzona zgodnie z uchwałą nr 11/222/2025 Rady Naukowej Instytutu Immunologii i Terapii
Doświadczalnej im. Ludwika Hirszfelda PAN we Wrocławiu z dnia 12 czerwca 2025 roku.

Rozprawa doktorska Pani mgr Natalii BAGIŃSKIEJ na stopień doktora w dyscyplinie nauki biologiczne, została zrealizowana pod kierunkiem Promotora, Pani dr hab. Ewy Jończyk-Matysiak, profesora Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN. Doktorantka przeprowadziła badania w ramach pracy doktorskiej w Instytucie, w którym zespół pracowników ma ugruntowaną, wysoką pozycję naukową w obszarze badań nad bakteriofagami, a Jego publikacje są cytowane przez wiele zespołów badawczych.

Celem rozprawy doktorskiej mgr Natalii BAGIŃSKIEJ było zbadanie potencjału terapeutycznego bakteriofagów swoistych wobec szczepów *Acinetobacter baumannii* jako alternatywy wobec antybiotyków.

Obecnie, coraz częściej stykamy się z zakażeniami wywołanymi przez szczepy wielolekoopornych bakterii (ang. *Multi-Drug Resistance*, *MDR*). Ich liczba lawinowo wzrasta od początku XXI wieku. Pojawiają się nowe mechanizmy lekooporności, a szczepy odporne szybko rozprzestrzeniają się, stwarzając poważne zagrożenie dla zdrowia ludzi i zwierząt na całym świecie. W konsekwencji wiele terapii przeciwdrobnoustrojowych, do niedawna niezawodnych, obecnie traci swoją skuteczność. Na liście patogenów opublikowanych w lutym 2017 roku przez Światową Organizację Zdrowia (WHO), dla których, ze względu na ich wielolekooporność, pilnie potrzebne są nowe, skuteczne metody leczenia, znalazły się wielolekooporne szczepy *Acinetobacter baumannii*, w tym odporne na karbapenemy (CRAB). Szczepy CRAB powodują ciężkie, trudne do leczenia zakażenia,

m.in. zapalenie płuc, często respiratorowe, zakażenie dróg moczowych, zazwyczaj odcewnikowe, zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych, czy zakażenia ran. Niepokojące jest, że Polska znalazła się w grupie państw o najwyższym wzroście skrajnie opornych szczepów *A. baumannii* i pałeczek *Enterobacterales* wytwarzających karbapenemazy. Dane Krajowego Ośrodka Referencyjnego ds. Lekowrażliwości (KORDL) wskazują na ponad 200-procentowy wzrost zakażeń szczepami *A. baumannii* opornymi na wszystkie dostępne leki w 2021 roku.

Pojawienie się patogenów opornych na leki wpłynęło na cięższy przebieg zakażeń i zwiększyło śmiertelność u ludzi, co wymusza intensyfikację poszukiwań nowych, skutecznych metod leczenia. W nawiązaniu do wyżej wspomnianych problemów, terapia fagowa wydaje się obiecującą alternatywą dla antybiotyków, a badania jakie podjęła Doktorantka wpisują się w nurt poszukiwań w tym obszarze.

Rozprawa doktorska Pani mgr Natalii BAGIŃSKIEJ została przygotowana w formie zwięzłego opracowania opartego na czterech publikacjach naukowych – dwóch oryginalnych i dwóch przeglądowych. Opracowanie poprzedza spis treści, po którym następuje streszczenie w języku polskim i angielskim oraz napisane w języku angielskim: lista publikacji stanowiących podstawę rozprawy doktorskiej, deklaracje współautorów i zestaw czterech publikacji autorskich oraz wnioski. Szerszym uzupełnieniem opracowania jest przesłany przez Doktorantkę „Autoreferat rozprawy doktorskiej”, który zawiera spis treści oraz następujące rozdziały: wprowadzenie, cel pracy i hipotezy badawcze, obszernie omówienie wyników dwóch prac oryginalnych oraz podsumowanie wraz z wnioskami. Ostatnią część Autoreferatu rozprawy doktorskiej stanowią informacje o dorobku naukowym Doktorantki, w tym publikacje naukowe, projekty badawcze, konferencje naukowe w których uczestniczyła Doktorantka oraz bibliografia wykorzystana w opracowaniu. Zawarte poniżej komentarze i oceny, dotyczą całościowo pełnego opisu rozprawy doktorskiej tj. przedstawionego zarówno w formie zwięzłego opracowania, jak też w autoreferacie rozprawy doktorskiej.

Rozdział „Wprowadzenie” jest dość obszerną ilustracją tła dla prowadzonych badań. Dowiadujemy się w nim o problemach w zwalczaniu zakażeń wywołanych przez szczepy *A. baumannii*, które związane są z wielolekoopornością i zdolnością tych szczepów do formowania biofilmu. Ponadto, Doktorantka wyraźnie zaznacza potrzebę poszukiwania alternatywnych metod leczenia zakażeń o etiologii *A. baumannii* i podaje przykłady badań nad bakteriofagami czy endolizynami fagowymi skierowanymi przeciw *A. baumannii*, które to eksperymenty zmierzają w kierunku wykorzystania cząstek fagowych czy ich enzymów w terapii zakażeń.

W rozdziale „Cel pracy i hipotezy badawcze” został sformułowany cel główny z zadaniami badawczymi, które pozwoliły na weryfikację postawionych hipotez. Zbadanie przez Doktorantkę w warunkach *in vitro* potencjału terapeutycznego bakteriofagów swoistych wobec szczepów *A. baumannii* było badaniem etapowym, realizowanym w ramach następujących zadań: a) izolacji bakteriofagów specyficznych wobec wielolekoopornych szczepów *A. baumannii*, b) wyznaczenia najkorzystniejszego współczynnika ich infekcji (*ang. multiplicity of infection, MOI*), c) badania właściwości biologicznych wyizolowanych fagów, d) izolacji materiału genetycznego badanych fagów wraz z kompleksową analizą bioinformatyczną uzyskanych sekwencji, e) badania stabilności wyizolowanych fagów w różnych warunkach przechowywania, f) badania wpływu pojedynczych fagów oraz koktajlu fagowego na biofilm uropatogennych szczepów *A. baumannii*.

W „Autoreferacie rozprawy doktorskiej” Pani mgr Natalia BAGIŃSKA omówiła po kolei cztery publikacje wchodzące w jej skład. Dwie publikacje przeglądowe ogłoszone w kolejności jako pierwsze: publikacja (P1) pt. *“Specific and Selective Bacteriophages in the Fight against Multidrug-resistant Acinetobacter baumannii”* (2019), oraz publikacja (P2) pt. *„The Role of Antibiotic-Resistant A. baumannii in the Pathogenesis of Urinary Tract Infection and the Potential of Its Treatment with the Use of Bacteriophage Therapy”* (2021), są dobrym wprowadzeniem do badań i późniejszych publikacji oryginalnych. Łączą obszary badawcze przedstawione w dalszych etapach projektu. Są rzetelnie przygotowanym przeglądem aktualnych danych dotyczących poszukiwania fagów przeciw A. baumannii, efektywności terapii fagowej w badaniach prowadzonych na modelu mysim oraz klinicznego zastosowania bakteriofagów przeciw tej bakterii. Ponadto, porządkują również informacje, w zakresie roli wielolekoopornych szczepów A. baumannii w patogeniezie zakażeń układu moczowego i potencjalnego zastosowania fagoterapii w tych zakażeniach.

Publikacja (P3) pt. *„Biological Properties of 12 Newly Isolated Acinetobacter baumannii-Specific Bacteriophages”*(2023) jest pracą oryginalną, w której mgr Natalia BAGIŃSKA przeprowadziła izolację bakteriofagów specyficznych dla A. baumannii z próbek ścieków oraz określiła ich właściwości biologiczne. Ponadto, dzięki zastosowaniu transmisyjnej mikroskopii elektronowej (TEM), badań genetycznych i analizy bioinformatycznej uzyskanych sekwencji oraz podobieństwa do genomów wcześniej opisanych bakteriofagów, określiła przynależność wyizolowanych fagów do poszczególnych grup, rodzin i rodzajów.

Celem publikacji (P4) zatytułowanej *„Stability study in selected conditions and biofilm-reducing activity of phages active against drug-resistant Acinetobacter baumannii”* (2024) (praca oryginalna), było zbadanie stabilności 12 bakteriofagów specyficznych wobec A. baumannii, w różnych warunkach, włączając temperaturę, wartości pH, komercyjnie dostępne dezynfektanty, olejki eteryczne i surfaktanty oraz moczu pacjentów z zakażeniami układu moczowego. Ponadto, określono zdolność fagów do degradacji biofilmu wytworzonego przez uropatogenne szczepy A. baumannii.

Zarówno prace oryginalne (P3, P4), jak też prace przeglądowe (P1, P2) wchodzące w skład rozprawy doktorskiej Pani mgr Natalii BAGIŃSKIEJ zostały opublikowane w prestiżowych, międzynarodowych czasopismach (Virology, Antibiotics (Basel), Viruses i Scientific Report), wysoko notowanych w bazach danych. Obszar tematyczny oraz ranga czasopism, w których ukazały się te prace są niewątpliwie gwarancją ich wysokiej wartości naukowej. Wszystkie prace są wieloautorские i Doktorantka występuje w każdej jako pierwszy autor. Na podstawie przygotowanego przez Doktorantkę opisu poszczególnych aktywności związanych z powstaniem prac oraz oświadczeń współautorów publikacji, można uznać, że odegrała Ona istotną rolę w ich powstaniu.

W wyniku przeprowadzonych badań, Pani mgr Natalia BAGIŃSKA uzyskała interesujące wyniki, które zaprezentowała w publikacjach (P3, P4) i omówiła w sposób obszerny w rozdziale *„Omówienie wyników”*. Do najważniejszych osiągnięć badawczych Doktorantki można zaliczyć: a) wyizolowanie 12 bakteriofagów specyficznych dla A. baumannii z próbek ścieków, z których jeden okazał się fagiem litycznym, b) wykazanie przynależności większości badanych bakteriofagów do grupy fagów ogonkowych (klasa Caudoviricetes) o morfotypie syfowirusów i aktywności litycznej, która oscylowała w zakresie 11% -75%, c) wykazanie, że optymalna temperatura przechowywania badanych fagów wynosi -70°C; cząstki fagowe są najbardziej stabilne w warunkach obojętnych i lekko zasadowych podłoża, a środki dezynfekcyjne na bazie etanolu istotnie redukują miano fagów w krótkim czasie, d) wykazanie, że roztwory nanocząstek miedzi i srebra obniżały miano fagów w znacznie mniejszym

stopniu niż środki dezynfekcyjne, e) wykazanie braku wrażliwości badanych fagów na olejki eteryczne (po 24 godz. inkubacji) oraz na ludzki moczu (po 60 minutowej inkubacji), f) wykazanie, że pojedyncze fagi w większym stopniu degradują biofilm uropatogennych szczepów *A. baumannii*, w porównaniu do działania koktajlu fagowego.

Dobłą decyzją Doktorantki było umieszczenie w rozprawie krótkiego rozdziału „Podsumowanie i wnioski” (2 strony), w którym w 6 punktach, przedstawiła konkluzje wynikające z uzyskanych wyników. Dowiadujemy się, że: **1)** próbki wody różnego pochodzenia stanowią źródło fagów specyficznych wobec szczepów *A. baumannii*, **2)** badane bakteriofagi charakteryzowały się krótkimi czasami adsorpcji do komórek gospodarza, uznano je za swoiste gatunkowo i miały różne spektra lityczne w zależności od faga, **3)** bakteriofaga Acba_6, w którego genomie nie stwierdzono obecności genów kodujących integrazę, białka represora CI lub białka regulującego telomery, uznano za faga litycznego; pozostałe bakteriofagi sklasyfikowano jako łagodne, **4)** najmniejsze obniżenie miana odnotowano podczas inkubacji fagów w roztworach o pH obojętnym lub lekko alkalicznym, z dodatkiem jonów srebra lub miedzi oraz dodatkiem 10% DMSO i 1% Tween-20, **5)** badane bakteriofagi wykazywały zdolność do redukcji biofilmu formowanego przez uropatogenne szczepy *A. baumannii*, **6)** wyizolowany fag lityczny (Acba_6) charakteryzuje się potencjałem terapeutycznym w leczeniu zakażeń wywołanych przez szczepy *A. baumannii*; połączenie fagów z olejkami eterycznymi, jonami metali lub surfaktantami może pozytywnie wpłynąć na skuteczność terapii fagowej. *Są to ciekawe i wartościowe wyniki, poszerzające wiedzę w zakresie biologii fagów i ich możliwości wykorzystania w terapii zakażeń; są niezwykle istotne dla bakteriologów, wirusologów i lekarzy klinicystów. Stanowią dobrą podstawę do dalszych, bardziej zaawansowanych badań in vivo w kierunku potencjalnego zastosowania fagów w terapii zakażeń szczepami A. baumannii.*

Wprawdzie merytoryczna ocena publikacji Pani mgr. Natalii BAGIŃSKIEJ została już dokonana na etapie recenzji przeprowadzonej przez recenzentów w procesie redakcyjnym, którzy są bezspornie specjalistami w swojej dziedzinie, po zapoznaniu się z publikacjami i ich opisem, **niejasna jest dla mnie podstawa określenia izolowanych przez Doktorantkę bakteriofagów jako „A. baumannii-specific bacteriophages”.** Z zainteresowaniem wysłucham wypowiedzi Doktorantki w czasie obrony doktoratu na temat etapów badania bakteriofagów w kierunku określenia ich swoistości gatunkowej oraz zasad użycia tego określenia fagów w odniesieniu do szczepów *A. baumannii*.

Ponadto, zauważyłam **pewną niekonsekwencję Doktorantki w opisywaniu wielolekooporności szczepów A. baumannii.** We „Wprowadzeniu” (str. 4) zostały umieszczone informacje o „naturalnej oporności tych szczepów na ampicylinę, amoksycylinę oraz jej połączenia z kwasem klawulanowym, cefazolinę, cefotaksym, ceftriakson, ertapenem, trimetoprim, fosfomycynę.”, podczas gdy w publikacji P2 rozprawy doktorskiej (str.57) Doktorantka przytoczyła wyniki badań wybranych autorów dotyczące wielolekooporności szczepów *A. baumannii* (MDR) określonej na podstawie badań między innymi na niektóre z powyżej wymienionych antybiotyków [cyt.74]. **Chętnie wysłucham wyjaśnień Doktorantki w tym temacie na obronie doktoratu.**

Ostatnie rozdziały: „Publikacje naukowe” Doktorantki, „Projekty badawcze” i „Konferencje”, w których uczestniczyła oraz „Bibliografia” zawierająca 58 pozycji literatury (4 strony) wykorzystanej przy opisach rozprawy doktorskiej, z wyłączeniem publikacji wchodzących w jej skład świadczą o dużym zaangażowaniu Doktorantki w badania nad bakteriofagami i o dobrym jej przygotowaniu do przeprowadzania badań.

Podsumowanie

Przedstawioną do oceny rozprawę doktorską Pani mgr Natalii BAGIŃSKIEJ oceniam pozytywnie. Doktorantka uzyskała oryginalne wyniki badań eksperymentalnych, które wnoszą nowe treści naukowe. Podejmując się badań, Doktorantka wykazała się wiedzą teoretyczną z zakresu podjętej tematyki badawczej, uzasadniła celowość przeprowadzonych badań, odpowiednio je zaplanowała i zrealizowała. **Stwierdzam, że przedstawiona do oceny rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art.187 ust.1-4 Ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (t.j. Dz. U. z 2024 r. poz.1571 z późn. zm.) oraz wnioskuję o dopuszczenie Doktorantki do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora w dyscyplinie nauki biologiczne a także o wyróżnienie ocenianej rozprawy doktorskiej.**



dr hab. n. med. Lidia Piechowicz, prof. Uczelni

Gdański Uniwersytet Medyczny

Uzasadnienie wniosku

o wyróżnienie rozprawy doktorskiej Pani mgr Natalii BAGIŃSKIEJ

Podstawą wniosku o wyróżnienie ocenionej rozprawy doktorskiej są poniżej wymienione wartości:

1. Bardzo dobrze wybrany temat badawczy, uwzględniający problemy terapii zakażeń bakteryjnych.
2. Bardzo dobre publikacje oryginalne oraz przeglądowe opublikowane w międzynarodowych, wysoko punktowanych czasopismach, indeksowanych w międzynarodowych bazach danych.
3. Dobra organizacja badań eksperymentalnych, rozdział na poszczególne etapy badań.



dr hab. n. med. Lidia Piechowicz, prof. Uczelni

Gdański Uniwersytet Medyczny