

Prof. dr hab. Gabriela Bugla-Płoskońska
Zakład Mikrobiologii
Wydział Nauk Biologicznych
Uniwersytet Wrocławski

25.08.2025

Recenzja rozprawy doktorskiej

mgr inż. Natalia Bagińska

Tytuł rozprawy: **„Izolacja oraz określenie potencjału terapeutycznego fagów specyficznych wobec szczepów *Acinetobacter baumannii*”**

promotor: dr hab. Ewa Jończyk-Matysiak, prof. IITD PAN

Rozprawa doktorska wykonana w Laboratorium Bakteriofagowym
Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. Ludwika Hirszfelda
Polskiej Akademii Nauk

Podstawa prawna: *niniejszą recenzję sporządzono w oparciu o uchwałę Rady Naukowej Instytutu, z dnia 12 czerwca 2025 r. dotyczącą powołania na recenzenta rozprawy doktorskiej w postępowaniu o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne mgr inż. Natalii Bagińskiej.*

Dokumentacja przedstawiona do sporządzenia recenzji zawiera: Rozprawę doktorską oraz Autoreferat rozprawy. W Rozprawie doktorskiej wyróżniono: *Streszczenie, Summary, List of publications, Co-authors' declarations*, kopie czterech publikacji, a także rozdział pt. *Conclusions*. Badania w recenzowanej pracy doktorskiej, jak zaznacza Doktorantka, współfinansowane były ze środków projektu NOR/SGS/ACIPHAGE/0192/2020 Norway grants, a także z NCBIr oraz środków statutowych Laboratorium Bakteriofagowego. Praca doktorska Pani mgr inż. Natalii Bagińskiej powstała w renomowanym, światowej klasy Laboratorium Bakteriofagowym IITD PAN we Wrocławiu prowadzącym eksperymentalną terapię fagową wobec opornych na antybiotyki bakterii.

Przedstawiona do recenzji praca stanowi cykl powiązanych tematycznie czterech artykułów naukowych opublikowanych w latach: 2019-2024 w czasopismach: *Virologica Sinica* (IF=3.242), *Antibiotics* (IF=5.222), *Viruses*

(IF=3.800) oraz *Scientific Reports* (IF=3.800). Dwie z prac są pracami przeglądowymi, dwie zawierają wyniki badań przeprowadzonych przez Doktorantkę. We wszystkich pracach naukowych Doktorantka jest pierwszą autorką, co wskazuje na Jej rolę wiodącą oraz potwierdza posiadane umiejętności nie tylko w zakresie prowadzenia badań naukowych, ale także umiejętności przygotowania manuskryptu, prawidłowego publikowania wyników badań własnych oraz współpracy zespołowej. Publikacje są wieloautorskie, do dokumentacji dołączono oświadczenia współautorów. Doktorantka w oświadczeniu potwierdza, iż w pierwszej oraz drugiej pracy przeglądowej, dokonała analizy materiałów i danych, przygotowywała także tekst publikacji. W pracach przeglądowych Autorka wykazała się umiejętnościami analizy literatury związanej z tematyką doktoratu, właściwą syntezą i przedstawieniem aktualnego stanu wiedzy.

Głównym celem pracy doktorskiej było zbadanie w warunkach *in vitro* potencjału terapeutycznego bakteriofagów swoistych wobec szczepów *Acinetobacter baumannii* jako alternatywy lub wsparcia w leczeniu zakażeń wywoływanych przez szczepy bakterii odporne na antybiotyki. Doktorantka wyznaczyła sobie 6 celów szczegółowych, które zostały w pełni zrealizowane. Autorka rozprawy postawiła także 3 hipotezy badawcze. Drobną uwagę dotyczącą tego fragmentu pracy dotyczy sformułowania hipotezy drugiej, która biorąc pod uwagę zakres prowadzonych badań wydaje się być zbyt ogólna, natomiast zadanie pierwsze powinno być doprecyzowane o planowane miejsca izolacji bakteriofagów. We *Wprowadzeniu* (Autoreferat), Doktorantka scharakteryzowała bakterie *A. baumannii*, uzasadniła także celowość podjętych badań nad potencjałem terapeutycznym fagów specyficznych wobec *A. baumannii* w kontekście nabywania przez te bakterie oporności na antybiotyki stosowane w leczeniu oraz tworzenia biofilmów.

- W związku z informacją umieszczoną we *Wprowadzeniu*, proszę o odpowiedź na pytanie w jaki sposób białko OmpA *A. baumannii* wpływa na produkcję i rozwój biofilmu?



Bakterie z rodzaju *Acinetobacter* występują powszechnie w środowisku naturalnym, izolować je można także z produktów spożywczych, gdzie stanowią ich mikrobiologiczne zanieczyszczenie. Izolowane są także ze środowiska szpitalnego. Warto zaznaczyć, iż bakterie z rodzaju *Acinetobacter* wchodzą także w skład mikrobioty skóry. Niestety, powodując zakażenia szpitalne odpowiadają za wiele zakażeń i zgonów. Czynniki wpływającymi na skalę tego zjawiska są równoległe przebiegające inne zakażenia pacjentów, wiek pacjentów, choroby nowotworowe czy długi okres przebywania w placówkach medycznych. W obrębie gatunku *A. baumannii* notujemy obecność szczepów z wysoką opornością na stosowane w leczeniu antybiotyki tj. aminopenicyliny, cefalosporyny, chloramfenikol, karbapenemy czy tetracykliny, dlatego poszukiwanie alternatywnych terapii, co zostało podjęte w niniejszej rozprawie doktorskiej, to bardzo trafny kierunek badawczy mogący mieć bezpośrednie zastosowanie w leczeniu. Wartym podkreślenia jest także to, że bakterie *A. baumannii* mają zdolność do tworzenia biofilmu, co znacząco utrudnia ich eradykację. Zagadnienie to zostało także podjęte w przedstawionej do recenzji pracy doktorskiej. Biorąc pod uwagę powyższe, tematykę realizowaną w niniejszej pracy doktorskiej uznać należy za ważną i aktualną. Zagadnienia podejmowane przez Doktorantkę są istotne z punktu widzenia nie tylko badań podstawowych nauk biologicznych w tym bakteriologii czy mikrobiologii klinicznej, ale także dodatkowo szeroko rozumianego zdrowia publicznego, szczególnie w obszarze rosnącej oporności badanych bakterii na obecnie stosowane antybiotyki i szukanie w związku z tym terapii alternatywnych.

W pierwszej publikacji o charakterze przeglądowym, opublikowanej w roku 2019, Doktorantka, analizując aktualną literaturę, omawia działanie specyficznych bakteriofagów wobec wielolekoopornych szczepów *A. baumannii*, wskazując na bakterie z gatunku *A. baumannii* jako ważny epidemiologiczny problem, szczególnie biorąc pod uwagę szczepy odporne na dostępne antybiotyki. W pracy omówiono mechanizmy oporności tej bakterii na stosowane antybiotyki. W publikacji umieszczono także informacje o klinicznym zastosowaniu bakteriofagów



w leczeniu. Docenić należy umieszczoną w publikacji, czytelną, rozbudowaną tabelę zestawiającą bakteriofagi stosowane wobec *A. baumannii*.

Pytanie do pierwszej pracy przeglądowej:

- Biorąc pod uwagę, fakt, że publikacja powstała w roku 2019, czy obecnie są dostępne bardziej aktualne dane nt. zakażeń szczepami wielolekoopornymi *A. baumannii* na oddziałach szpitalnych na świecie lub/i w Polsce?

W drugiej pracy przeglądowej Doktorantka, wraz ze współautorami podejmuje się analizy dostępnych w literaturze danych dotyczących roli antybioopornych szczepów *A. baumannii* w infekcjach dróg moczowych i możliwości ich leczenia z zastosowaniem terapii fagowej. W publikacji zwrócono także uwagę na problem tworzenia przez uropatogenne bakterie *A. baumannii* biofilmów i przykłady walki z biofilmami zarówno z zastosowaniem bakteriofagów jak i bakteriofagów połączonych z antybiotykami. Doktorantka wskazuje także na ograniczenia, jakie są obserwowane w praktyce, w stosowaniu terapii bakteriofagowej.

Pytanie do drugiej pracy przeglądowej:

- W pracy przeglądowej Autorka wspomina o czynnikach wirulencji *A. baumannii*. Które z nich bakteria ta angażuje w oporność na działanie układu dopełniacza? Czy znany jest mechanizm zjawiska wzrostu wrażliwości komórek bakterii *A. baumannii* na układ dopełniacza w powiązaniu z jednoczesną opornością na bakteriofagi?

Celem trzeciej pracy w cyklu, opublikowanej w roku 2023 w czasopiśmie *Viruses*, prezentującej już wyniki badań własnych, było zbadanie właściwości biologicznych nowych, specyficznych wobec *A. baumannii* bakteriofagów. W pracy przedstawiono badania nad morfologią bakteriofagów, ich aktywność lityczną, kinetykę adsorpcji fagów do komórek gospodarza, a także sekwencjonowanie genomów. W pracy przedstawiono efekty badań dla 12 specyficznych wobec *A. baumannii* fagów, których morfologię określono z wykorzystaniem transmisyjnej mikroskopii elektronowej. Zdjęcia są bardzo czytelne i dają możliwość analizy morfologii bakteriofagów. Autorka analizowała także morfologię łysinek oraz ultrastrukturę wirionów fagowych. Co warto podkreślić, na podstawie danych



literaturowych oraz badań własnych Doktorantka zaproponowała klasyfikację taksonomiczną badanych bakteriofagów, dodatkowo przedstawiając drzewo filogenetyczne na bazie głównych białek kapsydu. Chciałabym także wyróżnić i podkreślić ogromną liczbę prób środowiskowych, tj. 460 jakie badała Doktorantka celem poszukiwania w nich specyficznych bakteriofagów wobec *A. baumannii*.

Pytanie do pracy trzeciej prezentującej wyniki oryginalne:

- Czy Doktorantka może przybliżyć mechanizm molekularny obrazujący adsorpcję testowanych bakteriofagów wobec komórek bakterii w kontekście struktur powierzchniowych *A. baumannii*?

Praca czwarta, opublikowana w roku 2024, w czasopiśmie *Scientific Reports* prezentuje wyniki przeprowadzonych badań nad potencjałem terapeutycznym fagów wobec *A. baumannii* na podstawie ich stabilności w różnych warunkach środowiska, w tym w obecności czynników o potencjale przeciwbakteryjnym. Czytelna rycina umieszczona na początku pracy zestawia różne warunki w jakich Doktorantka prowadziła testy stabilności. Wyniki uzyskane w tej części pracy mają także wartość praktyczną związaną z warunkami przechowywania bakteriofagów. Chciałabym docenić i wyróżnić bardzo dojrzałą i dobrze przygotowaną dyskusję w tej pracy, a także informacje o planowanych badaniach w przyszłości. Poziom merytoryczny dyskusji świadczy o bardzo dobrej znajomości tematyki podejmowanej przez Doktorantkę.

Wykonując pracę doktorską Doktorantka wykazała się znajomością metod z zakresu bakteriologii, mikroskopii, biologii molekularnej w tym analizy bioinformatycznej oraz podstawowych analiz statystycznych. Doktorantka stworzyła kolekcję bakterii, oraz fagów, wykonała izolację bakteriofagów i typowanie fagowe, badania stabilności bakteriofagów w różnych warunkach środowiskowych, określiła także zdolność bakteriofagów do eradykacji biofilmu wytwarzanego przez uropatogenne szczepy *A. baumannii*.

Finalnie, Doktorantka sformułowała 6 ogólnych wniosków z przeprowadzonych badań. Wszystkie efekty pracy oceniam jako bardzo cenne, jednak szczególnie chciałabym wyróżnić badania dotyczące stabilności



WYDZIAŁ NAUK BIOLOGICZNYCH

ZAKŁAD MIKROBIOLOGII

ul. S. Przybyszewskiego 63

51-148 Wrocław

tel. +48 71 375 63 23

zmik@uwr.edu.pl | www.uni.wroc.pl

bakteriofagów oraz zidentyfikowanie bakteriofagów zdolnych do redukcji biofilmu formowanego przez *A. baumannii*.

W Autoreferacie Autorka rozprawy przedstawiła także swój dorobek naukowy. Pani mgr inż. Natalia Bagińska ma w swoim dorobku 13 publikacji, a obecny jej H-indeks wynosi 11. Była także kierownikiem projektów ramach Norway Grants oraz pełniła funkcję specjalisty biotechnologa w projekcie finansowanym w ramach POIR. Doktorantka prezentowała wyniki swoich prac badawczych jako pierwsza autorka lub współautorka na 8 konferencjach krajowych i zagranicznych. Dorobek naukowy na tym etapie kariery oceniam jako bardzo dobry. Przedstawiony dorobek naukowy pokazuje, że Doktorantka prowadząc badania potrafi współpracować w grupie i jest docenianym specjalistą.

Chciałabym także wyróżnić bardzo dobrze napisaną i przygotowaną pod względem edycyjnym rozprawę doktorską mgr inż. Natalii Bagińskiej.

Stwierdzam, że rozprawa spełnia warunki określone w art. 187 ust. 1-4 Ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (t.j. Dz.U. 2024 poz. 1571 z późn. zm.) oraz wnioskuję o dopuszczenie Doktorantki do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora w dyscyplinie nauki biologiczne. Jednocześnie wnoszę do Rady Naukowej Instytutu o wyróżnienie rozprawy doktorskiej ze względu na wysoki poziom merytoryczny zaprezentowanych badań naukowych, aktualność podejmowanej tematyki, nowoczesną metodykę badawczą oraz możliwość wykorzystania części uzyskanych wyników badań w praktyce laboratoryjnej.

Zakład Mikrobiologii
Kierownik
Gabriela Bugla-Płoskowska
prof. dr hab. Gabriela Bugla-Płoskowska
Gabriela Bugla-Płoskowska