



UNIWERSYTET
MIKOŁAJA KOPERNIKA
W TORUNIU
Wydział Farmaceutyczny
Collegium Medicum w Bydgoszczy

PAN - Instytut Immunologii	
Wpł. dnia	23-07-2018
L. dz.	365/2018

Katedra i Zakład Mikrobiologii

Kierownik

Prof. dr hab. Eugenia Gospodarek - Komkowska

ul. Curie Skłodowskiej 9, 85-094 Bydgoszcz

e-mail: kizmikrob@cm.umk.pl

tel. +48 52 585 44 80, 52 585 40 47

L. Dz. KZM/2018/07/188

Bydgoszcz, 18.07.2018 r.

RECENZJA

rozprawy doktorskiej Pani mgr Fairoz Ali Al-Wrafiy, p.t. „Immunochemical and biochemical characterization of phage receptors in two clinical strains of *Pseudomonas aeruginosa*”

Współcześnie, ogólnościowym problemem są zakażenia o etiologii drobnoustrojów wieloleko-, bądź opornych na wszystkie antybiotyki dostępne w leczeniu. Konsekwencją takiego stanu są niepowodzenia terapeutyczne, wzrost śmiertelności oraz rozprzestrzenianie się takich szczepów w populacji ludzkiej i w środowisku. Skłania to badaczy do poszukiwania nowych opcji terapeutycznych. Z tego też powodu wybór tematu rozprawy doktorskiej przez Panią mgr Fairoz Ali Al-Wrafiy jest aktualny i ważny zarówno z punktu poznawczego, jak i działań praktycznych.

Układ ocenianej rozprawy liczącej 125 stron jest typowy dla prac eksperymentalnych. Wstęp podzielono na podrozdziały (29 str.). Kolejne części zawierają: Cel pracy (1 str.), Materiał i metody (16 str.), Wyniki (33 str.), Dyskusję (5 str.), Wnioski (1 str.), Listę publikacji autorki (1 str.), Piśmiennictwo liczące 173 pozycje (18 str.), oraz na początku pracy Spis treści (4 str.), Podziękowania (1 str.), Streszczenie w języku polskim i angielskim (po 3 str.) oraz Spis skrótów (3 str.).

We Wstępie Autorka w logicznym porządku wprowadza czytającego w podjęty temat badawczy. Szeroko zapoznaje czytelnika z pałeczkami *Pseudomonas aeruginosa*, z ich charakterystyką, czynnikami wirulencji, mechanizmami oporności na antybiotyki oraz fagami, z uwzględnieniem ich potencjału terapeutycznego, jako nowej strategii w leczeniu zakażeń.

Cel pracy Doktorantka podała w 3 punktach, a były nim:

- badania immunologiczne polisacharydów i białek powierzchniowych *P. aeruginosa*, których idea było wyjaśnienie natury receptorów białkowych na powierzchni bakterii dla fagów,
- izolacja i oczyszczanie białek fagowych do oceny ich oddziaływania na bakterie w celu zidentyfikowania białka fagowego rozpoznającego receptory bakteryjne,



L. Dz. KZM/2018/07/188

Bydgoszcz, 18.07.2018 r.

- badania oddziaływania białek fagowych, jako dobrze zapowiadającego się podejścia do leczenia tymi białkami lub w połączeniu z antybiotykami.

Mgr Fairouz Ali Al-Wrafiy w swoich badaniach uwzględniła dwa szczepy *P. aeruginosa* PAR21 i PAR50 izolowane od pacjentów z zespołem stopy cukrzycowej, szczep *P. aeruginosa* PCM 2720, jako gospodarza fagów i dwa fagi, które izolowano ze ścieków wrocławskich. Na uwagę zasługuje kompleksowa charakterystyka badanych szczepów (identyfikacja, wrażliwość na antybiotyki, ekstrakcja i oczyszczanie polimerycznych związków zewnątrzkomórkowych [extracellular polymeric substances, EPS], ustalenie całkowitej zawartości węglowodanów i kwasu glukuronowego we frakcjach oczyszczonego EPS, izolacja białek błony zewnętrznej [outer membrane proteins, OMPs], badania immunologiczne) i bakteriofagów (określenie ich aktywności, identyfikacja, stężenie, charakterystyka i aktywność białek fagowych, aktywność enzymatyczna i proteolityczna) poprzez umiejętne zastosowanie wielu różnorodnych metod zarówno klasycznych, jak i nowoczesnych. W dobrze zaprojektowanych doświadczeniach, pomysłowym kierunkiem badań był wybór EPS i OMP, jako celu do zdefiniowania receptorów dla fagów na powierzchni komórek dwóch szczepów *P. aeruginosa* i potraktowanie szczepów bakteryjnych białkami fagowymi, analiza receptorów białkowych.

Doktorantka uzyskała szereg cennych wyników badań, które przedstawiła w sposób czytelny, dokumentując je na 30 rycinach i w 10 tabelach. Autorka wprowadza czytelnika w istotę przeprowadzonych badań, które przebiegały wieloetapowo.

Ważnym obszarem badań było określenie aktywności dwóch fagów wobec wielolekoopornego (multi-drug resistant, MDR) szczepu *P. aeruginosa* PAR50, ale nie wobec drugiego badanego szczepu *P. aeruginosa* PAR21. Cennym wynikiem jest zdefiniowanie wysokiej skuteczności dwóch białek PA-PP1 i PA-PP2 izolowanych z obydwu fagów wobec szczepu *P. aeruginosa* PAR50.

Kolejnym, interesującym kierunkiem badań obranym przez Panią mgr Fairouz Ali Al-Wrafiy było wyjaśnienie, że receptor dla faga na powierzchni tego bakteryjnego szczepu jest jednym z białek porynowych OMP. Wykorzystanie tego białka przez fagi, jako składnika wielolekowej pompy wypływu (multidrug efflux pump) MexAB i MexXY - bardzo ważnego mechanizmu w oporności na antybiotyki –



L. Dz. KZM/2018/07/188

Bydgoszcz, 18.07.2018 r.

przyczynia się do zmian mechanizmu pompy wypływu i wzrostu wrażliwości na kilka antybiotyków u szczepu MDR *P. aeruginosa* PAR50.

Wykazanie przez mgr Fairoz Ali Al-Wrafy na poziomie molekularnym bakteriobójczego działania fagów wobec MDR szczepu *P. aeruginosa* PAR50 oraz dodatkowo udokumentowanie ich wpływu w postaci defektów w komórkach bakteryjnych z użyciem mikroskopu elektronowego skaningowego, jak też poprzez synergizm między białkiem fagowym a piperacyliną wobec tego szczepu, jest nowatorskim elementem pracy.

Doktorantka wykazuje znajomość podjętej tematyki badawczej. Na to wskazuje umiejętnie napisany wstęp i prowadzona dyskusja wyników własnych na tle uwzględnionego piśmiennictwa. Analizując wyniki wielokierunkowych badań własnych, sformułowała 7 wniosków będących odpowiedzią na postawione cele.

Uwagi:

Autorka nie stosuje jednolitego zapisu skrótów. Wprowadza się je według ich pochodzenia wraz z pierwszym zastosowaniem pełnej nazwy, w jednakowy sposób dla wszystkich i po to, by z nich konsekwentnie korzystać w dalszej części pracy. Fig. 31 i 32 nie zawiera informacji o stosowanej wielkości powiększenia. Autorka nie podaje informacji o szczepach wzorcowych użytych do oceny lekowrażliwości przeprowadzonej według zaleceń CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute).

Wnioski:

Podsumowując, pragnę podkreślić, że praca adresuje ważny i aktualny temat naukowy. Jej Autorka – mgr Fairoz Ali Al-Wrafy - w realizacji zamierzonych celów podjęła wielokierunkowe badania, wykazując znajomość różnych metod badawczych, z obszaru mikrobiologii, immunologii, biochemii, spektrometrii mas, skaningowej mikroskopii elektronowej, wskazując tym samym, że dysponuje nowoczesnym warsztatem badawczym i dojrzałością rozwiązywania stawianych problemów. W projektowaniu doświadczeń wykazała znajomość tematu i umiejętność łączenia wiedzy z zakresu metod, teorii z praktyką. Uzewnętrznia stanowisko krytyczne do uzyskanych wyników badań oraz umiejętność ich interpretacji jako zjawisk na tle piśmiennictwa.

L. Dz. KZM/2018/07/188

Bydgoszcz, 18.07.2018 r.

Pragnę podkreślić, że praca doktorska mgr Fairoz Ali Al-Wrafy stanowi wartościowy i oryginalny dorobek naukowy. Posiada walory odkrywcze oraz poważne implikacje badawcze i kliniczne. Jest cennym opracowaniem naukowym, stanowiącym rzeczywisty wkład do postępu wiedzy. Przedstawione metody oraz otrzymane dzięki nim obiecujące wyniki są cennymi informacjami badawczymi i stanowią podstawę do dalszych badań do zastosowań aplikacyjnych z potencjalną strategią terapeutyczną wobec MDR szczepów *P. aeruginosa* zawierających białko porynowe jako receptor dla białek PA-PP1 i PA-PP2.

Stwierdzam, że recenzowana przeze mnie rozprawa doktorska Pani mgr **Fairoz Ali Al-Wrafy**, p.t. „**Immunochemical and biochemical characterization of phage receptors in two clinical strains of *Pseudomonas aeruginosa***”, odpowiada warunkom stawianym rozprawom doktorskim przedstawionym w Ustawie z dnia 14 marca 2003 roku (O stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki, i późn. zmianami) i dlatego wnioskuję do Wysokiej Rady Naukowej Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. Ludwika Hirszfelda Polskiej Akademii Nauk we Wrocławiu o dopuszczenie do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Całość wyводу naukowego, jak i jakość przeprowadzonych badań eksperymentalnych przeprowadzonych przez Doktorantkę w Polsce są pionierskie i unikatowe. Biorąc pod uwagę wagę podjętego tematu, zastosowane metody badawcze, oryginalny i nowatorski charakter, wkład w rozwój nauk medycznych oraz bardzo staranną stronę formalną recenzowanej rozprawy, skłaniają mnie do wnioskowania o jej wyróżnienie stosowną nagrodą.



KIEROWNIK
Katedry i Zakładu Mikrobiologii
prof. dr hab. n. med.
Eugenia Gospodarek-Komkowska