



Politechnika Warszawska

Wydział Chemiczny, Katedra Biotechnologii Medycznej

Warszawa, 16.07.2024

RECENZJA

rozprawy doktorskiej Pani mgr Eweliny Sibińskiej pt. „Istotność rozwoju metod spektrometrycznych w procesie identyfikacji mikroorganizmów”

*Recenzja została przygotowana zgodnie z art. 187 ustęp 3 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2023 poz. 742 z późn. zm.). Pomimo, iż zamieszczony na str. 7 wykaz publikacji składających się na rozprawę zawiera osiem pozycji (P1-P8), jak również do zbioru pełnych wersji publikacji został załączony (str.161) manuskrypt P8 złożony w Journal of American Society for Mass Spectrometry w dniu 26.02.2024, nie będzie on uwzględniony w niniejszej recenzji, gdyż rozprawę doktorską może stanowić jedynie zbiór **opublikowanych artykułów naukowych**.*

Ogólnie wiadomo, że dobrze zaplanowana, przeprowadzona i właściwie zinterpretowana diagnostyka mikrobiologiczna pozwala na zidentyfikowanie drobnoustroju odpowiedzialnego za rozwój choroby, a co za tym idzie dobór antybiotyku o dużej skuteczności wobec danego drobnoustroju. Praca doktorska mgr Eweliny Sibińskiej wpisuje się w obszar najnowszych trendów badawczych dotyczących diagnostyki mikrobiologicznej, w szczególności ukierunkowanej na niezwykle istotny problem jakim jest szerzenie się zakażeń bakteryjnych oraz walka ze zjawiskiem ich lekooporności. Obecnie, do metod wykorzystywanymi najczęściej w diagnostyce mikrobiologicznej zakażeń bakteryjnych należą: bakterioskopia, hodowla z oznaczeniem wrażliwości na antybiotyki (posiew), badania serologiczne i molekularne. Zgodnie z tezą postawioną w rozprawie, doktorantka wyraża przekonanie, iż rozwój metod spektrometrycznych może być istotnym krokiem do opracowania szybszych i bardziej precyzyjnych metod identyfikacji mikroorganizmów, w tym patogenów bakteryjnych.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska Pani mgr Eweliny Sibińskiej (z domu Maślak) pt. „Istotność rozwoju metod spektrometrycznych w procesie identyfikacji mikroorganizmów” została wykonana w Interdyscyplinarnym Centrum Nowoczesnych Technologii na Wydziale Chemii Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu. Promotorem pracy jest dr hab. Paweł Pomastowski, prof. UMK, a promotorem pomocniczym dr Michał Złoch.

Noakowskiego 3
02-661 Warszawa
tel.: 22 234 5657
e-mail:
elzbieta.malinowska
@pw.edu.pl



Politechnika Warszawska

Wydział Chemiczny, Katedra Biotechnologii Medycznej

Podstawę przedstawionej do recenzji rozprawy doktorskiej mgr Eweliny Sibińskiej stanowi zbiór opublikowanych i spójnych tematycznie publikacji, wśród których pierwsza jest artykułem przeglądowym, a pozostałe pracami oryginalnymi bazującymi na wynikach doświadczalnych.

Doktorat napisany jest w języku polskim. Rozprawa nie ma charakteru klasycznej pracy doktorskiej, choć układem nieco ją przypomina.

Otwiera ją spis treści (str. 6) oraz użyteczny dla czytającego wykaz najważniejszych skrótów i akronimów stosowanych w dysertacji (str. 7).

We *Wprowadzeniu* (str. 7 – 46) doktorantka przedstawia przegląd literatury, który wprowadza czytelnika w zagadnienia stanowiące podstawę prowadzonych w ramach rozprawy badań naukowych oraz aktualny stan wiedzy w zakresie problemów badawczych poruszanych w doktoracie. Autorka koncentruje się na kilku wątkach tematycznych: (i) przedstawieniu informacji dotyczących mikroorganizmów i ich znaczeniu dla zdrowia i życia człowieka, ze szczególnym uwzględnieniem podejścia omiczego w analizie mikrobiomu, (ii) charakteryzuje techniki LDI stosowane w analizie mikroorganizmów, uwzględniając budowę i zasadę działania urządzeń, istotną rolę matrycy oraz przygotowania próbek i ograniczenia związanymi z aktualnymi bazami danych, co ma wpływ na jakość analizy, (iii) omawia problem antybiotykooporności, jak również (iv) możliwość zastosowania nanostruktur w celu polepszenia efektywności proponowanych metod analizy. Ten zgrabnie napisany tekst, wsparty 112 właściwie dobranymi odnośnikami literaturowymi (wśród których dominują prace opublikowane po 2015 roku), świadczy o dużej wiedzy doktorantki w zakresie przedmiotu badań. Doktorantka zarysowuje tu także powody, które przyczyniły się do podjęcia przez nią tych a nie innych badań, formułuje hipotezy wskazujące na istotne znaczenie otrzymanych wyników z punktu widzenia opracowania nowych metod analitycznych istotnych z klinicznego punktu widzenia, a także wskazuje publikacje współautorstwa doktorantki, wchodzące w skład doktoratu, w których dany problem był rozwiązywany.

Cel pracy, wraz z etapami badań do niego prowadzącymi, został zdefiniowany na str. 47-49. W tej części doktorantka podkreśla wagę znajomości i rozumienia mechanizmów oddziaływania patogen – środek leczniczy na poziomie molekularnym oraz procesu walidacji procedury analitycznej, jeżeli efektem końcowym ma być metoda stosowana w analizie klinicznej. Główny cel badań prowadzonych w ramach rozprawy doktorskiej został jasno sprecyzowany. Doktorantka zdefiniowała także cele szczegółowe, które zostały zrealizowane i opisane w publikacjach stanowiących podstawę rozprawy.

Noakowskiego 3
02-661 Warszawa
tel.: 22 234 5657

e-mail:
elzbieta.malinowska
@pw.edu.pl

Typowo, w rozprawach bazujących na cyklu publikacji, spotyka się omówienie przez doktorantkę wyników uzyskanych w trakcie realizacji prac badawczych objętych



Politechnika Warszawska

Wydział Chemiczny, Katedra Biotechnologii Medycznej

tym cyklem. W tej dysertacji recenzentowi dana jest możliwość zapoznania się z publikacjami [P1] – [P8] zamieszczonymi w pełnej wersji, nawet z materiałami uzupełniającymi (str. 50 – 187). Zwięzłe podsumowanie wyników i wnioski pojawiają się później (str. 188 – 192) i zamykają zasadniczą/merytoryczną część recenzowanej rozprawy. Podoba mi się taki układ, gdyż mobilizuje czytającego do zapoznania się z ich treścią, by następnie porównać własną ocenę z wnioskami przedstawionymi przez doktorantkę.

Dodatkowo w pracy zamieszczono dorobek naukowy doktorantki (str.193-197) oraz oświadczenia wszystkich współautorów (str. 198-215), jak przystało na rozprawę stanowiącą cykl prac zbiorowych. Całość zamykają streszczenia w języku polskim i angielskim.

W tym miejscu, w odróżnieniu od klasycznego układu rozprawy doktorskiej, czytelnik nie odnajduje omówienia przez doktorantkę wyników uzyskanych w trakcie realizacji prac badawczych objętych cyklem publikacji, ale

Przedmiotem przedłożonego do oceny cyklu publikacji są zagadnienia związane z opracowaniem nowych, bardziej efektywnych narzędzi analitycznych przeznaczonych do identyfikacji mikroorganizmów patogennych, a także określeniu ich lekooporności. Po zapoznaniu się z treścią artykułów [P1] – [P7], że **wymóg ich spójności tematycznej oraz nowości naukowej został w pełni spełniony**. Doktorantka podjęła się trudnego zadania, jakim jest opracowanie metod analitycznych bazujących na połączeniu podejścia omicznego (proteomicznego [P3, P5-6], lipodomicznego [P4, P6-7], metabolicznego i genomowego [P6]) z technikami spektrometrii mas z desorpcją/ionizacją laserową, jak również elektromigracyjnymi. Za bardzo wartościowy i godny podkreślenia aspekt recenzowanej dysertacji uważam to, że głównym obiektem badań były izolaty kliniczne bakterii z grup stanowiących najczęstszy czynnik zagrażający zdrowiu i życiu pacjentów.

Prace [P1] – [P7] ukazały się w prestiżowych czasopismach międzynarodowych, takich jak: *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, *Analytical chemistry*, *International Journal of Molecular Sciences*, *Antibiotics*, *Electrophoresis*, *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* (IF = 2,6 - 14,9; Σ F = 41,8; śr. IF/publ. 5,2), znajdujących się na liście wysoko punktowanych czasopism naukowych Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego (70-200 pkt. MNiSW; Σ pkt. = 730; śr. pkt./publ. 91,2).

W pracach tych Pani Ewelina Sibińska (z d. Maślak) jest pierwszym (3 pozycje), drugim (3 pozycje) lub trzecim autorem (1 pozycja). Wkład doktorantki, poparty oświadczeniami współautorów, można ocenić jako istotny (nie tylko na poziomie



Politechnika Warszawska

Wydział Chemiczny, Katedra Biotechnologii Medycznej

wykonawczym, ale także w warstwie koncepcyjnej), zatem **recenzowaną rozprawę można uznać za wyraźnie wyodrębnioną część pracy zbiorowej.**

Publikacje te zostały prawidłowo zaplanowane, dobór technik pomiarowych i metodyka przeprowadzonych doświadczeń nie budzą zastrzeżeń, a prowadzona dyskusja i wyciągnięte wnioski prezentują wysoki poziom merytoryczny.

O aktualności przeprowadzonych badań i zainteresowaniu ze strony innych zespołów badawczych mogą świadczyć także **43 niezależne cytowania** prac P1-7 (wg. Bazy Scopus na dzień 14.07.2024).

Po przeanalizowaniu całości dysertacji nie mam fundamentalnych zastrzeżeń do strony merytorycznej dysertacji. Doktorantka pokazała, że technika MALDI jest istotnym narzędziem do opracowania nowych, innowacyjnych metod diagnostycznych służących do wykrywania, identyfikacji i charakteryzacji patogenów bakteryjnych. Do najciekawszych, najbardziej wartościowych osiągnięć w tym zakresie zaliczam:

- wykazanie, że połączenie kulturomiki z techniką MALDI-TOF MS przyspiesza wykrywalność i identyfikację mikroorganizmów, co ma przełożenie na możliwość opracowania celowanej terapii antybiotykowej,
- wykorzystanie techniki MALDI-TOF do stworzenia bazy profili lipidowych dla izolatów bakteryjnych ze stopy cukrzycowej, co potwierdziło postawioną tezę, iż lipidy pełnią rolę biomarkerów, a sygnały analizy MALDI-TOF pozwalają na precyzyjne rozróżnienie poszczególnych mikroorganizmów,
- zwrócenie uwagi na istotność jakości oprogramowania oraz bazy danych urządzeń służących do identyfikacji mikroorganizmów z użyciem techniki MALDI-TOF,
- zaproponowanie detekcji produktów hydrolizy antybiotyków z użyciem techniki MALDI, jako metody wykrywania antybiotykooporności konkurencyjnej (ze względu na krótszy czas analizy) do metod konwencjonalnych i/lub molekularnych,
- wprowadzenie nanocząstek srebra, w celu jonizacji i desorpcji związków o niskiej masie cząsteczkowej, do analizy profili lipidowych szczepów bakteryjnych.

Ponadto, należy też wyróżnić zaproponowanie innowacyjnej metody pre-koncentracji komórek bakteryjnych przy użyciu jonów wapnia, która umożliwia lepsze wyodrębnienie sygnałów analitycznych w analizie elektroforetycznej. Zaś na podstawie wyznaczonych uprzednio czasów migracji komórek martwych i żywych, możliwe staje się ich rozróżnienie dla danego szczepu bakteryjnego, a nawet oszacowanie ich procentowego udziału.

Recenzowana rozprawa jest efektem udziału mgr E. Sibińskiej w realizacji kilku projektów finansowanych przez NCN: SONATINA 2 (2018/28/C/ST4/00434) „Wykorzystanie techniki MALDI-TOF/MS w monitorowaniu i szybkiej diagnostyce rozwoju zakażenia stopy cukrzycowej”, OPUS 19 (2020/37/B/ST4/02136) „Nowe podejście w identyfikacji mikroorganizmów ze szczególnym uwzględnieniem



Politechnika Warszawska

Wydział Chemiczny, Katedra Biotechnologii Medycznej

wirusów”, OPUS 20 (2020/39/B/NZ7/02733) „Nowe podejście do obrazowania i szybkiej identyfikacji mikrobiomu w ocenie skutków radioterapii”. To niewątpliwie pozwoliło jej zdobyć cenne doświadczenie w pracy zespołowej. Przyznane finansowanie z NCN jest również poświadczeniem aktualności realizowanej tematyki badawczej.

Na podkreślenie zasługuje fakt, że doktorantka również pozyskała wsparcie finansowe swoich badań w ramach projektu IDUB: BioSep CD ToPerMed „W kierunku medycyny spersonalizowanej”.

Uważam, mgr E. Sibińska podjęła się trudnych i czasochłonnych zadań badawczych i znakomicie się z nich wywiązała. Opanowała posługiwanie się nowoczesnymi technikami badawczymi i posiadała umiejętność sprawnego prowadzenia pracy naukowej wraz z wnikliwą analizą i interpretacją uzyskanych wyników. Doktorantka przedstawiła wartościowe wyniki, wnoszące nowe informacje poszerzające wiedzę zarówno w odniesieniu do zastosowania techniki MALDI w diagnostyce medycznej, jak również możliwości i ograniczeń zastosowania podejścia omiczego w identyfikacji i charakteryzacji patogenów. Zaproponowane rozwiązania pokazują możliwe drogi przyspieszenia procesu identyfikacji patogenów i oceny działania antybiotyków, co ma praktyczne przełożenie na przyspieszenie wyboru terapii w przypadku zakażeń bakteryjnych.

Za zakończenie należy dodać, całkowity dorobek naukowy Doktorantki jest znacznie bogatszy niż przedstawiony w rozprawie. Jest ona także współautorem **10 innych publikacji nie ujętych w dysertacji**. Chciałabym w tym miejscu nadmienić, że pozycja [P8] (mimo iż nie brana przy ocenie) będzie istotna dla kariery naukowej mgr E. Sibińskiej, gdyż jest w niej nie tylko pierwszym autorem, ale także autorem korespondującym.

Doktorantka może się także pochwalić dużą aktywnością konferencyjną. Wyniki prowadzonych badań prezentowała osobiście (6 wystąpień ustnych i 7 posterów). Jej nazwisko znalazło się też wśród autorów innych 8 komunikatów konferencyjnych. Trzy wystąpienia ustne zostały wyróżnione nagrodami naukowymi. Wskazuje to, na dojrzałość doktorantki nie tylko w zakresie realizacji własnego doktoratu, ale również jej szersze zainteresowania naukowo-badawcze.

Mgr Ewelina Sibińska aktywnie uczestniczyła także w życiu społeczności akademickiej. Jest laureatką kilku nagród i wyróżnień.

Zatem można uznać mgr Ewelinę Sibińską za dojrzałego, w pełni zaangażowanego w badania młodego naukowca.



Politechnika Warszawska

Wydział Chemiczny, Katedra Biotechnologii Medycznej

Ocena końcowa:

W podsumowaniu stwierdzam, że zgodnie z wymogami ustawowymi mgr Ewelina Sibińska posiada ogólną wiedzę teoretyczną wymaganą od osoby ubiegającej się o nadanie stopnia doktora, jej rozprawa zawiera oryginalne rozwiązania problemów naukowych, a Doktorantka wykazała się umiejętnością prowadzenia pracy badawczej.

Recenzowana praca reprezentuje innowacyjne i interdyscyplinarne podejście do diagnostyki mikrobiologicznej, a przedstawione wyniki posiadają elementy nowości naukowej i dużą wartość pod względem poznawczym, a także duży potencjał aplikacyjny.

Niniejszym stwierdzam, że recenzowana rozprawa doktorska mgr Eweliny Sibińskiej pt. „*Istotność rozwoju metod spektrometrycznych w procesie identyfikacji mikroorganizmów*” spełnia kryteria formalne i wymagania merytoryczne nakładane na prace doktorskie w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2023 r. poz. 742 z późn. zm.).

Z pełnym przekonaniem wnoszę do Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Chemiczne Wydziału Chemii Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu o dopuszczenie Doktorantki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie wnoszę do Rady o wyróżnienie rozprawy pt. „*Istotność rozwoju metod spektrometrycznych w procesie identyfikacji mikroorganizmów*” autorstwa mgr E. Sibińskiej. Moim zdaniem rozprawa prezentuje wysoki poziom merytoryczny, potwierdzony 7 publikacjami w renomowanych czasopismach z listy JCR i z nawiązką spełnia kryteria sformułowane w § 1; pkt. 4 i 5 Uchwały nr 94/2023 Rady Dyscypliny Nauki Chemiczne WCh UMK w Toruniu.

Z poważaniem,