



**POLITECHNIKA  
GDAŃSKA**

WYDZIAŁ CHEMICZNY

Anna Brillowska-Dąbrowska  
Politechnika Gdańska  
Wydział Chemiczny  
Katedra Biotechnologii i Mikrobiologii

Gdańsk, 31 sierpnia 2026

## **RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ**

**mgr Dagmary Depki-Radzikowskiej**

*pt. „Charakterystyka genotypowa czynników wirulencji i oporności na karbapenemy klinicznych  
szczepów *Acinetobacter baumannii* z oceną metod wykrywania karbapenemaz”*

wykonanej w formie cyklu trzech publikacji naukowych

w Katedrze Mikrobiologii Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy,

Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu

Promotor: prof. dr hab. n. med. Eugenia Gospodarek-Komkowska

Promotor pomocniczy: dr n. med. Tomasz Bogiel

Przedłożona do recenzji rozprawa doktorska p. mgr Dagmary Depki-Radzikowskiej pt. „Charakterystyka genotypowa czynników wirulencji i oporności na karbapenemy klinicznych szczepów *Acinetobacter baumannii* z oceną metod wykrywania karbapenemaz” została zrealizowana w Katedrze Mikrobiologii Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy, Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu pod kierunkiem prof. dr hab. n. med. Eugenii Gospodarek-Komkowskiej, uznanego autorytetu w dziedzinie mikrobiologii klinicznej i badań nad opornością drobnoustrojów na antybiotyki oraz promotora pomocniczego dr n. med. Tomasza Bogiela, specjalisty w zakresie diagnostyki molekularnej zakażeń bakteryjnych i mechanizmów antybiotykooporności.

Zakażenia związane z opieką zdrowotną od lat pozostają jednym z najistotniejszych problemów współczesnej medycyny, niezależnie od poziomu rozwoju systemów ochrony zdrowia. Dotykają one pacjentów hospitalizowanych z najróżniejszych przyczyn, znacząco pogarszając rokowanie, wydłużając czas i koszty leczenia oraz zwiększając ryzyko powikłań, a w skrajnych przypadkach prowadząc do zgonu. Istotnym czynnikiem sprzyjającym rozwojowi i utrzymywaniu się zakażeń szpitalnych jest środowisko szpitalne samo w sobie, charakteryzujące się silną presją selekcyjną wynikającą z powszechnego stosowania antybiotyków. Presja ta sprzyja selekcji i namnażaniu się drobnoustrojów wieloantybiotykoopornych, zdolnych do przetrwania na powierzchniach szpitalnych, sprzętach medycznych oraz w organizmach pacjentów i personelu, co ułatwia ich transmisję i utrzymywanie się w postaci ognisk epidemicznych. Wśród patogenów alarmowych o szczególnym znaczeniu epidemiologicznym, obok pałeczek z rodziny Enterobacterales wytwarzających karbapenemazy czy opornych na metycylinę szczepów *Staphylococcus aureus* (MRSA), są pałeczki *Acinetobacter baumannii* – drobnoustroj o wyjątkowej zdolności do przetrwania w warunkach szpitalnych i szybkiego



nabywania oporności na kolejne grupy leków przeciwbakteryjnych. Narastająca oporność pałeczek *A. baumannii* na antybiotyki, w tym w szczególności na karbapenemy, stanowi jedno z najpoważniejszych wyzwań współczesnej mikrobiologii klinicznej i epidemiologii szpitalnej. Gatunek ten, dzięki wyjątkowej plastyczności genomu, zdolności do horyzontalnego transferu genów oraz szybkiego nabywania i kumulowania licznych, często współwystępujących mechanizmów oporności, w ciągu ostatnich kilku dekad przekształcił się z drobnoustroju o marginalnym znaczeniu klinicznym w jeden z głównych czynników etiologicznych trudnych do leczenia zakażeń szpitalnych. Szczepy odporne na karbapenemy (CRAB) stanowią obecnie istotny problem terapeutyczny. Karbapenemy, które do niedawna były lekami z wyboru w terapii zakażeń o tej etiologii, są coraz częściej nieskuteczne wobec tych szczepów. Jak słusznie Doktorantka zwraca uwagę - w zaktualizowanej w 2024 r. liście priorytetowych patogenów Światowej Organizacji Zdrowia szczepy CRAB (carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*) zostały ponownie zakwalifikowane do grupy o krytycznym priorytecie poszukiwania nowych rozwiązań terapeutycznych i diagnostycznych, co jednoznacznie potwierdza wagę podjętej problematyki.

Złożoność problemu potęguje fakt, że oporność na karbapenemy u *A. baumannii* nie wynika z pojedynczego mechanizmu, lecz z równoczesnego współwystępowania wielu zjawisk – wytwarzania karbapenemaz, zmian przepuszczalności błony komórkowej, nadekspresji pomp wyrzutu czy modyfikacji miejsc docelowych działania antybiotyków – co istotnie utrudnia zarówno szybką diagnostykę mikrobiologiczną, jak i racjonalny dobór skutecznej terapii. Ograniczona liczba aktywnych opcji terapeutycznych, wysoka śmiertelność związana z zakażeniami wywoływanymi przez wieloantybiotykooporne (MDR), o rozszerzonej oporności (XDR) i panoporne (PDR) szczepy *A. baumannii*, a także rosnące koszty leczenia, wydłużony czas hospitalizacji oraz ryzyko transmisji patogenu pomiędzy pacjentami sprawiają, że problem ten ma znaczenie nie tylko naukowe i poznawcze, lecz również praktyczne, ekonomiczne i systemowe dla współczesnej opieki zdrowotnej.

W tym kontekście badania ukierunkowane na poznanie molekularnego podłoża oporności na karbapenemy oraz na opracowanie szybkich i wiarygodnych metod jej wykrywania nabierają szczególnego znaczenia zarówno dla praktyki klinicznej, jak i dla skuteczności działań z zakresu kontroli zakażeń szpitalnych.

Rozprawa została przygotowana w formie cyklu trzech tematycznie powiązanych publikacji naukowych:

- Publikacja nr 1:

**Depka Dagmara**, Bogiel Tomasz, Rzepka Mateusz i Gospodarek-Komkowska Eugenia.

The prevalence of virulence factor genes among carbapenem-non-susceptible *Acinetobacter baumannii* clinical strains and their usefulness as potential molecular biomarkers of infection.

Diagnostics 2023, 13: 1–11. <https://doi.org/10.3390/diagnostics13061036>

Punktacja MNiSW: 70 pkt.

Impact Factor: 3,0

- Publikacja nr 2:



**Depka Dagmara**, Bogiel Tomasz, Rzepka Mateusz i Gospodarek-Komkowska Eugenia.

Insertion sequences within oxacillinases genes as molecular determinants of *Acinetobacter baumannii* resistance to carbapenems — a pilot study.

Microorganisms 2024, 12: 1–12. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12102057>

Punktacja MNiSW: 40 pkt.

Impact Factor: 4,2

- Publikacja nr 3:

**Depka Dagmara**, Mikucka Agnieszka, Bogiel Tomasz, Rzepka Mateusz, Zawadka Patryk i

Gospodarek-Komkowska Eugenia.

Conventional and real-time PCR targeting blaOXA genes as reliable methods for a rapid detection of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* clinical strains.

Antibiotics 2022, 11: 1–10. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11040455>

Punktacja MNiSW: 70 pkt.

Impact Factor: 4,8

Sumaryczna liczba punktów MNSiW wynosi: 180, natomiast sumaryczny IF wynosi 12.

Struktura pracy jest przejrzysta i w pełni zgodna z wymogami stawianymi rozprawom tego typu: rozprawa zawiera wykaz stosowanych skrótów, wstęp teoretyczny, sformułowanie celu badań, wykaz publikacji tworzących cykl wraz z opisem bibliograficznym, opis materiału i metod badawczych, syntetyczne omówienie wyników ujętych w poszczególnych publikacjach, wnioski i podsumowanie, streszczenia w języku polskim i angielskim, bibliografię, życiorys naukowy, kopie publikacji, a także komplet wymaganych oświadczeń.

Weryfikacja formalna wykazała pełną zgodność spisu treści z rzeczywistym układem stron, kompletność i wewnętrzną spójność oświadczeń o współautorstwie, a wszystkie oświadczenia są podpisane. Jedyną kwestią wymagającą wyjaśnienia jest sposób udokumentowania zgody komisji bioetycznej – rozdział 15 zawiera jedynie odwołanie do numerów decyzji (KB 573/2019 oraz KB 560/2022) bez załączonej kopii samych decyzji.

Wstęp teoretyczny (Rozdział 2) został napisany w sposób kompetentny i dobrze udokumentowany bibliograficznie - wykorzystano w nim pozycje [1] – [55] z bibliografii, w tym liczne prace z lat 2022–2025 - obejmuje siedem podrozdziałów (2.1.1–2.1.7) i ma charakter systematycznego przeglądu literaturowego - od zagadnień taksonomicznych, przez biologię gatunku, czynniki wirulencji i mechanizmy oporności na antybiotyki, ze szczególnym uwzględnieniem oporności na karbapenemy, po epidemiologię zakażeń i aktualne możliwości terapeutyczne.

Struktura ta jest logiczna, a każde istotne stwierdzenie opatrzone jest odnośnikiem bibliograficznym (pozycje [1]–[55]), co świadczy o rzetelności warsztatu naukowego. Podrozdziały 2.1.4 i 2.1.5 bezpośrednio uzasadniają dobór genów analizowanych w publikacjach cyklu (blaOXA-23, blaOXA-40, blaOXA-51, ISAba1).



W mojej opinii niewielkim niedociągnięciem jest brak opisu funkcji biologicznej genu *surA1*, jako że jego występowanie było przedmiotem badań przedstawionych w publikacji nr 1. Wprawdzie w tekście publikacji nr 1 (Diagnostics 2023, 13, 1036) produkt tego genu jest opisany, jednak czytelnik korzystający wyłącznie z części opisowej rozprawy nie uzyskuje tej informacji przed zapoznaniem się z tekstem publikacji.

W rozdziale 3 przedstawiony jest cel ogólny jakim jest: „ocena i analiza mechanizmów warunkujących oporność na antybiotyki oraz zdolność do wywoływania zakażeń przez kliniczne szczepy *A. baumannii*, ze szczególnym uwzględnieniem zależności pomiędzy czynnikami wirulencji i mechanizmami oporności na karbapenemy oraz ich analiza w znaczeniu diagnostycznym” oraz przedstawione są zadania prowadzące do otrzymania go. Szczegółowe cele przypisane do poszczególnych publikacji ułatwiają czytelnikowi orientację w strukturze cyklu, jednakże nie odzwierciedlają ogromu pracy włożonego przez Doktorantkę w ich powstanie.

Metodyka badań została przedstawiona w rozdziale 5. Badania objęły kliniczne szczepy *A. baumannii* izolowane od pacjentów Szpitala Uniwersyteckiego nr 1 im. dr. Antoniego Jurasza w Bydgoszczy w latach 2017–2023. Identyfikację gatunkową prowadzono metodą spektrometrii mas MALDI-TOF, a ocenę antybiotykowrażliwości metodą półautomatyczną (system BD Phoenix<sup>TM</sup> M50) zgodnie z aktualnymi rekomendacjami EUCAST, z zastosowaniem szczepów referencyjnych do kontroli jakości oznaczeń. Klasyfikację fenotypów oporności (MDR, XDR, PDR) oparto na powszechnie akceptowanych w piśmiennictwie definicjach, co świadczy o metodologicznej rzetelności i porównywalności uzyskanych wyników z innymi badaniami w tej dziedzinie. Warto jednak zauważyć, że w części opisowej rozprawy definicjom tym nie towarzyszy odnośnik literaturowy — w odróżnieniu od Publikacji nr 1, gdzie analogiczna definicja opatrzona jest przypisem [16]. Badania molekularne objęły: wykrywanie genów wirulencji i karbapenemaz metodą real-time PCR z analizą krzywych topnienia DNA, z zastosowaniem kontroli dodatnich (DNA szczepów referencyjnych *A. baumannii* DSMZ) i kontroli ujemnych, a także zastosowanie klasycznego PCR z elektroforezą oraz uznanej, certyfikowanej metody referencyjnej IVD (eazyplex<sup>®</sup> SuperBug complete A) jako punktu odniesienia dla oceny czułości i swoistości badanych metod diagnostycznych. Takie podejście metodologiczne, uwzględniające walidację wyników względem metody referencyjnej, znacząco podniosło wiarygodność wniosków sformułowanych w publikacji nr 3. Zastosowana analiza statystyczna (test korelacji rang Spearmana, test chi-kwadrat Pearsona, dokładny test Fishera, współczynnik kontyngencji Pearsona, przy przyjętym poziomie istotności  $p \leq 0,05$ ) jest adekwatna do charakteru analizowanych zmiennych (cechy jakościowe, dane binarne obecność/brak genu) i pozwala na rzetelną weryfikację postawionych pytań badawczych.

Pewnym mankamentem tej części pracy jest skrótowe potraktowanie podrozdziału 5.1 (Materiał kliniczny), który w całości odsyła do treści poszczególnych publikacji, bez podania zbiorczej liczby wszystkich przebadanych w ramach cyklu izolatów. Zestawienie takie – z uwagi na to, że liczebności grup różnią się istotnie między publikacjami – ułatwiłoby czytelnikowi całościową orientację w materiale badawczym.

Rdzeń merytoryczny rozprawy stanowią trzy komplementarne publikacje, których wyniki, rozpatrywane łącznie, pozwalają prześledzić problematykę badawczą od poziomu genetycznych



determinant wirulencji i oporności, przez molekularne mechanizmy regulujące ekspresję tej oporności, po ocenę praktycznej przydatności diagnostycznej dostępnych metod wykrywania karbapenemaz.

W publikacji nr 1 scharakteryzowano częstość występowania sześciu genów kodujących czynniki wirulencji (*bap*, *surA1*, *omp33-36*, *bauA*, *basD*, *pld*) oraz genów kodujących najczęściej występujące karbapenemazy typu OXA (*blaOXA-23* i *blaOXA-40*) w grupie 100 klinicznych szczepów *A. baumannii* o fenotypie MDR (w tym 6% PDR). Wykazano powszechne występowanie genów *bap* i *surA1* (100% izolatów) oraz *basD* i *pld* (99%), przy jednoczesnym braku genów *bauA* i *omp33-36* w badanej populacji. Geny *blaOXA-40* i *blaOXA-23* stwierdzono odpowiednio u 62% i 35% szczepów. Nie wykazano statystycznie istotnych zależności między obecnością poszczególnych genów wirulencji a obecnością genów karbapenemaz.

Wynik ten ma istotną wartość poznawczą – sugeruje, że mechanizmy determinujące zjadliwość i mechanizmy oporności na karbapenemy u *A. baumannii* mogą ewoluować w populacji bakteryjnej w sposób względnie niezależny, co jest zgodne z aktualnym stanem wiedzy o wieloczynnikowym charakterze patogenności tego gatunku. Powszechne współwystępowanie genów *bap* i *surA1* stanowi wartościową obserwację o potencjalnym znaczeniu aplikacyjnym w kontekście wykorzystania tych genów jako markerów molekularnych, co Doktorantka słusznie podkreśla, zastrzegając jednocześnie – w sposób metodologicznie właściwy – że wymaga to dalszej walidacji. Z drugiej jednak strony wieloczynnikowy charakter gatunku sprawia, że takie podejście może nie być wystarczające. Proszę zatem Doktorantkę o szersze ustosunkowanie się do potencjalnego wykorzystania obecności tych genów jako markerów molekularnych.

Druga publikacja cyklu koncentruje się na roli sekwencji insercyjnej ISAb<sub>a1</sub> w regulacji ekspresji genów oksacylinaz. Wykazano, że gen *blaOXA-51* (naturalnie występujący u *A. baumannii*) obecny był u wszystkich badanych szczepów, natomiast geny *blaOXA-40* i *blaOXA-23* stwierdzono jedynie u pojedynczych izolatów spośród szczepów wrażliwych na meropenem, co stanowi ważny dowód na to, że sama obecność genu *blaOXA* nie determinuje jednoznacznie fenotypowej oporności na karbapenem. Wysoka częstość występowania ISAb<sub>a1</sub> wśród szczepów *blaOXA-23*-dodatnich wskazuje na jej potencjalną rolę w regulacji ekspresji genu *blaOXA-23* i może mieć znaczenie dla ujawniania fenotypowej oporności na karbapenemy. Pod względem metodologicznym i koncepcyjnym w mojej opinii jest to najbardziej dojrzała część cyklu – łączy analizę genotypową z analizą fenotypową w sposób pozwalający lepiej scharakteryzować zależność pomiędzy obecnością genów *blaOXA* a fenotypem oporności. Wynik ten ma istotne znaczenie praktyczne dla interpretacji wyników badań genetycznych w diagnostyce mikrobiologicznej.

Trzecia publikacja ma charakter praktyczny, jej wynik ma bezpośrednie znaczenie aplikacyjne dla laboratoriów diagnostyki mikrobiologicznej, wskazując na wysoką przydatność metod molekularnych, w tym zastosowanej i zoptymalizowanej metodyki real-time PCR z analizą krzywych topnienia DNA, w kontekście szybkiej identyfikacji szczepów CRAB.

Odnosząc się do całości wyników cyklu, należy zwrócić uwagę na istotną różnicę w częstości występowania genu *blaOXA-40* pomiędzy poszczególnymi grupami badanymi w ramach kolejnych publikacji. Różnice te mogą być związane przede wszystkim z odmiennym doбором grup badanych,



obejmującym m.in. izolaty wrażliwe na meropenem oraz izolaty niewrażliwe na karbapenemy, jednak proszę Doktorantkę o komentarz dotyczący tych różnic.

Sformułowane przez Doktorantkę wnioski są logiczną i adekwatną konsekwencją przedstawionych wyników badań. Wnioski są sformułowane precyzyjnie i w sposób odpowiadający rzeczywistej sile dowodowej przedstawionych danych, bez tendencji do nadinterpretacji wyników.

### **Podsumowanie**

Trzy publikacje wchodzące w skład cyklu, rozpatrywane łącznie, tworzą spójną całość naukową, odpowiadającą wymaganiom stawianym rozprawie doktorskiej. Dostarczają oryginalnych danych o współwystępowaniu genów wirulencji i genów karbapenemaz w lokalnej populacji klinicznych szczepów *A. baumannii*, a także wskazują na znaczenie sekwencji insercyjnej ISAb<sub>a</sub>1 w zależności między obecnością genu blaOXA-23 a fenotypem oporności na karbapenemy oraz przekładają te ustalenia na praktykę diagnostyczną poprzez walidację zastosowanej metody real-time PCR, która w badanej grupie charakteryzowała się czułością 100% względem zastosowanej metody referencyjnej. Połączenie nowych danych molekularnych, wskazujących na znaczenie ISAb<sub>a</sub>1 w regulacji oporności, i użytecznego narzędzia diagnostycznego świadczy o tym, że Doktorantka samodzielnie rozwiązała spójny problem badawczy, wykazując się dojrzałością warsztatu naukowego wymaganą na tym etapie kariery naukowej. Analiza oświadczeń o współautorstwie potwierdza istotny i wiodący wkład merytoryczny Doktorantki we wszystkich trzech publikacjach wchodzących w skład cyklu (odpowiednio 65%, 50% i 50% zadeklarowanego udziału) - projektowanie badań, udział w ich przeprowadzeniu, analizę i walidację wyników oraz przygotowanie manuskryptów, przy czym w dwóch z trzech prac Doktorantka pełniła funkcję autora korespondencyjnego. Świadczy to o dojrzałości naukowej kandydatki i jej zdolności do samodzielnego prowadzenia pracy badawczej – co stanowi jedno z ustawowych kryteriów oceny rozprawy doktorskiej.

Przedstawione w recenzji uwagi mają charakter dyskusyjny i nie podważają one wartości naukowej rozprawy ani osiągnięć badawczych Doktorantki.

Biorąc powyższe pod uwagę, stwierdzam, że rozprawa doktorska mgr Dagmary Depki-Radzikowskiej pt. „Charakterystyka genotypowa czynników wirulencji i oporności na karbapenemy klinicznych szczepów *Acinetobacter baumannii* z oceną metod wykrywania karbapenemaz” spełnia warunki określone w art. 187 ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce z dnia 20 lipca 2018 r., i wnoszę o dopuszczenie mgr Dagmary Depki-Radzikowskiej do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora, w tym do publicznej obrony rozprawy.

dr hab. inż. Anna Brillowska-Dąbrowska, prof. PG