

Ocena rozprawy doktorskiej lek.wet. Jacka Mazurkiewicza pt.

**„Porównanie cech warunkujących zasiedlanie i przeżycie bakterii
z rodzaju *Legionella* izolowanych z ujęć szpitalnych i pozaszpitalnych”.**

Praca wykonana w Katedrze i Zakładzie Mikrobiologii Farmaceutycznej i Parazytologii
Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Bakterie z rodzaju *Legionella* powszechnie zasiedlają instalacje wodne stanowiąc realne zagrożenie dla zdrowia ludzi. W instalacjach źle zaprojektowanych, ze złych materiałów, czy wadliwie eksploatowanych ryzyko rozwoju biofilmu *Legionella* wzrasta. Dlatego tak ważne jest prowadzenie nadzoru mikrobiologicznego skażenia systemów wodno-kanalizacyjnych oraz podejmowanie działań mających na celu ograniczenie występowania i namnażania się *Legionella* w instalacjach wody ciepłej.

W Polsce od 2002 roku zakażenia wywołane przez bakterie z rodzaju *Legionella* podlegają rejestracji, a od 2008 r. istnieje obowiązek badania wody ciepłej w zakładach opieki zdrowotnej zamkniętej w kierunku skażenia tymi bakteriami.

Do zakażenia pałeczkami *Legionella* dochodzi drogą inhalacyjną. Uważa się, że przy skażeniu wody powyżej 10^5 jtk/l istnieje duże ryzyko wybuchu epidemii wśród pacjentów. A to właśnie pacjenci różnych placówek medycznych są grupą szczególnie narażoną na zakażenia ze względu na obniżoną na skutek różnych przyczyn odporność (m.in. wiek, choroby rozrostowe, choroby przewlekłe).

Bakterie z gatunku *Legionella pneumophila* odpowiedzialne są za szeroki panel chorób, zarówno postaci płucnych jak i pozapłucnych

Diagnostyka *Legionella* jest trudna, ze względu na wysokie i specyficzne wymagania wzrostowe bakterii należących do tego rodzaju. Problemy związane z hodowlą tych bakterii i z uzyskaniem powtarzalnych wyników w warunkach laboratoryjnych są przyczyną, dla której liczba publikacji na temat biofilmu tworzonego przez *Legionella* oraz możliwości jego eradykacji za pomocą określonych środków fizycznych i chemicznych jest niewielka.

Biorąc pod uwagę powyższe informacje, jak najbardziej zasadny jest cel badań lek.wet. Jacka Mazurkiewicza, który postanowił: 1) porównać najistotniejsze parametry biofilmu *Legionella* w różnych warunkach środowiskowych oraz 2) określić wrażliwość biofilmu

Legionella spp. na liczne substancje przeciwdrobnoustrojowe (środki antyseptyczne, dezynfekcyjne, antybiotyki oraz związki izolowane z surowców roślinnych).

Przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska obejmuje 144 strony. Ma typowy układ i składa się z następujących części: „Wstęp” (66 str.), „Cel badań” (1 str.), „Materiał i metody” (10 str.), „Wyniki” (22 str.), „Dyskusja” (14 str.), „Wnioski” (1 str.) „Piśmiennictwo (20 str.) oraz „Spis tabel, rycin, wykresów i zdjęć”, „Streszczenie w języku polskim i angielskim”.

Wstęp jest bardzo obszerny. Doktorant bardzo szczegółowo scharakteryzował bakterie z rodzaju *Legionella*, uwzględniając klasyfikację, morfologię, fizjologię, wymagania wzrostowe, oporność na antybiotyki i substancje dezynfekcyjne, chorobotwórczość, diagnostykę kliniczną. Dużo uwagi poświęcił również epidemiologii zakażeń przedstawiając jak wygląda nadzór epidemiologiczny w Stanach Zjednoczonych Ameryki Północnej, w Europie, szczególnie problem legionellozy w Polsce.

Materiałem do badań były 24 szczepy bakteryjne zakwalifikowane do gatunku *Legionella pneumophila*. Niestety, zabrakło informacji ile było szczepów z ujęć szpitalnych i pozaszpitalnych, a taka informacja byłaby wskazana zważywszy na tytuł rozprawy doktorskiej. Metody wykorzystane do prowadzenia badań zostały przedstawione w sposób bardzo szczegółowy i zrozumiały.

Dokumentacja wynikowa obejmuje 18 wykresów, 4 tabele oraz 4 zdjęcia. Jest dokładnym odzwierciedleniem przeprowadzonych badań. Uważam za bardzo cenne krytyczne spojrzenie na różne metody stosowane w wykrywaniu pałeczek *Legionella*. Lek.wet. J.Mazurkiewicz wykazał m.in., że technika posiewów ilościowych ma niską przydatność w przypadku *Legionella*. Ciekawą i praktyczną obserwacją z badań, było też stwierdzenie, że optymalny czas hodowli biofilmu *Legionella* w warunkach laboratoryjnych to 4-5 dni. Z punktu widzenia metodologii badawczej wykazanie tego faktu pozwoli wszystkim zespołom pracującym nad biofilmem *Legionella* na optymalizację przeprowadzania doświadczeń w obrębie 5.dniowego czasu pracy.

Wyniki dotyczące zalet i wad wykorzystanych metod badawczych powinny zostać opublikowane, aby móc stanowić kompendium wiedzy dla mikrobiologów.

Natomiast patrząc na uzyskane wyniki okiem klinicysty z dużym zainteresowaniem prześledziłam wyniki dotyczące oporności pałeczek *Legionella*. Wyniki Doktoranta potwierdziły jednoznacznie, że komórki tworzące biofilm cechują się istotnie podwyższoną tolerancją na środki przeciwdrobnoustrojowe w porównaniu do ich planktonicznych odpowiedników. Wykazał ponadto, że azytromycyna cechowała się względnie najniższym przyrostem wartości MBEC (minimalnego stężenia hamującego biofilm) w stosunku do

wartości MIC (minimalnego stężenia hamującego wzrost bakterii w formie planktonicznej), co może świadczyć o wysokiej zdolności tego antybiotyku do penetracji zarówno przez macierz biofilmową, jak i przez poszczególne warstwy komórek tworzących biofilm. Mając dodatkowo na względzie korzystne wartości farmakokinetyczne/farmakodynamiczne tego antybiotyku osiągnięte w tkance płucnej, azytromycyna jest jak najbardziej wskazana w leczeniu zapaleń płuc o etiologii *Legionella*.

Lek.wet. J.Mazurkiewicz wykazał umiarkowaną przydatność stosowania pojedynczych substancji pochodzenia roślinnego do eradykacji biofilmu *Legionella*. Być może zastosowanie tych substancji w skojarzeniu dało by lepszy efekt? Badania należy kontynuować zważywszy, że w dobie narastającej oporności drobnoustrojów na antybiotyki, poszukiwanie nowych środków przeciwdrobnoustrojowych jest jednym z najważniejszych zadań nauk medycznych.

Ciekawe, czy była różnica w oporności na antybiotyki między szczepami pochodzącymi z ujęć szpitalnych i pozaszpitalnych?.

W rozdziale „Dyskusja” lek.wet. J.Mazurkiewicz we właściwy sposób dokonał analizy porównawczej uzyskanych wyników badań własnych z wynikami innych autorów. Dyskusja świadczy o dobrej znajomości zagadnienia. Cechuje ją stosowny dystans i krytycyzm konieczny w interpretacji wyników badań, tak ważny w dochodzeniu do prawdy naukowej.

Rozprawę kończy 7 wniosków, podsumowujących uzyskane wyniki badań, które w pełni odpowiadają na wszystkie problemy postawione w celu pracy.

Piśmiennictwo zawiera 226 pozycji i Doktorant wykorzystał zarówno publikacje polskie jak i zagraniczne, wiele z ostatnich lat. Z pozycji Recenzenta muszę zwrócić uwagę na cytowanie poszczególnych prac w tekście. W takich opracowaniach jak przedstawione mi do oceny, jak i w publikacjach przesyłanych do druku, dopuszczalne są dwie metody „nanoszenia” piśmiennictwa: zgodnie z kolejnością cytowania lub zgodnie z układem alfabetycznym autorów prac. Z niezrozumiałych dla mnie powodów lek.wet. J.Mazurkiewicz nie skorzystał z żadnej z tych metod. Dla przykładu na str.2 wstępu mamy w nawiasie pozycje 6,8,9,11,15,226. Na stronie 38 cytowane są prace (J.W. Mercante i J.M. Winchell, 2015) oraz (Mensa i wsp. 2018) – brak tych Autorów w wykazie piśmiennictwa. W kilku miejscach jest niezgodność cytowanych prac z przedstawianą w tekście treścią. Być może wkradł się błąd „techniczny”, jeżeli Doktorant korzystał ze specjalnego programu. Na pewno należy dokonać dokładnej korekty w numeracji piśmiennictwa, w przypadku wysyłania uzyskanych wyników do druku.

Pragnę podkreślić, że lek.wet. Jacek Mazurkiewicz prowadził swoje badania w Katedrze i Zakładzie Mikrobiologii Farmaceutycznej i Parazytologii UM we Wrocławiu. Pracownicy Jednostki kierowanej przez prof. M.Bartoszewicz od lat zajmują się badaniami nad biofilmem.

Współpraca Doktoranta z tym Zespołem niewątpliwie przyczyniła się do opanowania przez Niego diagnostyki mikrobiologicznej oraz nabycia zdolności do krytycznej oceny własnych wyników.

Drobne uwagi poczynione powyżej w żaden sposób nie wpływają na pozytywną ocenę rozprawy doktorskiej lek.wet. J.Mazurkiewicza. Pozostaje ona w mojej opinii interesującym opracowaniem o niezaprzeczalnej wartości poznawczej i praktycznej. Napisana jest w sposób przejrzysty, poprawnym językiem, a starannie opracowana dokumentacja wynikowa podnosi wartość pracy.

Dlatego na podstawie art.13 ust.1 ustawy z dnia 14 marca 2003r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki, Dz.U. nr 65, poz.595 z późniejszymi zmianami, stosowanego na podstawie art.176 ust.1 ustawy z dnia 3 lipca 2018 roku – Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce, wnoszę do Rady Dyscypliny Nauki Medyczne Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu o przyjęcie pracy pt. „Porównanie cech warunkujących zasiedlanie i przeżycie bakterii z rodzaju *Legionella* izolowanych z ujęć szpitalnych i pozaszpitalnych” i dopuszczenie lek.wet. Jacka Mazurkiewicza do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Białystok, 31.07. 2022r.



Dr hab.n.med. Dorota Rożkiewicz