



**Klinika Chorób Zakaźnych,
Tropikalnych i Hepatologii
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego**
Kierownik: Prof. dr hab. med. Alicja Wiercińska-Drapała
Wojewódzki Szpital Zakaźny, ul. Wolska 37 01-201 Warszawa
Tel: 022-5533222 faks: 022-6310535 e-mail: siwakeb@gmail.com

Warszawa 8.05.2024

Recenzja rozprawy doktorskiej lek. Moniki Stępień pt.: „Ocena odpowiedzi humoralnej i działań niepożądanych po szczepieniu przeciw SARS-CoV-2”.

Promotor: prof. dr hab. n. med. Brygida Knysz, Katedra i Klinika Chorób Zakaźnych, Chorób Wątroby i Nabytych Niedoborów Odporności. Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Recenzent: dr hab. n. med. Ewa Siwak, Klinika Chorób Zakaźnych, Tropikalnych i Hepatologii, Warszawski Uniwersytet Medyczny

Wstęp

Pierwsze wzmianki o nietypowej formie zapalenia płuc u ludzi pojawiły się w Wuhan w grudniu 2019r. Choroba bardzo szybko rozprzestrzeniła się nie tylko w Chinach, ale objęła swoim zasięgiem praktycznie cały świat. Już marcu 2020r WHO ogłosiło, że mamy do czynienia z pandemią COVID-19 wywołaną przez koronawirusa nazwanego SARS-CoV-2. Pandemia COVID-19 spowodowała globalne zakłócenia nie tylko społeczne i gospodarcze, ale spowodowała stan zagrożenia zdrowia publicznego o zasięgu międzynarodowym. Nowy wirus o nieznanym patogenezie, nie do końca znane drogi transmisji, brak profilaktyki i swoistego leczenia, a także brak możliwości hospitalizacji ciężko chorych, to tylko niektóre wyzwania przed którymi stanęła ochrona zdrowia na całym świecie. Niezwykle środki i liczne zespoły badawcze zostały zaangażowane i bardzo szybko, bo już w grudniu 2020 roku pojawiły się pierwsze szczepionki przeciw SARS-CoV-2, które zostały wprowadzone

do powszechnego obiegu. Równocześnie rozpoczęto liczne badania mające na celu ocenę skuteczności, bezpieczeństwa i tolerancji wyżej wymienionych preparatów. Wyniki przeprowadzonych badań potwierdziły, że zarówno szczepionki m-RNA, jak i szczepionki wektorowe, zmniejszają ryzyko ciężkiego przebiegu zakażenia SARS-CoV-2 i hospitalizacji z powodu COVID-19.

Bardzo ważnymi problemami przed jakimi stanęli naukowcy dotyczył długości utrzymywania się ochronnego poziomu przeciwciał, ciężkości przebiegu choroby u osób z reinfekcją po wcześniej zastosowanych szczepieniach, a także skuteczności szczepień wobec pojawiających się nowych wariantów SARS-CoV-2. Chociaż wiele problemów związanych z zakażeniem SARS CoV-2 zostało obecnie rozwiązanych, to nadal niektóre aspekty patogenezy, terapii i szczepień wymagają dalszych pogłębionych badań.

Dlatego uważam wybór tematu rozprawy i przeprowadzone przez Doktorantkę **Monikę Stępień** badania mające na celu ocenę odpowiedzi humoralnej, jak i długofalowej skuteczności oraz bezpieczeństwa szczepień przeciw COVID-19 za aktualny i całkowicie uzasadniony zarówno w aspekcie poznawczym jak i praktycznym.

Ocena metodologiczna i merytoryczna pracy

Praca doktorska składa się z opublikowanych trzech tematycznie powiązanych prac oryginalnych pod zbiorczym tytułem: „Ocena odpowiedzi humoralnej i działań niepożądanych po szczepieniu przeciw SARSCoV-2” o sumarycznym współczynniku wpływu IF – 10,2 i 320 punktów MEiN. Doktorantka jest pierwszym autorem wszystkich prac, co świadczy o jej największym wkładzie w wykonanie badań, jak i przygotowywaniu manuskryptów.

*Praca 1. **Monika Stępień**, Natalia Świątoniowska-Lonc, Brygida Knysz, Beata Jankowska-Polańska, Amadeusz Kuźniarski, Agnieszka Piwowar, Małgorzata Zalewska; 2023; “An epidemiological and retrospective study in a cohort qualified for SARS-CoV-2 vaccination in the region of Lower Silesia, Poland”; Advances in Clinical and Experimental Medicine; IF 2,1; punkty MEiN 140*

Praca 2. **Monika Stępień**, Małgorzata Zalewska, Brygida Knysz, Natalia Świątoniowska-Lonc, Beata Jankowska-Polańska, Łukasz Łaczmański, Agnieszka Piwowar, Amadeusz Kuźniarski; 2022; „How humoral response and side effects depend on the type of vaccine and past SARS-CoV-2 infection”; *Vaccines*; IF 7,8; punkty MEiN 140

Praca 3. **Monika Stępień**, Małgorzata Zalewska, Amadeusz Kuźniarski, Beata Jankowska-Polańska, Agnieszka Piwowar, Natalia Świątoniowska-Lonc, Brygida Knysz; 2023; „How many is good enough? An analysis of serological follow-up after vaccination against SARSCoV-2”; *Advances in Hygiene and Experimental Medicine*; IF 0,3; punkty MEiN 40.

Badania będące podstawą rozprawy doktorskiej lek. Moniki Stępień zostały zrealizowane po uzyskaniu zgody Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym we Wrocławiu (nr KB-51/2021 z dnia 29 stycznia 2021 r. i nr KB – 379/2021 z dnia 26 listopada 2021 r.).

Struktura rozprawy doktorskiej jest prawidłowa. Praca zawiera „Notę informacyjną”, wprowadzającą w tematykę rozprawy oraz wykaz stosowanych w niej skrótów. Kolejne rozdziały są typowe dla rozpraw doktorskich: streszczenie w języku polskim i angielskim, wstęp, cele rozprawy doktorskiej, materiał i metody, podsumowanie wyników, dyskusja, wnioski, piśmiennictwo oraz publikacje stanowiące podstawę rozprawy doktorskiej. Zgodnie z wymogami dla tego typu prac zamieszczono oświadczenia współautorów publikacji, notę biograficzną i wykaz publikacji autora.

Doktorantka w swojej pracy podjęła się oceny odpowiedzi humoralnej na szczepienia u osób które wcześniej nie chorowały na COVID-19 i ozdowieńców oraz oceny długofalowej skuteczności i bezpieczeństwa zastosowanych szczepień przeciw SARS-CoV-2.

Doktorantka objęła badaniem 298 pełnoletnich pacjentów, 171 ozdowieńców i 127 osób, które nie przebyły zakażenia SARS-CoV-2. Pacjenci byli rekrutowani do udziału w badaniu poprzez ogłoszenia zamieszczone w lokalnych mediach, jak i przez stronę internetową Szpitala. Przebycie COVID-19 było weryfikowane na podstawie badania PCR, testu antygenowego, badania serologicznego, lub danych z wywiadu wskazujących przebycie COVID-19. Większość pacjentów otrzymała szczepionkę mRNA (BNT162b2 n =191; mRNA-1273 n=70). 34 pacjentów otrzymało

szczepionki rekombinowane (ChAdOx1-S n=25; Ad26.COV2-S n=9). Badania serologiczne oceniające stężenie przeciwciał anti-SARS-CoV-2 IgG wykonywano przed szczepieniem (n=298), po pierwszej dawce szczepionki (n=286) i po drugiej dawce szczepionki (n=295) oraz po 6 miesiącach od zakończenia szczepień (n=87). Do pomiaru poziomu przeciwciał Doktorantka wykorzystwała test QuantiVac anti-SARS-CoV-2 IgG ELISA (EUROIMMUN, Luebeck Germany). Uzyskane wyniki poddano analizie odpowiednio dobranymi metodami statystycznymi z wykorzystaniem komputerowych pakietów programów statystycznych EPIINFO Ver. 7.2.4.0. oraz Statistica Ver 13.3.

W pracy 1 Doktorantka opisała sytuację epidemiologiczną w województwie dolnośląskim przed wprowadzeniem powszechnego dostępu do szczepień przeciw SARS-CoV-2. Do badania zakwalifikowano 298 pacjentów z województwa dolnośląskiego, w wieku od 21 do 69 lat; 171 ozdowieńców i 127 osób, które nie przebyły zakażenia SARS-CoV-2. W grupie badanych ozdowieńców (n=171) Doktorantka wyodrębniła 3 podgrupy: I- 12,28% (n=21) stanowili pacjenci, którzy bezobjawowo przebyli COVID-19 posiadający przeciwciała anti-SARS-CoV-2 IgG , w II- 13,45% badanych osób (n=23) pomimo przebycia zakażenia SARS-CoV-2 nie stwierdzono odpowiedzi humoralnej i nie wykryto obecności przeciwciał anti-SARS-CoV-2 IgG, natomiast u pozostałych pacjentów z grupy III ozdowieńców 74,27% (n=127) obserwowano obecność przeciwciał anti SARS-CoV-2 IgG po przebytym wcześniej COVID-19. Szczegółowa analiza wykazała znaczące różnice wieku w poszczególnych podgrupach. Doktorantka stwierdziła, że objawy COVID-19 częściej obserwowano u starszych pacjentów, a ciężki przebieg choroby wiązał się z występowaniem wyższych stężeń przeciwciał anti-SARS-CoV-2-IgG w późniejszym okresie. Ponadto Doktorantka wykazała, że osoby bez objawów COVID-19 mogą być źródłem zakażenia, co mogło stanowić jedną z głównych przyczyn szybkiego szerzenia się pandemii.

Celem pracy 2 była ocena skuteczności szczepienia i poziomu przeciwciał anti SARS-CoV-2 IgG po pierwszej i drugiej dawce szczepienia. W badanej grupie 295 pacjentów po pierwszej dawce szczepionki jedynie 4 osoby (1,36%): dwie z grupy I (ozdowieńcy) i dwie z grupy II (pacjenci, którzy nie przebyli COVID-19) nie wytworzyły przeciwciał anti-SARS-CoV-2-IgG, jednak po dwóch dawkach

szczepienia u wszystkich badanych 100% stwierdzono odpowiedź humoralną. Zarówno w grupie pacjentów, którzy przed szczepieniem nie przebyli zakażenia SARS-CoV-2, jak i w grupie ozdrowieńców obserwowano znaczny wzrost przeciwciał po podaniu pierwszej dawki, przy czym był on istotnie wyższy w grupie ozdrowieńców. Wszystkie zastosowane szczepionki okazały się skuteczne zarówno w grupie ozdrowieńców, jak i osób, które nie przebyły wcześniej zakażenia SARS-CoV-2 jednak wyższe poziomy przeciwciał anty-SARS-CoV-2-IgG uzyskano po szczepionkach mRNA.

Szczególne uwagi Doktorantki zwróciło 61 osób (37,7% grupa I), wśród grupy ozdrowieńców, których poziom przeciwciał po drugiej dawce szczepionki okazały się niższe niż przed jej przyjęciem ($D2 < D1$). Analiza danych dotyczących tej podgrupy oraz pozostałych ozdrowieńców wykazała, że tendencje spadkowe dotyczyły osób ze szczególnie wysokimi stężeniami przeciwciał po pierwszej dawce ($p = 0,0001$), możliwie także z młodszym wiekiem ($p=0,0418$). Nie obserwowano żadnych poważnych niepożądanych odczynów poszczepiennych w badanej grupie pacjentów. Natomiast odczyny poszczepienne takie jak gorączka, ból w miejscu wkłucia, osłabienie, bóle mięśniowo-stawowe w grupie którzy nie przebyli COVID-19 były silniej wyrażone po przyjęciu drugiej dawki szczepionki, podczas gdy u ozdrowieńców były często obserwowane już po pierwszej dawce.

W pracy 3 Doktorantka podjęła się oceny poziomu przeciwciał anty-SARS-CoV-2 IgG 6 miesięcy po zakończeniu schematu podstawowego szczepienia - podaniu drugiej dawki szczepionki mRNA, BNT162b2 (Pfizer-BioNTech) w grupie osób, które nie przebyły przed szczepieniem zakażenia SARS-CoV-2 i w grupie ozdrowieńców, która w tym przypadku została podzielona na dwie podgrupy; osoby u których stwierdzano niższy poziom przeciwciał po drugiej dawce szczepionki niż po pierwszej i osoby z wyższym poziomem przeciwciał po drugiej dawce.

Badania Doktorantki potwierdziły wysoką skuteczność szczepień, w obu badanych grupach: ozdrowieńców i osób, które nie przebyły zakażenia SARS-CoV-2. Nikt nie zachorował na COVID-19 w trakcie 6 miesięcznej obserwacji. Doktorantka wykazała również, że przejściowe obniżenie poziomu przeciwciał w grupie ozdrowieńców, obserwowane u niektórych osób po drugiej dawce szczepionki, nie wpływa na odpowiedź poszczepienną w późniejszym okresie. Poszukując czynników mogących mieć wpływ na utrzymywanie się wyższych stężeń przeciwciał anty-SARS-

CoV-2 IgG lek. Monika Stępień nie stwierdziła, aby wpływało na to dodatkowe zaszczepienie się przeciw grypie.

Podsumowując, Doktorantka wykazała się umiejętnością organizacji pracy badawczej. Wszystkie prace to pełnowartościowe manuskrypty oryginalne, zbieżne tematycznie, z prawidłowo dobranymi metodami statystycznymi i rzetelnie opisanymi wynikami badań. Cele pracy są spójne i zgodne z opublikowanymi pracami naukowymi, a wnioski sformułowane są wzorowo i precyzyjnie odzwierciedlają wyniki badań. Ponad to w przedstawionej pracy wyraźnie widać że lek. Monika Stępień dysponuje obszerną wiedzą z zakresu chorób zakaźnych i wakcynologii.

Za najważniejsze osiągnięcie naukowe Doktorantki uważam:

Wykazanie, że szczepienia przeciw COVID-19, niezależnie od zastosowanej szczepionki, u wszystkich pacjentów było skuteczne klinicznie i indukowało odpowiedź humoralną,

Objawy niepożądane, które wystąpiły u części osób zaszczepionych nie miały istotnego wpływu na stan zdrowia.

Uwagi krytyczne

W opisie metodologii badania dotyczącej oceny odpowiedzi humoralnej na szczepienie, należałoby podać czułości i swoistości stosownego testu anti-SARS-CoV-2 QuantiVac ELISA.

Ze względu na złożony, wielopoziomowy podział pacjentów na grupy proponuję w bardziej jednoznaczny sposób zidentyfikować (nazwać) poszczególne podgrupy pacjentów, co ułatwiłoby czytanie pracy

Podsumowanie

Przedstawiona na podstawie cyklu publikacji praca doktorska lek. Moniki Stępień jest pracą o wysokiej wartości naukowej i merytorycznej. Wkład Doktorantki w pracach jest wiodący i kluczowy. Praca jest oryginalnym dorobkiem Kandydatki, spełnia

metodologiczne, strukturalne i merytoryczne wymogi stawiane kandydatom do stopnia naukowego doktora nauk medycznych.

Rozprawa doktorska lek. Moniki Stępień spełnia warunki określone w art. Art.187 ust. 1-4 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (tj. DZ. U. 2018 poz.1668).

W związku z powyższym zwracam się z uprzejmą prośbą do Rady Dyscypliny Nauki Medyczne Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu o dopuszczenie lek. Moniki Stępień do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Ze względu na wysoki poziom naukowy praca ta zasługuje na wyróżnienie.

Z poważaniem

dr hab. n. med. Ewa Siwak



dr hab. n. med. Ewa B. Siwak
specjalista chorób wewnętrznych
specjalista chorób zakaźnych
i epidemiologii
3170292