



**UNIwersYTET MEDYCZNY**  
IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCŁAWIU

## **Autoreferat**

**Dr n. med. Monika Biernat**

Katedra i Klinika Hematologii,  
Nowotworów Krwi i Transplantacji Szpiku  
Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich  
we Wrocławiu

Wrocław, 2021

## Spis treści

1. Imię i nazwisko .....	3
2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe lub artystyczne – z podaniem podmiotu nadającego stopień, roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej. ....	3
3. Posiadane specjalizacje lekarskie:.....	3
4. Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych lub artystycznych. ....	3
5. Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2020 r. poz. 85 z późniejszymi zmianami). 5	
5.1. Tytuł osiągnięcia naukowego .....	5
5.2. Wykaz cyklu publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego .....	5
5.3. Wprowadzenie w tematykę badawczą, cele naukowe, uzyskane wyniki oraz potencjalne wykorzystanie w medycynie.....	7
5.4. Cele naukowe badań przedstawionych w pracach osiągnięcia naukowego zgłoszonego do postępowania habilitacyjnego .....	8
5.5. Omówienie osiągniętych wyników badań w cyklu prac zgłoszonych do postępowania habilitacyjnego.....	9
5.6. Podsumowanie wyników badań cyklu prac stanowiących osiągnięcie naukowe zgłoszone do postępowania habilitacyjnego .....	25
6. Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej.....	29
6.1. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych nie wchodzących w skład rozprawy habilitacyjnej.....	29
6.1.1. Analiza bibliometryczna dorobku .....	29
6.2. Działalność naukowo-badawcza przed uzyskaniem stopnia naukowego doktora .....	30
6.2.1. Związek pałeczek <i>Helicobacter pylori</i> w chorobach zapalnych i schorzeniach poza przewodem pokarmowym. Inne gatunki <i>Helicobacter</i> u ludzi i zwierząt... 30	
6.3. Pozostałe kierunki badań po uzyskaniu stopnia naukowego doktora. Główne kierunki badawcze.....	32
6.3.1. Patogeneza zakażenia <i>Helicobacter pylori</i> .....	33
6.3.2. Zakażenie pałeczkami z rodzaju <i>Helicobacter</i> u zwierząt .....	35
6.3.3. Poszukiwanie nowych substancji o aktywności wobec pałeczek <i>Helicobacter pylori</i> .....	36
6.3.4. Zakażenia drobnoustrojami z rodzaju <i>Demodex</i> spp. ....	38
6.3.5. Powikłania infekcyjne w przebiegu terapii pacjentów hematoonkologicznych ..	38
6.3.6. Rola mikroflory jelitowej u osób zdrowych i w różnych chorobach .....	44
6.4. Staże w krajowych i zagranicznych ośrodkach naukowych .....	46
6.5. Kierowanie lub udział w projektach badawczych: .....	46
6.5.1. Projekty w ramach badań własnych uczelni: .....	46

6.5.2.	Projekty KBN/MNiSW .....	46
6.5.3.	Udział w innych międzynarodowych projektach badawczych .....	46
6.5.4.	Aplikacje o granty:.....	47
6.6.	Współpraca naukowa:.....	48
6.6.1.	Nagrody i wyróżnienia:.....	49
6.7.	Wystąpienia ustne na zagranicznych konferencjach naukowych: .....	50
6.7.1.	Czynna prezentacja prac na krajowych i międzynarodowych konferencjach w formie doniesień plakatowych przed uzyskaniem stopnia naukowego doktora: .	51
6.7.2.	Czynna prezentacja prac na krajowych i międzynarodowych konferencjach naukowych w formie doniesień plakatowych po uzyskaniu stopnia naukowego doktora: .....	52
7.	Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę lub sztukę. 56	
7.1.	Działalność dydaktyczna .....	56
7.2.	Działalność kliniczna .....	58
7.3.	Działalność organizacyjna .....	59
8.	Oprócz kwestii wymienionych w pkt. 1-7, wnioskodawca może podać inne informacje, ważne z jego punktu widzenia, dotyczące jego kariery zawodowej.....	59
8.1.	Udział w pracach grup ekspertów.....	59
8.2.	Członkostwo w organizacjach i towarzystwach naukowych .....	60
8.3.	Działalność na rzecz promocji zdrowia .....	60
8.4.	Informacja o recenzowanych pracach naukowych .....	60
8.5.	Członkostwo w komitetach redakcyjnych i radach naukowych czasopism.....	61

1. Imię i nazwisko: **Monika Biernat**

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe lub artystyczne – z podaniem podmiotu nadającego stopień, roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej.

**2002:** uzyskanie tytułu zawodowego lekarza - Wydział Lekarski Akademii Medycznej im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, (lata **1995–2001**)

**2009:** uzyskanie stopnia naukowego doktora nauk medycznych na Wydziale Lekarskim Akademii Medycznej we Wrocławiu.

Tytuł pracy doktorskiej: „Cechy genetyczne warunkujące chorobotwórczość szczepów *Helicobacter pylori*”. Wydział Lekarski Akademii Medycznej im. Piastów Śląskich we Wrocławiu.

Promotor: prof. dr hab. Grażyna Gościński

Recenzenci:       prof. dr hab. Stefania Giedrys-Kalemba  
                          prof. dr hab. Anna Przondo-Mordarska

3. Posiadane specjalizacje lekarskie:

**2010:** mikrobiologia lekarska - Centrum Egzaminów Medycznych w Łodzi.

Opiekun specjalizacji: prof. dr hab. Anna Przondo-Mordarska

**2017:** choroby wewnętrzne - Centrum Egzaminów Medycznych w Łodzi.

Opiekun specjalizacji: prof. dr hab. Donata Urbaniak-Kujda

**2020:** hematologia - Centrum Egzaminów Medycznych w Łodzi.

Opiekun specjalizacji: prof. dr hab. Donata Urbaniak-Kujda

4. Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych lub artystycznych.

Zatrudnienie akademickie:

**2002-2018:** Asystent, od 2010 roku adiunkt w Katedrze i Zakładzie Mikrobiologii Wydziału Lekarskiego Akademii Medycznej im. Piastów Śląskich we Wrocławiu.

**2018** do chwili obecnej: adiunkt w Klinice Hematologii, Nowotworów Krwi i Transplantacji Szpiku Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu.



Zatrudnienie szpitalne:

**2001-2002:** Staż podyplomowy w Samodzielnym Publicznym Szpitalu Klinicznym Nr 1 we Wrocławiu;

**2011-** zatrudnienie w Samodzielnym Publicznym Szpitalu Klinicznym Nr 1 w Klinice Hematologii, Nowotworów Krwi i Transplantacji Szpiku na stanowisku starszego asystenta, w charakterze lekarza mikrobiologa- konsultanta;

**2018-** do chwili obecnej: zatrudnienie w Uniwersyteckim Szpitalu Klinicznym in. Mikulicza Radeckiego we Wrocławiu (wcześniej Samodzielnym Publicznym Szpitalu Klinicznym Nr 1) w Klinice Hematologii, Nowotworów Krwi i Transplantacji Szpiku na stanowisku lekarza starszego asystenta;

5. Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2020 r. poz. 85 z późniejszymi zmianami).

#### 5.1 Tytuł osiągnięcia naukowego

Cykl powiązanych tematycznie artykułów naukowych

**„Wieloczynnikowa analiza mechanizmów oporności na leczenie zakażenia *Helicobacter pylori* i jego udziału w patogenezie chorób zapalnych i nowotworowych przewodu pokarmowego”**

Osiągnięcie naukowe stanowi monotematyczny cykl 6 publikacji naukowych opublikowanych w czasopismach naukowych w latach 2014-2021 o łącznym współczynniku wpływu (**impact factor, IF**)=**18,359**, (**MNiSW**= **300 punktów**).

W czterech publikacjach jestem **pierwszym** a w dwóch **drugim** autorem. We wszystkich publikacjach posiadam znaczący wkład merytoryczny oraz większość badań, które stanowią podstawę uzyskanych wyników, zaplanowałam i wykonałam samodzielnie. Przed publikacją w recenzowanych czasopismach naukowych, wstępne wyniki badań zostały przedstawione na międzynarodowych konferencjach naukowych.

#### 5.2 Wykaz cyklu publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego

1. *Antimicrobial susceptibility of Helicobacter pylori isolates from Lower Silesia, Poland.* [AUT.] **MONIKA MARIA BIERNAT**, ELŻBIETA PONIEWIERKA, JERZY BŁASZCZUK, LESZEK CZAPLA, RADOSŁAW KEMPIŃSKI, DOROTA KSIĄDZYNA, JOANNA GRABIŃSKA, ALDONA BIŃKOWSKA, FRANCIS MEGRAUD, GRAŻYNA GOŚCINIĄK. *Arch.Med.Sci.* 2014 Vol.10 no.3 s.505-509, tab. bibliogr. 22 poz. summ. DOI: 10.5114/aoms.2013.3691  
**IF: 2,030**  
**MNiSW:25,00**

Zaproponowałam temat badań i nadzorowałam ich przebieg. Mój udział polegał również na zgromadzeniu materiału biologicznego, prowadzeniu badań hodowli i lekowrażliwości szczepów *Helicobacter pylori*, stworzeniu bazy danych, analizie zebranych danych, przeglądzie i wybór piśmiennictwa, napisałam pracę i sformułowałam odpowiedzi dla recenzentów.

2. *The prevalence of Helicobacter pylori infection in symptomatic children: a 13-year observational study in the Lower Silesian Region.* [AUT.] **MONIKA M. BIERNAT**, BARBARA IWAŃCZAK, ALDONA BINKOWSKA, JOANNA GRABIŃSKA, GRAŻYNA GOŚCINIAK. *Adv.Clin.Exp.Med.* 2016 Vol.25 no.2 s.303-308, ryc. tab. bibliogr. 31 poz. summ. DOI: 10.17219/acem/44372

**IF 1,179**

**MNISW: 15,00**

Zainicjowałam i zaplanowałam badania i koordynowałam ich przebieg, zgromadziłam materiał biologiczny, wykonałam badania hodowli i lekowrażliwości szczepów *Helicobacter pylori*, stworzyłam bazy danych, zanalizowałam zebrane dane, zgromadziłam tematyczne publikacje, napisałam manuskrypt, przeprowadziłam dyskusję z recenzentami i sformułowałam odpowiedzi dla recenzentów

3. *Frequency of infection with Helicobacter pylori isolates of different antimicrobial profiles in children and adolescents: a preliminary study.* [AUT.] GRAŻYNA GOŚCINIAK, **MONIKA M. BIERNAT**, ALDONA BINKOWSKA, AGNIESZKA KUS, BARBARA IWAŃCZAK. *Adv.Clin.Exp.Med.* 2017 Vol.26 no.2 s.263-268, ryc. tab. bibliogr. 20 poz. summ. DOI: 10.17219/acem/67716

**IF 1,262**

**MNISW: 15,00**

Uczestniczyłam w zaplanowaniu badań, przeprowadzałam badania hodowli i lekowrażliwości szczepów *Helicobacter pylori*, stworzyłam bazy danych, uczestniczyłam w analizowaniu zebranych danych, przeglądzie piśmiennictwa, brałam udział w napisaniu manuskryptu, sformułowałam odpowiedzi dla recenzentów.

4. *Molecular patterns of resistance among Helicobacter pylori strains in South-Western Poland.* [AUT.] ALDONA BINKOWSKA, **MONIKA MARIA BIERNAT**, ŁUKASZ ŁACZMAŃSKI, GRAŻYNA GOŚCINIAK. *Front.Microbiol.* 2018 Vol.9 art.3154 [10 s.], ryc. tab. bibliogr. summ. DOI: 10.3389/fmicb.2018.03154

**IF 4,259**

**MNISW: 35,00**

Brałam czynny udział w zaprojektowaniu eksperymentu, przeprowadzeniu części badań hodowli i lekowrażliwości szczepów *Helicobacter pylori*, stworzyłam bazy danych, przeanalizowałam uzyskane wyniki, zebrałam piśmiennictwo do pracy, brałam udział w napisaniu manuskryptu, sformułowałam odpowiedzi dla recenzentów.

5. *Phenotypic and genotypic analysis of resistant Helicobacter pylori strains isolated from children with gastrointestinal diseases.* [AUT.] **MONIKA MARIA BIERNAT**, ALDONA BINKOWSKA, ŁUKASZ ŁACZMAŃSKI, PAWEŁ BIERNAT, PAWEŁ KRZYŻEK, GRAŻYNA GOŚCINIAK. *Diagnostics* 2020 Vol.10 no.10 art.759 [12 s.], ryc. tab. bibliogr. 43 poz. summ. DOI: 10.3390/diagnostics10100759

**IF 3,706**

**MNISW: 70,00**

Byłam inicjatorką tego projektu, zaplanowałam badania i koordynowałam ich przebieg, zbierałam materiał biologiczny, przeprowadziłam część badań hodowli i lekowrażliwości szczepów *Helicobacter pylori*, byłam aktywna przy stworzeniu bazy

danych, analizowałam wyniki i zbierałam piśmiennictwo, napisałam pracę oraz przygotowałam korektę i odpowiedzi dla recenzentów.

6. *Bacterial infection and non-Hodgkin B-cell lymphoma: interactions between pathogen, host and the tumor environment*. [AUT. KORESP.] **MONIKA MARIA BIERNAT**, [AUT.] TOMASZ WRÓBEL. *Int.J.Mol.Sci.* 2021 Vol.22 no.14 art.7372 [18 s.], ryc. tab. bibliogr. 121 poz. summ. DOI: 10.3390/ijms22147372  
**IF<sub>2020</sub>: 5,923**  
**MNISW: 140,00**

Mój udział polegał na opracowaniu koncepcji pracy, zgromadzeniu i przeglądzie piśmiennictwa, napisaniu manuskryptu, sformułowaniu odpowiedzi dla recenzentów.

### 5.3 Wprowadzenie w tematykę badawczą, cele naukowe, uzyskane wyniki oraz potencjalne wykorzystanie w medycynie

Zakażenie *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) najczęściej nabyte we wczesnym dzieciństwie, dotyczy więcej niż połowy populacji całego świata, u wszystkich zakażonych dochodzi do rozwoju przewlekłego zapalenia żołądka, natomiast u około 10-20% zakażonych osób infekcja objawia się w postaci wrzodów dwunastnicy i/lub żołądka, a tylko u niespełna 1%-2% prowadzi do chorób nowotworowych, przede wszystkim do raka żołądka lub niezróżnicowanego chłoniaka typu MALT [1]. Prawdziwym przełomem w badaniach nad tym drobnoustrojem był rok 1983, kiedy Robin Warren i Barry Marshall wyizolowali spiralne drobnoustroje z wycinka pobranego z żołądka, którym później nadano nazwę *Helicobacter pylori*. Za udowodnienie zależności pomiędzy zakażeniem *H. pylori* a powstawaniem wrzodów żołądka i dwunastnicy otrzymali w 2005 Nagrodę Nobla w dziedzinie medycyny i fizjologii [2]. Zakażenia wywołane przez te pałeczki należą do najpowszechniejszych zakażeń bakteryjnych u ludzi na całym świecie, jednak ich odsetek w krajach rozwiniętych (25-50%) jest znacznie niższy niż w krajach rozwijających się (70-90%). Polska jest wciąż zaliczana do krajów o stosunkowo wysokiej częstości zakażeń *H. pylori*. W naszym kraju częstość infekcji u dzieci wynosi 40-60%, u osób między 18 a 25 rokiem życia 80%, natomiast u ludzi starszych wynosi około 90% [3, 4]. Wyniki pracy Warrena i Marshalla przyczyniły się do zmiany postępowania terapeutycznego w chorobie wrzodowej, polegającej na wprowadzeniu do terapii leków przeciwbakteryjnych. Dzięki poznaniu właściwości pałeczek *H. pylori* i patogenyzy zakażenia tym drobnoustrojem, stało się możliwe wykrywanie i leczenie infekcji *H. pylori*. Skuteczna wczesna terapia tych zakażeń daje możliwość zmniejszenia częstości występowania choroby wrzodowej, jak również wydaje się mieć wpływ na ograniczenie rozwoju raka żołądka i chłoniaków typu MALT w późniejszym wieku. Pomimo, że pałeczki *H. pylori* są wrażliwe na

wiele antybiotyków i chemioterapeutyków *in vitro*, nie wszystkie mogą być użyte w terapii *in vivo*.

Narastająca oporność pałeczek *H. pylori* na antybiotyki i chemioterapeutyki jest obecnie problemem globalnym. Jak ważne znaczenie ma ocena i poprawa skuteczności terapii zakażenia *H. pylori* stanowi fakt, że bakterie te znalazły się na liście 8 patogenów „priorytetowych” w sferze poszukiwania i opracowania nowych leków w dokumencie Światowej Organizacji Zdrowia z dn. 27 lutego 2017 roku [5].

#### 5.4 Cele naukowe badań przedstawionych w pracach osiągnięcia naukowego zgłoszonego do postępowania habilitacyjnego

##### Cele prowadzonych badań:

1. Analiza fenotypowa oporności szczepów *H. pylori*, izolowanych od pacjentów dorosłych z zapaleniem żołądka i chorobą wrzodową na antybiotyki i chemioterapeutyki: klarytromycynę, metronidazol, lewofloksacynę, ryfabutyne, tetracyklinę i amoksycylinę.
2. Ocena częstości występowania zakażenia *H. pylori* u dzieci i analiza lekowrażliwości szczepów klinicznych.
3. Badanie częstości występowania zakażeń wywołanych przez szczepy *H. pylori* o różnym profilu wrażliwości na leki przeciwdrobnoustrojowe.
4. Identyfikacja mutacji punktowych w wybranych fragmentach DNA, warunkujących oporność szczepów *H. pylori* na antybiotyki, w tym na klarytromycynę, lewofloksacynę i metronidazol.
5. Charakterystyka wpływu zakażenia *H. pylori* i jego eradykacji na przebieg chłoniaków nieziarniczych przewodu pokarmowego.

Cele przedstawione powyżej, będące wynikiem moich zainteresowań naukowych realizowałam w trakcie pracy w Katedrze i Zakładzie Mikrobiologii i kontynuowałam po zmianie zatrudnienia w Katedrze i Klinice Hematologii, Nowotworów Krwi i Transplantacji Szpiku Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu. Wyniki badań przedstawione w cyklu prac, wchodzących w skład osiągnięcia naukowego, były prowadzone w ramach różnych projektów badawczych, głównie z działalności statutowej uczelni oraz każdorazowo uzyskały zgodę Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu. Szczepy *H. pylori* badane w

prezentowanych pracach pochodziły od pacjentów dorosłych i od dzieci, diagnozowanych i leczonych we wrocławskich szpitalach, w tym głównie z Samodzielnym Publicznym Szpitalem Klinicznym Nr 1, a później w Uniwersyteckim Szpitalu Klinicznym im. Mikulicza Radeckiego we Wrocławiu. Od wszystkich pacjentów dorosłych, a w przypadku dzieci, od ich przedstawicieli ustawowych, uzyskałam pisemną i świadomą zgodę na udział w badaniach i na publikację uzyskanych wyników. Szczegółowa metodyka hodowli, wykonania testów wrażliwości na antybiotyki, badań molekularnych oznaczenia mechanizmów oporności została opisana w kolejnych pracach cyklu. Do badań mikrobiologicznych wykorzystano szczep referencyjnych J99 *H. pylori*.

#### 5.5 Omówienie osiągniętych wyników badań w cyklu prac zgłoszonych do postępowania habilitacyjnego

Problemy związane z opornością pałeczek *H. pylori* narastają i w praktyce klinicznej wybór odpowiedniego leczenia zakażenia tym drobnoustrojem opiera się przede wszystkim na rekomendacjach międzynarodowych i krajowych towarzystw naukowych i aktualnie jest leczeniem empirycznym [6,7]. Hodowla pałeczek *H. pylori*, trudna i czasochłonna, nie jest rutynowo stosowana w diagnostyce tych zakażeń, ale tylko w ten sposób można określić lekowrażliwość szczepów bakteryjnych, co stwarza możliwość indywidualnego doboru terapii celowanej i tym samym zwiększa jej skuteczność. Badanie lekowrażliwości opiera się obecnie na zaleceniach EUCAST (ang. *European Committee of Antibiotic Susceptibility Testing*), w których podstawą są paski nasączone antybiotykiem w gradiencie stężeń (metoda E-test). Dzięki nim można określić minimalne stężenie hamujące (ang. *Minimal inhibitory concentration*, MIC) dla każdego leku. W pracy 1 i 2 badałam fenotypowy profil lekowrażliwości pałeczek *H. pylori*, odpowiedzialnych za zakażenia u pacjentów dorosłych i u dzieci.

Badania wykonałam dzięki wieloletniej współpracy z lekarzami z II Katedry i Kliniki Pediatrii, Gastroenterologii i Żywienia, Katedry i Kliniki Gastroenterologii i Hepatologii oraz z Katedry i Kliniki Chirurgii Ogólnej i Chirurgii Przewodu Pokarmowego Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu.



Praca nr 1 cyklu:

pt. *Antimicrobial susceptibility of Helicobacter pylori isolates from Lower Silesia, Poland*. **MONIKA MARIA BIERNAT**, ELŻBIETA PONIEWIERKA, JERZY BŁASZCZUK, LESZEK CZAPLA, RADOSŁAW KEMPIŃSKI, DOROTA KSIĄDZYNA, JOANNA GRABIŃSKA, ALDONA BIŃKOWSKA, FRANCIS MEGRAUD, GRAŻYNA GOŚCINIAK. *Arch.Med.Sci.* 2014 Vol.10 no.3 s.505-509, tab. bibliogr. 22 poz. summ. DOI: 10.5114/aoms.2013.3691

Diagnostyka i leczenie zakażenia *H. pylori* opiera się na rekomendacjach ekspertów Europejskiej Grupy Roboczej ds. *Helicobacter pylori* zawartych w aktualnym V Raporcie z Maastricht, jak również na wytycznych lokalnych towarzystw naukowych. W Polsce są to zalecenia Polskiego Towarzystwa Gastroenterologicznego (PTG-E) opublikowane w 2014 roku [6,7]. Terapia zakażeń *H. pylori* jest terapią skojarzoną i wielolekową. Rekomendowane schematy leczenia zakażenia *H. pylori* zalecają stosowanie trzech grup leków: antybiotyków i chemioterapeutyków (najczęściej z grupy  $\beta$ -laktamów, makrolidów, tetracyklin, fluorochinolonów, imidazoli), leków antysekrecyjnych (najczęściej inhibitorów pompy protonowej) oraz leków cytoprotekcyjnych (sole bizmutu). W terapii empirycznej pierwszego rzutu rekomenduje się stosowanie dwóch antybiotyków z trzech wymienionych: amoksycyliny, klarytromycyny lub metronidazolu oraz inhibitora pompy protonowej przez 10-14 dni, do terapii można również dołączyć sole bizmutu. Wysoka skuteczność wymienionych schematów gwarantowała wyleczenie większości pacjentów wiele lat temu, jednak w ostatnich latach coraz częściej obserwuje się niepowodzenia standardowej terapii zakażeń *H. pylori*, które wynikają przede wszystkim z narastającej oporności szczepów *H. pylori* na antybiotyki, w tym głównie na klarytromycynę. Do czynników wpływających na stopień oporności pałeczek *H. pylori* na antybiotyki należą również: region geograficzny, wiek, płeć oraz przynależność do określonej grupy etnicznej. Badania lekowrażliwości *H. pylori* nie są wykonywane rutynowo w diagnostyce mikrobiologicznej. Trudności w izolacji tych drobnoustrojów z materiału klinicznego oraz czasochłonna hodowla szczepów sprawiają, że rekomenduje się oznaczenie lekowrażliwości dopiero w przypadku pierwszej lub kolejnej nieskutecznej eradykacji tego drobnoustroju. Z tego względu lekowrażliwość pałeczek *H. pylori* odpowiedzialnych za zakażenia na terenie Polski jest nadal trudna do oszacowania. Przed wykonaniem badań w ramach pracy nr 1, ostatnie wieloośrodkowe badania dotyczące wrażliwości klinicznych szczepów *H. pylori* na antybiotyki stosowane w terapii eradykacyjnej były przeprowadzone w latach 2002-2003.

Celem pracy była ocena aktualnej częstości występowania pierwotnej oporności

klinicznych szczepów *H. pylori*, izolowanych od osób dorosłych z przewlekłym zapaleniem żołądka i chorobą wrzodową, na 6 podstawowych leków stosowanych w leczeniu eradykacyjnym (amoksycylinę, klarytromycynę, metronidazol, tetracyklinę, lewofloksacynę, ryfabutyne).

Praca powstała w wyniku mojej współpracy z Europejską Grupę Roboczą ds. *Helicobacter pylori* (ang. *European Helicobacter Study Group*, EHSG) w ramach Europejskiego Wieloośrodkowego Programu Monitorowania Oporności Szczepów *Helicobacter pylori* na antybiotyki, "The surveillance of *Helicobacter pylori* resistance to antibiotics", koordynowanego przez prof. Francis Mégraud z Uniwersytetu Medycznego w Bordeaux we Francji. W pracy przebadalam szczepy *H. pylori* pochodzące od 178 dorosłych pacjentów (w wieku 19-89 lat), którzy nie byli wcześniej diagnozowani ani leczeni z powodu zakażenia *H. pylori*. Pacjenci byli diagnozowani w Katedrze i Klinice Gastroenterologii i Hepatologii oraz Katedrze i Klinice Chirurgii Ogólnej i Chirurgii Przewodu Pokarmowego Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu i z powodu dolegliwości ze strony górnego odcinka przewodu pokarmowego, sugerujących występowanie zmian patologicznych, wykonano u nich badania endoskopowe górnego odcinka przewodu pokarmowego. Spośród 178 przebadanych pacjentów, u 62 (34.83%) stwierdzono zakażenie *H. pylori* a najwyższą częstość zakażenia wykazano u osób w wieku 19-44 lat. W oparciu o przeprowadzone analizy, stwierdzono wzrost odsetka szczepów *H. pylori* pierwotnie opornych na klarytromycynę - 24% i metronidazol-42% w porównaniu do poprzednich obserwacji w Polsce, odpowiednio 15% i 27% [3]. Ponadto wykazano, że 8% szczepów było pierwotnie opornych na lewofloksacynę, mimo że dotychczas nie była stosowana rutynowo w terapii zakażeń *H. pylori* w Polsce. W wyniku przeprowadzonych badań stwierdzono również wysoki odsetek szczepów wielolekoopornych (26%), przy czym 20% było opornych na oba antybiotyki stosowane w terapii: klarytromycynę i metronidazol. W porównaniu do danych z innych krajów europejskich, gdzie podwójna oporność jest niska i wynosi ok. 0,6-8,9%, wyniki tych badań są niepokojące. Nie wykryto szczepów opornych na amoksycylinę, tetracyklinę i ryfabutyne.

Wyniki moich badań istotnie przyczyniły się do zmiany zaleceń postępowania terapeutycznego w Polsce, zawartych w zaleceniach PTG-E w 2014 roku. W oparciu o rekomendacje ostatniego V Raportu z Maastricht/Florence oraz wytycznych PTG-E z 2014 roku uznaje się, że schemat zawierający amoksycylinę w skojarzeniu z klarytromycyną może być zastosowany tylko wówczas, gdy oporność *H. pylori* na klarytromycynę w danej populacji jest niższa niż 15% (zalecenia V Raportu z Maastricht) i 20% (zalecenia PTG-E), schemat z metronidazolem gdy oporność na metronidazol nie przekracza 40%. Według wytycznych V



Raportu z Maastricht/ Florence zaleca się również dołączenie soli bizmutu w terapii pierwszego rzutu w regionach o wysokim odsetku oporności na klarytromycynę oraz w razie stwierdzenia podwójnej oporności na klarytromycynę i metronidazol [6,7]. Zgodnie z moimi wynikami na terenie Dolnego Śląska z uwagi na pierwotną oporność szczepów *H. pylori* na klarytromycynę sięgającą powyżej 20% i na metronidazol sięgającą powyżej 40% u dorosłych zasadne jest unikanie klarytromycyny w leczeniu pierwszego rzutu i zastąpieniu jej np. teracykliną oraz dołączenie soli bizmutu.

Wyniki mojej pracy dowiodły także, że niezbędne jest stałe monitorowanie oporności szczepów *H. pylori* na leki stosowane w terapii, a w szczególności na klarytromycynę u pacjentów dorosłych z tym zakażeniem. W obliczu wysokiej i stale narastającej oporności szczepów na klarytromycynę i metronidazol warto rozważyć wykonywanie oznaczenia lekowrażliwości *H. pylori* przed rozpoczęciem terapii, celem wyboru najskuteczniejszego schematu leczenia u każdego pacjenta.

#### Praca nr 2 cyklu:

*The prevalence of Helicobacter pylori infection in symptomatic children: a 13-year observational study in the Lower Silesian Region.* [AUT.] **MONIKA M. BIERNAT**, BARBARA IWANČZAK, ALDONA BIŃKOWSKA, JOANNA GRABIŃSKA, GRAŻYNA GOŚCINIĄK. *Adv.Clin.Exp.Med.* 2016 Vol.25 no.2 s.303-308, ryc. tab. bibliogr. 31 poz. summ. DOI: 10.17219/acem/44372

Do zakażenia *H. pylori* dochodzi najczęściej w dzieciństwie, dlatego charakterystyka i przebieg tych zakażeń w populacji dzieci i młodzieży determinują wystąpienie powikłań w wieku dojrzałym. W krajach rozwiniętych częstość infekcji *H. pylori* u dzieci nie przekracza 15% i wykazuje tendencję spadkową, podczas gdy w krajach rozwijających się może przekraczać nawet 80% [8]. W Polsce częstość w populacji dziecięcej wciąż jest znaczna i wynosi ok. 34%. Wykazano, że w populacji małych dzieci do 3 roku życia zakażonych jest 29%. Zakażenie *H. pylori* jest uważane za główną przyczynę występowania przewlekłego zapalenia żołądka i wrzodów dwunastnicy u dzieci. Z analiz prowadzonych w tej populacji wynika, że zakażenie *H. pylori* jest obecne u 93% dzieci z chorobą wrzodową dwunastnicy i u 56% z chorobą wrzodową żołądka [9]. Spośród innych gatunków *Helicobacter*, największą rolę w zakażeniach przewodu pokarmowego odgrywa *H. heilmannii*. Może on powodować podobne zmiany zapalne jak *H. pylori*, prowadzi do rozwoju choroby wrzodowej, do rozwoju nowotworów żołądka i chłoniaka typu MALT, podobnie jak *H. pylori*. *H. heilmannii* występuje powszechnie u wielu gatunków ssaków, takich jak psy, koty, świnie i szczury. U ludzi

drobnoustroje te wykrywane są bardzo rzadko, ale mogą prowadzić do istotnych patologii w obrębie przewodu pokarmowego. Prawdopodobnie zakażenie ma pochodzenie odzwierzęce [10].

Od czasu wykrycia pałeczek *H. pylori*, dzięki zastosowaniu coraz czulszych testów diagnostycznych i wprowadzeniu standardów postępowania terapeutycznego, w wielu krajach obserwuje się spadek częstości zakażenia tym drobnoustrojem. Leczenie zakażenia u dzieci dotyczy tylko tzw. „objawowych” pacjentów i opiera się na złożonej antybiotykoterapii według wytycznych Espghan/Naspghan [11]. W terapii pierwszej linii podobnie jak u dorosłych stosuje się inhibitor pompy protonowej oraz antybiotyki z grupy makrolidów, głównie klarytromycynę, w skojarzeniu z amoksycyliną oraz metronidazolem, rzadziej tynidazolem.

Polskie wieloośrodkowe badania dotyczące częstości zakażenia *H. pylori*, diagnostyki, leczenia i oporności na antybiotyki były przeprowadzone u dzieci w latach 2002-2003, dlatego moim celem była analiza częstości zakażenia *H. pylori* u dzieci z Dolnego Śląska z dolegliwościami ze strony przewodu pokarmowego poddanych diagnostyce w kierunku zakażenia *H. pylori* w II Katedrze i Klinice Pediatrii, Gastroenterologii i Żywienia Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu w latach 2000-2013 oraz ocena częstości występowania szczepów *H. pylori* opornych na stosowane w leczeniu antybiotyki i chemioterapeutyki.

Retrospektywną analizę przeprowadziłam na podstawie wyników posiewów w kierunku *H. pylori* u dzieci w wieku 1,5-18 lat, wykonanych w okresie od stycznia 2000 r. do grudnia 2013 r. Ogółem do badania włączono 8661 nieleczonych pacjentów, 4286 dziewczynek i 4375 chłopców, poddanych pierwszej endoskopii górnego odcinka przewodu pokarmowego z powodu objawów klinicznych, takich jak: przewlekły ból/dyskomfort w jamie brzusznej, ból w nadbrzuszu, nudności lub wymioty. U wszystkich dzieci wykluczono choroby wątroby, trzustki, nerek, infekcje pasożytnicze oraz dowody innych infekcji wirusowych lub bakteryjnych. Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono spadek częstości występowania zakażenia *H. pylori* u dzieci z objawami klinicznymi w porównaniu z obserwacjami badaczy z Polski sprzed 10 lat, częstość zakażenia *H. pylori* w badaniu wynosiła 16,5% i była zbliżona u dziewcząt (663/4286) i chłopców (693/4375), (15,5% vs. 15,8%,  $p > 0,05$ ). Przeanalizowano również częstość występowania zakażenia *H. pylori* u dzieci w różnych grupach wiekowych, w dwóch przedziałach czasowych 2000-2001 i 2010-2011. Częstość występowania zakażenia w obu okresach wzrastała wraz z wiekiem i była najwyższa u pacjentów w wieku 12-18 lat. Częstość występowania zakażenia *H. heilmannii* w naszym badaniu była niska (0,2%). Podałam analizie również lekowrażliwość 989 klinicznych

szczepów *H. pylori* izolowanych od dzieci na antybiotyki, w tym 734 szczepów z lat 2000-2004 i 255 szczepów z lat 2009-2013. W latach 2000-2004 wskaźniki oporności szczepów *H. pylori* na metronidazol i klarytromycynę wynosiły odpowiednio 48,5% (356/734) i 21,2% (156/734), natomiast w latach 2009-2013 oporność na oba te antybiotyki wynosiła 36% (92/255) i 26% (67/255). W analizowanych okresach wykryto zwiększoną liczbę szczepów, z 7,9% (58/734) do około 22,7% (58/255), opornych zarówno na metronidazol, jak i klarytromycynę. Nie wykryto szczepów opornych na amoksycylinę

Stwierdziłam zmniejszenie częstości występowania zakażenia *H. pylori* u dzieci z terenu Dolnego Śląska z objawami klinicznymi z 23% w latach 2000-2002 do 13% w latach 2011-2013, na co mogła mieć wpływ przede wszystkim lepsza diagnostyka tych zakażeń oraz powszechne stosowanie terapii eradykacyjnej. Zmiany stylu życia, poprawa warunków ekonomicznych i standardów higienicznych mogą mieć również wpływ na spadek częstości występowania zakażeń wywołanych przez te drobnoustroje. W pracy podkreśliłam potrzebę dalszego monitorowania lekooporności pałeczek *H. pylori* na stosowane w leczeniu antybiotyki i chemioterapeutyki.

Wyniki moich badań lekowrażliwości pałeczek *H. pylori* i dynamiki zmian oporności na leki pomogły lekarzom pediatrom z Dolnego Śląska w doborze właściwych antybiotyków w leczeniu zakażeń *H. pylori* u dzieci. Wykrycie wysokiej oporności szczepów na klarytromycynę oraz stały wzrost występowania szczepów opornych, zarówno na klarytromycynę jak i metronidazol przyczyniło się do zmiany schematów leczenia i stworzyło możliwość indywidualizacji terapii u poszczególnych pacjentów.

Moje badania spotkały się z dużym zainteresowaniem ekspertów i zaproszono mnie do ustnego przedstawienia wyników tej pracy podczas Międzynarodowej Konferencji XXIVth *International Workshop on Helicobacter and Related Bacteria in Chronic Digestive Inflammation and Gastric Cancer*. w Dublinie, Irlandia 11-13.09, 2011 i opublikowane w *Helicobacter* 2011 Vol.16 suppl.1; s.85 poz.WS4.3

Prace 3, 4 i 5 cyklu wchodzącego w skład osiągnięcia naukowego zgłoszonego do postępowania habilitacyjnego stanowią kontynuację badań nad lekowrażliwością pałeczek *H. pylori*. Niepowodzenie terapii zakażeń *H. pylori* i narastanie lekooporności tych bakterii obserwowane na przestrzeni lat, co przedstawiłam w pracach 1 i 2, skłoniło mnie do poszerzenia spektrum badań nad mechanizmami, odpowiedzialnymi za oporność tych drobnoustrojów na antybiotyki i chemioterapeutyki oraz nad poszukiwaniem przyczyn trudności eradykacji tych

bakterii. Dzięki rozwojowi technik molekularnych, takich jak: metody sekwencjonowania i minisekwencjonowania, metoda polimorfizmu długości fragmentów restrykcyjnych (ang. *restriction fragment length polymorphism*, RLFP), reakcja łańcuchowej polimerazowej w czasie rzeczywistym (ang. *real-time polymerase chain reaction*, real time PCR), metoda fluorescencyjnej hybrydyzacji in situ (ang. *fluorescent in-situ hybridization*, FISH), metoda transferu energii rezonansu fluorescencji (ang. *fluorescence resonance energy transfer*, FRET) stała się możliwa identyfikacja obecności drobnoustroju bezpośrednio w biopsji, charakterystyka czynników wirulencji, jak również poznanie mechanizmów oporności na poziomie molekularnym. Przeprowadzenie prac 3, 4 i 5 było możliwe dzięki zastosowaniu niektórych z tych nowoczesnych technik.

#### Praca nr 3 cyklu:

*Frequency of infection with Helicobacter pylori isolates of different antimicrobial profiles in children and adolescents: a preliminary study.* [AUT.] GRAŻYNA GOŚCINIAK, **MONIKA M. BIERNAT**, ALDONA BINKOWSKA, AGNIESZKA KUS, BARBARA IWANČZAK. *Adv.Clin.Exp.Med.* 2017 Vol.26 no.2 s.263-268, ryc. tab. bibliogr. 20 poz. summ. DOI: 10.17219/acem/67716

Badania ostatnich lat nad pałeczkami *H. pylori* wykazały bardzo dużą różnorodność genetyczną tych szczepów, a także wysoką zmienność w obrębie genomu jednego szczepu. Poznanie pełnego zapisu genomów szczepów wzorcowych J99 i 26695 pozwoliło wykazać, że genom *H. pylori* jest niewielki (1,6-1,73 Mb) ale za to bardzo plastyczny. Około 6 % genów występowało tylko w jednym z poznanych szczepów, natomiast geny wspólne dla obydwu cechowała niezwykle duża zmienność sekwencji [12]. Zmienność sekwencji genetycznej zależy od częstych mutacji punktowych, ale również od różnic w systemach restrykcji, poziomego transferu genów, a także zdolności do modyfikacji, insercji i delekcji fragmentów lub całych genów [13]. Ostatnie doniesienia wskazują, że pałeczki *H. pylori*, w odpowiedzi na zmieniające się warunki środowiska a zwłaszcza zróżnicowany dostęp do składników budulcowych, wykształciły odmienne mechanizmy przystosowawcze. Badając różne szczepy *H. pylori* zaobserwowano, że w wielu przypadkach szczep izolowany od jednego pacjenta w późniejszym okresie miał mniej genów od tego samego szczepu badanego w początkowej fazie zakażenia i odwrotnie. Ponadto, podczas ekspozycji na antybiotyki stosowane w leczeniu innych zakażeń, mogą występować wielolekooporne szczepy *H. pylori*, co jest prawdopodobnie związane z niestabilnością genomowego DNA patogenu, jak również z nabyciem materiału genetycznego od innego szczepu lub gatunku bakterii. Fenotypowa i genotypowa różnorodność

szczepów *H. pylori* wpływa na stopień i intensywność indywidualnej reakcji zapalnej i skutkuje różnorodnym obrazem klinicznym zakażenia. Przyjmuje się, że wczesne zakażenie *H. pylori* w życiu człowieka niesie ze sobą większe ryzyko rozwoju chorób górnego odcinka przewodu pokarmowego, takich jak choroba wrzodowa wrzody i rak żołądka w przyszłości, chociaż nie ma jednolitego stanowiska badaczy. Jak wcześniej wspomniano oporność na antybiotyki i chemioterapeutyki są głównymi przyczynami niepowodzeń w eradykacji i wysokich kosztów leczenia. Ponadto istnieją obserwacje, że niektórzy pacjenci mogą być zakażeni więcej niż jednym szczepem bakterii, co również stwarza trudności terapeutyczne. Szczepy takie izolowano z wycinków błony śluzowej pobranych z różnych miejsc w żołądku lub poprzez wyizolowanie kilku szczepów z jednej biopsji [14].

W literaturze istnieją nieliczne doniesienia na temat problemu zakażeń mieszanych u dzieci, dlatego celem pracy nr 3 cyklu habilitacyjnego było określenie częstości kolonizacji błony śluzowej żołądka u dzieci przez szczepy *H. pylori* o różnej wrażliwości na leki przeciwbakteryjne. Badane były wycinki z żołądka pobranych od dzieci, które były diagnozowane i leczone w II Klinice Pediatrii, Gastroenterologii i Żywienia Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu z powodu podejrzenia zakażenia *H. pylori*. Pacjenci nie byli wcześniej diagnozowani i leczeni z powodu zakażenia *H. pylori*. Na podstawie badania endoskopowego i histopatologicznego u badanych 54 dzieci w wieku 3-18 lat (mediana 15 lat) rozpoznano: chorobę wrzodową żołądka (n=18), chorobę wrzodową dwunastnicy (n=7), chorobę wrzodową żołądka i dwunastnicy (n=3), przewlekłe zapalenie błony śluzowej żołądka (n=10). U pozostałych dzieci rozpoznano inne schorzenia przewodu pokarmowego (n=16): chorobę refluksową przełyku, chorobę trzewną, nietolerancję laktozy, zaburzenie wchłaniania jelitowego z niedoborem masy ciała, zespół jelita nadwrażliwego, niestrawność czynnościową, chorobę Crohna oraz wrzodziejące zapalenie jelita grubego. Szczepy *H. pylori* wyizolowano z 15 biopiatów od 54 dzieci, co stanowi 27,7%. Dzięki zastosowaniu specjalnej techniki hodowli, szczegółowo opisanej w pracy, która polegała na izolacji pojedynczych kolonii *H. pylori* z poszczególnych podłoży hodowlanych, łącznie uzyskano 90 klinicznych izolatów bakterii spośród 15 dodatnich hodowli. Następnie badano lekowrażliwość każdego izolatu na antybiotyki i chemioterapeutyki najczęściej stosowane w terapii: klarytromycynę, amoksycylinę i metronidazol. W wyniku przeprowadzonych badań zakażenie szczepami *H. pylori* o różnej wrażliwości na klarytromycynę i metronidazol stwierdzono aż u 7 z 15 dzieci (46,7%). Zakażenia szczepami *H. pylori* o różnej wrażliwości na klarytromycynę były częściej obserwowane niż na metronidazol, przy czym u trojga dzieci zidentyfikowano zarówno szczepy odporne i wrażliwe na klarytromycynę, a u dwojga szczepy odporne na klarytromycynę, ale o



różnych wartościach MIC. Zakażenia szczepami *H. pylori* zarówno opornymi jak i wrażliwymi na metronidazol zidentyfikowano u dwojga dzieci.

Przeanalizowałam również genotypy genu *cagA* oraz *vacA*, które są stosowane jako markery genomowego zróżnicowania szczepów *H. pylori*. U dwojga dzieci zakażonych heteroopornymi *H. pylori* stwierdzono różnice w obecności genu *cagA*. Szczepy te różniły się między sobą opornością na metronidazol, i tak wrażliwe na metronidazol były *cagA*+, a odporne *cagA*-, co może sugerować zakażenie różnymi szczepami u jednego pacjenta. Analizując łącznie genotypy genu *cagA* i *vacA*, zakażenie szczepami *cagA*+ *vacA* *s1/m2* było najczęstsze (36,4%), następnie *cagA*+ *vacA* *s1/m1* (27,3%) oraz *cagA*+ *vacA* *s2/m2* (18,2%). Wśród szczepów *H. pylori* o różnej oporności pochodzących od tego samego pacjenta stwierdzono obecność odmiennych genotypów u dwojga dzieci. Różnice te dotyczyły obecności genu *cagA*. Można sądzić, że u dwojga dzieci szczepy o różnej oporności oraz o różnym genotypie pochodziły z zakażenia mieszanego *H. pylori*. Natomiast u pozostałych pięciorga dzieci, szczepy o różnej oporności i tym samym genotypie genu *cagA* i *vacA*, prawdopodobnie pochodziły z zakażenia pojedynczym szczepem. Być może u tych pacjentów szczepy początkowo wrażliwe w wyniku mutacji i rekombinacji genetycznej nabrały oporności i wyodrębniły się dwie subpopulacje. W podsumowaniu wśród dzieci z zakażeniem *H. pylori* potwierdzonym badaniami mikrobiologicznymi, zakażenie szczepami o różnej oporności na klarytromycynę i metronidazol wykazano u 47% i częściej dotyczyło szczepów opornych na klarytromycynę. Wśród szczepów o różnej oporności pochodzących od tego samego pacjenta stwierdzono obecność odmiennych genotypów, co może świadczyć o zakażeniu mieszanym. Wykazano związek genotypu *H. pylori* *vacA* *s1* z chorobą wrzodową żołądka i dwunastnicy. Różna oporność szczepów *H. pylori* izolowanych od tego samego pacjenta ma istotne znaczenie dla powodzenia terapii eradycznej, a oznaczanie genotypu pojedynczych kolonii *H. pylori* może być pomocne w identyfikacji osób ze zwiększonym ryzykiem wystąpienia choroby wrzodowej żołądka i dwunastnicy. Badania przeprowadzone w omawianej pracy były pierwszym doniesieniem dotyczącym zakażeń mieszanych, szczepami o różnym profilu oporności na antybiotyki u jednego pacjenta w populacji polskiej.

Praca nr 4 cyklu:

*Molecular patterns of resistance among Helicobacter pylori strains in South-Western Poland.* [AUT.] ALDONA BIŃKOWSKA, **MONIKA MARIA BIERNAT**, ŁUKASZ ŁACZMAŃSKI, GRAŻYNA GOŚCINIĄK. *Front. Microbiol.* 2018 Vol.9 art.3154 [10 s.], ryc. tab. bibliogr. summ. DOI: 10.3389/fmicb.2018.03154

Standardowa terapia trójskładnikowa zawierająca inhibitor pompy protonowej oraz antybiotyki takie jak: klarytromycyna i amoksycylina lub metronidazol rekomendowana w pierwszej linii leczenia pozwala wyleczyć jedynie około 70% pacjentów. Pomimo, że oporność na klarytromycynę uważana jest za najważniejszą przyczynę nieskuteczności eradykacji *H. pylori*, do przyczyn niepowodzeń należą także: niestosowanie się do zaleceń lekarskich, wysoka kwasowość w żołądku, duża ilość bakterii oraz heterogenność szczepów *H. pylori*.

Oporność na klarytromycynę powstaje w wyniku punktowych mutacji podjednostki V 23s *rRNA* podjednostki 50S bakteryjnego rybosomu, które prowadzą do zmiany konformacji białka. Zmiana w białku jest tak istotna, że klarytromycyna nie rozpoznaje miejsca docelowego działania, a w konsekwencji nie jest zdolna do zatrzymania produkcji białek w komórce bakteryjnej. Największe znaczenie wydają się mieć trzy mutacje: A2143G, A2142G oraz A2142C. Przekazywanie oporności na klarytromycynę zachodzi przez transfer horyzontalny z komórek opornych do komórek wrażliwych nawet w obrębie szczepu o tym samym genotypie. Ponadto wymiana materiału genetycznego może zachodzić pomiędzy różnymi szczepami w mieszanych zakażeniach *H. pylori* [15].

Przez wiele lat w Polsce nie identyfikowano szczepów opornych *H. pylori* na lewofloksacynę. Jednak wprowadzenie tego leku do terapii zakażeń *H. pylori* dość szybko spowodowało pojawienie się szczepów opornych. Podejrzewa się, że przyczyną oporności na lewofloksacynę są zmiany w konformacji podjednostki *gyrA*, gdzie dochodzi do mutacji punktowych, które są zlokalizowane w następujących kodonach: 86, 87, 88 i 91. Nie wyklucza się istnienia zmian w innych pozycjach, jak również zmian w podjednostce *gyrB*. Powstałe zmiany kodonów prowadzą do zmiany miejsca aktywnego enzymu, dzięki czemu antybiotyki traci miejsce uchwytu i pomimo obecności w komórce bakteryjnej nie zaburza jej działania [16].

Ze względu na fakt, że znajomość profilu oporności szczepów *H. pylori* może pomóc w podjęciu decyzji o wyborze antybiotyku do eradykacji zakażenia, zwłaszcza po niepowodzeniu terapii pierwszej linii, w pracy nr 4 została podjęta próba identyfikacji genetycznych podstaw, warunkujących oporność szczepów *H. pylori* na badane antybiotyki z zastosowaniem techniki

sekwencjonowania. Badania przeprowadziłam z użyciem 170 szczepów *H. pylori*, pochodzących od dzieci diagnozowanych i leczonych w II Katedrze i Klinice Pediatrii, Gastroenterologii i Żywienia Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu oraz osób dorosłych, diagnozowanych w Katedrze i Klinice Gastroenterologii i Hepatologii oraz Katedrze i Klinice Chirurgii Przewodu Pokarmowego i Chirurgii Ogólnej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu. Szczepy zostały wyizolowane od pacjentów z zakażeniem pierwotnym z wycinków błony śluzowej żołądka, które były pobierane podczas rutynowego badania endoskopowego górnego odcinka przewodu pokarmowego wykonanego ze wskazań klinicznych. Wśród badanych szczepów *H. pylori*, 74% było opornych na co najmniej jeden z badanych antybiotyków. Wykryto bardzo wysoką oporność na metronidazol (56%) i na klarytromycynę (46%). Oporność na lewofloksacynę wykazało 6% szczepów, natomiast wszystkie szczepy były wrażliwe na amoksycylinę i tetracyklinę.

Wśród szczepów *H. pylori* opornych na klarytromycynę najczęściej stwierdzane były mutacje w pozycji A2143G, A2142G i A2143+T2182, co potwierdziło obserwacji innych badaczy, w tym także z polskich ośrodków. Ponadto ryzyko wystąpienia oporności na klarytromycynę było prawie 23-krotnie większe wśród szczepów *H. pylori* z mutacją A2143G. Dzięki zastosowaniu technik sekwencjonowania w omawianej pracy wykazano również, że ze wzrostem liczby mutacji, procent szczepów *H. pylori* wrażliwych na klarytromycynę statystycznie istotnie spadał. Zbadano również związek między wielkością MIC a rodzajem mutacji w genie *23s rRNA*. W pracy u 13% badanych szczepów *H. pylori* opornych na klarytromycynę nie znaleziono mutacji w genie *23s rRNA*, co może sugerować inną przyczynę oporności. Oprócz mutacji *23S rRNA*, opisywany jest inny mechanizm oporności na klarytromycynę u pałeczek *H. pylori*, który związany jest z ekspresją pomp effluksowych (ang. *resistance-nodulation-cell division*, RND).

Wśród opornych na lewofloksacynę szczepów *H. pylori*, 20% posiadało mutacje w kodonie 87, gdzie dochodziło do zmiany asparaginy na lizynę. Najczęściej jednak obserwowano mutacje w kodonie 91, które występowały u 40% szczepów. Ponadto 40% badanych szczepów *H. pylori* opornych na lewofloksacynę nie posiadało żadnej mutacji sensownej lub posiadało mutacje ciche. Pomimo tego, okazuje się, że zmiana jednego nukleotydu może wpływać na oporność szczepów. Obecność alleli GCG w pozycji 122 genu *gyrA* zwiększało 8-krotnie ryzyko wystąpienia oporności na lewofloksacynę, natomiast obecność izoleucyny w pozycji 191 genu *gyrA* zmniejszało to ryzyko o 87%.

Dzięki zastosowaniu metody sekwencjonowania wykryłam w DNA *H. pylori* nie jedną ale różne mutacje punktowe, warunkujące oporność na klarytromycynę i lewofloksacynę.



Przeprowadziłam również analizę korelacji między zmianami molekularnymi w genomie pałeczek *H. pylori* odpowiedzialnych za zakażenia a fenotypowym profilem oporności.

Dzięki zaproszeniu organizatorów, wyniki pracy przedstawiłam podczas Międzynarodowej Konferencji: 2nd *International Caparica Conference in Antibiotic Resistance*. Caparica, Portugal, 12th-15th June 2017. Proceedings book; s.112-113 poz.O36A.

#### Praca nr 5 cyklu:

*Phenotypic and genotypic analysis of resistant Helicobacter pylori strains isolated from children with gastrointestinal diseases.* [AUT.] **MONIKA MARIA BIERNAT**, ALDONA BIENKOWSKA, ŁUKASZ ŁACZMAŃSKI, PAWEŁ BIERNAT, PAWEŁ KRZYŻEK, GRAŻYNA GOŚCINIAK. *Diagnostics* 2020 Vol.10 no.10 art.759 [12 s.], ryc. tab. bibliogr. 43 poz. summ. DOI: 10.3390/diagnostics10100759

Praca 5 jest kontynuacją badań przedstawionych w pracy 4. Celem tej pracy było porównanie częstości występowania mutacji, warunkujących oporność na klarytromycynę i metronidazol u dzieci z różnym rozpoznaniem klinicznym. Jak już opisałam wcześniej, największe znaczenie kliniczne dla oporności na klarytromycynę mają trzy mutacje punktowe: A2143G, A2142G oraz A2142C. Natomiast za oporność na metronidazol są przede wszystkim odpowiedzialne mutacje w genie *rdxA*, który koduje nitroreduktazę RdxA niewrażliwą na tlen. Mutacje w genie *rdxA* mogą prowadzić do braku aktywności enzymatycznej tego białka. Badania na strukturą RdxA *H. pylori* wskazują, że może ona należeć do nowej subgrupy oksydoreduktaz, w których cysteinowy łańcuch boczny zamyka rejon kofaktora FMN i odpowiada za aktywność redukcyjną. Wydaje się więc, że mutacja C159 na A lub S (C159A/S) prowadzi do utraty aktywności redukcji metronidazolu, zachowując jednocześnie aktywność reduktazy NADPH [17]. Poznana struktura RdxA umożliwia charakterystykę mutacji, które mogą prowadzić do utraty funkcji reduktazy. Inne białka, np. oksydoreduktaza NADPH kodowana przez gen *frxA* lub enzymy podobne do ferrodoksyny kodowane przez gen *frxB*, mogą także mieć wpływ na proces redukcji.

Badania przeprowadziłam z użyciem 91 szczepów *H. pylori*, wyizolowanych od 108 dzieci z zakażeniem pierwotnym, diagnozowanych i leczonych w II Katedrze i Klinice Pediatrii, Gastroenterologii i Żywienia Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu w okresie od kwietnia 2016 do marca 2019. Spośród wszystkich badanych szczepów *H. pylori*, 38,5% (35/91) pochodziło od pacjentów z przewlekłym zapaleniem żołądka, 15% (14/91) od chorych z chorobą refluksową przełyku, 16,5% (15/91) od dzieci z chorobą wrzodową żołądka i/lub dwunastnicy, natomiast u 27/91 (30%) pacjentów rozpoznano inne schorzenia przewodu

pokarmowego, takie jak: celiakia (5/27), choroby zapalne jelit (7/27), niedokrwistość z niedoboru żelaza (6/27), niskorosłość (4/27) oraz alergię pokarmową (5/27). Dzieci, od których izolowano szczepy wrażliwe były leczone przez 10-14 dni standardowymi schematami eradykacji zgodnie z wytycznymi Espghan/Naspghan, natomiast dzieci, od których izolowano szczepy odporne na klarytromycynę, metronidazol lub podwójnie odporne były leczone terapią sekwencyjną. Skuteczność eradykacji była oceniana za pomocą szybkiego testu ureazowego lub w razie konieczności za pomocą endoskopii i wynosiła dla terapii sekwencyjnej 100% w przypadku izolacji szczepów opornych na klarytromycynę oraz 72-75% w przypadku izolacji szczepów opornych na metronidazol lub podwójnie opornych.

W pracy wykazałam narastającą tendencję występowania oporności na klarytromycynę i występowania szczepów wielolekoopornych *H. pylori* u dzieci, natomiast oporność na metronidazol kształtowała się na podobnym poziomie, jak w latach poprzednich. Na podstawie przeprowadzonych badań wykazano znaczne różnice w wykrywanych mutacjach punktowych, warunkujących oporność na klarytromycynę między szczepami izolowanymi od dzieci z różnymi schorzeniami przewodu pokarmowego. Potwierdziłam, że najczęstszą mutacją u dzieci, warunkującą oporność na klarytromycynę jest mutacja A2143G, która dominowała wśród wszystkich izolowanych szczepów. W grupie pacjentów z chorobą wrzodową szczepy z tą mutacją stanowiły aż 80% wszystkich szczepów opornych, natomiast w grupie chorych z innymi schorzeniami i z chorobą refluksową przełyku stanowiły ok. 40% szczepów opornych. Szczepy odporne na klarytromycynę, ale bez zmian nukleotydowych w badanym fragmencie genu *23s rRNA*, jak również szczepy wrażliwe praktycznie nie występowały u pacjentów z chorobą wrzodową żołądka i/lub dwunastnicy. W grupie chorych z innymi schorzeniami przewodu pokarmowego, w tym z nieswoistymi zapaleniami jelit, z celiakią i alergią często występowały szczepy wrażliwe, bez mutacji w badanym fragmencie genu (33%, 9/27). Szczepy odporne na klarytromycynę z mutacją A2142G najczęściej były obecne u pacjentów z chorobą refluksową przełyku (21%, 3/14), w pozostałych grupach występowały w niewielkim odsetku.

Mutacje w genie *rdxA* istotnie częściej występowały wśród szczepów opornych niż wrażliwych a różnica w liczbie mutacji wynikała ze zmienności w częściach regulatorowych analizowanego genu.

Ta praca była pierwszą w Polsce, w której zostały przeanalizowane mutacje warunkujące oporność na metronidazol u dzieci i była jedną z nielicznych w literaturze prac badawczych, w której zastała podjęta próba charakterystyki mutacji warunkujących oporność na klarytromycynę szczepów *H. pylori*, występujących u dzieci z różnymi schorzeniami przewodu pokarmowego.

Praca nr 6 cyklu:

*Bacterial infection and non-Hodgkin B-cell lymphoma: interactions between pathogen, host and the tumor environment.* [AUT. KORESP.] **MONIKA MARIA BIERNAT**, [AUT.] TOMASZ WRÓBEL. *Int. J. Mol. Sci.* 2021 Vol.22 no.14 art.7372 [18 s.], ryc. tab. bibliogr. 121 poz. summ. DOI: 10.3390/ijms22147372

Po zmianie miejsca pracy, moja aktywność zawodowa w dużym stopniu jest związana z diagnozowaniem i leczeniem pacjentów z chorobami mielo- i limfoproliferacyjnymi.

Praca nr 6 cyklu dotyczy zagadnienia naturalnych konsekwencji przewlekłego procesu zapalnego, wywołanego zakażeniem *H. pylori*. Celem pracy było przedstawienie roli bakteryjnych czynników infekcyjnych, ze szczególnym uwzględnieniem pałeczek *H. pylori* w patogenezie chłoniaków nieziarniczych.

Chłoniaki nieziarnicze B-komórkowe (ang. *non-Hodgkin B-cell lymphomas*, NHL) zajmują 5 miejsce pod względem częstości występowania nowotworów u dorosłych i charakteryzują się klonalnym rozrostem komórek limfoidalnych, odpowiadających różnym stopniom zróżnicowania prawidłowych limfocytów B, T lub komórek NK. Jest to heterogenna grupa nowotworów układu chłonnego, o złożonej etiopatogenezie, bogatej symptomatologii, i różnym przebiegu klinicznym. Są to: od chłoniaków indolentnych, takich jak chłoniak strefy brzeżnej (ang. *Marginal zone lymphoma*, MZL) czy chłoniak grudkowy do chłoniaków agresywnych jak chłoniak rozlany z dużych komórek B (ang. *Diffuse large b-cell lymphoma*, DLBCL) i chłoniak Burkitta i w konsekwencji odmiennym sposobie leczenia. Chłoniaki strefy brzeżnej (MZL) należą do indolentnych chłoniaków, które wywodzą się z małych komórek B strefy brzeżnej, otaczającej grudkę chłonną i leżącej na zewnątrz od strefy płaszcz. Zgodnie z najnowszą klasyfikacją WHO wśród chłoniaków MZL można wyróżnić trzy rodzaje: chłoniaki pozawęzłowe (ang. *Extranodal marginal zone lymphoma*, EMZL), węzłowe MZL (ang. *Nodal marginal zone lymphoma*, NMZL) i śledzionowe (ang. *Splenic marginal zone lymphoma*, SMZL). Spośród EMZL, które są nazywane chłoniakami MALT (ang. *mucosa associated lymphoid tissue lymphoma*, MALT) i stanowią 70% chłoniaków MZL, zmiany najczęściej lokalizują się w żołądku (ok. 30-50%), rzadziej spotykane są w płucach, skórze, ocular adnexae, śliniankach, tarczycy, piersiach i innych miejscach (ogółem 8% wszystkich NHL) [18, 19]. Uważa się, że do rozwoju chłoniaków MALT przyczyniają się choroby autoimmunologiczne, takie jak zespół Sjögrena i choroba Hashimoto, jednak główną rolę przypisuje się przewlekłemu procesowi zapalnemu, przy czym najlepiej udokumentowany jest związek chłoniaka MALT z przewlekłym zakażeniem *H. pylori* [20].

Choć rola *H. pylori* w rozwoju raka żołądka jest dobrze udokumentowana, patogen ten został uznany przez WHO za karcinogen klasy I, to jednak wciąż nie jest w pełni wyjaśnione dlaczego tylko u niewielkiego odsetka osób zakażonych dochodzi do uruchomienia procesów karcinogenezy i rozwoju raka żołądka i chłoniaków MALT. *H. pylori* posiada unikalne właściwości, pozwalające długotrwale kolonizować błonę śluzową żołądka człowieka i powodować zmiany chorobowe. Do najważniejszych czynników wirulencji tych drobnoustrojów należą białko CagA i toksyna VacA. Wyspa patogenności (*cagPAI*) jest regionem wielkości około 40 tysięcy par zasad. W jej skład wchodzi gen *cagA* (ang. *cytotoxin – associated gene A*) oraz system sekrecji typu IV (ang. *Type Four Secretion Apparatus*, TFSS), który jest zaangażowany w transport białka CagA do komórek nabłonkowych. Białko CagA indukuje komórki nabłonka do sekrecji Interleukiny 8 (IL-8) przez aktywację NF- $\kappa$ B. Białko CagA jest transportowane do komórek nabłonkowych żołądka, w których kinazy z rodziny Src i Abl mogą fosforylować reszty tyrozynowe fragmentu EPIYA (Glu-Pro-Ile-Tyr-Ala) białka CagA. Po fosforylacji CagA wiąże się z domeną wiążącą reszty fosfotyrozyny (ang. *Src homology-2 domain phosphatase*, SHP-2) i moduluje wiele ścieżek sygnałowych poprzez aktywację kinaz retikulum endoplazmatycznego (ERK), kinaz MAPK oraz poprzez wzrost ekspresji białek Bcl-2 i Bcl-XL. Wpływ na ścieżki sygnałowe w komórkach powodują zmiany w budowie i strukturze komórki, prowadząc do reorganizacji cytoszkieletu aktynowego, wydłużania komórek, zaburzenia procesów apoptozy limfocytów B i ich proliferacji. Cytotoksyna wakuolizująca VacA ma zdolność tworzenia wewnątrzkomórkowych wakuoli a efektem jej działania jest uszkodzenie i dezintegracja komórek nabłonkowych żołądka. Badania nadekspresji fragmentu p52 toksyny VacA pokazują, że VacA indukuje produkcję TNF-alfa, IL-1beta, tlenku azotu, rodników tlenu w komórkach linii THP-1 (ang. *Human leukemic cell line*, THP-1). Nadekspresja p52 VacA promuje komórki do apoptozy. Dodatkowo powoduje aktywację NF- $\kappa$ B, co uruchamia kaskadę reakcji, prowadzących do sekrecji cytokin prozapalnych oraz apoptozy komórek. Cytotoksyna powoduje również depolaryzację potencjału błony komórkowej, zmianę przepuszczalności błony mitochondriów, zakłócenie funkcji endosomów i lizosomów, aktywację kinaz procesu nowotworowego, inhibicję prezentacji antygenów oraz aktywności komórek T [21, 22].

Badania prowadzone w ostatnich latach wykazały, że kolonizacja *H. pylori* jest kluczowa we wczesnej fazie limfogenezy. Przewlekłe zakażenie *H. pylori* indukuje wydzielanie przez makrofagi i komórki dendrytyczne cytokin prozapalnych, takich jak interleukina-1 beta (IL-1 $\beta$ ), TNF- $\alpha$ , IL-8 i IL-6 oraz umożliwia różnicowanie się komórek Th1 i Th17, które biorą udział w ustanawianiu przetrwałego stanu zapalnego. W chłoniaku MALT żołądka indukowana

przez *H. pylori* stymulacja antygenowa powoduje powstawanie nacieków z komórek T, które niszczą gruczoły żołądkowe. Te reaktywne limfocyty Th1 CD4+ produkują IFN- $\gamma$  i umożliwiają proliferację nowotworowej komórki B poprzez ko-stymulację CD40L-CD40 i wydzielanie cytokin Th2, głównie interleukiny 4. Wiele limfocytów T CD4+ to supresyjne limfocyty regulatorowe CD25+ forkhead box P3 (FOXP3)+ (Tregs), które są rekrutowane przez nowotworowe limfocyty B. Wydaje się, że obecność większej liczby komórek FOXP3+ w naciekach chłoniaka wiąże się z lepszą odpowiedzią na leczenie eradykacyjne *H. pylori*. Ostatnie wyniki badań wskazują, że ekspresja liganda indukującego proliferację (ang. *A proliferation-inducing ligand*, APRIL) na neutrofilach, eozynofilach i makrofagach naciekających guz, wydaje się być istotna w patogenezie chłoniaków żołądka indukowanych przez pałeczki *H. pylori* [23, 24, 25].

Zgodnie z zaleceniami europejskich towarzystw naukowych: ESMO (ang. *European Society of Medical Oncology*) i EGILS (ang. *European Gastro-Intestinal Lymphoma Study*) oraz wytycznymi NCCN (ang. *National Comprehensive Cancer Network*) zgodnymi z V Raportem z Maastricht/Florence, eradykacja zakażenia *H. pylori* za pomocą skojarzenia antybiotyków i inhibitorów pompy protonowej (ang. *Proton pump inhibitor*, PPI) przez 7-14 dni jest leczeniem pierwszego rzutu chłoniaka MALT żołądka [6]. Prowadzone od lat badania epidemiologiczne i kliniczne udowodniły regresję zmian naciekowych po eradykacji *H. pylori* w chłoniakach MALT żołądka o niskim stopniu zaawansowania oraz we wczesnych stadiach chłoniaków agresywnych DLBCL u 60-90% chorych. Na podstawie obserwacji klinicznych, terapia eradykacyjna jest zwykle zalecana w chłoniakach *H. pylori* -pozytywnych, ale jest również wskazana w chłoniakach *H. pylori* -ujemnych, wykazując wskaźniki odpowiedzi na leczenie na poziomie 83% Regresję nacieków chłoniaka zlokalizowanych w błonie śluzowej żołądka odnotowano w ponad 80% przypadków, natomiast w przypadkach z głębszą inwazją w około ponad 50%. Na podstawie najnowszego V konsensusu Maastricht/Florence jako pierwszą linię terapii empirycznej można zastosować również terapię czterolekową, gdzie do terapii trójskładnikowej dodawane są sole bizmutu. Ze względu na niewystarczającą liczbę prospektywnych badań klinicznych nie określono optymalnych schematów terapii chłoniaków żołądka *H. pylori*-dodatnich, opornych na leczenie I rzutu, a także chłoniaków MALT *H. pylori* – ujemnych. U wszystkich chorych, którzy nie odpowiedzieli na leczenie eradykacyjne lub u chorych z chłoniakami *H. pylori*-ujemnymi, a także w przypadkach guzów z obecnością translokacji t(11;18) mniej podatnych na leczenie eradykacyjne, należy rozważyć inne opcje leczenia, w tym radioterapię, chemioterapię i immunoterapię [6].

Oporność szczepów *H. pylori* na antybiotyki stosowane w terapii, głównie



klarytromycynę i lewofloksacynę, może być jedną z przyczyn niepowodzenia leczenia.

Związek pomiędzy zakażeniem *H. pylori* a chłoniakiem rozlanym z dużych komórek B (DLBCL) zlokalizowanym w przewodzie pokarmowym jest postulowany przez badaczy od dawna. DLBCL jest najczęstszym podtypem NHL, obejmuje bardzo heterogenną grupę nowotworów, przy czym wśród pozawęzłowych lokalizacji najczęściej występują pierwotne chłoniaki przewodu pokarmowego. Chłoniak MALT w niektórych przypadkach może stopniowo przechodzić w agresywnego chłoniaka DLBCL. Przez wiele lat uważano, że chłoniak MALT jest zależny od zakażenia *H. pylori* i zależność ta jest tracona wraz z transformacją wysokostopniową, jednak w wielu opublikowanych dotychczas doniesieniach wykazano zależność od *H. pylori* zarówno w chłoniakach MALT żołądka o niskim, jak i wysokim stopniu zaawansowania [26]. Według aktualnej klasyfikacji WHO z 2016 roku zaleca się, aby chłoniaki MALT żołądka, które wykazują transformację do chłoniaka wielkomórkowego, były klasyfikowane jako DLBCL i różni je od chłoniaków DLBCL powstałych de novo brak nacieku komórek centrocytopodobnych w blaszce właściwej oraz brak typowych zmian limfoepitelialnych [19]. Eradykacja *H. pylori* nie jest standardem leczenia pierwotnego DLBCL żołądka. W niektórych badaniach prospektywnych wykazano regresję *H. pylori*-dodatniego chłoniaka DLBCL żołądka we wczesnym stadium (stadium Lugano IE lub II1) po eradykacji zakażenia *H. pylori* i całkowitą odpowiedź u 2/3 chorych. Ponadto wykazano, że u wszystkich chorych skutecznie leczonych eradykacją pierwszej linii, mediana czasu trwania remisji wynosiła 7,7 lat. Co ciekawe, sugerowano, że chłoniaki DLBCL żołądka zależne od *H. pylori* charakteryzują się lepszym przeżyciem całkowitym niż przypadki chłoniaków *H. pylori*-niezależnych [27].

Badania nad rolą czynników infekcyjnych w patogenezie chłoniaków pokazują, że diagnostyka tych zakażeń oraz właściwa antybiotykoterapia powinna być uwzględniona w procesie diagnostycznym i leczniczym.

5.6 Podsumowanie wyników badań cyklu prac stanowiących osiągnięcie naukowe zgłoszone do postępowania habilitacyjnego

#### Wnioski z przeprowadzonych badań:

1. Badania lekowrażliwości klinicznych szczepów *H. pylori* u dzieci i dorosłych wykazały szybką dynamikę oporności na stosowane w terapii antybiotyki i chemioterapeutyki.

2. Wykrycie wysokiej liczby szczepów opornych na karytromycynę i metronidazol oraz szczepów podwójnie opornych na powyższe leki u dzieci i dorosłych wskazuje na ryzyko niepowodzeń terapii empirycznej i uzasadnia konieczność ciągłego monitorowania zjawiska oporności celem modyfikacji zaleceń terapeutycznych i indywidualizacji terapii.
3. Badania wykazały spadek częstości zakażenia *H. pylori* u dzieci z objawami ze strony przewodu pokarmowego z terenu Dolnego Śląska z ok. 23% w latach 2000-2002 na ok. 12% w latach 2011-2013.
4. Monitorowanie lekowrażliwości szczepów *H. pylori* u dzieci w latach 2009-2018 umożliwiło właściwy dobór terapii celowanej.
5. Wyniki badania mutacji, odpowiedzialnych za oporność szczepów *H. pylori* na stosowane antybiotyki i chemioterapeutyki, potwierdzają wysoką zmienność genetyczną tych drobnoustrojów oraz ich wysoką zdolność adaptacji do środowiska bytowania.
6. Przegląd dostępnej literatury potwierdza, że pałeczki *H. pylori*, poprzez wpływ na wiele szlaków sygnałowych w komórce gospodarza oraz wielokierunkowe oddziaływania z komórkami układu immunologicznego, odgrywają ważną rolę w procesie rozwoju chłoniaków nieziarniczych w przewodzie pokarmowym.

#### Piśmiennictwo:

1. Correa P., Piazuelo M. B.: *Natural history of Helicobacter pylori infection*. Dig. Liver Dis. 2008, 40: 490-496.
2. Warren J. R, Marshall B.: *Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis*. Lancet 1983, 4: 1273-1275.
3. Łaszewicz W. W: *Raport z realizacji projektu celowego CZ nr 08-19: Zakażenie H. pylori w Polsce – badania epidemiologiczne u dzieci i dorosłych z uwzględnieniem ryzyka choroby wrzodowej żołądka i dwunastnicy oraz raka żołądka*. Academia Medica Bialostocensis. 2003, 30-39.
4. Kori M, Le Thi TG, Werkstetter K, Sustmann A, Bontems P, Lopes AI, Oleastro M, Iwanczak B, Kalach N, Misak Z, Cabral J, Homan M, Cilleruelo Pascual ML, Pehlivanoglu E, Casswall T, Urruzuno P, Martinez Gomez MJ, Papadopoulou A, Roma E, Dolinsek J, Rogalidou M, Urbonas V, Chong S, Kindermann A, Miele E, Rea F, Cseh Á, Koletzko S; Helicobacter pylori Working Group of ESPGHAN.

- Helicobacter pylori* Infection in Pediatric Patients Living in Europe: Results of the EuroPedHP Registry 2013 to 2016. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2020 Oct;71(4):476-483. doi: 10.1097/MPG.0000000000002816.PMID: 32541200.
5. Tacconelli E, Carrara E, Savoldi A, Harbarth S, Mendelson M, Monnet DL, Pulcini C, Kahlmeter G, Kluytmans J, Carmeli Y, Ouellette M, Outterson K, Patel J, Cavaleri M, Cox EM, Houchens CR, Grayson ML, Hansen P, Singh N, Theuretzbacher U, Magrini N; WHO Pathogens Priority List Working Group. *Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis.* *Lancet Infect Dis.* 2018 Mar;18(3):318-327. doi: 10.1016/S1473-3099(17)30753-3. Epub 2017 Dec 21.PMID: 29276051.
  6. Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain CA, Gisbert JP, Kuipers EJ, Axon AT, Bazzoli F, Gasbarrini A, Atherton J, Graham DY, Hunt R, Moayyedi P, Rokkas T, Rugge M, Selgrad M, Suerbaum S, Sugano K, El-Omar EM; European Helicobacter and Microbiota Study Group and Consensus panel. *Management of Helicobacter pylori infection the Maastricht V/Florence Consensus Report.* *Gut.* 2017 Jan;66(1):6-30. doi: 10.1136/gutjnl-2016-312288. Epub 2016 Oct 5.PMID: 27707777.
  7. Bartnik W, Celińska-Cedro D, Dzieniszewski J, Łaszewicz W, Mach T, Przytułski K, Skrzydło-Radomańska B. *Wytyczne Polskiego Towarzystwa Gastroenterologii dotyczące diagnostyki i leczenia zakażenia Helicobacter pylori.* *Gastroenterologia Praktyczna* 2014, 2, 33-41.
  8. Kori M, Le Thi TG, Werkstetter K, Sustmann A, Bontems P, Lopes AI, Oleastro M, Iwanczak B, Kalach N, Misak Z, Cabral J, Homan M, Cilleruelo Pascual ML, Pehlivanoglu E, Casswall T, Urruzuno P, Martinez Gomez MJ, Papadopoulou A, Roma E, Dolinsek J, Rogalidou M, Urbonas V, Chong S, Kindermann A, Miele E, Rea F, Cseh Á, Koletzko S; Helicobacter pylori Working Group of ESPGHAN. *Helicobacter pylori* Infection in Pediatric Patients Living in Europe: Results of the EuroPedHP Registry 2013 to 2016. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2020 Oct;71(4):476-483.
  9. Łaszewicz W, Iwanczak F, Iwanczak B; Task Force of the Polish Society of Gastroenterology; Task Force of the Polish Society of Gastroenterology. *Seroprevalence of Helicobacter pylori infection in Polish children and adults depending on socioeconomic status and living conditions.* *Adv Med Sci.* 2014 Mar;59(1):147-50.
  10. Bento-Miranda M, Figueiredo C. *Helicobacter heilmannii sensu lato: an overview of*



- the infection in humans*. World J Gastroenterol. 2014 Dec 21;20(47):17779-87.
11. Jones NL, Koletzko S, Goodman K, Bontems P, Cadranet S, Casswall T, Czinn S, Gold BD, Guarner J, Elitsur Y, Homan M, Kalach N, Kori M, Madrazo A, Megraud F, Papadopoulou A, Rowland M; ESPGHAN, NASPGHAN. *Joint ESPGHAN/NASPGHAN Guidelines for the Management of Helicobacter pylori in Children and Adolescents (Update 2016)*. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2017 Jun;64(6):991-1003.
  12. Cooke C. L., Huff J. L., Solnick J. V.: *The role of genome diversity and immune evasion in persistent infection with Helicobacter pylori*. FEMS Immunol.Med. Microbiol. 2005, 45: 11-23.
  13. Andersen L. P.: *Colonization and infection by Helicobacter pylori in humans*. Helicobacter. 2007, 12: 12-16.
  14. Kraft Ch., Stack A., Josenhans Ch., Niehus E., Dietrich G., Correa P., Fox J. G., Falush D., Suerbaum S.: *Genomic changes during chronic Helicobacter pylori infection*. J. Bacteriol. 2006, 188: 249–254.
  15. Taylor D.E., Ge Z., Purych D. et al. Cloning and sequence analysis of two copies of a 23S rRNA gene from *Helicobacter pylori* and association of clarithromycin resistance with 23S rRNA mutations. Antimicrob Agents Chemother 1997;41:2621-8.
  16. Tankovic J., Lascols C., Sculo Q. et. al. *Single and double mutations in gyrA but not in gyrB are associated with low- and high-level fluoroquinolone resistance in Helicobacter pylori*. Antimicrob Agents Chemother, 2003; 47 (12) 3942-3944.
  17. Tanih N. F., Ndip L. M., Ndip R. N. *Characterisation of the genes encoding resistance to metronidazole (rdxA and frxA) and clarithromycin (the 23S-rRNA genes) in South African isolates of Helicobacter pylori*. Ann Trop Med Parasitol. 2011; 105(3):251-9.
  18. Sindel A, Al-Juhaishi T, Yazbeck V. *Marginal Zone Lymphoma: State-of-the-Art Treatment..* Curr Treat Options Oncol. 2019 Dec 5;20(12):90. doi: 10.1007/s11864-019-0687-5.
  19. Swerdlow, S.H.C.J., Sohani, A.R., Pileri, S.A., Harris, N.L., Jaffe, E.S., Stein, H., 2017a. Lymphoplasmacytic lymphoma. In: Swerdlow, S., Campo, E., Harris, N. (Eds.), *WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues, revised 4th edn*. IARC Press, Lyon, pp. 232–235.
  20. Levine AM. *Lymphomas and leukemias due to infectious organisms*. Hematology. 2012 Apr;17 Suppl 1:S87-9.

21. Denic, M.; Touati, E.; De Reuse, H. *Pathogenesis of Helicobacter pylori infection. Helicobacter* 2020, 25 (Suppl. 1), e12736.
  22. Nakamura, S.; Matsumoto, T. *Helicobacter pylori and gastric mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma: Recent progress in pathogenesis and management. World J. Gastroenterol.* 2013, 7, 8181–8187.
  23. Barth, T.F.; Bentz, M.; Döhner, H.; Möller, P. *Molecular aspects of B-cell lymphomas of the gastrointestinal tract. Clin. Lymphoma.* 2001, 2, 57–64.
  24. Craig, V.J.; Cogliatti, S.B.; Arnold, I.; Gerke, C.; Balandat, J.E.; Wündisch, T.; Müller, A. *B-cell receptor signaling and CD40 ligand independent T cell help cooperate in Helicobacter-induced MALT lymphomagenesis. Leukemia* 2010, 24, 1186–1196.
  25. Munari, F.; Lonardi, S.M.; Cassatella, M.A.; Doglioni, C.; Cangi, M.G.; Amedei, A.; Facchetti, F.; Eishi, Y.; Rugge, M.; Fassan, M.; et al. *Tumor-associated macrophages as major source of APRIL in gastric MALT lymphoma. Blood* 2011, 117, 6612–6616.
  26. Ferreri, A.J.; Govi, S.; Raderer, M.; Mulè, A.; Andriani, A.; Caracciolo, D.; Devizzi, L.; Ilariucci, F.; Luminari, S.; Viale, E.; et al. *Helicobacter pylori eradication as exclusive treatment for limited-stage gastric diffuse large B-cell lymphoma: Results of multicenter phase 2 trial. Blood* 2012, 120, 3858–3860.
  27. Kuo, S.H.; Yeh, K.H.; Chen, L.T.; Lin, C.W.; Hsu, P.N.; Hsu, C.; Wu, M.S.; Tzeng, Y.S.; Tsai, H.J.; Wang, H.P.; et al. *Helicobacter pylori related diffuse large B-cell lymphoma of the stomach: A distinct entity with lower aggressiveness and higher chemosensitivity. Blood Cancer J.* 2014, 4, e220.
- 
6. Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej.
- 
- 6.1 Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych nie wchodzących w skład rozprawy habilitacyjnej
- 
- 6.1.1 Analiza bibliometryczna dorobku
- Mój dotychczasowy dorobek naukowy, w którym jestem autorem/współautorem obejmuje 51 prac, w tym 39 prac oryginalnych, 9 prac poglądowych, 1 opisu przypadku, 1 listu naukowego do redakcji czasopisma, 1 rozdziału w monografii naukowej.

Jestem też autorem/współautorem **57** komunikatów zjazdowych prezentowanych na **19** krajowych i **38** międzynarodowych konferencjach naukowych.

Sumaryczny współczynnik wpływu (ang. *impact factor*, IF) wynosi **80,100** i **punktacja MNiSW =1586**. Sumaryczny Impact Factor (**IF**) wszystkich prac z wyłączeniem z listy 6 publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego wynosi **61,741**, i liczba **punktów MNiSW= 1286**.

**Liczba cytowań** publikacji według bazy Web of Science Core Collection wynosi **283** (bez autocytowań **257**) z dn. 30.08.2021.

**Indeks Hirscha** (H-index) według bazy Web of Science wynosi **10** (30.08.2021).

## 6.2 Działalność naukowo-badawcza przed uzyskaniem stopnia naukowego doktora

Po ukończeniu studiów na Wydziale Lekarskim Akademii Medycznej im. Piastów Śląskich (później Uniwersytetu Medycznego) we Wrocławiu w latach 1995-2001, odbyłam staż podyplomowy w Samodzielnym Publicznym Szpitalu Klinicznym Nr 1 we Wrocławiu (2001-2002). W grudniu 2002 roku podjęłam pracę w Katedrze i Zakładzie Mikrobiologii Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu na stanowisku asystenta. Od początku zatrudnienia brałam udział w pracach badawczych dotyczących diagnostyki i patomechanizmu zakażeń drobnoustrojów z rodzaju *Helicobacter* oraz *Chlamydia trachomatis* oraz *Demodex*.

### 6.2.1 Związek pałeczek *Helicobacter pylori* w chorobach zapalnych i schorzeniach poza przewodem pokarmowym. Inne gatunki *Helicobacter* u ludzi i zwierząt.

Rodzaj *Helicobacter* liczy obecnie ponad 20 opisanych gatunków i stale powiększa się o nowo odkrywane drobnoustroje. Są wśród nich: *H. heilmannii*, *H. mustelae*, *H. felis*, *Wolinella succinogenes*, które kolonizują górny odcinek przewodu pokarmowego oraz *H. hepaticus*, *H. bilis*, *H. pullorum*, *H. ganmani* i in. zwane gatunkami jelitowo-wątrobowymi (ang. *Enterohepatic Helicobacter Species*, EHS), które są zdolne do kolonizacji jelit i wątroby.

Zakażenie *H. pylori* może być czynnikiem inicjującym wiele procesów patologicznych w organizmie człowieka i prowadzi w konsekwencji do różnych schorzeń, zarówno u dzieci jak i u dorosłych, zlokalizowanych w przewodzie pokarmowym, jak również poza nim.

Dotychczas dobrze udokumentowana jest rola tych drobnoustrojów w chłoniaku typu MALT, niedokrwistości z niedoboru żelaza oraz w chorobie Parkinsona. Rozważa się udział zakażenia *H. pylori* w patogenezie innych schorzeń, takich jak: zaburzenia wzrostu, zaburzenia wchłaniania, alergie pokarmowe, schorzenia hematologiczne, autoimmunologiczne. Trwają prace ustaleniem roli drobnoustrojów z rodzaju *Helicobacter* w chorobach wątroby, a także schorzeniach dermatologicznych, kardiologicznych oraz neurologicznych. Cykl prac dotyczących roli bakterii z rodzaju *Helicobacter* w chorobach zapalnych jelit i wątroby powstał z mojej inicjatywy w ramach projektu badawczego pt. „Udział drobnoustrojów z rodzaju *Helicobacter* w chorobach wątroby i dróg żółciowych” realizowanego w latach 2004-2006 finansowanego ze środków Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu.

Prace badawcze były realizowane przy współpracy lekarzy z Katedry i Kliniki Chorób Zakaźnych, Chorób Wątroby i Nabytych Niedoborów Odpornościowych Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu. Celem projektu było ustalenie, czy istnieje zależność pomiędzy zakażeniem wątroby lub dróg żółciowych drobnoustrojami z rodzaju *Helicobacter* a zmianami patologicznymi tego narządu oraz określenie częstości występowania zakażeń wątroby i dróg żółciowych drobnoustrojami z rodzaju *Helicobacter*. Wśród przebadanych w ramach projektu 56 pacjentów z różnymi schorzeniami wątroby nie wykryto zakażenia drobnoustrojami z rodzaju *Helicobacter* przy zastosowaniu metod hodowlanych. Dzięki zastosowaniu techniki PCR wykryto gen ureazy charakterystyczny dla rodzaju *Helicobacter* w siedmiu biopsjach, czyli u 12,5% pacjentów. Przeciwciała klasy IgG anty - *H. pylori* stwierdzono u 7/7 (100%) spośród pacjentów z dodatnim wynikiem badania PCR w kierunku zakażenia *H. pylori*. W przeprowadzonym projekcie wykazano obecność materiału genetycznego pałeczek *H. pylori* w biopsjach wątroby, pobranych od chorych z różnymi przewlekłymi chorobami tego narządu. Obserwacje te stanowią ważny wkład w prace wielu badaczy na całym świecie nad ustaleniem roli zakażenia różnych gatunków z rodzaju *Helicobacter* w patogenezie przewlekłych chorób wątroby u ludzi.

*Gatunki Helicobacter izolowane z przewodu pokarmowego człowieka (Helicobacter species in digestive tract in humans).* [AUT.] **MONIKA BIERNAT**, **GRAŻYNA GOŚCINIĄK**. *Adv.Clin.Exp.Med.* 2006 Vol.15 no.1 s.113-120, tab. bibliogt. 40 poz. streszcz. summ.

*Helicobacter spp. infection and chronic liver diseases.* [AUT.] **MONIKA BIERNAT**, **GRAŻYNA GOŚCINIĄK**, **KRZYSZTOF SIMON**, **BRYGIDA KNYSZ**, **KATARZYNA ROTTER**, **JOANNA GRABIŃSKA**, **KATARZYNA FLEISCHER**. *Adv.Clin.Exp.Med.* 2007

Vol.16 no.4 s.537-542, tab. bibliogr. 27 poz. streszcz. summ.

*Rola Helicobacter hepaticus w chorobach wątroby i dolnego odcinka przewodu pokarmowego (Role of Helicobacter hepaticus in lower gastrointestinal tract and liver diseases).* [AUT.] **MONIKA BIERNAT**, GRAŻYNA GOŚCINIAK. *Adv.Clin.Exp.Med.* 2003 Vol.12 no.6 s.785-789, tab. bibliogr. 24 poz. streszcz. abstr.

*The role of environmental Helicobacter heilmannii infection in etiopathogenesis of gastric diseases.* [AUT.] GRAŻYNA GOŚCINIAK, JACEK SKAŁA, KRZYSZTOF KUBIAK, BARBARA IWAŃCZAK, **MONIKA BIERNAT**, JOANNA GRABIŃSKA. *Gastroenterol.Pol.* 2006 T.13 nr 4 s.320-323, ryc. tab. bibliogr. 14 poz. streszcz. summ.

*Przeciwciała w zakażeniach Helicobacter spp. u psów (Serum antibodies to Helicobacter spp. in dogs).* [AUT.] GRAŻYNA GOŚCINIAK, **MONIKA BIERNAT**, KRZYSZTOF KUBIAK, KATARZYNA PAWLUS, JOANNA GRABIŃSKA, MARCIN JANKOWSKI. *Med.Weter.* 2008 Vol.64 nr 7 s.903-905, tab. bibliogr. 19 poz. summ.

*Różnice we wrażliwości szczepów Helicobacter pylori na metronidazol w zależności od metody oznaczania (Differences of susceptibility to metronidazole in clinical isolates of Helicobacter pylori strains in relation to detection methods).* [AUT.] GRAŻYNA GOŚCINIAK, KATARZYNA KOPER, **MONIKA BIERNAT**, BARBARA IWAŃCZAK, JOANNA GRABIŃSKA. *Diagn.Lab.* 2006 T.42 nr 1 s.103-109, ryc. bibliogr. 16 poz. streszcz. summ.

6.3 Pozostałe kierunki badań po uzyskaniu stopnia naukowego doktora. Główne kierunki badawcze.

Pracę doktorską pt. „Cechy genetyczne warunkujące chorobotwórczość szczepów *Helicobacter pylori*” obroniłam w 2009 roku na Wydziale Lekarskim Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu. Promotorem rozprawy była prof. dr n. med. Grażyna Gościniak a recenzentkami były prof. Anna Przondo-Mordarska i prof. Stefania Giedrys-Kalemba.

Po uzyskaniu stopnia doktora kontynuowałam prace badawcze, dotyczące mechanizmów patogenetycznych zakażenia *H. pylori*, cech wirulencji tego drobnoustroju oraz

jego lekowrażliwości, które były prowadzone w ramach działalności statutowej, w ramach współpracy międzynarodowej z prof. Francisem Mégraud z Uniwersytetu w Bordeaux oraz w ramach grantów badawczych i zaowocowały publikacjami naukowymi (wykaz w załączeniu), doniesieniami zjazdowymi na zjazdach krajowych i zagranicznych.

Publikacje opublikowane po uzyskaniu stopnia naukowego doktora

Impact Factor łącznie (IF) = **80,100**

Impact Factor (IF) bez cyklu = **61,741**

Pkt MNiSW łącznie = **1586**

W tym:

Pkt MNiSW = 455 (do 2018)

Pkt MNiSW = 870 (od 2019)

Pkt MNiSW bez cyklu = **1286**

#### Główne kierunki badawcze:

##### 6.3.1 Patogeneza zakażenia *Helicobacter pylori*

Zwiększona zjadliwość pałeczek *H. pylori* jest ściśle związana z obecnością określonych czynników wirulencji, które z punktu widzenia funkcji, jaką pełnią w przebiegu zakażenia w organizmie człowieka, można podzielić na trzy kategorie: czynniki kolonizacji, czynniki pozwalające uciec przed mechanizmami obronnymi gospodarza oraz substancje prowadzące do niszczenia tkanek. Prowadzone przeze mnie badania, rozpoczęte w ramach przygotowania pracy doktorskiej i kontynuowane po jej obronie, dotyczyły określenia częstości występowania wybranych genów kodujących czynniki wirulencji, odpowiedzialne za chorobotwórczość *H. pylori*, takich jak: gen *cagA* (odpowiedzialny za kodowanie silnie immunogennego białka CagA), gen *vacA* (allele *s1/s2*, *s1a/s1b*, *m1/m2*) kodujący cytotosynę wakuolizującą VacA, oraz geny *iceA*, *babA*, i *dupA* wśród szczepów klinicznych, monitorowanie oporności klinicznych szczepów *H. pylori* na antybiotyki oraz ocena odpowiedzi immunologicznej na zakażenie u dzieci zakażonych *H. pylori*. W prowadzonych badaniach wykazano, że częstość nabywania i występowania poszczególnych genów wirulencji przez szczepy *H. pylori* wzrastała wraz z wiekiem badanych dzieci, natomiast najwyższy poziom przeciwciał anti-CagA i anti-VacA występował u dzieci najmłodszych 2-6 letnich i



stopniowo obniżał się wraz z wiekiem. Uzyskane wyniki przedstawiono w poniższych publikacjach.

*Występowanie przeciwciał dla białka CagA i cytotoksyny wakuolizującej VacA u dzieci z zakażeniem Helicobacter pylori* (The prevalence of anti-CagA and anti-VacA antibodies in children with Helicobacter pylori infection). [AUT.] GRAŻYNA GOŚCINIĄK, **MONIKA BIERNAT**, JOANNA GRABIŃSKA, BARBARA IWAŃCZAK. *Przegl. Gastroenterol.* 2009 T.4 nr 2 s.79-82, ryc. tab. bibliogr. 18 poz. streszcz. summ. **IF 0,103. PKT MNiSW 9,00.**

*Prevalence of Helicobacter pylori cagA, vacA, iceA, babA2 genotypes in Polish children and adolescents with gastroduodenal disease.* [AUT.] **MONIKA MARIA BIERNAT**, GRAŻYNA GOŚCINIĄK, BARBARA IWAŃCZAK. *Post.Hig.Med.Dośw.* 2014 Vol.68 s.1015-1021, bibliogr. 30 poz. streszcz. summ. DOI: 10.5604/17322693.1118211. **IF 0,573. PKT MNiSW 15,00.**

Niepowodzenie eradykacji *H. pylori* jest nie tylko związane z mechanizmami oporności na stosowane leki, ale także z innymi czynnikami, zarówno ze strony samej bakterii, jak też ze strony gospodarza. Liczba komórek bakterii w błonie śluzowej żołądka jest bardzo duża i powoduje tzw. efekt inokulum, tj. zwiększonej liczby bakterii. Spora część populacji bakterii jest związana z błoną śluzową i tworzy na jej powierzchni biofilm, natomiast niewielka ilość komórek bakterii lokalizuje się wewnątrzkomórkowo i pozostaje niewrażliwa na antybiotyki. Wewnątrzkomórkowa populacja komórek *H. pylori* nie jest aktywna (ang. *dormant*), i przeżywa w tej formie do czasu, aż leczenie zostaje przerwane. Zdolność tworzenia biofilmu jest prawdopodobnie odpowiedzialna za niepowodzenia eradykacji *H. pylori*, które występują u ok. 10-20% osób zakażonych. Ponadto biofilm może przyczyniać się do przetrwania szczepów *H. pylori* w ognisku zakażenia i prowadzić do reinfekcji. Omówienie tego problemu przedstawiono w poniższej publikacji.

*The role of biofilm formation in pathogenesis of Helicobacter pylori infections.* [AUT.] ALDONA BIŃKOWSKA, **MONIKA BIERNAT**, IRENA DUŚ, GRAŻYNA GOŚCINIĄK. *Przegl. Gastroenterol.* 2013 T.8 nr 1 s.27-30, bibliogr. 24 poz. streszcz. summ. DOI: 10.5114/pg.2013.34179. **IF 0,376. PKT MNiSW 15,00.**

Jednym ze sposobów adaptacji do zmian środowiskowych jest zdolność *H. pylori* do zmian morfologicznych komórek. Mikroorganizm ten występuje w dwóch formach

morfologicznych, tj. spiralnej - żywej, którą można uzyskać w hodowli *in vitro* i oraz kokoidalnej - żywotnej, ale nie nadającej się do hodowli. Przejście morfologiczne z formy spiralnej do kulistej obserwuje się w suboptymalnych warunkach środowiskowych, takich jak aerobioza, zmiany temperatury lub pH, przedłużona hodowla lub ekspozycja na antybiotyki lub inhibitory pompy protonowej w warunkach *in vitro*. Postuluje się, że zwiększona filamentacja komórek może być cechą bakterii komensalnych, podczas gdy tworzenie form kokoidalnych jest cechą patogenności. Brałam udział w pracach zespołu badawczego, który wykazał, że na morfologię szczepów *H. pylori* może wpływać profil wirulencji. Mniej wirulentne szczepy *H. pylori* miały mniejszy potencjał do tworzenia form kokoidalnych niż szczepy wysoce patogenne. Ponadto, szczepy o niższej patogenności, charakteryzowały się obecnością form nitkowatych/wydłużonych, czego nie obserwowano u szczepów o wysokiej zjadliwości. Wyniki badań przedstawiono w poniższej publikacji.

*Intensive formation of coccoid forms as a feature strongly associated with highly pathogenic Helicobacter pylori strains.* [AUT.] PAWEŁ KRZYŻEK, MONIKA M. BIERNAT, GRAŻYNA GOŚCINIAK. *Folia Microbiol.* 2019 Vol.64 no.3 s.273-281, ryc. tab. bibliogr. summ. DOI: 10.1007/s12223-018-0665-5. **IF 1,730. PKT MNiSW 40,00.**

#### 6.3.2 Zakażenie pałeczkami z rodzaju *Helicobacter* u zwierząt

Moja współpraca i całego zespołu Pracowni Diagnostyki *Helicobacter pylori* Katedry i Zakładu Mikrobiologii z lekarzami weterynarzami z Katedry Chorób Wewnętrznych z Kliniką Koni, Psów i Kotów, Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu, kierującymi ministerialnym projektem badawczym na temat występowania zakażeń drobnoustrojami z rodzaju *Helicobacter* u psów i kotów zaowocowała cyklem publikacji, przedstawionych poniżej. Moja rola w projekcie polegała na opracowaniu metod hodowli i identyfikacji gatunków *Helicobacter* w próbkach klinicznych (wycinkach błony śluzowej żołądka i żółci), izolowanych od zwierząt, opracowaniu metody wykrywania przeciwciał w surowicy zwierząt, skierowanych przeciwko antygenom *Helicobacter*, opracowaniu wyników badań, analizie dostępnej literatury i merytorycznym wsparciu dla kierowników projektu.

Badania te miały nowatorski charakter w skali kraju i Europy, ponieważ w weterynarii diagnostyka choroby wrzodowej i zapalenia żołądka nie była rutynowo stosowana. Ponadto większość gatunków z rodzaju *Helicobacter* innych niż *H. pylori*, należy do bakterii bardzo trudnych lub wręcz niemożliwych do wyhodowania w warunkach *in vitro*. W oparciu o



doświadczenia własne habilitantki, próba hodowli innych gatunków z rodzaju *Helicobacter* z materiału klinicznego, zarówno u zwierząt jak i u ludzi udała się tylko w kilku przypadkach.

*Risk factors of gastric ulcers in dogs.* [AUT.] MARCIN JANKOWSKI, JOLANTA SPUŻAK, KRZYSZTOF KUBIAK, KAMILA GLIŃSKA-SUCHOCKA, **MONIKA BIERNAT**, ZDZISŁAW KIEŁBOWICZ. *Pak.Vet.J.* 2015 Vol.35 no.1 s.93-97, ryc. bibliogr. 26 poz. summ. IF **0,822**.

*Detection of gastric Helicobacter spp. in stool samples of dogs with gastritis.* [AUT.] M. JANKOWSKI, J. SPUŻAK, K. KUBIAK, K. GLIŃSKA-SUCHOCKA, **MONIKA BIERNAT**. *Pol.J.Vet.Sci.* 2016 Vol.19 no.2 s.237-243, ryc. tab. bibliogr. 23 poz. summ. DOI: 10.1515/pjvs-2016-0030. IF **0,697**. PKT MNiSW **20,00**.

*Detection of Helicobacter spp. in the saliva of dogs with gastritis.* [AUT.] M. JANKOWSKI, J. SPUŻAK, K. KUBIAK, K. GLIŃSKA-SUCHOCKA, **MONIKA BIERNAT**. *Pol.J.Vet.Sci.* 2016 Vol.19 no.1 s.133-140, ryc. tab. bibliogr. 41 poz. summ. DOI: 10.1515/pjvs-2016-0017. IF **0,697**. PKT MNiSW **20,00**.

*An evaluation of the usefulness of invasive and non-invasive methods used to diagnose Helicobacter spp. infections in dogs.* [AUT.] M. JANKOWSKI, J. SPUŻAK, K. KUBIAK, K. GLIŃSKA-SUCHOCKA, **MONIKA BIERNAT**. *Pol.J.Vet.Sci.* 2017 Vol.20 no.3 s.491-499, ryc. tab. bibliogr. summ. DOI: 10.1515/pjvs-2017-0059. IF **0,839**. PKT MNiSW **20,00**.

#### 6.3.3. Poszukiwanie nowych substancji o aktywności wobec pałeczek *Helicobacter pylori*

Wobec narastającej oporności pałeczek *H. pylori* na stosowane w terapii antybiotyki i chemioterapeutyki istnieje konieczność poszukiwania nowych związków syntetycznych i naturalnych, które wykazują aktywność przeciwbakteryjną i mogłyby stanowić alternatywę dla leków stosowanych w aktualnych schematach terapeutycznych. Prezentowany w tej części cykl prac jest wynikiem mojej współpracy z pracownikami Katedry Chemii Bioorganicznej, Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej w ramach ministerialnego projektu naukowego pt. „Nowe inhibitory ureazy jako czynnik ograniczający rozwój patogennych szczepów ureolitycznych”. W pracach wykazano, że pochodne ebselenu, aminofosfonowe inhibitory ureazy oraz terpenoidy, z uwagi na wysoką aktywność hamującą ureazę *H. pylori*,

stanowią obiecującą grupę kandydatów na leki, które w przyszłości mogą zostać wykorzystane do leczenia zakażeń *H. pylori*. Moja rola w projekcie badawczym polegała na opracowaniu metody i przygotowaniu płynnych hodowli wzorcowego szczepu J99 *H. pylori*. Hodowle były następnie wykorzystywane do dalszych analiz, wykonywanych w laboratoriach Politechniki Wrocławskiej. W przypadku pałeczek *H. pylori* hodowla jest bardzo trudna i czasochłonna, trwa zazwyczaj 3-5 dni na bogatych i selektywnych podłożach, wzbogaconych o specjalne suplementy takie jak: krew końska, surowica płodowa cielęca i in. Dodatkowo hodowla musi być prowadzona w warunkach mikroaerofilnych w specjalnych cieplarkach. We wspomnianym projekcie płynne hodowle były prowadzone w żarach i w cieplarni w temp. 37 st. C z funkcją wytrząsania, tak aby zachować wysoką żywotność hodowanych szczepów, gdyż tylko w takich warunkach produkcja ureazy przez pałeczki *H. pylori* była intensywna i umożliwiała przeprowadzenie kolejnych etapów badań projektu. Wyniki projektu zostały przedstawione w następujących publikacjach.

*1,2-benzisoselenazol-3(2H)-one derivatives as a new class of bacterial urease inhibitors.* [AUT.] KATARZYNA MACEGONIUK, EWA GRELA, JERZY PALUS, EWA RUDZIŃSKA-SZOSTAK, AGNIESZKA GRABOWIECKA, **MONIKA BIERNAT**, ŁUKASZ BERLICKI. *J.Med.Chem.* 2016 Vol.59 no.17 s.8125-8133, ryc. tab. bibliogr. 60 poz. summ. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.6b00986. **IF 6,259. PKT MNiSW 45,00.**

*Aminophosphinates against Helicobacter pylori ureolysis - biochemical and whole-cell inhibition characteristics.* [AUT.] KATARZYNA MACEGONIUK, EWA GRELA, **MONIKA BIERNAT**, MATEUSZ PSURSKI, GRAŻYNA GOŚCINIAK, ANNA DZIELAK, ARTUR MUCHA, JOANNA WIETRZYK, ŁUKASZ BERLICKI, AGNIESZKA GRABOWIECKA. *PLoS One* 2017 Vol.12 no.8 art.e0182437 [20 s.], ryc. tab. bibliogr. 42 poz. summ. DOI: 10.1371/journal.pone.0182437. **IF 2,766. PKT MNiSW 40,00.**

*Synthesis of terpenoid oxo derivatives with antiureolytic activity.* [AUT.] AGATA KOZIOŁ, KATARZYNA MACEGONIUK, EWA GRELA, AGNIESZKA GRABOWIECKA, **MONIKA BIERNAT**, STANISŁAW LOCHYŃSKI. *Mol.Biol.Rep.* 2019 Vol.46 no.1 s.51-58, ryc. tab. bibliogr. 37 poz. summ. DOI: 10.1007/s11033-018-4442-y. **IF 1,402. PKT MNiSW 70.**

#### 6.3.4. Zakażenia drobnoustrojami z rodzaju *Demodex* spp.

W trakcie mojej pracy w Katedrze i Zakładzie Mikrobiologii zajmowałam się również diagnostyką zakażeń *Demodex* spp. i byłam współtwórczynią opracowania metod diagnostycznych w naszej pracowni, służących identyfikacji tych roztoczy w materiale klinicznym, pobranym od pacjentów z zapaleniem brzegów powiek. *Demodex* spp. zaliczany jest do roztoczy powszechnie występujących na skórze człowieka i zwierząt. U ludzi opisano dwa gatunki nużeńca *Demodex folliculorum* pasożytującego w mieszkach włosowych oraz *Demodex brevis* w gruczołach łojowych i gruczołach Meiboma. Najczęściej lokalizują się na twarzy w okolicy nosowo-wargowej, na czole i policzkach. Zarażenie tym roztoczem w populacji ludzi jest bardzo powszechne, a u osób powyżej 70 roku życia może wynosić nawet u 90% osób i najczęściej jest związane z występowaniem trądziku różowatego. Celem 10-letniej obserwacji przedstawionej w publikacji była analiza częstości występowania *Demodex* spp. u osób z przewlekłym zapaleniem brzegów powiek oraz u osób bez objawów okulistycznych oraz ocena korelacji między występowaniem tego schorzenia a czynnikami takimi jak wiek, płeć, choroby współistniejące, alergia w wywiadzie. Badaniem objęłam grupę 668 osób dorosłych. Obecność nużeńca wykazałam u 58,45% pacjentów, natomiast u osób zdrowych w 24% i różnica ta była istotna statystycznie. Częstość występowania nużycy ocznej istotnie korelowała z zapaleniem brzegów powiek oka i wzrastała wraz z wiekiem. Wyniki przeprowadzonych badań prezentowałam w formie ustnego doniesienia na międzynarodowej konferencji European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID); 27th International Congress of Chemotherapy. Milan (Italy), 7-10 May 2011.

*Occurrence of Demodex species in patients with blepharitis and in healthy individuals: a 10-year observational study.* [AUT.] **MONIKA MARIA BIERNAT, JOLANTA RUSIECKA-ZIÓŁKOWSKA, ELŻBIETA PIĄTKOWSKA, IWONA HELEMEJKO, PAWEŁ BIERNAT, GRAŻYNA GOŚCINIAK.** *Jpn.J.Ophthalmol.* 2018 Vol.62 no.6 s.628-633, tab. bibliogr. 21 poz. summ. DOI: 10.1007/s10384-018-0624-3. **IF 1,653. PKT MNiSW 25.**

#### 6.3.5 Powikłania infekcyjne w przebiegu terapii pacjentów hematologicznych

Po uzyskaniu specjalizacji z mikrobiologii lekarskiej rozpoczęłam pracę w charakterze konsultanta w pracowni MikroFAM oraz w roku 2011 w Katedrze i Klinice Hematologii, Nowotworów Krwi i Transplantacji Szpiku w charakterze lekarza mikrobiologa - konsultanta.

W mojej pracy zawodowej wielokrotnie miałam okazję współpracować z lekarzami innych specjalności, zwłaszcza gastroenterologami, hematologami, anestezjologami, okulistami, specjalistami chorób zakaźnych i in. w zakresie doboru antybiotyków, leków przeciwgrzybiczych i przeciwwirusowych w terapii zakażeń pacjentów diagnozowanych i leczonych we wrocławskich szpitalach. Z tej współpracy zrodziło się wiele pomysłów prac badawczych i tematów naukowych spotkań, wykładów i szkoleń.

W roku 2018 rozpoczęłam pracę w Klinice Hematologii Nowotworów Krwi i Transplantacji Szpiku na stanowisku adiunkta. Od czasu przeniesienia do Katedry i Kliniki Hematologii, Nowotworów Krwi i Transplantacji Szpiku kontynuowałam prace badawcze nad pałeczkami *H. pylori*. Naturalną konsekwencją tych zainteresowań było poznanie roli drobnoustrojów z rodzaju *Helicobacter* w patogenezie chorób hematologicznych, w tym niedokrwistości, małopłytkowości oraz chłoniaków nieziarniczych. Szczególnym obszarem moich zainteresowań, zarówno w codziennej praktyce klinicznej, jak i w badaniach naukowych, są również powikłania infekcyjne u pacjentów oddziałów hematoonkologicznych i oddziałów przeszczepowych. Zainteresowania te realizowałam w ramach współpracy z innymi krajowymi ośrodkami hematologicznymi, co zaowocowało cyklem publikacji, dotyczącym powikłań infekcyjnych u pacjentów poddawanych procedurze megachemioterapii wspomaganej auto- i allogenicznym przeszczepieniem krwiotwórczych komórek macierzystych.

W pracach tych wykazaliśmy na podstawie badań wieloośrodkowych, że starszy wiek pacjentów dorosłych, przeszczep od nie w pełni zgodnego dawcy, rozpoznanie ostrej białaczki, przewlekła choroba przeszczep przeciwko gospodarzowi (ang. *graft versus host disease*, GvHD), reaktywacja zakażenia wirusem cytomegalii (ang. *Cytomegalovirus*, CMV), zakażenie pałeczkami Gram-ujemnymi i czas trwania infekcji > 21 dni były istotnymi czynnikami ryzyka zgonu z powodu zakażenia po allogenicznym przeszczepieniu krwiotwórczych komórek macierzystych. Natomiast procedura megachemioterapii wspomaganej autologicznym przeszczepieniem krwiotwórczych komórek macierzystych u pacjentów z rozpoznaniem szpiczaka plazmocytoowego wiązała się z niskim ryzykiem wystąpienia zakażeń zagrażających życiu, przy czym zakażenia wywołane przez wielolekooporne bakterie oraz zakażenia o etiologii mieszanej wiązały się z większą śmiertelnością.

*Age-dependent determinants of infectious complications profile in children and adults after hematopoietic cell transplantation: lesson from the nationwide study.* [AUT.] KRZYSZTOF CZYŻEWSKI, JAN STYCZYŃSKI, SEBASTIAN GIEBEL, JOWITA FRĄCZKIEWICZ, MAŁGORZATA SALAMONOWICZ, OLGA ZAJĄC-SPYCHAŁA, AGNIESZKA ZAUCHA-PRAŻMO, JOANNA DROZD-SOKOŁOWSKA, ANNA WASZCZUK-GAJDA, JAROSŁAW DYBKO, JOANNA MAŃKO, PATRYCJA ZALAS-WIĄCEK, PRZEMYSŁAW GAŁĄZKA, MARIUSZ WYSOCKI, JERZY KOWALCZYK, JACEK WACHOWIAK, JOLANTA GOŹDZIK, GRZEGORZ W. BASAK, KRZYSZTOF KAŁWAK, MONIKA ADAMSKA, MAREK HUS, AGNIESZKA PIEKARSKA, ALICJA SADOWSKA-KLASA, PATRYCJA MENSAH-GLANOWSKA, SŁAWOMIRA KYRCZ-KRZEMIENI, **MONIKA BIERNAT**, AGNIESZKA WIERZBOWSKA, PIOTR RZEPECKI, AGNIESZKA TOMASZEWSKA, KAZIMIERZ HAŁABURDA, LIDIA GIL. *Ann.Hematol.* 2019 Vol.98 no.9 s.2197-2211, ryc. tab. bibliogr. 38 poz. summ. DOI: 10.1007/s00277-019-03755-2. **IF 2,904. PKT MNiSW 70.**

*Infectious complications in patients with multiple myeloma after high-dose chemotherapy followed by autologous stem cell transplant: nationwide study of the Infectious Complications Study Group of the Polish Adult Leukemia Group.* [AUT. KORESP.] ANNA WASZCZUK-GAJDA, [AUT.] JOANNA DROZD-SOKOŁOWSKA, GRZEGORZ WŁADYSŁAW BASAK, AGNIESZKA PIEKARSKA, PATRYCJA MENSAH-GLANOWSKA, ALICJA SADOWSKA-KLASA, AGNIESZKA WIERZBOWSKA, PIOTR RZEPECKI, AGNIESZKA TOMASZEWSKA, JOANNA MAŃKO, MAREK HUS, MONIKA ADAMSKA, JOANNA ROMEJKO-JAROSIŃSKA, JAROSŁAW DYBKO, **MONIKA BIERNAT**, SŁAWOMIRA KYRCZ-KRZEMIENI, MARIOLA SĘDZIMIRSKA, NATALIA WINCIOREK, WIESŁAW WIKTOR JĘDRZEJCZAK, JAN STYCZYŃSKI, SEBASTIAN GIEBEL, LIDIA GIL. *Transplant.Proc.* 2020 Vol.52 no.7 s.2178-2185, tab. bibliogr. 20 poz. summ, 14th. DOI: 10.1016/j.transproceed.2020.02.068. **IF 1,066. PKT MNiSW 40.**

*Profilaktyka i leczenie ciężkich zakażeń bakteryjnych w hematologii - stare problemy, nowe wyzwania.* [AUT.] **MONIKA BIERNAT**. *Nowa Hematol.* 2019 s.30-40, tab. bibliogr. 47 poz.



W ramach codziennej praktyki klinicznej, w dobie pandemii COVID-19, od marca 2020 do chwili obecnej opiekuję się pacjentami ze schorzeniami hematologicznym, diagnozowanymi i leczonymi w Klinice Hematologii Nowotworów Krwi i Transplantacji Szpiku, którzy są zakażeni wirusem SARS-CoV-2. W oparciu o moje obserwacje kliniczne, byłam jedną z inicjatorek cyklu publikacji, jaki powstał w naszym ośrodku we współpracy z Katedrą i Kliniką Chorób Zakaźnych i Hepatologii Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu, na temat markerów diagnostycznych, przebiegu oraz leczenia COVID-19 w tej grupie chorych. W naszych obserwacjach wykazaliśmy wysoką śmiertelność u pacjentów z chorobami hematologicznymi i z COVID-19 w porównaniu do pacjentów niezakażonych wirusem SARS-CoV-2. W kolejnej pracy nasz zespół jako jeden z pierwszych w Europie wykazał, że wczesne podanie osocza ozdowieńców u pacjentów z nowotworami hematologicznymi i COVID-19 prowadzi do poprawy stanu klinicznego, szybszej eliminacji wirusa i wydłużenia całkowitego przeżycia chorych. Z kolei badania przeprowadzone w grupie pacjentów dorosłych z łagodnym i ciężkim przebiegiem COVID-19 ale bez chorób hematoonkologicznych, wykazały upośledzenie odporności ochronnej gospodarza u krytycznie chorych pacjentów z COVID-19, zarówno w zakresie odpowiedzi wrodzonej, jak i nabytej. Wczesne zaburzenia u pacjentów z ciężkim przebiegiem COVID-19 obejmowały liczbowo obniżony poziom limfocytów T pomocniczych i T supresorowych, komórek T regulatorowych oraz komórek NK, przy jednoczesnej niewydolności funkcjonalnej tych komórek.

Ostatnia praca omawianego cyklu, stanowi prezentację przypadku wyleczonego 70-letniego pacjenta z ciężkim przebiegiem COVID-19 i z ciężką postacią hemofilii A bez inhibitora. U pacjenta hemofilię rozpoznano w piątym roku życia z poziomem czynnika VIII wynoszącym 0,5% i powikłaną inhibitorem w 50. roku życia z maksymalnym mianem inhibitora do 52 jednostek Bethesda (BU). Inhibitor pojawił się w następstwie intensywnego leczenia substytucyjnego po operacji wszczepienia endoprotezy stawu kolanowego prawego. Pacjenta zakwalifikowano do programu indukcji tolerancji immunologicznej (ang. *Immune tolerance induction*, ITI). Po skutecznej eradykacji inhibitora pacjent od 2013 roku otrzymywał czynnik VIII w ramach profilaktyki wtórnej. W czerwcu 2017 roku pacjent rozpoczął profilaktykę emicizumabem, początkowo otrzymując dawkę 1,5 mg/kg co tydzień, jednak z powodu nawracających epizodów krwawienia dawkę zwiększono do 3 mg/kg co tydzień. Emicizumab jest biswoistym przeciwciałem, które jest skierowane przeciwko czynnikowi IXa i czynnikowi X. Lek powoduje łączenie aktywnego czynnika IX z czynnikiem X – białek koniecznych do aktywacji naturalnej kaskady krzepnięcia – i

przywraca prawidłowy proces krzepnięcia krwi u chorych na hemofilię typu A. Przed zachorowaniem na COVID-19 chory nie miał w wywiadzie epizodów krwawienia ani zdarzeń zakrzepowo-zatorowych.

Zakażenie wirusem SARS-CoV-2 rozpoznano u pacjenta na podstawie objawów klinicznych, takich jak duszność, kaszel i gorączka oraz potwierdzono metodą PCR. Początkowo stosowano leczenie objawowe na oddziale internistycznym, jednak w 4 dobie hospitalizacji u chorego nasiliła się duszność, co wymagało zastosowania tlenoterapii o wysokim przepływie i wentylacji w pozycji leżącej. Pomimo tych działań stan chorego pogorszył się i pacjent wymagał intubacji oraz przyjęcia na oddział intensywnej terapii (OIT). W leczeniu COVID-19 zastosowano Remdesivir (5 dni), deksametazon i osocze ozdrowieńców. W ciągu pierwszych dwóch dni pobytu na OIT pacjent okresowo wymagał podawania noradrenaliny w celu stabilizacji krążenia. Profilaktycznie podawano heparynę drobnocząsteczkową (LMWH). Chory otrzymywał również żywienie pozajelitowe. W 10 dobie leczenia postawiono rozpoznanie bakteryjnego respiratorowego zapalenia płuc związanego i wtórnej sepsy. W leczeniu stosowano antybiotykoterapię celowaną za pomocą kolistyny i linezolidu. Kontynuowano podawanie emicizumabu w tygodniowej dawce 3 mg/kg. Dodatkowo zwiększono dawki LMWH do dawek terapeutycznych ze względu na pogorszenie stanu chorego i wzrost stężenia D-dimerów. W trakcie terapii LMWH stosowano regularne iniekcje koncentratu osoczo pochodnego (pd) cz. VIII w dawce 4000 j.m. na dobę. Do monitorowania stężenia cz. VIII w osoczu stosowano metodę chromogenną. Poziom FVIII w osoczu wahał się od 59,3 j./dl do 86,1 j./dl. W 21 dobie hospitalizacji wykonano tracheostomię, nadal pozostając pod ochroną FVIII. Podczas leczenia w OIT, w tym zabiegów inwazyjnych (intubacja, założenie cewnika centralnego i dożylnego, założenie cewnika do pęcherza moczowego, tracheostomia, zgłębnik do żywienia dojelitowego), nie obserwowano krwawień ani incydentów zakrzepowych. W 19. i 20. dobie hospitalizacji pacjent miała dwa ujemne wyniki badań w kierunku SARS-CoV-2. Stopniowo obniżał się poziom CRP i prokalcytoniny, w RTG płuc stwierdzono częściową regresję zmian zapalnych, a stan kliniczny uległ poprawie. Stopniowo odzwyczajano chorego od respiratora mechanicznego i w 30. dobie życia chory oddychał samodzielnie. Obecnie chory przebywa w domu, duszność i kaszel ustąpiły, jest poddawany rehabilitacji ruchowej i oddechowej. Terapię zastępczą czynnikiem FVIII przerwano w 30. dobie życia i od tego czasu chory ponownie jest objęty profilaktyką emicizumabem.

Przedstawiony przypadek był pierwszym w piśmiennictwie, w którym udokumentowano skuteczną terapię ciężkiej postaci COVID-19 u chorego na ciężką hemofilię A leczonego profilaktycznie emicizumabem. Ścisłe monitorowanie parametrów krzepnięcia i utrzymanie odpowiedniego stężenia cz. VIII było kluczowe w terapii zapewniającej optymalną hemostazę.

*Nosocomial outbreak of SARS-CoV-2 infection in a haematological unit - High mortality rate in infected patients with haematologic malignancies.* [AUT. KORESP.] **MONIKA M. BIERNAT**, [AUT.] ALEKSANDER ZIŃCZUK, PAWEŁ BIERNAT, ALEKSANDRA BOGUCKA-FEDORCZUK, JACEK KWIATKOWSKI, ELŻBIETA KALICIŃSKA, DOMINIK MARCINIAK, KRZYSZTOF SIMON, TOMASZ WRÓBEL. *J.Clin.Virol.* 2020 Vol.130 art.104574 [10 s.], ryc. tab. bibliogr. 22 poz. summ. DOI: 10.1016/j.jcv.2020.104574. **IF 3,168. PKT MNiSW 100.**

*Early administration of convalescent plasma improves survival in patients with hematological malignancies and COVID-19.* [AUT. KORESP.] **MONIKA MARIA BIERNAT**, [AUT.] ANNA KOLASIŃSKA, JACEK KWIATKOWSKI, DONATA URBANIAK-KUJDA, PAWEŁ BIERNAT, JUSTYNA JANOCZA-LITWIN, MAŁGORZATA SZYMCZYK-NUŻKA, DAWID BURSRY, ELŻBIETA KALICIŃSKA, KRZYSZTOF SIMON, GRZEGORZ MAZUR, TOMASZ WRÓBEL. *Viruses-Basel* 2021 Vol.13 no.3 art.436 [8 s.], ryc. tab. bibliogr. 16 poz. summ. DOI: 10.3390/v13030436. **IF<sub>2020</sub> 5,048, PKT MNiSW 100.**

*Immunosuppression as a hallmark of critical COVID-19: prospective study.* [AUT. KORESP.] ELŻBIETA KALICIŃSKA, [AUT.] DONATA SZYMCZAK, ALEKSANDER ZIŃCZUK, BARBARA ADAMIK, JAKUB ŚMIECHOWICZ, TOMASZ SKALEC, DANUTA NOWICKA-SUSZKO, **MONIKA BIERNAT**, ALEKSANDRA BOGUCKA-FEDORCZUK, JUSTYNA RYBKA, ADRIAN MARTUSZEWSKI, WALDEMAR GOŹDZIK, KRZYSZTOF SIMON, TOMASZ WRÓBEL. *Cells* 2021 Vol.10 no.6 art.1293 [13 s.], ryc. tab. bibliogr. 46 poz. summ. DOI: 10.3390/cells10061293. **IF<sub>2020</sub> 6,60. PKT MNiSW 140.**

*Lymphocyte subsets in haematological patients with COVID-19: multicentre prospective study.* [AUT. KORESP.] ELŻBIETA KALICIŃSKA, [AUT.] DONATA SZYMCZAK, IGA ANDRASIAK, ALEKSANDRA BOGUĆKA-FEDORCZUK, ALEKSANDER ZIŃCZUK, WOJCIECH SZYMAŃSKI, **MONIKA BIERNAT**, MARCIN RYMKO, GRAŻYNA SEMEŃCZUK, PAULA JABŁONOWSKA, JUSTYNA RYBKA, KRZYSZTOF SIMON, TOMASZ WRÓBEL. *Transl.Oncol.* 2021 Vol.14 no.1 art.100943 [10 s.], ryc. tab. bibliogr. 23 poz. summ. DOI: 10.1016/j.tranon.2020.100943. **IF<sub>2020</sub> 4,243. PKT MNiSW 100.**

*Successful treatment of COVID-19 in a patient with severe haemophilia A on emicizumab prophylaxis in the intensive care unit [letter to the editor].* [AUT.] DONATA URBANIAK-KUJDA, [AUT. KORESP.] **MONIKA MARIA BIERNAT**, [AUT.] TOMASZ SKALEC, JAGODA JACKÓW-NOWICKA, JERZY WINDYGA, TOMASZ WRÓBEL. *Haemophilia* 2021 Vol.27 no.4 s.e567-e570, ryc. tab. bibliogr. 10 poz. DOI: 10.1111/hae.14326. **IF 4,287. PKT MNiSW 100.**

#### 6.3.6 Rola mikroflory jelitowej u osób zdrowych i w różnych chorobach

Kolejnym obszarem moich zainteresowań w pracy klinicysty, który wiąże się zarówno z zagadnieniami zakażeń u człowieka, jak i z układ immunologicznym jest rola mikroflory jelitowej. Efektem obserwacji klinicznych była publikacja poświęcona wzajemnymi oddziaływaniami żywienia, składników mikroflory jelitowej i komórek układu immunologicznego. Mikrobiom jelitowy, kształtowany już w łonie matki i podczas pierwszych lat życia, odgrywa kluczową rolę w rozwoju prawidłowej odpowiedzi immunologicznej ustroju. W pracy analizowałam mechanizmy interakcji pomiędzy składnikami mikrobiomu przewodu pokarmowego a komórkami wrodzonej i nabytej odpowiedzi immunologicznej. Do czynników mających wpływ na rozwój i funkcjonowanie układu immunologicznego, obok wieku, płci, cech dziedzicznych i środowiskowych, należy również dieta. W pracy przedstawiłam mechanizmy działania takich składników diety jak: witaminy A, D, E, C, witaminy z grupy B, kwasy tłuszczowe n-3 i n-6 oraz pierwiastki śladowe (cynk, selen, żelazo), a także probiotyki i prebiotyki, które to składniki pełnią w organizmie funkcje immunomodulatorów. Poznanie osi odporność-dieta-mikrobiom i ich wzajemnych zależności może pomóc w opracowaniu terapii, uwzględniających suplementację wybranych składników diety o działaniu immunomodulującym i tym samym przyczynić się do skuteczniejszego leczenia wielu

schorzeń, takich jak: choroby alergiczne, zakażenie, autoimmunologiczne, metaboliczne i in.,

*Wpływ żywienia na mechanizmy odpowiedzi immunologicznej.* [AUT.] **MONIKA BIERNAT**. W: Dietetyka oparta na dowodach Wrocław 2016, MedPharm Polska, s.209-238, ryc. tab. bibliogr. 62 poz, 978-83-7846-039-8. **PKT MNiSW 5.**

Znaczenie mikroflory przewodu pokarmowego w przebiegu choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi (ang. *Graft versus host disease*, GvHD) jest w ostatnich latach przedmiotem intensywnych badań. Dowiedziono, że zmniejszenie różnorodności składu mikroflory jelitowej jest niezależnym czynnikiem, mającym wpływ na śmiertelność w przebiegu GvHD jelitowego. U pacjentów poddawanych procedurze allotransplantacji dochodzi do zmian składu ilościowego i jakościowego flory jelitowej i długotrwałej dysbiozy, która odgrywa zasadniczą rolę w patogenezie GvHD. W terapii stosuje się glikokortykosteroidy oraz leki immunosupresyjne, jednak skuteczność tego leczenia jest niezadowalająca, ponadto brak jest leków o udowodnionej skuteczności w leczeniu przewlekłej, odpornej na sterydoterapię GvHD. Niektórzy badacze postulują, że przywrócenie prawidłowego składu mikroflory jelitowej za pomocą przeszczepu flory jelitowej od zdrowych dawców może stanowić jedną z metod terapii.

W trakcie mojej pracy w zespole Oddziału Przeszczepowego w Klinice Hematologii Nowotworów Krwi i Transplantacji Szpiku byłam inicjatorką wykonania przeszczepu flory jelitowej (ang. *Fecal microbiota transplantation*, FMT) od zdrowych dawców u dwóch pacjentów z przewlekłą, oporną na sterydoterapię GvHD, u których wyczerpano wszystkie dostępne metody terapii. Klinika Hematologii Nowotworów Krwi i Transplantacji Szpiku we Wrocławiu była drugim ośrodkiem w Polsce, w którym zastosowano tę metodę. U pierwszego pacjenta podanie FMT przyniosło całkowite ustąpienie objawów, natomiast u drugiego pacjenta efekt terapeutyczny był mierny, jednak spowodował eliminację alert patogenów i przejściowe złagodzenie objawów.

*Fecal microbiota transplantation in the treatment of intestinal steroid-resistant graft-versus-host disease: two case reports and a review of the literature.* [AUT. KORESP.] **MONIKA MARIA BIERNAT**, [AUT.] **DONATA URBANIAK-KUJDA**, **JAROSŁAW DYBKO**, **KATARZYNA KAPELKO-SŁOWIK**, **IWONA PRAJS**, **TOMASZ WRÓBEL**. *J.Int.Med.Res.* 2020 Vol.48 no.6 art.300060520925693 [11 s.], tab. bibliogr. 44 poz. summ. DOI: 10.1177/0300060520925693. **IF 1,671. PKT MNiSW 40.**



#### 6.4. Staże w krajowych i zagranicznych ośrodkach naukowych

- Stypendium programu Erasmus – Socrates na Wydziale Lekarskim Uniwersytetu Joseph Fourier w Grenoble we Francji; 1999-2000
- szkolenie w Instytucie Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN we Wrocławiu z zakresu technik molekularnych stosowanych w mikrobiologii: Technika PCR- podstawy techniki, projektowanie warunków reakcji, sposoby detekcji otrzymanego produktu, analiza otrzymanych wyników – dwa tygodnie, 2003
- szkolenie Management of Infection Diseases in Hematology: MIND Genoa 7-8.06.2013

#### 6.5. Kierowanie lub udział w projektach badawczych:

##### 6.5.1 Projekty w ramach badań własnych uczelni:

1. Udział drobnoustrojów z rodzaju *Helicobacter* w chorobach wątroby i dróg żółciowych – grant uczelniany 2004 – kierownik projektu.
2. Wpływ drobnoustrojów z rodzaju *Helicobacter* spp. na przebieg nieswoistych chorób zapalnych przewodu pokarmowego – grant uczelniany 2011-2013- kierownik projektu.

##### 6.5.2. Projekty KBN/MNiSW

1. Cechy genetyczne warunkujące chorobotwórczość szczepów *Helicobacter pylori* – grant promotorski KBN– 2007-2008.
2. Nowe inhibitory ureazy jako czynnik ograniczający rozwój patogennych szczepów ureolitycznych nf 2011/03/B/NZ6/04964 – grant KBN 2012- 2016 wykonawca projektu.

##### 6.5.3. Udział w innych międzynarodowych projektach badawczych

1. Brałam udział w trzecim europejskim wieloośrodkowym programie monitorowania oporności szczepów *Helicobacter pylori* na antybiotyki pt. „The surveillance of *Helicobacter pylori* resistance to antibiotics”, koordynowanym przez Europejską Grupę Roboczą ds. *Helicobacter pylori* (European *Helicobacter* Study Group) pod kierunkiem prof. Francisa Mégraud z Uniwersytetu Medycznego w Bordeaux we

Francji w latach 2008-2010. Odpowiadałam za współpracę z lekarzami klinicystami, izolację szczepów *H. pylori* pobranych od pacjentów dorosłych i od dzieci z zakażeniem *H. pylori*, ponadto prowadziłam hodowlę i oznaczałam lekowrażliwość szczepów *H. pylori*. Wyniki tych badań, o szczególnym znaczeniu ogólnoeuropejskim i krajowym, zostały przedstawione m.in. w publikacji pt. "*Helicobacter pylori* resistance to antibiotics in Europe and its relationship to antibiotic consumption" opublikowanej w „Gut” w 2013,62:34-42”.

2. Udział w międzynarodowym projekcie EPICOVIDEHA pt. „Epidemiology of COVID-19 infection in patients with hematological malignancies: A European Hematology Association Survey” pod kierownictwem prof. Francesco Pagano od czerwca 2021 do chwili obecnej. W ramach tego projektu analizowana jest częstość zakażenia wirusem SARS-CoV-2 u pacjentów oddziałów hematologicznych w Europie. Moja rola polega na zbieraniu i analizowaniu danych od pacjentów leczonych w naszym ośrodku. Pierwsza publikacja przygotowana w ramach projektu obecnie jest poddana ocenie recenzentów.

#### 6.5.4 Aplikacje o granty:

1. Miniatura 2. 2018 : Izolacja i charakterystyka egzosomów komórek szpiku kostnego u pacjentów z ostrą białaczką – projekt uzyskał 2 pozytywne recenzje, niezakwalifikowany do finansowania
2. Grant NCBIR 2020 w ramach wsparcia szpitali jednoimiennych w walce z COVID-19: Koagulopatia związana z COVID-19 - jak rozpoznawać i leczyć” – projekt niezakwalifikowany do finansowania

## 6.6 Współpraca naukowa:

1. II Katedra i Klinika Pediatrii, Gastroenterologii i Żywienia Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu  
Badania mikrobiologiczne: identyfikacja gatunków *H. pylorii* i *H. heilmannii* z biopstatów pobranych w trakcie badania endoskopowego przewodu pokarmowego, oznaczenie lekowrażliwości izolowanych szczepów, współpraca z klinicystami w doborze antybiotyków do terapii (lata 2003-2018)
2. Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką Koni, Psów i Kotów, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu  
Badania mikrobiologiczne: identyfikacja gatunków z rodzaju *Helicobacter* z biopstatów pobranych w trakcie badania endoskopowego przewodu pokarmowego psów i kotów, wykrywanie przeciwciał anti-*Helicobacter* w próbkach śliny i żółci (lata 2003-2017)
3. Katedra i Klinika Gastroenterologii i Hepatologii Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu  
Badania mikrobiologiczne: identyfikacja gatunków *H. pylorii* i *H. heilmannii* z biopstatów pobranych w trakcie badania endoskopowego przewodu pokarmowego, oznaczenie lekowrażliwości izolowanych szczepów, współpraca z klinicystami w doborze antybiotyków do terapii (lata 2008-2016)
4. Katedra i Klinika Chirurgii Ogólnej i Chirurgii Przewodu Pokarmowego Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu  
Badania mikrobiologiczne: identyfikacja gatunków *H. pylori* i *H. heilmannii* z biopstatów pobranych w trakcie badania endoskopowego przewodu pokarmowego, oznaczenie lekowrażliwości izolowanych szczepów, współpraca z klinicystami w doborze antybiotyków do terapii (lata 2008-2014)
5. Katedra i Klinika Chorób Zakaźnych, Chorób Wątroby i Nabytych Niedoborów Odpornościowych Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu  
Badania biopstatów pobranych z wątroby pacjentów dorosłych ze schorzeniami wątroby i badania mikrobiologiczne celem identyfikacji drobnoustrojów z rodzaju

*Helicobacter* w ramach grantu pt. Udział drobnoustrojów z rodzaju *Helicobacter* w chorobach wątroby i dróg żółciowych” (lata 2003-2004)

6. Katedra i Klinika Chorób Zakaźnych i Hepatologii Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu  
Badania próbek krwi od pacjentów z COVID-19 celem wykrycia zaburzeń krzepnięcia w latach 2020-2021
  7. Katedra Chemii Bioorganicznej, Wydział Chemiczny, Politechnika Wrocławska  
Badania mikrobiologiczne: hodowla szczepów *H. pylori* do badań aktywności ureazy w ramach grantu naukowego (lata 2012-2016)
  8. Laboratorium Mikrobiologiczne, Uniwersytet Bordeaux  
Badania mikrobiologiczne: identyfikacja gatunków *H. pylori* i *H. heilmannii* z biopstatów pobranych w trakcie badania endoskopowego przewodu pokarmowego, oznaczenie lekowrażliwości izolowanych szczepów (lata 2008-2010)
  9. Katedra i Klinika Okulistyki Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu  
Badanie próbek surowicy na obecność przeciwciał anti-*H. pylori* u pacjentów ze schorzeniami oka oraz badania w kierunku zakażenia *Demodex* spp. (lata 2008-2011)
  10. II Katedra i Klinika Ginekologii i Położnictwa Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu  
Badanie próbek surowicy na obecność przeciwciał anti-*H. pylori* u pacjentek ciężarnych (lata 2009-2010)
- 6.6.1 Nagrody i wyróżnienia:
1. Nagroda Zespołowa JM Rektora za cykl prac: zakażenia *Helicobacter* i nowe markery diagnostyczne przewlekłych nieswoistych zapaleń jelit u dzieci – opublikowane w 2012
  2. Nagroda Zespołowa PTG; Aldona Bińkowska, Monika Biernat, Barbara Iwańczak, Grażyna Gościński.: Molekularne podstawy oporności na klarytromycynę i metronidazol szczepów *Helicobacter pylori* izolowanych od dzieci. XVI Kongres Polskiego Towarzystwa Gastroenterologii. Wrocław, 25-27 września 2014.

3. Nagroda Zespołowa JM Rektora za cykl prac dotyczących zakażeń *Helicobacter pylori* u dzieci i młodzieży - 2015
4. Wyróżnienie za pracę przedstawioną w sesji plakatowej XXVII Zjazd Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów „Drobnoustroje bez granic” 5-8 września 2012 Lublin

6.7 Wystąpienia ustne na zagranicznych konferencjach naukowych:

1. **Monika M. Biernat**, Jolanta Rusiecka-Ziółkowska, Joanna Grabińska, Elżbieta Piątkowska, I. Helemejko, A. Kania, Grażyna Gościniak.: *The occurrence of Demodex spp. in blepharitis patients and healthy people a 3-year observational study*. Clin. Microbiol. Infect. 2011 Vol.17 suppl.4; s.S97 poz.O494. 21st European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID); 27th International Congress of Chemotherapy. Milan (Italy), 7-10 May 2011
2. **Monika Biernat**, Barbara Iwańczak, Aldona Kania, Joanna Grabińska, Grażyna Gościniak.: *The prevalence of Helicobacter pylori infection in symptomatic children - 10 years observational study in Lower Silesia region*. Helicobacter 2011 Vol.16 suppl.1; s.85 poz.WS4.3 XXIVth International Workshop on Helicobacter and Related Bacteria in Chronic Digestive Inflammation and Gastric Cancer. Dublin, September 11-13, 2011
3. **Monika Biernat**, Aldona Bińkowska, Grażyna Gościniak.: *Molecular patterns of resistance among H. pylori strains in South-Western Poland*. W:IC<sup>2</sup>AR 2017 - 2nd International Caparica Conference in Antibiotic Resistance. Caparica, Portugal, 12th-15th June 2017. Proceedings book; s.112-113 poz.O36A



6.7.1 Czynna prezentacja prac na krajowych i międzynarodowych konferencjach w formie doniesień plakatowych przed uzyskaniem stopnia naukowego doktora:

1. *Detection of Helicobacter spp. infection in canine gastric mucosa using different diagnostic methods.* [AUT.] K. KUBIAK, J. SKAŁA, J. NICPOŃ, **MONIKA BIERNAT**, GRAŻYNA GOŚCINIAK. *Helicobacter* 2006 Vol.11 no.4 s.411 poz.16.10, XIX International Workshop on Helicobacter and Related Bacteria in Chronic Digestive Inflammation. Wrocław, Poland, September 7-9, 2006.
2. *Helicobacter heilmannii in a child, dog and cat.* [AUT.] GRAŻYNA GOŚCINIAK, J. SKAŁA, K. KUBIAK, BARBARA IWAŃCZAK, **MONIKA BIERNAT**, JOANNA GRABIŃSKA. *Helicobacter* 2006 Vol.11 no.4 s.412 poz.16.14, XIX International Workshop on Helicobacter and Related Bacteria in Chronic Digestive Inflammation. Wrocław, Poland, September 7-9, 2006.
3. *The prevalence of Helicobacter species in the stomach of cats in Poland from Lower Silesia area.* [AUT.] K. KUBIAK, J. SKAŁA, J. NICPOŃ, **MONIKA BIERNAT**, GRAŻYNA GOŚCINIAK. *Helicobacter* 2006 Vol.11 no.4 s.412 poz.16.13, XIX International Workshop on Helicobacter and Related Bacteria in Chronic Digestive Inflammation. Wrocław, Poland, September 7-9, 2006
4. *Helicobacter pylori status of patients with various liver diseases.* [AUT.] **MONIKA BIERNAT**, KRZYSZTOF SIMON, BRYGIDA KNYSZ, KATARZYNA ROTTER, JOANNA GRABIŃSKA, KATARZYNA FLEISCHER, GRAŻYNA GOŚCINIAK. *Helicobacter* 2007 Vol.12 no.4 s.420 poz.P039, XXth International Workshop on Helicobacter and Related Bacteria in Chronic Digestive Inflammation. Istanbul (Turkey), September 20-22, 2007.
5. *Prevalence of anti-Helicobacter spp. antibodies in dogs.* [AUT.] GRAŻYNA GOŚCINIAK, **MONIKA BIERNAT**, K. KUBIAK, JOANNA GRABIŃSKA. *Helicobacter* 2007 Vol.12 no.4 s.419 poz.P038, XXth International Workshop on Helicobacter and Related Bacteria in Chronic Digestive Inflammation. Istanbul (Turkey), September 20-22, 2007
6. *Częstość występowania przeciwciał przeciwko swoistym antygenom H. pylori u dzieci z różnymi schorzeniami przewodu pokarmowego.* [AUT.] **MONIKA BIERNAT**, BARBARA IWAŃCZAK, GRAŻYNA GOŚCINIAK, JOANNA GRABIŃSKA. W: XXVI Zjazd Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów "Drobnoustroje - wyzwania i

nadzieje". Szczecin, 4-7 września 2008. Materiały naukowe Warszawa 2008, Polskie Towarzystwo Mikrobiologów, s.257 poz.XVI.2.P.

7. *Zakażenia wieloopornymi szczepami H. pylori u dzieci.* [AUT.] GRAŻYNA GOŚCINIAK, MONIKA BIERNAT, JOANNA GRABIŃSKA, FRANCISZEK IWAŃCZAK, BARBARA IWAŃCZAK. W: XXVI Zjazd Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów "Drobnoustroje - wyzwania i nadzieje". Szczecin, 4-7 września 2008. Materiały naukowe Warszawa 2008, Polskie Towarzystwo Mikrobiologów, s.252 poz.XV.46.P

6.7.2. Czynna prezentacja prac na krajowych i międzynarodowych konferencjach naukowych w formie doniesień plakatowych po uzyskaniu stopnia naukowego doktora:

1. *The prevalence of dupA gene of H. pylori strains in Polish children.* [AUT.] **MONIKA BIERNAT**, BARBARA IWAŃCZAK, JOANNA GRABIŃSKA, ADAM JUNKA, ŁUKASZ ŁACZMAŃSKI, GRAŻYNA GOŚCINIAK. *Helicobacter* 2010 Vol.15 no.4 s.366 poz.P5.02, XXIII International Workoshop on Helicobacter and Related Bacteria in Chronic Digestive Inflammation and Gastric Cancer. Rotterdam, September 16-18, 2010. Accepted abstracts.
2. *The primary resistance of H. pylori strains in pediatric and adult patients in South-West Poland.* [AUT.] GRAŻYNA GOŚCINIAK, **MONIKA BIERNAT**, JOANNA GRABIŃSKA, F. MEGRAUD, BARBARA IWAŃCZAK. *Helicobacter* 2010 Vol.15 no.4 s.391 poz.P8.12, XXIII International Workoshop on Helicobacter and Related Bacteria in Chronic Digestive Inflammation and Gastric Cancer. Rotterdam, September 16-18, 2010. Accepted abstracts.
3. *The prevalence of Helicobacter pylori cagA, vacA, iceA, babA genotypes in Polish children with gastroduodenal diseases: impact on histology.* [AUT.] **MONIKA M. BIERNAT**, BARBARA IWAŃCZAK, MARTA RZESZUTKO, JOANNA GRABIŃSKA, PAWEŁ BIERNAT, GRAŻYNA GOŚCINIAK. *Clin.Microbiol.Infect.* 2011 Vol.17 suppl.4 s.S63 poz.O314, 21st European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID); 27th International Congress of Chemotherapy. Milan (Italy), 7-10 May 2011.

4. *The primary resistance of H. pylori strains in adults.* [AUT.] GRAŻYNA GOŚCINIAK, **MONIKA BIERNAT**, JERZY BŁASZCZUK, ALDONA KANIA, JOANNA GRABIŃSKA, ELŻBIETA PONIEWIERKA. *Helicobacter* 2011 Vol.16 suppl.1 s.120 poz.P07.15, XXIVth International Workshop on Helicobacter and Related Bacteria in Chronic Digestive Inflammation and Gastric Cancer. Dublin, September 11-13, 2011.
5. *Lekowrażliwość szczepów Helicobacter pylori izolowanych od dzieci i osób dorosłych z pierwotnym zakażeniem na terenie Dolnego Śląska (The antimicrobial susceptibility of Helicobacter pylori strains isolated from children and adults with primary infection in the Lower Silesia Region).* [AUT.] GRAŻYNA GOŚCINIAK, **MONIKA M. BIERNAT**, JOANNA GRABIŃSKA, ALDONA BIŃKOWSKA. W: XXVII Zjazd Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów "Drobnoustroje bez granic". Lublin, 5-8 września 2012. Streszczenia - sesja plakatowa, doniesienia ustne [CD-ROM] Warszawa 2012, Polskie Towarzystwo Mikrobiologów, poz.[2] [doniesienia ustne/sesja VI].
6. *The occurrence of Helicobacter pylori specific genotypes in symptomatic children and evaluation of immune response to infection.* [AUT.] **MONIKA M. BIERNAT**, BARBARA IWAŃCZAK, JOANNA GRABIŃSKA, GRAŻYNA GOŚCINIAK. *Clin.Microbiol.Infect.* 2012 Vol.18 suppl.3 s.228 poz.P991, 22nd European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. London, United Kingdom, 31 March - 3 April 2012.
7. *Występowanie genów cagA, vacA, iceA, babA Helicobacter pylori u dzieci z chorobami górnego odcinka przewodu pokarmowego (The prevalence of Helicobacter pylori cagA, vacA, iceA, babA genes in children with gastroduodenal disease).* [AUT.] **MONIKA M. BIERNAT**, BARBARA IWAŃCZAK, JOANNA GRABIŃSKA, GRAŻYNA GOŚCINIAK. W: XXVII Zjazd Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów "Drobnoustroje bez granic". Lublin, 5-8 września 2012. Streszczenia - sesja plakatowa, doniesienia ustne [CD-ROM] Warszawa 2012, Polskie Towarzystwo Mikrobiologów, poz.P-VIII-280 [sesja plakatowa 07.09/sesja VIII].
8. *Zakażenie Helicobacter heilmannii u dzieci z objawami zapalenia żołądka (Helicobacter heilmannii infection in children with dyspeptic complaints).* [AUT.] **MONIKA BIERNAT**, BARBARA IWAŃCZAK, FRANCISZEK IWAŃCZAK, JOANNA GRABIŃSKA, GRAŻYNA GOŚCINIAK. W: XXVII Zjazd Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów "Drobnoustroje bez granic". Lublin, 5-8 września 2012. Streszczenia - sesja plakatowa, doniesienia ustne [CD-ROM] Warszawa 2012, Polskie Towarzystwo Mikrobiologów, poz.P-VIII-281 [sesja plakatowa 07.09/sesja VIII].

9. *Mutations in the 23S rRNA gene of clarithromycin-resistant Helicobacter pylori strains from Lower Silesia, Poland.* [AUT.] **ALDONA BIŃKOWSKA, MONIKA M. BIERNAT, JOANNA GRABIŃSKA, ŁUKASZ ŁACZMAŃSKI, GRAŻYNA GOŚCINIAK.** *Helicobacter* 2013 Vol.18 suppl.1 s.142 poz.P13.19, 26th International Workshop on Helicobacter and Related Bacteria in Chronic Digestive Inflammation and Gastric Cancer. Madrid (Spain), 12-14 September 2013. Abstracts.
10. *The detection of Helicobacter species DNA in Polish patients with inflammatory bowel diseases - preliminary study.* [AUT.] **MONIKA M. BIERNAT, ALDONA BIŃKOWSKA, ELŻBIETA PONIEWIERKA, KATARZYNA NEUBAUER, RADOSŁAW KEMPIŃSKI, JOANNA GRABIŃSKA, GRAŻYNA GOŚCINIAK.** *Helicobacter* 2013 Vol.18 suppl.1 s.149 poz.P16.11, 26th International Workshop on Helicobacter and Related Bacteria in Chronic Digestive Inflammation and Gastric Cancer. Madrid (Spain), 12-14 September 2013. Abstracts.
11. *DNA of Helicobacter species is present in patients with inflammatory bowel diseases.* [AUT.] **MONIKA BIERNAT, RADOSŁAW KEMPIŃSKI, KATARZYNA NEUBAUER, ALDONA BIŃKOWSKA, JOANNA GRABIŃSKA, GRAŻYNA GOŚCINIAK, ELŻBIETA PONIEWIERKA.** *J.Crohn's Colitis* 2014 Vol.8 suppl.1 s.S352 poz.P674, Abstracts of the 9th Congress of ECCO [European Crohn's and Colitis Organisation]. Copenhagen, Denmark, 20-22 February 2014.
12. *Częstość występowania zakażenia Clostridium difficile u pacjentów ze schorzeniami hematologicznymi - doniesienie wstępne.* [AUT.] **MONIKA MARIA BIERNAT, KATARZYNA JERMAKOW, MAGDALENA PAJĄCZKOWSKA, DONATA URBANIAK-KUJDA, KATARZYNA KAPELKO-SŁOWIK, KAZIMIERZ KULICZKOWSKI, TOMASZ WRÓBEL, JAROSŁAW DYBKO, GRAŻYNA GOŚCINIAK.** W: I Międzynarodowa Konferencja Naukowa "Zakażenia w hematologii i transplantologii". Kazimierz Dolny, 7-9 maja 2015 roku. Program [i streszczenia], s.27-28.
13. *Czynniki ryzyka, epidemiologia oraz obraz kliniczny inwazyjnych zakażeń grzybiczych u pacjentów Katedry i Kliniki Hematologii, Nowotworów Krwi i Transplantacji Szpiku we Wrocławiu.* [AUT.] **MONIKA MARIA BIERNAT, DONATA URBANIAK-KUJDA, KATARZYNA KAPELKO-SŁOWIK, URSZULA NAWROT,**

- MAGDALENA LASZKOWSKA, TOMASZ WRÓBEL, KAZIMIERZ KULICZKOWSKI, JAROSŁAW DYBKO, GRAŻYNA GOŚCINIAK. W: I Międzynarodowa Konferencja Naukowa "Zakażenia w hematologii i transplantologii". Kazimierz Dolny, 7-9 maja 2015 roku. Program [i streszczenia], s.28-29.
14. *Pathogenic spectrum and clinical manifestations of invasive mould fungal infections in haematological adult patients in Wroclaw University Hospital, Poland.* [AUT.] **MONIKA M. BIERNAT**, URSZULA NAWROT, DONATA URBANIAK-KUJDA, KATARZYNA KAPELKO-SŁOWIK, KATARZYNA WŁODARCZYK, MAGDALENA LASZKOWSKA, KAZIMIERZ KULICZKOWSKI, TOMASZ WRÓBEL, GRAŻYNA GOŚCINIAK. W: ESCMID eLibrary : ECCMID 2015 [25th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. Copenhagen, Denmark, 25-28 April 2015. Abstract - eposter], poz.EV0442, [Dostęp 19.05.2015]. Dostępny w: [https://www.escmid.org/escmid\\_publications/escmid\\_elibrary/material/?mid=21503](https://www.escmid.org/escmid_publications/escmid_elibrary/material/?mid=21503).
  15. *The impact of intestinal microbiota on the occurrence of inflammatory bowel disease flare in children and adolescents.* [AUT.] KATARZYNA JERMAKOW, **MONIKA M. BIERNAT**, MAGDALENA PAJĄCZKOWSKA, GRAŻYNA GOŚCINIAK. W: ESCMID eLibrary : ECCMID 2015 [25th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. Copenhagen, Denmark, 25-28 April 2015. Abstract - eposter], poz.EV0356, [Dostęp 19.05.2015]. Dostępny w: [https://www.escmid.org/escmid\\_publications/escmid\\_elibrary/material/?mid=21417](https://www.escmid.org/escmid_publications/escmid_elibrary/material/?mid=21417).
  16. *The incidence of C. difficile associated diarrhoea in adult haematologic patients in Wroclaw University Hospital, Poland.* [AUT.] **MONIKA M. BIERNAT**, KATARZYNA JERMAKOW, DONATA URBANIAK-KUJDA, MAGDALENA PAJĄCZKOWSKA, KATARZYNA KAPELKO-SŁOWIK, KAZIMIERZ KULICZKOWSKI, TOMASZ WRÓBEL, GRAŻYNA GOŚCINIAK. W: ESCMID eLibrary : ECCMID 2015 [25th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. Copenhagen, Denmark, 25-28 April 2015. Abstract - eposter], poz.EV0435, [Dostęp 19.05.2015]. Dostępny w: [https://www.escmid.org/escmid\\_publications/escmid\\_elibrary/material/?mid=21496](https://www.escmid.org/escmid_publications/escmid_elibrary/material/?mid=21496).
  17. *Inactivation of Enterococcus faecalis biofilms with sulphated and europium-doped titanium dioxide photocatalysts.* [AUT.] EWA DWORNICZEK, GUSTAV PLESCH, ALICJA SENIUK, RYSZARD ADAMSKI, ROBERT MICHAŁ, MARIA CAPLOVICOVA, **MONIKA BIERNAT**. W: ESCMID eLibrary : ECCMID 2016



[26th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. Amsterdam, Netherlands, 9-12 April 2016], poz.EV0622, [Dostęp 15.01.2018].  
Dostępny w:

[https://www.escmid.org/escmid\\_publications/escmid\\_elibrary/material/?mid=45579](https://www.escmid.org/escmid_publications/escmid_elibrary/material/?mid=45579).

18. *The in vitro activity of certain plant compounds on susceptible and resistant H. pylori strains - preliminary study*. [AUT.] **MONIKA M. BIERNAT**, PAWEŁ KRZYŻEK, ROMAN FRANICZEK, BARBARA KRZYŻANOWSKA, GRAŻYNA GOŚCINIAK. *Helicobacter* 2017 Vol.22 suppl.1 s.107 poz.P08.03, tab. bibliogr. 1 poz, XXXth International Workshop on Helicobacter and Microbiota in Inflammation and Cancer. Bordeaux, France, 7-9 September 2017. Accepted abstracts.
19. *Anthropometric and hormonal parameters in comparison with bone mineral density in men with haemophilia from Lower Silesia - preliminary report*. [AUT.] **MONIKA M. BIERNAT**, DIANA JĘDRZEJUK, DONATA URBANIAK-KUJDA, IWONA PRAJS, MARIA PODOLAK-DAWIDZIAK, TOMASZ WRÓBEL. *HemaSphere* 2019 Vol.3 suppl.1 s.843 poz.PB1846, 24th Congress of the European Hematology Association. Amsterdam, The Netherlands, June 13-16, 2019. DOI: 10.1097/01.HS9.0000565888.50345.17

7. Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę lub sztukę.

#### 7.1 Działalność dydaktyczna

Od czasu zatrudnienia w 2002 roku w Katedrze i Zakładzie Mikrobiologii na Wrocławskim Uniwersytecie Medycznym (wcześniej Akademia Medyczna im. Piastów Śląskich we Wrocławiu) do 2017 roku prowadziłam zajęcia z mikrobiologii lekarskiej dla studentów 3 roku Wydziałów: Wydziału Lekarskiego i English Division, Wydziału Farmacji i Analityki Medycznej, Wydziału Lekarsko-Stomatologicznego i Wydziału Nauk o Zdrowiu na kierunku Pielęgniarstwo i Ratownictwo Medyczne.

W ramach zatrudnienia w Katedrze Mikrobiologii prowadziłam seminaria i wykłady z mikrobiologii lekarskiej po polsku i po angielsku dla studentów 3 roku Wydziału Lekarskiego i English Division oraz seminaria z mikrobiologii lekarskiej dla studentów 3 roku Wydziału Lekarskiego i Wydziału Lekarsko-Stomatologicznego. W ramach działalności dydaktycznej przygotowałam konspekty, prezentacje, materiały teoretyczne do ćwiczeń i pytania testowe do

kolokwiów w języku polskim i angielskim dla studentów Wydziału Lekarskiego i English Division.

Byłam promotorem prac licencjackich i magisterskich studentów Wydziału Farmacji i Analityki Medycznej:

- Pracy licencjackiej studentki Małgorzaty Trendel pt. „Rola probiotyków w zakażeniach przewodu pokarmowego”(2007)
- Pracy licencjackiej studentki Ireny Duś pt. „Rola biofilmu w zakażeniach *Helicobacter pylori*”(2009)
- Pracy magisterskiej studentki Niny Koniarek pt. „Częstość występowania genów *cagA* i *vacA Helicobacter pylori* u dzieci”(2008)
- Pracy magisterskiej studenta Tomasza Biczysko pt. „Związek zakażenia *Helicobacter pylori* z występowaniem niepowstrzymanych wymiotów u kobiet ciężarnych”(2010)
- Pracy magisterskiej studentki Alicji Nogaj pt. Profil fenotypowy i lekowrażliwość drobnoustrojów izolowanych z krwi”(2011)
- Pracy magisterskiej studentki Justyny Matkowskiej pt. Wykrywanie drobnoustrojów z rodzaju *Helicobacter* w materiale klinicznym (2012)
- Pracy magisterskiej Joanny Michalskiej pt. Czynniki etiologiczne zakażeń u pacjentów ze schorzeniami hematologicznymi (2015)

Od przeniesienia do Katedry i Kliniki Hematologii, Nowotworów Krwi i Transplantacji Szpiku w 2017 prowadzę ćwiczenia kliniczne, ćwiczenia w centrum symulacji i seminaria z hematologii dla studentów polskich i z English Division 5 roku i 6 roku Wydziału Lekarskiego i Wydziału Lekarsko-Stomatologicznego. W ramach działalności dydaktycznej z dziedziny hematologii przygotowałam konspekty, prezentacje, materiały teoretyczne do ćwiczeń i pytania testowe do kolokwiów w języku polskim i angielskim dla studentów Wydziału Lekarskiego i English Division.

Jestem również opiekunem wakacyjnych praktyk studenckich dla studentów 6 roku Wydziału Lekarskiego i English Division

W ramach zatrudnienia w Katedrze i Zakładzie Mikrobiologii prowadziłam wykłady na kursach specjalizacyjnych dla diagnostów laboratoryjnych specjalizujących się w dziedzinie mikrobiologii, kursach specjalizacyjnych Centrum Medycznego Kształcenia Podyplomowego (CMKP) dla lekarzy specjalizujących się w dziedzinie mikrobiologii lekarskiej i lekarzy specjalizujących się w dziedzinie chorób zakaźnych z zakresu medycyny zakażeń szpitalnych, zakażeń grzybiczych i antybiotykooporności drobnoustrojów. W latach 2015-2016 byłam

opiekunem i organizatorem kursów dla lekarzy specjalizujących się w mikrobiologii lekarskiej pt. Leki przeciwdrobnoustrojowe. Oporność drobnoustrojów na antybiotyki. Oznaczanie lekowrażliwości, wykrywanie mechanizmów oporności, interpretacja. Elementy farmakologii klinicznej. Polityka antybiotykowa oraz „Epidemiologia i klinika zakażeń związanych z opieką zdrowotną. Rola laboratorium w kontroli zakażeń.” oraz kursu „Zakażenia grzybicze- etiologia, epidemiologia, obraz kliniczny, diagnostyka i terapia zakażeń”

W ramach zatrudnienia w Katedrze i Klinice Hematologii, Nowotworów Krwi i Transplantacji Szpiku prowadziłam wykłady na kursach specjalizacyjnych CMKP dla diagnostów laboratoryjnych i lekarzy specjalizujących się w różnych działach medycyny, m.in. z medycyny rodzinnej, internie, onkologii i hematologii.

Prowadziłam wewnątrzszpitalne szkolenia dla lekarzy i pielęgniarek z zakresu epidemiologii i chorobotwórczości drobnoustrojów odpowiadających za zakażenia szpitalne.

Byłam wykładowcą i prowadzącym zajęcia praktyczne dla uczniów szkół gimnazjalnych z dziedziny mikrobiologii na Dolnośląskim Festiwalu Nauki w latach 2009-2018.

Na zaproszenie przedstawicieli studentów Students' Scientific Society Wrocław Medical University byłam członkiem Naukowego Komitetu Organizacyjnego Studenckiej Konferencji Naukowej „VI International Students' Conference of Young Medical Researchers – 31 marzec- 2 kwiecień 2016

## 7.2 Działalność kliniczna

Byłam konsultantem w zakresie mikrobiologii lekarskiej w ramach zatrudnienia w Samodzielnym Publicznym Szpitalu Klinicznym Nr 1 we Wrocławiu oraz w ramach zatrudnienia w Pracowni MicroFAM Fundacji Akademii Medycznej we Wrocławiu (2011-2018).

W latach 2015-2018 współpracowałam z Zespołem ds. Zakażeń Szpitalnych Samodzielnego Publicznego Szpitala Klinicznego Nr 1 we Wrocławiu oraz z Pracownią Mikrobiologiczną MicroFAM Akademii Medycznej (później Uniwersytetu Medycznego) w zakresie monitorowania zakażeń szpitalnych, występowania szczepów bakterii i grzybów wielolekoopornych i drobnoustrojów alarmowych.

Od czasu zatrudnienia w Katedrze i Klinice Hematologii, Nowotworów Krwi i Transplantacji Szpiku w ramach codziennej praktyki klinicznej pracuję na Oddziale Hematologii, w latach 2018-2020 pracowałam na Oddziale Transplantacji Szpiku.

Od stycznia 2020 roku do chwili obecnej sprawuję opiekę nad chorymi z wrodzonymi skazami krwotocznymi w ramach Poradni Zaburzeń Krzepnięcia Kliniki Hematologii i jestem współodpowiedzialna za realizację Narodowego Programu Leczenia Hemofilii i Pokrewnych Skaz Krwotocznych na lata 2019-2023. Uczestniczę w międzynarodowych badaniach klinicznych zapewniających chorym na skazy krwotoczne płytkowe i osoczowe dostęp do najnowszych leków.

Poza tym jestem zaangażowana do badań klinicznych II i III fazy także zespołów mielodysplastycznych i szpiczaka plazmocytoowego.

### 7.3 Działalność organizacyjna

W latach 2012-2020 na Wydziale Lekarskim Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu sprawowałam funkcję sekretarza przy przewodach doktorskich.

8. Oprócz kwestii wymienionych w pkt. 1-7, wnioskodawca może podać inne informacje, ważne z jego punktu widzenia, dotyczące jego kariery zawodowej.

#### 8.1 Udział w pracach grup ekspertów

W roku 2011 brałam czynny udział w pracach nad przygotowaniem zaleceń dotyczących diagnostyki mikrobiologicznej u pacjentów z sepsą i wstrząsem septycznym w ramach współpracy Towarzystwa Mikrobiologii Klinicznej i Polskiego Towarzystwa Anestezjologii i Intensywnej Terapii, prace te zaowocowały pierwszą w Polsce publikacją wytycznych pt.:

*Wytyczne diagnostyki mikrobiologicznej u pacjentów z sepsą, ciężką sepsą i wstrząsem septycznym. Protokół uzgodnieniowy.* [AUT.] ANDRZEJ KÜBLER, ANNA PRZONDOMORDARSKA, GRAŻYNA DUREK, WIESŁAWA DUSZYŃSKA, STEFANIA GIEDRYS-KALEMBA, EUGENIA GOSPODAREK, GRAŻYNA GOŚCINIAK, BEATA MACZYŃSKA, ALFRED SAMET, MARZENA ZIELIŃSKA, **MONIKA BIERNAT**, BARBARA ADAMIK. Sepsis 2011 T.4 nr 4 s.317-318, bibliogr. 8 poz, Toż: Sepsis 2011 T.4 supl.1.

#### 8.2 Członkostwo w organizacjach i towarzystwach naukowych

- Towarzystwo Mikrobiologii Klinicznej (TMK) – członek towarzystwa od 2004 roku do chwili obecnej
- European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID) – członek towarzystwa od 2008 roku do chwili obecnej
- Polskie Towarzystwo Hematologów i Transfuzjologów (PTHiT) – członek towarzystwa od 2012 roku do chwili obecnej

#### 8.3 Działalność na rzecz promocji zdrowia

W mojej pracy zawodowej angażowałam się w działalność promującą zachowania prozdrowotne, będąc rokrocznie wykładownicą na Konferencjach organizowanych przez Katedrę i Zakład Mikrobiologii i Towarzystwo Mikrobiologii Klinicznej w ramach Narodowego Programu Ochrony Antybiotyków i Europejskiego Dnia Wiedzy o Antybiotykach pt. Forum Ekspertów „Chrońmy Antybiotyki”. Moje wykłady dotyczyły problemu antybiotykoterapii zakażeń u pacjentów w immunosupresji.

#### 8.4 Informacja o recenzowanych pracach naukowych

Wielokrotnie recenzowałam prace oryginalne i poglądowe w czasopismach o zasięgu międzynarodowym i krajowym, m.in.:

Journal of Medical Microbiology IF 2,15

Disease Markers IF 2,73

Digestive Diseases and Sciences IF 2,75

Tropical Medicine & International Health IF 2,51

Journal of Pharmacy and Pharmacology IF 2,57

Microbial Drug Resistance IF 2,51

World Journal of Gastroenterology IF 3,66

Helicobacter IF 5,753

Diagnostics IF 3,706

Forum Zakażeń MNiSW PKT 5

Advances in Clinical and Experimental Medicine IF 1,51

Ginekologia Polska IF 1,232

- 8.5 Członkostwo w komitetach redakcyjnych i radach naukowych czasopism  
Byłam sekretarzem redakcji czasopisma "Sepsis" w latach 2010-2012



.....  
(podpis wnioskodawcy)