

RECENZJA
ROZPRAWY DOKTORSKIEJ
mgr ŁUKASZA MĄKI, zatytułowanej
“Analiza wybranych mechanizmów lekooporności szczepów *Salmonella* spp.
wyizolowanych z żywności w latach 2008-2013.”

Leczenie zakażeń napotyka się na coraz większe problemy, związane głównie z lawinowo narastającą opornością drobnoustrojów na leki. Niepokojące jest pojawianie się u bakterii coraz to nowych, nieznanych dawniej mechanizmów oporności, kodowanych przez mobilne geny, przekazywane nie tylko drogą wertykalną, ale także horyzontalnie i nie tylko między szczepami jednego gatunku. Duży postęp w naukach medycznych w ostatnich dekadach XX wieku i pierwszych XXI wieku dokonany między innymi dzięki powszechnemu wprowadzeniu metod biologii molekularnej do badań podstawowych, diagnostyki mikrobiologicznej oraz praktyki klinicznej umożliwił zrozumienie szczegółów patomechanizmu i epidemiologii zakażeń.

Dlatego też z zadowoleniem przyjęłam do recenzji pracę doktorską Pana mgr Łukasza Mąki, który korzystając z nowoczesnych technik molekularnych podjął próbę szczegółowej charakterystyki mechanizmów lekooporności szczepów *Salmonella* spp. izolowanych z żywności obecnej na rynku krajowym. Wyniki badań przeprowadzonych przez mgr Mąkę ukazują rangę problemu i konieczność monitorowania lekooporności pałeczek *Salmonella* spp. obecnych w żywności.

Praca ma klasyczny układ, typowy dla rozpraw doktorskich z dziedziny nauk medycznych; obejmuje 239 stron maszynopisu, zawiera następujące rozdziały: wstęp, cel i założenia pracy, materiały, metody, wyniki, dyskusję, podsumowanie, wnioski, piśmiennictwo i załączniki.

Lektura w s t ę p u dowodzi, że Autor jest znakomicie zorientowany w piśmiennictwie dotyczącym tematu. Obszerny wstęp podzielony na podrozdziały doskonale wprowadza we wszystkie zagadnienia wiążące się z tematem i wskazuje nie tylko na bardzo dobrą znajomość bieżącego piśmiennictwa, ale również na umiejętność interpretacji publikowanych danych literatury. Wstęp jako całość oceniam bardzo dobrze.

Cel pracy został logicznie wyprowadzony ze wstępu i sformułowany klarownie. Autor podjął się ocenić i określić poziom oporności na wybrane grupy antybiotyków i chemioterapeutyków pałeczek *Salmonella* spp. izolowanych z żywności na terenach Polski w

latach 2008-2013, a także zbadanie wybranych mechanizmów oporności wraz z wykryciem elementów genetycznych jako nośników zidentyfikowanych determinant oporności. Dodatkowym celem było ustalenie stopnia genetycznego podobieństwa badanych lekoopornych izolatów.

Autor postanowił postawione sobie zadanie rozwiązać w bardzo nowoczesny sposób, stosując szeroki wachlarz klasycznych i współczesnych metodyk, oznaczając typ serologiczny szczepów opornych, określając wartości MIC (paski E-test, seryjne rozcieńczenia), wykrywając i określając występowanie genetycznych determinant oporności za pomocą reakcji PCR, PCR-RFLP i sekwencjonowania, ustalając stopień genetycznego podobieństwa izolatów opornych także z zastosowaniem metody SDS-PAGE, a także wykrywając polimorfizmy metodą REA-PFGE, która wymaga szczególnej precyzji i pracowitości zwłaszcza jeżeli chodzi o wykonanie i interpretację dendrogramów. Autor przeprowadził także analizę profili plazmidowych, izolując plazmidowe DNA i wykonując odpowiednią elektroforezę w żelu agarozowym.

Zastosowane w tej pracy metody wskazują na rzetelną znajomość warsztatu badawczego przez Doktoranta i znakomitą współpracę z innymi jednostkami NIZP-PZH. Opis wyników został podzielony na 15 podrozdziałów dotyczących kolejnych zadań jakie postawił sobie Doktorant.

Zwraca uwagę wyjątkowa grupa szczepów badanych: 241 szczepów z kolekcji Zakładu Bezpieczeństwa Żywności NIZP-PZH (wyhodowanych w WSSE/PSSE różnych województw Polski) i 27 szczepów kontrolnych. W badaniach wstępnych Doktorant szczegółowo przebadał i ocenił wrażliwość na antybiotyki i chemioterapeutyki 110 szczepów, z których 72 zostały wytypowane jako odporne. Lekowrażliwość Autor oznaczał i wyniki uzyskane interpretował zgodnie z zaleceniami EUCAST, 2012. Stwierdził on oporność na kwas nalidyksowy, tetracyklinę, ampicylinę, streptomycynę, amoksycylinę/kw.klawulanowy, chloramfenikol, gentamycynę i ciprofloksacynę. Szczepy te pochodziły z żywności gotowej do spożycia, a także z żywności, która wymagała dalszej obróbki cieplnej (produkty mięsne, wyroby ciastkarskie, oraz jaja kurze i proszek jajeczny). Doktorant określił 22 wzory oporności na leki, tzw. profile lekooporności, przedstawione w Tabeli X (najczęściej występował profil 1). Spośród 72 lekoopornych izolatów 33 zaliczono do wielolekoopornych, większość a nich wyizolowano z produktów mięsnych. Większość spośród badanych szczepów stanowiły typy serologiczne Enteritidis (19), Infantis (13) i Newport (13). Wśród badanych izolatów *Salmonella* Enteritidis żaden nie należał do typu MDR, natomiast

sposób bardzo dojrzały w odniesieniu do wyników Autorów z innych krajów, a także w kontekście badań wykonanych w poprzednich latach, zachowując stosowny umiar. Zwracają uwagę przemyślenia Doktoranta, dotyczące stosowania antybiotyków w weterynarii, które przyczyniają się do wzrostu oporności wśród izolatów odzwierzęcych, a poprzez żywność rozpowszechniające się dalej, także wśród ludności. Mgr Łukasz Mąka zwłaszcza podkreśla że zredukowanie zużycia weterynaryjnych leków przeciwdrobnoustrojowych nie musi wcale powodować obniżenia wydajności produkcji, co wyraźnie pokazuje przykład Danii.

Doktorant podsumował uzyskane w tej pracy wyniki w postaci 11 wniosków. Uważam że w podrozdziale „Wnioski” Doktorant jeszcze raz powtórzył uzyskane przez siebie wyniki badań, chociaż nazwa rozdziału „wnioski” już sugeruje że należy je wyciągać z uzyskanych wyników, a nie powtarzać wyniki. Sugerowałabym jako wnioski pozostawić pozycje 8-11 nieco je modyfikując.

Ostatni rozdział – to obszerne piśmiennictwo, składające się aż z 387 pozycji, głównie z ostatnich lat. W pracy znalazłam błędy maszynowe i niezbyt fortunne sformułowania, a także szereg powtórzeń, zwłaszcza w podrozdziałach, dotyczących uzyskanych wyników, które jednak nie zmniejszają ogólnej wartości pracy.

Podsumowując, przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska pana mgr Łukasza Mąki jest samodzielną, całkowicie oryginalną pracą na wysokim poziomie naukowym. Wybór tematyki pracy, postawione cele badawcze i sposób ich realizacji oraz sposób przedstawienia i omówienia wyników nie budzą najmniejszych zastrzeżeń. Doktorant wykazał się dużą wiedzą, doskonałym i nowoczesnym warsztatem laboratoryjnym oraz umiejętnością krytycznej analizy wyników. Właściwie nie jest to zaskoczeniem, ponieważ praca została wykonana w tak znakomitej Instytucji jak NIZP-PZH, pod kierownictwem Pani Prof. Magdaleny Popowskiej, która przez szereg lat pracowała w zespole Profesora Markiewicza i kontynuuje nabyte w tym zespole tradycje naukowe.

To wszystko upoważnia mnie do złożenia do Wysokiej Rady Naukowej Narodowego Instytutu Zdrowia Publicznego – Państwowego Zakładu Higieny wniosku o przyjęcie rozprawy doktorskiej mgr Łukasza Maki i dopuszczenie do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Prof. dr hab. n. med. Gajane Martirosian
Katedra i Zakład Histologii i Embriologii
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

Warszawa, dn. 07-09-2016 r.