UNIWERSYTET
MIKOŁAJA KOPERNIKA
W TORUNIU
Wydział Farmaceutyczny
Collegium Medicum w Bydgoszczy

Katedra Mikrobiologii
Kierownik
Prof. dr hab. Eugenia Gospodarek - Komkowska
ul. Curie Skłodowskiej 9, 85-094 Bydgoszcz
e-mail: kizmikrob@cm.umk.pl
tel. +48 52 585 44 80, 52 585 40 47

FO17/2026/08/21

Bydgoszcz, 03.08.2026 r.

RECENZJA

rozprawy doktorskiej Pani mgr Klaudii Szarek, pt.
„Charakterystyka molekularna oraz biochemiczna szczepów patogenu ludzkiego *Clostridioides difficile* izolowanych od pacjentów hospitalizowanych na terenie Śląska",
promotor: dr hab. n. med. Robert Wojtyczka, prof. ŚUM, Katedra i Zakład Mikrobiologii, Wydział Nauk Farmaceutycznych w Sosnowcu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach; promotor pomocniczy: dr n. med. i n. o zdr. Monika Kabała, Katedra i Zakład Mikrobiologii Lekarskiej, Wydział Nauk Medycznych w Katowicach, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Rozprawa doktorska Pani mgr Klaudii Szarek ujęta jest w formie 5. oryginalnych, spójnych tematycznie artykułów opublikowanych w latach 2021 – 2025, jako prace wieloautorskie, odpowiednio w czasopismach: Euro Surveill (IF 7,8; MNiSW 140), Front Microbiol (IF 4,5; MNiSW 100), Front Microbiol (IF 4,5; MNiSW 100), Sci Rep (IF 3,9; MNiSW 140), J Microbiol (IF 0,5; MNiSW 70), Ann Acad Med Siles (IF 0,0; MNiSW: 40) o łącznej wartości wskaźnika IF 6,7 i punktacji MNiSW 490. W 4. pracach jest pierwszy autorem, co zwyczajowo przypisane jest głównemu wykonawcy.

Na podstawie załączonych oświadczeń autorów ocenianych prac, Kandydatka do stopnia informuje, że brała udział w zbieraniu i analizie materiału, danych klinicznych, przeglądzie piśmiennictwa, oraz w przygotowywaniu manuskryptów. Biorąc pod uwagę powyższe informacje, nie mam wątpliwości, że włączenie tych prac do rozprawy doktorskiej było w pełni uprawnione.

Przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska podzielona jest na rozdziały i podrozdziały typowe dla tego typu prac. Rozmieszczone są one w logicznej kolejności. Wzbogacają ją tabele i schemat.

We Wstępie Autorka wprowadza czytającego w istotę podjętego tematu badawczego. Na potrzeby tej pracy przedstawia szereg cennych informacji o *Clostridioides difficile* - bakterii bezwzględnie beztlenowej, Gram-dodatniej, przetrwalnikującej, zróżnicowanej genetycznie, uznawanej za główny czynnik biegunek poantybiotykowych. Wskazuje, m.in., na jej czynniki wirulencji, niezwykłe cechy przystosowawcze do życia w różnych środowiskach, na zdolność do sporulacji, oporność na czynniki fizykochemiczne, w tym na antyseptyki na bazie alkoholi, naturalną i nabywaną oporność na szereg antybiotyków, które to cechy ułatwiają jej utrzymywanie się w niekorzystnych warunkach i sprzyjają rozsiewowi, szczególnie w środowisku szpitalnym. Informacje zawarte w tej części stanowią podstawę do podjętych badań.

Celem ocenianej rozprawy była ocena wśród szczepów *C. difficile* wyosobnionych od pacjentów z biegunką poantybiotykową, leczonych w czterech szpitalach województwa śląskiego, toksynotwórczości, lekooporności, częstości występowania rybotypów, analiza genów oporności na antybiotyki w szczepach nowo zidentyfikowanego rybotypu RT955, pokrewieństwa filogenetycznego polskich szczepów *C. difficile* RT955 ze szczepami z Serbii, Wielkiej Brytanii i Kanady oraz analiza przebiegu zakażenia *C. difficile* na podstawie dostępnych danych.

Badaniem objęto 191 szczepów wyosobnionych od 208 pacjentów z zakażeniem *C. difficile* (*C. difficile* Infection, CDI), **(P I, II, IV, V)**. Cenną wartością pracy jest poddanie analizie szeregu czynników ryzyka wystąpienia CDI, uwzględnienie informacji o ich nawrotach **(P II, IV, V)**, reinfekcji oraz przeprowadzenie badań molekularnych w celu odróżnienia tych stanów **(P IV)**.

Doktorantka stwierdza, że w analizowanej grupie chorych czynnikami ryzyka rozwoju CDI, poza zaawansowanym wiekiem, były antybiotykoterapia i wielochorobowość, a nie ekspozycja na

UNIWERSYTET
MIKOŁAJA KOPERNIKA
W TORUNIU
Wydział Farmaceutyczny
Collegium Medicum w Bydgoszczy

Katedra Mikrobiologii
Kierownik
Prof. dr hab. Eugenia Gospodarek - Komkowska
ul. Curie Skłodowskiej 9, 85-094 Bydgoszcz
e-mail: kizmikrob@cm.umk.pl
tel. +48 52 585 44 80, 52 585 40 47

konkretne leki przeciwbakteryjne. Antybiotyki, często o charakterze empirycznym, stosowano w związku z leczeniem choroby podstawowej u większości chorych **(P II, IV)** i nie obejmowały one swoim zakresem działania *C. difficile*. Leczenie wankomycyną podjęto u 65,5% chorych z CDI, metronidazolem u 16,7%, a wankomycyną i metronidazolem - u 17,9% pacjentów **(P II, V)**.

W oparciu kryteria Europejskiego Centrum ds. Zapobiegania i Kontroli Chorób analizie poddano 12-tygodniowy okres poprzedzający wystąpienie CDI odnotowując, że wcześniejsza hospitalizacja dotyczyła 69,1% grupy badanej, a zabiegi chirurgiczne wykonano u 36,1% chorych **(P II, IV)**. Głównym miejscem ich hospitalizacji były oddziały chorób wewnętrznych oraz oddziały zabiegowe.

Wszystkie badane szczepy były wrażliwe na wankomycynę. Oporność na metronidazol, leku traktowanego do niedawna jako pierwszego wyboru, stwierdzono u 8,9% **(P I, II).** Szczepy, w których wykryto gen *ermB* (50,3%) były oporne na klindamycynę.

Doktorantka wskazuje, że wyniki badań własnych różnią się od notowanych trendów w krajach europejskich. Wykazała, że większość (96,9%) szczepów ujawniła zdolność do wytwarzania toksyn A i B oraz toksyny binarnej (71,7%), a hiperwirulentny rybotyp RT027 nadal dominuje (56,0%) w polskich szpitalach **[P II, IV, V]**, następnie nowo opisany przez Nią rybotyp RT955 (8,4%) **(P I, III),** po raz pierwszy raportowany w 2023 r., a wyizolowany z kału pacjenta hospitalizowanego w 2021 r. **(P I, III).** Autorka informuje o trudnościach w jednoznacznym ustaleniu pochodzenia tego rybotypu **(P I, II).** Posługując się sekwencjonowaniem całogenomowym potwierdziła bliskie pokrewieństwo genetyczne polskich izolatów rybotypu RT955 ze szczepami brytyjskimi, ale nie z tymi wyosobnionymi w Serbii i Kanadzie. Bliskie pokrewieństwo tych szczepów wykazała w ich filogenezie oraz w identycznym profilu lekooporności, tym samym zakresie mutacji i w nabytych genach oporności na antybiotyki **(P I, II)**. Nie udało się określić rybotypu dla 3,1% szczepów. Pani mgr Klaudia Szarek podkreśla, że nowo zidentyfikowany rybotyp RT955 jest wysoce zakaźny, sprzyja ciężkiemu przebiegowi choroby, wysokiemu ryzyku nawrotu, wykazuje oporność na metronidazol **(P I, II, IV, V)**. Przedstawiła szczegółową charakterystykę lekooporności 13. szczepów tego rybotypu **(P I)**.

Doktorantka podkreśla rolę w patogenezie *C. difficile* faga phi027, który wpływa na fizjologię swojego gospodarza **(P III)**. Wykazała doświadczalnie, że jego obecność sprzyja inicjacji sporulacji, a usunięcie - wzrostowi wytwarzania toksyny A oraz spadkowi stężenia toksyny B. Wykorzystując nowoczesną technikę inżynierii genetycznej CRISPR-Cpf1 (ang. Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats, zgrupowane, regularnie rozproszone, krótkie powtarzające się sekwencje palindromiczne), stworzyła szczep CKH08 pozbawiony faga wykazując, że jego obecność promuje kluczowe czynniki chorobotwórczości **(P III)**.

Przedstawiam kilka uwag i pytań, które dotyczą polskojęzycznej części rozprawy. Czy *C. difficile* jest chorobotwórczy tylko dla ludzi? Jak Doktorantka wytłumaczy obecność antygenu dehydrogenazy glutaminianowej w kale i brak wzrostu szczepów *C. difficile*? Czy antybiotyk i chemioterapeutyk to synonimy? Czy metronidazol jest antybiotykiem? Dlaczego stosowanie antybiotyków w związku z leczeniem choroby podstawowej nie obejmujących swoim zakresem działania *C. difficile* sprzyja rozwojowi CDI? Jak Doktorantka wyjaśni cel leczenia CDI wankomycyną i metronidazolem? Proponuję konsekwentnie przestrzegać zapisu nazw gatunku bakterii, wyjaśniania wprowadzanych skrótów, zgodnie z przyjętymi zasadami w opracowaniach naukowych oraz określeń, np. h / godz. Autorka pracy stosuje też niewłaściwe niektóre określenia, np. „produkcja toksyn", „dane literaturowe zwracające uwagę", „publikacja opisuje", „poziom toksyny", „czynnik napędzający

UNIWERSYTET
MIKOŁAJA KOPERNIKA
W TORUNIU
Wydział Farmaceutyczny
Collegium Medicum w Bydgoszczy

Katedra Mikrobiologii
Kierownik
Prof. dr hab. Eugenia Gospodarek - Komkowska
ul. Curie Skłodowskiej 9, 85-094 Bydgoszcz
e-mail: kizmikrob@cm.umk.pl
tel. +48 52 585 44 80, 52 585 40 47

zachorowalność", „wyniki uzyskane w publikacji podkreślają", „nosicielstwo profaga". W alfabecie polskim nie ma litery β. Należałoby ujednolicić zasady zapisu piśmiennictwa.

Podsumowując, pragnę podkreślić, że Pani mgr Klaudia Szarek w swojej rozprawie doktorskiej adresuje ważny i aktualny temat naukowy. W realizacji zamierzonego celu podjęła wielokierunkowe badania, wykazując znajomość wielu metod badawczych z obszaru mikrobiologii klasycznej, jak i nowoczesnych technologii, wykazując tym samym, że dysponuje umiejętnością korzystania z nich i dojrzałością rozwiązywania stawianych problemów. W projektowaniu eksperymentów wykazała znajomość tematu i umiejętność łączenia wiedzy z praktyką.

Podjęty przez Doktorantkę temat, zakreślony cel i jego realizacja, włożona praca doświadczalna i redakcyjna, a także szeroka znajomość piśmiennictwa i umiejętność jego wykorzystania w praktyce daje podstawy do uznania przedstawionej dysertacji za dobrą. Przedstawione wyniki stanowią poszerzenie wiedzy na temat biologii i epidemiologii *C. difficile* i są odpowiedzią na postawione cele.

Pragnę podkreślić, że praca doktorska Pani mgr Klaudia Szarek, stanowi cenne opracowanie naukowe, stanowiące rzeczywisty wkład do postępu wiedzy w aspekcie zwalczania zakażeń o etiologii *C. difficile*. Posiada również walory diagnostyczne i implikacje kliniczne.

Dobrze zaplanowane, wielokierunkowe badania dla każdego wyosobnionego szczepu pozwoliły Jej ocenić ich lekooporność, czego nie ujmują zalecenia, występowanie różnic w profilach biochemicznych i molekularnych, a także potwierdzić lub odróżnić nawrót od reinfekcji. Oceniając wartości minimalnych stężeń antybiotyków hamujących wzrost badanych szczepów podkreśla, że w interpretacji uzyskanych wyników, dla wiarygodnego oznaczenia lekooporności, kluczowe znaczenie ma odpowiedni dobór podłoża. Ponadto Doktorantka z dojrzałością badacza stwierdza, że brak ujęcia w standardach rybotypowania i monitorowania lekooporności opóźnia wykrywanie wysoce patogennych szczepów. Przedstawione metody oraz otrzymane dzięki nim obiecujące wyniki są cennymi informacjami naukowymi i stanowią podstawę do zaktualizowania rekomendacji w celu wdrożenia ich w mikrobiologicznych laboratoriach diagnostycznych, by skuteczniej zwalczać zakażenia oraz kontrolować utrzymywanie i rozprzestrzenianie się tego patogenu.

Cenną wartością rozprawy jest zapewnienie uzyskiwania wiarygodnych wyników poprzez prawidłowe przeprowadzanie eksperymentów wraz z odpowiednio dobranymi kontrolami. Takie dociekliwe i wieloaspektowe podejście pozwoliło Doktorantce wykryć nowy, dotychczas nie stwierdzany w Polsce rybotyp RT955, będący poważnym zagrożeniem z uwagi na jego patogenne właściwości,

Wykazała, że istotnym czynnikiem wpływającym na modyfikację wirulencji *C. difficile* jest zakażenie bakteriofagiem phi027. Powszechne występowanie szczepów toksynotwórczych, narastająca oporność na metronidazol oraz rozprzestrzenianie się klonalnie spokrewnionych szczepów *C. difficile* RT955 w jednostkach ochrony zdrowia stanowią szczególne zagrożenie. Sytuacja ta wskazuje na pilną potrzebę wdrożenia nadzoru epidemiologicznego zarówno w Polsce, jak i w Europie. Autorka pracy przedstawia słuszne wskazówki odnośnie statystyk ujmowanych w raportach, które nie ujmują istotnych danych epidemiologicznych, jak występowanie rybotypów *C. difficile* oraz antybiotykooporności szczepów, ponieważ w polskiej praktyce diagnostyka mikrobiologiczna wykrywania *C. difficile* nie obejmuje tych badań.

W przedstawionej dysertacji dostrzega się krytyczne podejście Doktorantki do wyników badań własnych, co świadczy o Jej dojrzałości naukowej. Wykazuje bardzo dobrą znajomość piśmiennictwa w swojej dziedzinie zainteresowań oraz sytuacji epidemiologicznej w kraju i w Europie. Podkreślenia wymaga też umiejętność współpracy w zespole wieloosobowym.

UNIWERSYTET
MIKOŁAJA KOPERNIKA
W TORUNIU
Wydział Farmaceutyczny
Collegium Medicum w Bydgoszczy

Katedra Mikrobiologii
Kierownik
Prof. dr hab. Eugenia Gospodarek - Komkowska
ul. Curie Skłodowskiej 9, 85-094 Bydgoszcz
e-mail: kizmikrob@cm.umk.pl
tel. +48 52 585 44 80, 52 585 40 47

Wskazuje na współczesne problemy leczenia CDI, zdolności adaptacyjne *C. difficile* do zmieniających się warunków oraz na rozwijające się możliwości terapeutyczne, w tym zastosowanie bakteriofagów.

Kierując się przedstawioną pozytywną opinią rozprawy doktorskiej **Pani mgr Klaudii Szarek** stwierdzam, że spełnia ona wszystkie wymogi formalne stawiane tego rodzaju pracom określone w art. 187 ust. 1-4 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U.2024 poz. 1571) i wnioskuję do Rady Dyscypliny Nauk Medycznych Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach o dopuszczenie jej Autorki do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie, biorąc pod uwagę, że posiada ona wartości poznawcze, nowatorskie i aplikacyjne, rekomenduję wyróżnienie rozprawy stosowną nagrodą.

Kierownik
Katedry Mikrobiologii

prof. dr hab. Eugenia Gospodarek-Komkowska