

Białystok, 18.01.2016

Prof. dr hab. Anatol Panasiuk
Klinika Chorób Zakaźnych i Hepatologii
Uniwersytet Medyczny w Białymstoku
Białystok, ul. Żurawia 14

Ocena dorobku naukowego i rozprawy habilitacyjnej doktora nauk medycznych Piotra Wieczorka pt. „Mechanizmy oporności bakterii na antybiotyki jako problem terapeutyczny” na wniosek Centralnej Komisji ds. Stopni i Tytułów Naukowych

Doktor nauk medycznych Piotr Wieczorek jest absolwentem Wydziału Lekarskiego Akademii Medycznej, obecnie Uniwersytet Medyczny we Białymstoku. Dyplom lekarza uzyskał w 1997 roku, od 2001 podjął pracę na stanowisku asystenta w Zakładzie Diagnostyki Mikrobiologicznej, a od 2011 na stanowisku adiunkta w tym samym zakładzie pod nazwą Zakład Diagnostyki Mikrobiologicznej i Immunologii Klinicznej UM w Białymstoku. W roku 2003 uzyskał prawo wykonywania zawodu diagnosty laboratoryjnego, w 2010 roku został specjalistą w dziedzinie mikrobiologii lekarskiej, od 2014 wszczął specjalizację w dziedzinie epidemiologii.

Dyplom doktora nauk medycznych uzyskał w 2009 roku na podstawie rozprawy doktorskiej pt. *Charakterystyka fenotypowa i genotypowa klinicznych szczepów *Acinetobacter baumani*.*

Ocena dorobku naukowego

*Ocena dzieła naukowego przedstawionego w postępowaniu habilitacyjnym jako szczególne osiągnięcie naukowe pt. **Mechanizmy oporności bakterii na antybiotyki jako problem terapeutyczny***

Jest to cykl 5 prac tematycznie powiązanych analizą mikrobiologiczną, molekularną, epidemiologiczną i kliniczną oporności patogennych bakterii na powszechnie stosowane antybiotyki. Trzy prace są publikowane w czasopiśmie medycznym z listy filadelfijskiej, dwie prace nie są na niej ujęte. Jedna z prac jest opisem przypadku, dwie pozostałe prace (z IF) są dziełem zbiorowym 6-12 autorów z czego dr Wieczorek jest jednym z dwu pierwszych równoważnych autorów, pomimo, że w dołączonej informacji przypisuje sobie 70% udział w publikacji. Wg recenzenta powinno to być co najwyżej 50% udziału w całości pracy. Łączny impact faktor publikacji złożonych jako osiągnięcie naukowe do postępowania habilitacyjnego to - 6,538. Przedstawione prace dotyczą badań nad zjawiskiem oporności bakterii na antybiotyki. Wyniki prac mają charakter zarówno poznawczy jak i odkrywczy. Przy wykorzystaniu bogatego, wystandaryzowanego warsztatu badawczego z użyciem m.in. technik amplifikacji PCR, sekwencjonowania genów (MLST), elektroforezy w zmiennym polu elektrycznym (PFGE) i innych metod fenotypowego badania lekowrażliwości bakterii habilitant uzyskał wartościowe dowody naukowe na podstawie których buduje trafne wnioski.

W pracy H1 (recenzent posługuje się symboliką zaproponowaną przez habilitanta, wskazując literą H kolejną pracę wymienioną w spisie dorobku) dokonano opisu zakażenia spowodowanego *Enterobacter cloacae* produkującego karbapenazę OXA-48. Oporność tą oznaczono przy użyciu metody PCR oraz testu Carba NP. Na tej podstawie autorzy sugerują, konieczność ciągłego monitorowania lekooporności

bakterii w miejscach dokąd chory jest transportowany. Możliwe jest to przy wdrożeniu określonych procedur z oceną oporności bakterii np. na karbapenemazy. Jest to bardzo cenna inicjatywa i niewątpliwie powinna być wzięta pod uwagę przez członków Zespołów Zwalczenia Zakażeń Wewnątrzszpitalnych, Antybiotykoterapii oraz epidemiologów szpitalnych.

W pracy H2 autorzy wykazali, że u szczepów *Acinetobacter baumani* z opornością na karbapenem wrażliwość na rifampicyną może synergicznie nasilać również na imipenem. Wykazano, że antybiotyki te cechują się wysokim stopniem synergizmu wobec *A. baumani*. Dotyczy to ok 60% wszystkich badanych szczepów, częściej o niskiej i umiarkowanej oporności na rifampicynę. Autorzy sugerują, że wysoka oporność na rifampicynę powinno być wskazówką, by nie stosować imipenemu ze względu na brak możliwości zapobiegnięcia rozwojowi oporności na rifampicynę. Innym cenny wnioskiem jest stwierdzenie, że zastosowanie rifampicyny do złożonej antybiotykoterapii w zakażeniach szpitalnych może spowodować synergię lub wzmocnić efekty terapii.

W pracy H3 habilitant analizował oporności na aminoglikozydy u szczepów *Enterococcus*. Wyizolowano szczepy *E. faecalis* oraz *E. faecium* i wykorzystując metodę dyfuzyjno-krażkową oceniono występowanie oporności wysokiego stopnia na gentamycynę i streptomycynę oddzielnie oraz łącznie. Autorzy uzyskali ciekawe wyniki wykazując wśród szczepów *E. faecium* VRE(-) wysoki odsetek oporności na gentamycynę zaś u szczepów VRE (+) wysoką oporność na streptomycynę. U bakterii VRE (+) stwierdzono również istotnie statystycznie wyższą oporność na gentamycynę i streptomycynę niż u *E. faecium* wrażliwych na wankomycynę (VRE -).

Kontynuacją wieloletnich zainteresowań naukowych habilitanta była publikacja pracy H4 w której dokonano oceny biochemicznej, genetycznej oraz

antybiotykooporności w 100 losowo wybranych klinicznie szczepach *Acinetobacter baumani*. Do oceny genów strukturalnych i regulatorowych pompy AdeABC zastosowano odpowiednie startery i przy użyciu techniki PCR wykazano bardzo wysokie rozpowszechnienie genów AdeABC. Autorzy pracy podkreślają rolę pomp w oporności na antybiotyki oraz na pojawianie się wielolekooporności *Acinetobacter baumani*. Praca jest szczególnie wartościowa z tego względu, że wnosi wiele istotnych informacji o patomechanizmie powstawania oporności wśród patogenu odgrywającego istotną rolę w zakażeniach szpitalnych. Poszukiwanie optymalnych połączeń antybiotyków w ciężkich zakażeniach szpitalnych jest poważnym wyzwaniem dla klinicystów oraz mikrobiologów.

W badaniach nad indukcją oporności *in vitro* *Acinetobacter baumani* (H5) na sulbactam i cefoperazon habilitant wykazał, że antybiotyki te indukują szybkie narastanie oporności na te antybiotyki i dodatkowo oporność ta utrzymuje się przy kolejnych badaniach wrażliwości. Częściej narasta MIC u szczepów bakterii gdzie stosowano jednocześnie skojarzone leczenie tymi dwoma antybiotykami. Metodyka badawcza jest bardzo nowoczesna i innowacyjna, a wyniki zaprezentowane przez autorów są wartościowe zarówno dla mikrobiologów jak i dla klinicystów zajmujących się leczeniem zakażeń szpitalnych.

Ocena pozostałego dorobku naukowego nie włączonego do szczególnego osiągnięcia naukowego

Dr Piotr Wieczorek jest współautorem 17 publikacji oryginalnych posiadających impact factor (łącznie 24,517), z czego habilitant jest pierwszym autorem jedynie w 2 pracach (*Folia Histochemica et Cytobiologica*, 2008 oraz 2012, łączny IF 2,314). W pozostałych pracach partycypuje wśród autorów zespołów

badawczych. Wśród 21 prac oryginalnych bez impact factor habilitant jest pierwszym autorem 2 prac (Medycyna Doświadczalna i Mikrobiologia 2006, Mikologia Lekarska 2008). Dr Wieczorek jest pierwszym autorem pracy poglądowej (Folia Histochemica et Cytobiologica 2008) z IF 1,213 w pozostałych 3 pracach poglądowych w tym czasopiśmie jest współautorem.

W otrzymanych od habilitanta kserokopii dorobku naukowego stwierdzono dołączone kserokopie 2 prac, które zostały opublikowane po złożeniu dorobku naukowego do CK (New Microbiologica, akceptacja pracy 29 sierpnia 2015 oraz Acta Biochimica Polonica, akceptacja pracy 5 październik 2015) i nie były asygnowane w wykazie bibliograficznym przygotowanym przez Bibliotekę UMB (z dnia 25 maja 2015). Dlatego nie mogą one podlegać ocenie.

Ponadto habilitant podaje nieprawdzie dane dotyczące łącznego dorobku naukowego (Autoreferat, str 31) powołując się na dane bibliograficzne przygotowane przez Bibliotekę UMB. W tabeli umieścił w nieuprawniony sposób zawyżoną liczbę opublikowanych artykułów naukowych, rzeczywista liczba artykułów naukowych to 47, habilitant włączył w to doniesienia zjazdowe uzyskując liczbę 103 artykułów naukowych. Po zapoznaniu się z treścią dostarczonych doniesień zjazdowych recenzent stwierdził, że w ok. 80-90% istnieje powtarzalność treści zawartej w abstraktach i oryginalnych pracach ujętych w dorobku habilitanta. Dr Wieczorek jest pierwszym autorem 6 z 55 doniesień zjazdowych.

Analizując dorobek naukowy można wyróżnić kilka kierunków badawczych habilitanta.

1. Cykl prac dotyczących badań nad lekowrażliwością drobnoustrojów.

Badania dotyczyły bakterii G(+) oraz G(-), m.in. Staphylococcus aureus MRSA,

MSSA; *Enterococcus faecium*; *Pseudomonas aeruginosa*; *Acinetobacter baumani*; *Branhamella catarrhalis*; *Klebsiella pneumoniae* oraz grzybów *Candida albicans*; *C. glabrata*; *C. tropicalis*. Wyniki tych badań są cenne i wnoszą bardzo wiele przydatnych klinicznie informacji dotyczących strategii postępowania z zakażeniem o określonej etiologii. Długotrwała obserwacja (2006-2011) oporności *Enterobacteriaceae* na karbapenemy wykazała, że narastanie oporności może być wynikiem zwiększenia rozpowszechnienia szczepów *K. pneumoniae* typu KPC. Wzorowa współpraca klinicystów z oddziałów intensywnej terapii oraz chirurgii z mikrobiologami monitorującymi rozpowszechnienie lekoowrażliwości oraz lekooporności może skutkować tylko dobrymi owocami – tj. konstruowaniem też jak skutecznie walczyć z drobnoustrojami w stanach krytycznych. Takie wnioski są konstruowane przez zespoły badawcze w pracach których aktywnie uczestniczył habilitant.

- 2. Badania nad mechanizmami oporności bakterii na antybiotyki.** Cykl 3 prac dotyczących roli metalo- β -laktamaz bakterii. Wnioski z tych badań są obszerne, autorzy sugerują m. in. że *Pseudomonas aeruginosa* nabywa geny kodujące oporność (IMP, VIM, SPM) dzięki transferowi „mobilnych struktur genetycznych, ponadto sugeruje że taka transmisja jest możliwa na inne bakterie z grupy *Enterobacteriaceae*. Badania nad opornością *Proteus mirabilis* na aminoglikozydy z udziałem acetylotransferazy [AAC(6,))I] autorzy prowadzili przy zastosowaniu techniki PCR. Enzym ten odgrywa istotną rolę w oporności na niektóre antybiotyki bowiem modyfikuje ich strukturę chemiczną. Wykazano u części szczepów *P. mirabilis* obecność tego enzymu co wiązało się z wysokim MIC na oceniane antybiotyki. Habilitant uczestniczył również w badaniach nad szczepami *Klebsiella pneumoniae* KPC dodatnie. W badaniach genetycznych nad opornością były

analizowane geny *bla_{KPC-3}*, *bla_{TEM-34}*, *bla_{SHV}*, *bla_{CTX-M}*, *bla_{VIM}*, *bla_{IMP}* oraz *bla_{OXA-48}*. Habilitant wraz z zespołem badawczym opublikowali pierwsze w Polsce informacje o wykryciu genu *bla_{KPC-3}* u szczepu *E. coli* o typie sekwencyjnym ST479. W innych pracach wykazano znaczny udział acetylotransferazy AAC(6)-I w indukcji oporności na aminoglikozydy wielolekoopornych szczepów *P. aeruginosa*. Inny ciekawym doniesieniem jest praca badawcza w której wykazano, że występująca w środowisku naturalnym i rzadko będąca chorobotwórcza bakteria *Chryseobacterium indologenes* została wyizolowana z krwi obwodowej chorego. Bakteria ta może być nośnikiem genów wielolekoopornych, u wyizolowanej bakterii wykazano pełną wrażliwość tylko na jeden antybiotyk - kotrimoksazol.

3. **Badania dotyczące dendrymerów.** Cykl 3 prac poświęconych badaniom nad rodzajami organicznych nanostrukturalnych cząsteczek które mogą być przydatne w zwiększeniu skuteczności działania antybiotyków na bakterie. Autorzy wykazali, że dendrymer poliamidoaminowy PAMAM-NH₂ zwiększa przeciwgrzybicze działanie klotrimazolu oraz silnie wpływają na rozpuszczalność i aktywność ketokonazolu w wodzie. W obecności tego dendrymeru ketokonazol wykazywał wysoką hamującą i bójącą wobec szczepów *Candida*.
4. **Inne kierunki badań.** Cykl 2 prac poświęconych przydatności diagnostycznej immunoperoksydazowego versus immunofluorescencyjnego testu do wykrywania w moczu przeciwciał opłaszczających bakterie. Badania nad opornością *C. albicans* na flukonazol i itrakonazol wykazały, że oporność narasta dość szybko, szybciej na flukonazol. Grzyby pozostające w hodowlach bez obecności triazoli wykazywały podobną wrażliwość jak przed stosowaniem tych leków.

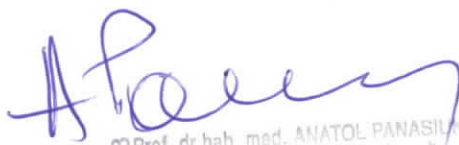
Dr Piotr Wieczorek w latach 2003-2015 uczestniczył w realizacji 35 projektów naukowych (prace statutowe UMB) z tego w 4 był ich kierownikiem. Ponadto był współwykonawcą w 2 projektach dydaktyczno-badawczych w ramach dotacji KNOW oraz w 1 projekcie (lata 2009-2013) finansowanym przez Narodowe Centrum Nauki.

Habilitant za osiągnięcia naukowe był 5-krotnie nagradzany zespołową nagrodą II i III stopnia JM Rektora UMB, uzyskał również nagrodę zespołową Ministra Zdrowia za współautorstwo rozdziału w książce pt. Current trends in antibiotic resistance in infectious diseases.

Wśród innych osiągnięć dr Piotr Wieczorek wymienia 3 wystąpienia ustne na lokalnych konferencjach naukowo-szkoleniowych.

Po analizie dostarczonych dokumentów w przewodzie habilitacyjnym Pana Piotra Wieczorka, uważam, że habilitant dostatecznie dysponuje osobistym naukowym dorobkiem do ubiegania się o tytuł samodzielnego pracownika nauki. Niewątpliwie dr Wieczorek jest wyśmienitym specjalistą w dziedzinie dotyczącej badań nad opornością bakterii na antybiotyki, jego doświadczenie stanowi poważny atut do dalszej pracy naukowej. Jego duży potencjał wiedzy, doświadczenia oraz zaangażowanie w wielu projektach badawczych dobrze rokuje na przyszłość, kiedy to poprzez własne osiągnięcia może spełniać kryteria do dalszego awansu naukowego.

Zwracam się do Dziekana Wydziału Farmacji Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku z propozycją kontynuowania przewodu habilitacyjnego dr Piotra Wieczorka oraz poddanie pod dyskusję oceny dorobku naukowego przez członków Komisji powołanej przez Centralną Komisję do Spraw Stopni i Tytułów.


93 92408 Prof. dr hab. med. ANATOL PANASIUK
specjalista chorób zakaźnych,
medycyny morskiej i tropikalnej,
zdrowia publicznego
choroby wewnętrzne; pao@narfi.edu.pl