



## O C E N A

### **osiągnięcia naukowego oraz istotnej aktywności naukowej**

#### **doktora nauk medycznych Piotra Wieczorka**

#### **kandydata do stopnia naukowego doktora habilitowanego**

(zgodnie z kryteriami oceny ujętymi w rozporządzeniu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 1 września 2011 r. w sprawie kryteriów oceny osiągnięć osoby, ubiegającej się o nadanie stopnia doktora habilitowanego

Dz.U. Nr 196, poz. 1165)

#### **1. Przebieg pracy zawodowej**

Dr n. med. Piotr Wieczorek jest lekarzem, absolwentem Wydziału Lekarskiego Akademii Medycznej w Białymstoku (obecnie Uniwersytet Medyczny w Białymstoku) dyplom lekarza (dyplom nr 8776/100/97 uzyskany 2.07.1997 r.). Habilitant uzyskał tytuł naukowy doktora nauk medycznych w zakresie biologii medycznej w dniu 25.06.2009 r. decyzją Rady Wydziału Farmaceutycznego z oddziałem Medycyny Laboratoryjnej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku. Tytuł rozprawy doktorskiej: „Charakterystyka fenotypowa i genotypowa klinicznych szczepów *Acinetobacter baumannii*”, promotor: prof. dr hab. Elżbieta Trynieszewska, recenzenci: prof. dr hab. Lech Chyczewski, prof. dr hab. Andrzej Lange. Tytuł specjalisty w dziedzinie mikrobiologia lekarska (dyplom nr 0716/2010.2/2) Habilitant uzyskał w Centrum Egzaminów Medycznych w Łodzi w dniu 6.12.2010 r. na podstawie odbytego szkolenia specjalizacyjnego i złożonego egzaminu państwowego w dniu 30.11.2010 r.

Ponadto dr Piotr Wieczorek posiada prawo wykonywania zawodu diagnosty laboratoryjnego (nr 06082), uzyskane uchwałą Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych nr 31/2003 z dnia 15.10.2003 roku. Habilitant ma otwartą od 1.03.2014 r. specjalizację w dziedzinie epidemiologii.

Po otrzymaniu dyplomu lekarza dr Wieczorek był zatrudniony kolejno w okresach 1.10-2001 – 1.03.2011 r. jako asystent Zakładu Diagnostyki Mikrobiologicznej, Wydziału Farmaceutycznego, Akademii Medycznej w Białymstoku (obecnie Zakład Diagnostyki



Mikrobiologicznej i Immunologii Infekcyjnej, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku), a później w okresie od 1.03.2011 r. do chwili obecnej jako adiunkt Zakładu Diagnostyki Mikrobiologicznej i Immunologii Infekcyjnej, Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku

## 2. Osiągnięcie naukowe

Podstawę ubiegania się dr n. med. Piotra Wieczorka o tytuł naukowy doktora habilitowanego stanowi jednotematyczny cykl 5 publikacji (**H.1 –H.5**) pod tytułem „Mechanizmy oporności bakterii na antybiotyki jako problem terapeutyczny” o łącznej wartości **IF 6,638** i łącznej wartości punktacji MNiSW **72**.

Według załączonych oświadczeń współautorów cyklu publikacji udział doktora Piotra Wieczorka jest jasno określony. W większości publikacji udział Habilitanta polegał na ustaleniu koncepcji badawczej, opracowaniu i wykonaniu doświadczeń, analizie wyników i ich interpretacji, przygotowaniu manuskryptu i ostatecznej korekty, chociaż w 2 pierwszych publikacjach posiadających IF dr Piotr Wieczorek jest drugim autorem, jednak jak wynika z załączonej dokumentacji jest on równorzędnym pierwszym autorem (equal contribution) z mgr Majewskim. Cykl publikacji zawiera 3 publikacje posiadające IF: dwie z 2014 roku i jedną z 2012 roku, a także 2 publikacje bez IF odpowiednio z 2012 i 2014 roku. W 4 z 5 publikacji stanowiących podstawę ubiegania się o tytuł doktora habilitowanego dr Wieczorek jest pierwszym autorem (lub równorzędnym), a w jednej (nie posiadającej IF) drugim autorem.

Wiodącym tematem przedstawionego cyklu prac jest oporność bakterii na antybiotyki, u podstaw której leżą różne mechanizmy, u wybranych bakterii Gram-ujemnych i Gram-dodatnich. Badania prowadzono na szczepach bakteryjnych wyizolowanych z próbek materiałów klinicznych pobranych od pacjentów leczonych w Uniwersyteckim Szpitalu Klinicznym Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku. Wśród bakterii Gram-ujemnych wykorzystano szczepy: *Enterobacter cloacae*, *Acinetobacter baumannii*, natomiast spośród Gram-dodatnich - szczepy *Enterococcus faecalis* i *Enterococcus faecium*. Do osiągnięcia zamierzonych celów Habilitant razem ze współautorami wykorzystali metody fenotypowe



badania lekowrażliwości, tj. metodę mikrorozcieńczeniową, dyfuzyjno – krążkową, dyfuzyjną z zastosowaniem pasków z gradientem stężeń oraz metody biologii molekularnej: reakcje łańcuchowej polimerazy - PCR, elektroforezę w zmiennym polu elektrycznym - PFGE oraz typowanie sekwencji wielu „loci” - MLST.

W publikacji **H.1** przedstawiono po raz pierwszy w Polsce i Europie Środkowej przypadek zakażenia wywołanego przez *Enterobacter cloacae* produkującego karbapenemazę OXA-48. Doniesienia literaturowe wskazują, że szczepy takie wcześniej były izolowane w krajach Europy Zachodniej (Francja, Belgia, Niemcy, Hiszpania, Wielka Brytania), w Turcji, a także poza Europą (Indie, Maroko, Senegal).

Przypadek 76-letniego pacjenta, planowo operowanego w 2012 r. z powodu niedomykalności zastawki mitralnej i trójdzielnej, Habilitant przeanalizował retrospektywnie. Stan kliniczny pacjenta był obciążony chorobami towarzyszącymi: chorobą wieńcową, nadciśnieniem tętniczym, zespołem bradykardia-tachykardia, przewlekłą niewydolnością nerek w trzecim stadium. Co istotne, w wywiadzie nie stwierdzono ani zagranicznych podróży, ani hospitalizacji poza granicami Polski. W trakcie leczenia szpitalnego wyizolowano szczepy *E. cloacae*, które pierwotnie nie zostały zidentyfikowane jako producenci karbapenemazy. Pierwsze szczepy niewrażliwe na którykolwiek z powszechnie stosowanych karbapenemów (imipenem lub meropenem) pochodziły z krwi oraz z wydzieliny z oskrzeli. Szczep wyhodowany z krwi wykazywał podwyższone wartości MIC dla imipenemu i meropenemu (wrażliwy i średnio wrażliwy). Z kolei izolat wyhodowany z wydzieliny z oskrzeli wykazał średnią wrażliwość dla imipenemu i oporność dla meropenemu. Kliniczna interpretacja lekowrażliwości potwierdza fakt, że w warunkach *in vitro* producenci karbapenemaz nie muszą prezentować pełnej oporności na karbapenemy, a jeśli już ją rozwiną to hydrolityczna aktywność może w różnym stopniu dotyczyć poszczególnych przedstawicieli danej grupy antybiotyków. Takie efekty mogą mieć poważne implikacje diagnostyczne, a tym bardziej terapeutyczne. U pacjenta wykorzystano w terapii jedyny możliwy do zastosowania antybiotyk – imipenem, w związku ze szczepem wyhodowanym z krwi. W kolejnym dniu włączono tygecyklinę, jako terapię empiryczną ze względu na szczep wyizolowany z wydzieliny z oskrzeli (zakażenie układu oddechowego):



średniowrażliwy jedynie na imipenem i oporny na pozostałe zbadane antybiotyki. Aktywność empirycznie zastosowanej tygecykliny została dopiero retrospektywnie zbadana, a uzyskany wynik wartości MIC wskazywał na oporność obu szczepów (pochodzącego z krwi i z wydzieliny z oskrzeli). Oprócz imipenemu oraz tygecykliny, pacjent otrzymywał od kilku dni kolistynę ze względu na wcześniej rozwinięte zakażenie układu moczowego wywołane przez wielooporny szczep *Acinetobacter baumannii*, wrażliwy jedynie na kolistynę. Terapia ta mogła przyczynić się do faktu, że już pierwszy z wyizolowanych szczepów z układu oddechowego był oporny na kolistynę. Pacjent otrzymywał leczenie skojarzone, składające się z trzech antybiotyków, a mimo tego terapia ta okazała się nieskuteczna. Nie doszło do eradycji wieloopornego szczepu *E. cloacae*, ponieważ w późniejszym okresie dodatkowo z moczu izolowano fenotypowo podobne szczepy, i ponownie z krwi oraz wydzieliny z oskrzeli. Ostatecznie pacjent zmarł wśród objawów dekompensacji układu krążenia, zaburzenia krzepnięcia krwi, niewydolności wielonarządowej. Szczepy *E. cloacae* zostały poddane szczegółowej analizie z zastosowaniem metod fenotypowych jak i metod biologii molekularnej. Zastosowanie krążkowych testów nie wykazało istotnego poszerzenia średnicy strefy zahamowania wzrostu wokół krążków zawierających karbapenem i EDTA oraz kwas boronowy.

W związku z powyższym zastosowano test Carba NP (obecność OXA-48). W materiale genetycznym szczepów *E. cloacae* wykryto gen *bla<sub>OXA-48</sub>* kodujący poszukiwaną karbapenemazę. Dodatkowo, analiza MLST wykazała obecność tego samego typu sekwencyjnego ST89 u wszystkich szczepów *E. cloacae* wyizolowanych od pacjenta.

W publikacji **H.4** Habilitant wykonał ocenę rozpowszechnienia genów strukturalnych i regulatorowych pompy AdeABC w populacji 100 szczepów *Acinetobacter baumannii*. Genetyczne pokrewieństwo szczepów przeanalizowano w oparciu o metodę PFGE. Za pomocą pasków z gradientem stężeń oznaczono wartości MIC sześciu antybiotyków - gentamycyny, amikacyny, netylmycyny, ciprofloksacyny, imipenemu oraz meropenemu, które mogą mieścić się w spektrum aktywności pompy AdeABC.

Wszystkie szczepy posiadały gen *adeB* głównego transportera. Pomimo chromosomalnej lokalizacji genów, nie u wszystkich szczepów wykazano ich obecność. Pojedyncze izolaty nie miały genu *adeA* oraz *adeS*, a 3 szczepy nie posiadały genu *adeR*.



Znacznie więcej szczepów nie miało genu *adeC*, jego brak stwierdzono u 16 szczepów *A. baumannii*. Tylko 3 szczepy nie były nosicielami dwóch genów jednocześnie: *adeC* i *adeS*, *adeC* i *adeR* oraz *adeA* i *adeC*, reprezentowały 3 różne typy PFGE. Większość szczepów *adeC*- była skupiona wewnątrz klonu L.

Najwięcej zbadanych pałeczek *A. baumannii* było opornych na ciprofloksacynę (95%) i amikacynę (88%), a ponad 80% na gentamycynę i netylmocynę. Porównując oporność na antybiotyki 16 szczepów *adeC*- z *adeC*+ stwierdzono wyższe odsetki szczepów opornych na wszystkie 6 antybiotyków w grupie *adeC*+. Największe różnice poziomów oporności (ok. 70%) dotyczyły netylmocyny i obu karbapenemów, natomiast najmniejsze różnice (15,5%) - amikacyny. Wyniki tych badań sugerują, że aż 93% szczepów może być uznanych za wielooporne.

W pracy **H.3** opisano badania fenotypowe dotyczące oporności na aminoglikozydy u szczepów *Enterococcus*. W badaniu uwzględniono ocenę występowania oporności wysokiego stopnia na: gentamycynę - HLGR, streptomycynę - HLSR oraz oporność na oba antybiotyki - HLAR. Połowa szczepów *E. faecium* i 32% *E. faecalis* prezentowała wysoką oporność na wszystkie antybiotyki aminoglikozydowe HLAR. Porównano także oporność na aminoglikozydy szczepów opornych i wrażliwych na wankomycynę. Ważnym wydaje się stwierdzenie wysokiego odsetka HLAR wśród izolatów VRE- (64%) względem 23,1% VRE+ (różnice istotne statystycznie).

W publikacji **H.2** wykorzystano 17 szczepów, które zidentyfikowano metodami biologii molekularnej (peR, sekwencjonowanie) jako producenci karbapenemazy OXA -72 należącej do grupy OXA-24-like. MIC rifampicyny i imipenemu wobec *A. baumannii* zostały oznaczone metodą mikrorozcieńczeniową. Wszystkie szczepy wykazały pełną wrażliwość na rifampicynę, a ich wartości MIC wynosiły 2 µg/ml lub 4 µg /ml. Wartości MIC dla imipenemu badanych pałeczek mieściły się w zakresie 8 - 128 µg/ml. Oceny interakcji między rifampicyną i imipenemem dokonano poprzez analizę wskaźnika frakcjonowanego stężenia hamującego (IFIC) za pomocą miareczkowania metodą szachownicy. W badaniu tym wykazano efekt synergizmu u pięciu izolatów (29%) oraz efekt addycji u kolejnych pięciu (29%). Co istotne, nie stwierdzono *in vitro* antagozimu pomiędzy badanymi antybiotykami,



wykazano, że jest możliwy synergizm rifampicyny z imipenemem nawet u szczepów *Acinetobacter baumannii* opornych na karbapenem.

W kolejnej publikacji **H.5** przedstawiono pierwsze wyniki oceniające sulbaktam względem krajowych szczepów *A. baumannii*. Aktywność samego sulbaktamu może być zróżnicowana - wartości MIC mogą wahać się w przedziale 0,5 µg/ml - 16 µg/ml. Interesujące jest osiągnięcie u dwóch szczepów efektu bakteriobójczego sulbaktamu po inkubacji w stężeniu 2x MIC wyjściowy, co wskazuje na wartość MBC na poziomie 16 µg/ml i 32 µg/ml. Zasadniczym celem pracy była ocena możliwości wyindukowania oporności na sulbaktam, pod wpływem różnych stężeń (0,5x, 0,9x oraz 2x wyjściowa wartość MIC), w trakcie inkubacji oraz ocena zmian wartości MIC badanego czynnika w zależności od liczby pasaży bakterii. W badaniach porównawczych uwzględniono także komercyjnie dostępne antybiotyki cefoperazon i połączenie cefoperazonu z sulbaktamem.

Wykazano, że sekwencja seryjnych pasaży, początkowo w obecności a później bez obecności badanych czynników, szybko indukuje narastanie oporności i podnosi na wyższy poziom wartości MIC cefoperazonu, cefoperazonu z sulbaktamem, a także samego sulbaktamu. Efekt ten jest wyraźniej widoczny w trakcie stymulacji wyższymi stężeniami antybiotyków (0,9x i 2x wyjściowa wartość MIC), szczególnie w przypadku jednoczesnej stymulacji cefoperazonem w połączeniu z sulbaktamem. Ponadto, Habilitant przytacza przykłady wzajemnych negatywnych oddziaływań pomiędzy dwoma składnikami: wyższe wyjściowe wartości MIC cefoperazonu z sulbaktamem niż samego sulbaktamu oraz brak efektu bakteriobójczego cefoperazonu z sulbaktamem u szczepu, u którego stwierdzono ten efekt po zastosowaniu tylko sulbaktamu. Skłania to Autorów do wniosku, że w terapii zakażeń o etiologii *A. baumannii* zasadne wydaje się być stosowanie sulbaktamu jako pojedynczego składnika leku bez obecności cefoperazonu.

Uzyskane przez Habilitanta wyniki badań przedstawione w osiągnięciu mają charakter poznawczy oraz praktyczny. Za bardzo ważne uważam fragmenty związane z demonstracją u pałeczek Gram-ujemnych karbapenemaz typu OXA-48 i interpretacje tych wyników. Badania wskazują na potrzebę właściwego wykorzystania diagnostyki mikrobiologicznej, doboru najlepszych metod do właściwej detekcji mechanizmów oporności, zwłaszcza tych nowo pojawiających się i szybko rozprzestrzeniających. W świetle rosnącej liczby zakażeń



wywołanych wieloopornymi bakteriami, tematyka oporności na antybiotyki i jej mechanizmy staje się nagłym problemem do rozwiązania we współczesnej medycynie.

Problem lekooporności drobnoustrojów jest problemem ogólnoświatowym. Problem jest na tyle niepokojący że zwraca uwagę nie tylko szeregu światowych organizacji medycznych np. WHO, CDC, ECDC, ale także polityków, rządów, prezydentów.

Podjęcie przez Habilitanta tego tematu i uzyskane wyniki pogłębiają wiedzę w tym zakresie i stanowią znaczny wkład w rozwój mikrobiologii klinicznej.

W mojej ocenie osiągnięcie, obejmujące mechanizmy oporności bakterii na antybiotyki jako problem terapeutyczny jest znaczne, o wciąż aktualnej tematyce i może stanowić podstawę do ubiegania się o stopień doktora habilitowanego.

### 3. Istotna aktywność naukowa

Dorobek dr n. med. Piotra Wieczorka (bez osiągnięcia naukowego) obejmuje 42 publikacje oryginalne, w tym 21 opublikowanych w czasopiśmie z JCR z Impact Factor, wśród pozostałych są 21 publikacji nie znajdujących się na liście JCR, 5 prac poglądowych, oraz jest autorstwo 1 rozdziału w podręczniku anglojęzycznym. Dorobek naukowy uzupełniają 55 streszczeń ze zjazdów międzynarodowych (22) i krajowych (33). Łączna wartość **IF** powyższych publikacji wynosi **35,654**, liczba punktów MNiSW **540**; liczba cytowań publikacji wg Web of Science Core Collection wynosi **135**, bez autocytowań – **104**, index Hirscha = **6** (według bazy Web of Science z dnia 25.05.2015). 29 prac opublikowano po uzyskaniu przez Habilitanta stopnia doktora nauk medycznych, a 19 przed. Po obronie pracy doktorskiej Habilitant konsekwentnie prowadził badania naukowe, które można podzielić na kilka kierunków:

#### 1) Cykl badań lekowrażliwości i oceny aktywności antybiotyków wobec drobnoustrojów

W badaniach zwracano uwagę na aktywność karbapenemów. Oceniono częstość występowania szczepów opornych na karbapenemy wśród pałeczek z rodziny *Enterobacteriaceae* wyizolowanych w okresie sześciu lat od pacjentów leczonych w Uniwersyteckim Szpitalu Klinicznym. W latach 2006 - 2011 łącznie wyizolowano 216 pałeczek jelitowych opornych na karbapenemy, co stanowiło 0,96 % wszystkich



wyhodowanych pałeczek *Enterobacteriaceae*. Najwięcej szczepów opornych na karbapenemy zidentyfikowano w roku 2011 (44,4 %). Oporność na tą grupę antybiotyków dotyczyła najczęściej *K. pneumoniae* (103) i *E. cloacae* (85). W ciągu ocenianego okresu odnotowano narastanie oporności na karbapenemy u pałeczek *Enterobacteriaceae*, co w znacznej mierze może być związane z rozpowszechnieniem szczepów *K. pneumoniae* wytwarzających karbapenemazę typu KPC.

Habilitant udowodnił że subinhibicyjne stężenia imipenemu silniej niż meropenemu indukowały wzrost wartości MIC danego antybiotyku u pałeczek *P. aeruginosa*, zarówno w grupie szczepów pierwotnie opornych jak i wrażliwych na oba karbapenemy. Najwyższy wzrost wartości MIC zaobserwowano po indukcji stężeniem 1/2 MIC imipenemu przez 120 godzin inkubacji u szczepów pierwotnie opornych. Badania potwierdzają, że alternatywnym antybiotykiem w terapii zakażeń powodowanych przez odporne na karbapenemy szczepy *P. aeruginosa* może być kolistyna i polimyksyna B.

W badaniach oceniających wrażliwość szczepów *A. baumannii* na antybiotyki stwierdzono wysoki odsetek szczepów opornych (> 75 %) na piperacylinę, cefotaksym, tetracyklinę i ciprofloksacyne. Najbardziej aktywnymi antybiotykami okazały się meropenem, cefepim i ampicylina w połączeniu z sulbaktamem. Badania fenotypowe mogły sugerować udział  $\beta$ -laktamaz o rozszerzonym spektrum substratowym. Podjęto próbę wyizolowania szczepu posiadającego gen *bla<sub>PER</sub>*, ale na tym etapie badań genetycznie nie potwierdzono udziału  $\beta$ -laktamazy PER (ESBL), która w niektórych regionach geograficznych świata jest częstym enzymem u pałeczek *Acinetobacter*.

Wykazano wysoką aktywność tygecykliny wobec szczepów *S. aureus*, *E. coli* oraz *K. pneumoniae* izolowanych z ropy i ran od pacjentów leczonych w oddziałach chirurgicznych. Aktywność tygecykliny z uwzględnieniem wieloopornych szczepów (MRSA i pałeczek Gram- ESBL+) była porównywalna z aktywnością imipenemu (*E. coli* i *K. pneumoniae*) oraz wankomycyny (*S. aureus*). Nie stwierdzono szczepów opornych na tygecyklinę, za wyjątkiem pojedynczego szczepu *K. pneumoniae* ESBL-dodatniego według kryteriów interpretacyjnych EUCAST, które w tym czasie jeszcze nie były obowiązującymi w Polsce.





## 2) Cykl badań genów kodujących mechanizmy oporności na antybiotyki

Dr Wieczorek dokonał przeglądu literatury dotyczącej jednej z nowszych  $\beta$ -laktamaz o aktywności karbapenemazy KPC a także nowego enzymu NDM wśród Gram-ujemnych bakterii, głównie u *K. pneumoniae* i *E. coli*.

Pierwsze szczepy KPC-dodatnie wyizolowano w 2011 roku, od pacjentów leczonych w dwóch klinicznych szpitalach, tj. Uniwersyteckim Szpitalu Klinicznym (USK) i Uniwersyteckim Dziecięcym Szpitalu Klinicznym (UDSK). Badania genetyczne wykazały obecność genu *bla<sub>KPC-3</sub>* oraz *bla<sub>TEM-34</sub>*, natomiast nie stwierdzono obecności genów *bla<sub>SHV</sub>*, *bla<sub>CTX-M</sub>*, *bla<sub>VIM</sub>*, *bla<sub>IMP</sub>* oraz *bla<sub>OXA-48</sub>* u *E. coli*. Fenotypowo szczep ten prezentował wrażliwość na kolistynę i tygecyklinę, natomiast zróżnicowaną wrażliwość wobec karbapenemów (wrażliwość - meropenem, średnia – imipenem, doripenem, oporność - ertapenem). Było to pierwsze doniesienie w Polsce o wykryciu genu *bla<sub>KPC-3</sub>* u *E. coli* o typie sekwencyjnym ST279.

W badaniach dotyczących mechanizmów oporności zidentyfikowano szczep *Chryseobacterium indologenes* posiadający gen bla<sub>D-I</sub> odpowiedzialny za produkcję metalo- $\beta$ -laktamazy IND-I. *Chryseobacterium indologenes* to Gram-ujemne pałeczki niefermentujące występujące w środowisku naturalnym, mogą także występować w środowisku szpitalnym. Rzadko powodują zakażenia u ludzi, ale mogą być problematyczne w terapii ze względu na wielooporność, w której duży udział może mieć powyższa  $\beta$ -laktamaza. Opublikowane doniesienie było pierwszym udokumentowanym w Polsce przypadkiem bakteremii wywołanej przez szczep *C. indologenes* wytwarzający metalo- $\beta$ -laktamazę IND-I. W badaniach lekowrażliwości potwierdzono wielooporność szczepu oraz pełną wrażliwość *in vitro* tylko na jeden antybiotyk (kotrimoksazol).

## 3) Cykl badań dotyczących dendrymerów

Badania dotyczące dendrymerów prowadzono w ścisłej współpracy z Zakładem Farmacji Stosowanej UMB jako współwykonawcy.

Wszystkie badane dendrymery PAMAM (drugiej - G2 i trzeciej - G3 generacji) poprawiały rozpuszczalność klotrimazolu, ale silniejsze efekty były po zastosowaniu



PAMAM- NH<sub>2</sub> niż PAMAM-OH. PAMAM-NH<sub>2</sub> znacznie zwiększał działanie przeciwgrzybicze klotrimazolu (4 - 32- krotny wzrost aktywności) i było ono silniejsze w przypadku PAMAM-NH<sub>2</sub> drugiej generacji. Oceniono także wpływ tych samych dendrymerów na przeciwgrzybiczą aktywność ketokonazolu praktycznie nierozpuszczalnego w wodzie. Dendrymery PAMAM silnie wpływały na rozpuszczalność i aktywność ketokonazolu. Wartości MIC i stężenia bójczonego wskazały, że PAMAM-NH<sub>2</sub> znacząco zwiększają działanie przeciwgrzybicze ketokonazolu wobec szczepów z rodzaju *Candida*. Aktywność przeciwgrzybicza zaprojektowanego hydrożelu zawierającego ketokonazol z PAMAM-NH<sub>2</sub> była zdecydowanie wyższa niż hydrożelu z czystym ketokonazolem oraz względem komercyjnie dostępnego preparatu handlowego. Znacznie słabsze efekty przeciwdrobnoustrojowe obserwowano w badaniach dotyczących antybiotyków przeciwbakteryjnych. Tylko niewielki wzrost aktywności stwierdzono w przypadku PAMAM-OH G3, PAMAM-NH<sub>2</sub> G2 i G3, i dotyczyło to tylko szczepów z gatunku *S. aureus*. Natomiast PAMAM nie wpływały na antybakteryjną aktywność hydrofilowej tobramycyny.

#### 4) Inne kierunki badań

Uzyskane przez Habilitanta wyniki sugerują, że pamięć immunologiczna może być zaangażowana w rozwój przewlekłych zaburzeń naczyń żylnych. Stwierdzono, że olejki eteryczne uzyskane z korzeni i ziół *Erigeron acris* oraz ziół *Erigeron annuus* wykazują przeciwgrzybiczą aktywność wobec różnych gatunków grzybów z rodzaju *Candida*.

#### Kierowanie międzynarodowymi i krajowymi projektami badawczymi oraz udział w takich projektach

Od momentu zatrudnienia w roku 2001 w Zakładzie Diagnostyki Mikrobiologicznej Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Analityki Medycznej Akademii Medycznej w Białymstoku Habilitant brał czynny udział w realizacji prac badawczych prowadzonych w Zakładzie. Do czasu uzyskania stopnia doktora nauk medycznych współuczestniczył w 11 projektach statutowych, natomiast od roku 2009 do chwili obecnej uczestniczył i uczestniczy łącznie w 24 projektach finansowanych przez UM w Białymstoku ze środków na badania statutowe. Równocześnie brał udział jako główny wykonawca w 1 zakończonym grantie



badawczym finansowanym ze środków MNiSW/NCN. Aktualnie współuczestniczy w 2 projektach dydaktyczno – badawczych z dotacji w ramach Krajowego Narodowego Ośrodka Wiodącego - KNOW.

**A. Projekty badawcze finansowane przez MNiSW/Narodowe Centrum Nauki**

1. Projekt finansowany przez MNiSW/Narodowe Centrum Nauki: „Geny pomp z rodziny RND i ich ekspresja u szczepów *Acinetobacter baumannii* i *Pseudomonas aeruginosa*”, Nr N N401 012336. Realizowany w latach 2009-2013 – główny wykonawca

**B. Projekty dydaktyczno – badawcze z dotacji KNOW**

1. „Molekularna charakterystyka wybranych mechanizmów oporności na antybiotyki, czynników wirulencji oraz ocena pokrewieństwa genetycznego u szczepów *Enterococcus* spp.”, okres realizacji 1.10.2013 – 30.09.2015, nr projektu 53/KNOW/2013.
2. „Molekularne mechanizmy oporności na karbapenemy wśród szczepów *Enterobacter cloacae*”, okres realizacji 1.10.2013 – 30.09.2015, nr projektu 52/KNOW/2013.

**C. Projekty badawcze statutowe finansowane przez Uniwersytet Medyczny w Białymstoku (łącznie liczba 35)**

Dr Piotr Wieczorek posiada szereg **nagród i wyróżnień krajowych i międzynarodowych**:

1. Zespołowa nagroda naukowa II stopnia JM Rektora UM Białymstoku za osiągnięcia naukowe w roku akademickim 2008/2009.
2. Zespołowa nagroda naukowa II stopnia JM Rektora UM w Białymstoku za osiągnięcia naukowe w roku akademickim 2009/2010.
3. Zespołowa nagroda Ministra Zdrowia za opracowanie rozdziału pt. ”Genes encoding production of metallo- $\beta$ -lactamases in most important Gram-negative pathogens” w książce pt.”Current trends in antibiotic resistance in infectious diseases” przyznana w roku 2010.



4. Zespołowa nagroda naukowa III stopnia JM Rektora UM w Białymstoku za osiągnięcia naukowe w roku akademickim 2011/2012.
5. Zespołowa nagroda naukowa III stopnia JM Rektora UM w Białymstoku za osiągnięcia naukowe w roku 2012.
6. Zespołowa nagroda naukowa II stopnia JM Rektora UM w Białymstoku za osiągnięcia naukowe w roku 2013.

**Podsumowując**, dorobek doktora nauk medycznych Piotra Wieczorka należy uznać za znaczący, spójny i istotny. Wsparcie diagnostyki fenotypowej badaniami molekularnymi może przyspieszyć uzyskanie wyników. To z kolei może mieć wpływ na sprawniejsze wprowadzenie właściwego postępowania epidemiologicznego i ograniczanie transmisji szczepów posiadających kluczowe determinanty oporności do innych pacjentów.

Wyniki uzyskane przez Habilitanta wskazują na możliwość pojawiania się korzystnych efektów leczenia pomimo, jak by się wydawało, niezasadnego kojarzenia różnych antybiotyków wobec szczepów opornych. Otwiera to nowe rozwiązania w tym zakresie, ale wymaga to dalszych szczegółowych badań *in vitro*, tym bardziej *in vivo*.

#### **4. Dorobek dydaktyczny i popularyzatorski**

Od początku pracy w Zakładzie Diagnostyki Mikrobiologicznej i Immunologii Infekcyjnej dr Piotr Wieczorek uczestniczył w różnych formach zajęć dydaktycznych (ćwiczenia i seminaria) ze studentami różnych kierunków studiów na Wydziale Farmaceutycznym z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej oraz Wydziale Nauk o Zdrowiu Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku:

- a) od roku 2001 – ćwiczenia, seminaria na kierunku Analityka Medyczna (III i IV rok), od sześciu lat prowadzi także wykłady;
- b) od roku 2001 – ćwiczenia na kierunku Farmacja, od sześciu lat także wykłady;
- c) od roku 2002 – ćwiczenia na kierunkach: Położnictwo, Pielęgniarstwo, Dietetyka, Zdrowie Publiczne, Ratownictwo Medyczne, od sześciu lat prowadzi także wykłady;
- d) od roku 2010 – ćwiczenia, seminaria i wykłady na kierunku Kosmetologia.



**Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach**  
**Wydział Lekarski w Katowicach**  
**Katedra i Zakład Mikrobiologii Lekarskiej**  
**40-752 Katowice, ul. Medyków 18**  
tel. +48 (32) 20 88 550| fax.+48 (32) 25 26 075  
[mikrobiologia@sum.edu.pl](mailto:mikrobiologia@sum.edu.pl)

W Zakładzie Diagnostyki Mikrobiologicznej i Immunologii Infekcyjnej, od marca 2011 roku, dr Wieczorek pełni funkcję „Koordynatora ds. Dydaktyki” i jest odpowiedzialny za całokształt organizacji pracy dydaktycznej z zakresu mikrobiologii dla studentów wszystkich kierunków. Jest on odpowiedzialny za organizację i przeprowadzenie egzaminów pisemnych na kierunku Kosmetologia i Zdrowie Publiczne oraz egzaminów teoretycznych i praktycznych na kierunkach Analityka Medyczna i Farmacja. Od 2011 r. Habilitant bierze czynny udział w pracach Rady Pedagogicznej poszczególnych kierunków studiów Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej.

Habilitant opracował nowe i zmodyfikował wcześniejsze sylabusy na poszczególnych kierunkach studiów, a także tematykę wykładów, ćwiczeń i seminariów. Brał udział w przygotowaniu skryptów dydaktycznych do użytku wewnętrznego: Sacha PT, Wieczorek P. Taksonomia bakterii, grzybów i wirusów ważnych w mikrobiologii medycznej, 2010 r. (skrypt dla kierunków Analityka Medyczna i Farmacja oraz oddzielny skrypt dla Ratownictwa Medycznego, Pielęgniarstwa, Położnictwa, Dietetyki, Kosmetologii i Zdrowia Publicznego).

Dr Piotr Wieczorek współprowadzi opiekę naukową (od 2012 r.) nad studentami Studenckiego Koła Naukowego działającego przy Zakładzie. Studenci czynnie uczestniczą w krajowych i międzynarodowych konferencjach prezentując wyniki swoich badań i opracowań naukowych, zdobywają nagrody i wyróżnienia.

W ramach obowiązków organizacyjnych i dydaktycznych Habilitant prowadzi stronę internetową Zakładu Diagnostyki Mikrobiologicznej i Immunologii Infekcyjnej.

Po uzyskaniu specjalizacji z mikrobiologii lekarskiej (od 2010 r.) dr Wieczorek jest powoływany przez JM Rektora Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku prof. dr hab. Jacka Niklińskiego do Komisji Kwalifikacyjnej ds. oceny kandydatów do odbywania specjalizacji w dziedzinie mikrobiologii medycznej. Jest on kierownikiem specjalizacji 5 osób specjalizujących się w mikrobiologii medycznej. Jako bardzo cenne doświadczenie naukowe i zawodowe uważam szereg odbytych krajowych staży przez Habilitanta, a także opiekę nad badaniami magistrantów i doktorantów, członkostwo w szeregu Towarzystw naukowych krajowych i zagranicznych, a także wykonane recenzje i liczne wykłady i prezentacje własnych wyników na konferencjach krajowych i zagranicznych. Niestety nie znalazłam w



Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach  
Wydział Lekarski w Katowicach  
Katedra i Zakład Mikrobiologii Lekarskiej  
40-752 Katowice, ul. Medyków 18  
tel. +48 (32) 20 88 550| fax.+48 (32) 25 26 075  
[mikrobiologia@sum.edu.pl](mailto:mikrobiologia@sum.edu.pl)

przedstawionej dokumentacji informacji na temat odbytych staży w ośrodkach zagranicznych, co znacznie wzbogaciłoby wiedzę i doświadczenia Habilitanta.

## 5. Podsumowanie

Uważam że wskazane przez dr n.med. Piotra Wieczorka osiągnięcie naukowe oraz dotychczasowy dorobek naukowy spełniają kryteria podane w art.16 ust. 1 i 2 Ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach i tytułach naukowych oraz o stopniach i tytułach naukowych w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz. 595 z późn. zmianami). Dojrzałość naukowa Habilitanta jest poparta zdolnością tworzenia samodzielnej koncepcji, konsekwencją prowadzenia badań i wyciągania odpowiednich wniosków. Warto podkreślić umiejętność wykorzystania wiedzy teoretycznej i nowoczesnych technik badawczych w rozwiązaniu problemów klinicznych.

W związku z powyższym wnioskuję o kontynuację postępowania habilitacyjnego doktora Piotra Wieczorka.

Katowice, 12 stycznia 2016

Prof. dr hab.n. med. Gajane Martirosian