UNIWERSYTET
WARSZAWSKI

Wydział Biologii
Zakład Mikrobiologii i Biotechnologii Środowiskowej, Instytutu Mikrobiologii
PROF. DR HAB. ŁUKASZ DZIEWIT

Warszawa, 20.02.2024

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr. DAMIANA ROLBIECKIEGO pt. „Ścieki szpitalne i komunalne jako źródło rozprzestrzeniania lekooporności w środowisku (Hospital and municipal wastewater as a source of antimicrobial resistance in the environment)"

Rozprawa doktorska mgr. Damiana Rolbieckiego wykonana pod kierunkiem prof. dr hab. inż. Moniki Harnisz w Katedrze Inżynierii Ochrony Wód i Mikrobiologii Środowiskowej Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie została przygotowana zgodnie z wymogami odpowiedniej ustawy. Zostały więc spełnione wymagania formalne.

Rozprawa doktorska mgr. Rolbieckiego składa się z: (i) informacji na temat źródeł finansowania badań; (ii) spisu publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej; (iii) streszczenia w j. polskim; (iv) streszczenia w j. angielskim; (v) wstępu; (vi) celu i zakresu badań; (vii) hipotez badawczych; (viii) opisu metod i wyników; (ix) podsumowania; (x) spisu literatury; (xi) spisu tabel, rysunków i wykresów; (xii) czterech oryginalnych publikacji naukowych oraz (xiii) oświadczeń współautorów publikacji. Publikacje naukowe wchodzące w skład rozprawy doktorskiej zostały opublikowane w pismach: (i) *Applied Sciences-Basel* (5 autorów), (ii) *International Journal of Hygiene and Environmental Health* (6 autorów); (iii) *International Journal of Environmental Research and Public Health* (4 autorów); (iv) *Journal of Hazardous Materials* (6 autorów). Mgr Rolbiecki jest pierwszym autorem we wszystkich pracach, czyli jego wkład w powstanie powyższych publikacji był znaczący, a jego udział w prowadzonych badaniach wiodący. Podstawę przedstawionej do oceny rozprawy doktorskiej stanowi więc wyodrębniona część prac zbiorowych. Mgr Rolbiecki jednoznacznie określił swój wkład w powstanie powyższych prac, co znajduje potwierdzenie w oświadczeniach innych autorów. Udział mgr. Rolbieckiego w powstaniu ww. prac sprowadza się do: (i) poboru próbek; (ii) opracowania koncepcji badań i planowania eksperymentów, (iii) wykonania eksperymentów, (iv) interpretacji wyników, (v) przeglądu literatury naukowej, (vi) przygotowania manuskryptów, (vii) przygotowania rycin i tabel oraz (vii) ostatecznej korekty pracy.

OCENA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Głównym celem rozprawy doktorskiej mgr. Rolbieckiego było określenie roli ścieków komunalnych i szpitalnych w rozprzestrzenianiu lekooporności w środowisku. Dodatkowo, mgr Rolbiecki postawił sobie za cel ocenę skuteczności dezynfekcji ścieków szpitalnych jako czynnika ograniczającego rozprzestrzenianie się lekoopornych patogenów i genów lekooporności.

Bardzo wysoko oceniam sposób przygotowania rozprawy doktorskiej przez mgr. Rolbieckiego. Szczególnie doceniam wstęp zahaczający o obszary ustawodawstwa i ochrony zasobów wodnych. Publikacje składające się na rozprawę doktorską stanowią spójną całość, czyli są jednotematycznym cyklem opublikowanych prac badawczych. Mgr Rolbiecki jest pierwszym autorem we wszystkich pracach. Tematyka badawcza przedstawiona w publikacjach jest bardzo aktualna, zwłaszcza w obliczu narastającego kryzysu antybiotykoodporności. W swoich badaniach Doktorant wykorzystuje różne techniki badawcze z zakresu mikrobiologii środowiskowej, mikrobiologii klinicznej oraz bioinformatyki. Eksperymenty są przemyślane, dopracowane i właściwie wykonane, a interpretacja uzyskanych wyników jest prawidłowa. Według mnie,

ul. Ilji Miecznikowa 1, 02-096 Warszawa
tel.: 22 55 41 403
e-mail: l.dziewit@uw.edu.pl
http://im.biol.uw.edu.pl/

Doktorant we właściwy sposób opanował warsztat badawczy i jest gotowy do prowadzenia samodzielnych badań bez nadzoru opiekuna.

W mojej ocenie główne osiągnięcia naukowe przedstawione w publikacjach składających się na rozprawę doktorską mgr. Rolbieckiego to:

(i) w pracy Rolbiecki i wsp. 2020 (*Applied Sciences-Basel*) – potwierdzenie wcześniejszych obserwacji, że proces biologicznego oczyszczania ścieków nie jest w stanie efektywnie usuwać genów oporności na antybiotyki, a tzw. ściek oczyszczony trafiający do rzek może wzbogacać pule genów oporności na antybiotyki w rzekach;

(ii) w pracy Rolbiecki i wsp. 2021 (*International Journal of Hygiene and Environmental Health*) – wyizolowanie patogennych *Klebsiella* spp. od pracowników oczyszczalni ścieków i wykazanie ograniczonej (ale widocznej) roli oczyszczalni ścieków w bezpośredniej transmisji bakterii patogennych do gospodarzy (ludzie) oraz wysokiego poziomu transmisji do środowiska, przy czym jak się okazuje medium transmisyjnym są tu tzw. ścieki oczyszczone;

(iii) w pracy Rolbiecki i wsp. 2022 *(International Journal of Environmental Research and Public Health*) – wykazanie, że ścieki szpitalne są rezerwuarem krytycznych patogenów alarmowych, a proces dezynfekcji podchlorynem sodu prowadzony w przyszpitalnej stacji dezynfekcyjnej nie jest do końca skuteczny, gdyż bakterie z rodziny Enterobacteriaceae go przeżywają i mogą trafiać do miejskiego systemu kanalizacji;

(iii) w pracy Rolbiecki i wsp. 2023 (*Journal of Hazardous Materials*) – wykazanie, że chemiczna dezynfekcja ścieków szpitalnych z wykorzystaniem związków chloru może modyfikować rezystom i mobilom ścieków szpitalnych, co manifestuje się zmniejszeniem częstości występowania genów oporności na antybiotyki w ściekach przy jednoczesnym zwiększeniu ich różnorodności i mobilności.

PODSUMOWANIE:

1) ocena wraz z uzasadnieniem, czy rozprawa doktorska prezentuje ogólną wiedzę teoretyczną osoby ubiegającej się o nadanie stopnia doktora w określonej dyscyplinie albo dyscyplinach

Mgr Rolbiecki ma bardzo dobre przygotowanie merytoryczne. Wiedza teoretyczna z zakresu szerokorozumianej eko-epidemiologii i mikrobiologii środowiskowej jest u niego znacząco pogłębiona i czyni z niego wnikliwego badacza zjawiska rozprzestrzeniania antybiotykoodporności. Bardzo cieszy mnie, że Doktorant rozumie potrzebę właściwego ustawodawstwa (tworzonego przez naukowców!!!, a nie urzędników) w celu opracowania zasad skutecznego i rzetelnego monitoringu środowiska.

2) ocena wraz z uzasadnieniem, czy rozprawa doktorska wykazuje umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej lub artystycznej przez osobę ubiegającą się o nadanie stopnia doktora;

Mgr. Rolbiecki potrafi właściwie dobierać techniki badawcze i interpretować uzyskane wyniki. Brał udział w opracowywaniu koncepcji badań, planowaniu eksperymentów i ich wykonywaniu. Według mnie jest przygotowany do dalszego samodzielnego prowadzenia prac naukowych.

3) ocena wraz z uzasadnieniem, czy rozprawa doktorska stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, oryginalne rozwiązanie w zakresie zastosowania wyników własnych badań naukowych w sferze gospodarczej lub społecznej albo oryginalne dokonanie artystyczne.

Wyniki uzyskane przez Doktoranta, mimo deskryptywnego charakteru, są nowatorskie i stanowią oryginalne rozwiązanie problemu naukowego. Wpisują się one w pewnego rodzaju kontinuum, z którego powoli wyłaniają się regulacje i przepisy dotyczące kontroli zjawiska obecności w ściekach i dystrybucji ze ścieków antybiotykoopornych patogenów i genów oporności, jak również samych antybiotyków i produktów ich rozpadu.

ul. Ilji Miecznikowa 1, 02-096 Warszawa
tel.: 22 55 41 403
e-mail: l.dziewit@uw.edu.pl
http://im.biol.uw.edu.pl/

KOMENTARZE, PYTANIA I ZAGADNIENIA DO DYSKUSJI:

1. W publikacji, w *Applied Sciences*, Autor badał obecność wybranych genów oporności na sulfonamidy i fluorochinolony. Dlaczego wybrano właśnie te dwie grupy związków antybakteryjnych? Czy sprawdzano obecność/stężenie tych antybiotyków w badanych ściekach/rzekach przed i podczas poboru próbek?

2. W publikacji, w *Applied Sciences*, przeprowadzono analizę wykorzystując tylko cztery pary primerów do PCR. Czy sprawdzono *in silico* ich specyficzność i wydajność? Startery zastosowane dla genu *qepA* mają ekstremalnie niską specyficzność i mogą generować fałszywie negatywne wyniki.

3. W publikacji, w *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, Doktorant przeprowadził bardzo ciekawą analizę rozpowszechnienia genów kodujących beta-laktamy wykazując, że najpowszechniejszy gen to bla_{TEM}. Obecnie prowadzone badania wskazują, że gen ten jest tak powszechny, że w zasadzie nie ma już znaczenia epidemiologicznego/monitoringowego. Które geny *bla* wg Doktoranta mają jeszcze takie znaczenie i ich badanie ma istotny diagnostycznie sens w badaniach środowiskowych? Poproszę o zbudowanie rankingu tych genów, biorąc pod uwagę ich znaczenie kliniczne.

4. W publikacji, w *International Journal of Environmental Research and Public Health*, Doktorant sugeruje, że dezynfekcja związkami chloru mogła faworyzować przeżywalność bakterii lekoopornych w ściekach szpitalnych. Przyjmuję wytłumaczenie jakoby oporność na związki chloru i antybiotyki podlegały kolokalizacji i koselekcji oraz, że stresowe warunki mogą stymulować horyzontalny transfer genów, jednak podawanie jako wytłumaczenia procesu selekcji zwiększonej ekspresji genów oporności na antybiotyki w warunkach dezynfekcji (obecności związków chloru) według mnie nie ma tu zastosowania. Nawet jeżeli geny oporności rzeczywiście podlegają zwieszonej ekspresji w tych warunkach nie ma to moim zdaniem większego znaczenia dla selekcji szczepów opornych – chyba, że w danym środowisku rzeczywiście mamy do czynienia z selekcyjnymi dawkami antybiotyków. Czy badano stężenia antybiotyków w tych ściekach?

5. W publikacji, w *Journal of Hazardous Materials*, Doktorant zastosował sekwencjonowanie z wykorzystaniem technologii Oxford Nanopore co pozwoliło mu zidentyfikować ruchome elementy genetyczne związane z genami oporności na antybiotyki. Jaki był zakres wielkości tych elementów i ile z nich to były plazmidy? Jakie grupy niezgodności reprezentowały zsekwencjonowane plazmidy?

WNIOSKI KOŃCOWE

Przedstawiona mi do oceny praca spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U.2023.742 ze zm.). Wnoszę więc do Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Biologiczne Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie o dopuszczenie mgr. DAMIANA ROLBIECKIEGO do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne. Mając na uwadze wysoką wartość naukową uzyskanych wyników wnoszę o wyróżnienie recenzowanej rozprawy mgr. DAMIANA ROLBIECKIEGO stosowną nagrodą.

Prof. dr hab. Łukasz Dziewit

Dziewit

ul. Ilji Miecznikowa 1, 02-096 Warszawa
tel.: 22 55 41 403
e-mail: l.dziewit@uw.edu.pl
http://im.biol.uw.edu.pl/