



Dr hab. n med. Paweł-Tomasz Sacha
ZAKŁAD DIAGNOSTYKI MIKROBIOLOGICZNEJ
i IMMUNOLOGII INFEKCYJNEJ
Uniwersytet Medyczny w Białymstoku
15-269 BIAŁYSTOK, ul. J. Waszyngtona 15A
tel./fax +48 85 831 85 71
pawel.sacha@umb.edu.pl

Białystok, dnia 12.05.2026 r.

RECENZJA

Rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Aleksandry Talarczyk pt.: „Modulacja aktywności pomp efflux i jej wpływ na skuteczność antybakteryjnej terapii fotodynamicznej z wykorzystaniem ilościowej analizy na poziomie pojedynczej komórki” wykonanej w Politechnice Wrocławskiej.

Promotorami rozprawy doktorskiej są: Pani dr hab. inż. Agnieszka Ulatowska-Jarża, prof. uczelni, oraz promotor pomocniczy Pan dr hab. inż. Igor Buzalewicz, prof. uczelni, Katedra Inżynierii Biomedycznej, Politechniki Wrocławskiej.

W ostatnich latach obserwuje się wyraźny wzrost liczby badań związany z poszukiwaniem nowych terapii dotyczących zwalczania zakażeń spowodowanych przez wielolekooporne drobnoustroje. Duże zainteresowanie budzą metody opartymi na przeciwdrobnoustrojowej terapii fotodynamicznej (aPDT), szczególnie w kontekście zakażeń wywoływanych przez bakteryjne szczepy wielolekooporne wytwarzających biofilm.

Zakres tematyczny rozprawy wpisuje się w aktualny i bardzo istotny nurt badań dotyczących poszukiwania alternatywnych metod terapii zakażeń w obliczu narastającego problemu antybiotykooporności wśród różnych grup bakterii.

W tym kontekście podjęta przez Doktorantkę problematyka jest zarówno aktualna, jak i uzasadniona naukowo.

Rozprawa ma wyraźnie interdyscyplinarny charakter, łącząc elementy mikrobiologii, biofizyki, fotochemii, obrazowania biomedycznego i inżynierii biomedycznej. Na szczególne



podkreślenie zasługuje próba połączenia klasycznych metod mikrobiologicznych z ilościową analizą obrazową opartą o cyfrową holotomografię (DHT), co stanowi jeden z oryginalnych elementów ocenianej pracy.

Podstawę rozprawy doktorskiej stanowią trzy spójne, tematycznie powiązane publikacje naukowe uzupełnione syntetycznym opracowaniem obejmującym: wprowadzenie teoretyczne, uzasadnienie podjętej problematyki badawczej, hipotezy i cele pracy, omówienie wyników oraz podsumowanie oraz wnioski końcowe.

Tematyka rozprawy koncentruje się wokół zagadnienia zwiększania skuteczności antybakteryjnej terapii fotodynamicznej (aPDT) poprzez zastosowanie naturalnych inhibitorów pomp efflux (EPIs) oraz kombinacji fotouczulaczy z antybiotykami lub cytostatykami a także wykorzystania cyfrowej holotomografii (DHT) jako nowoczesnego narzędzia ilościowej analizy odpowiedzi bakteryjnej na poziomie pojedynczej komórki.

Prace stanowiące podstawę rozprawy doktorskiej nie wymagają odrębnej oceny merytorycznej, zawarte w nich treści zostały bardzo wysoko ocenione przez niezależnych ekspertów, recenzentów czasopism, o czym świadczy fakt, iż są one opublikowane w prestiżowych czasopismach międzynarodowych o wysokich wymogach merytorycznych i redakcyjnych. Każda z tych prac jest pracą zbiorową, jednak **w każdej z nich Pani mgr inż. Aleksandra Talarczyk jest pierwszym autorem.**

Wszystkie prace wchodzące w skład rozprawy doktorskiej to prace oryginalne. Łączny wskaźnik oddziaływania trzech prac **Impact Factor wynosi 14**, zaś **punktacja MNiSW wynosi 440**. Zostały one opublikowane w okresie czterech lat - kolejno: **1 praca** w 2022r., 140 pkt. MNiSW, **IF 5,6**; **2 praca** w 2025r., 200 pkt. MNiSW, **IF 6,2**; **3 praca** w 2026r. 100 pkt. MNiSW **IF 1,2**.

Recenzowana rozprawa doktorska ma układ typowy dla osiągnięcia składającego się z tematycznie spójnych trzech publikacji. Zawiera ona: „Wykaz publikacji będących podstawą rozprawy doktorskiej”, „Wykaz skrótów”, „Streszczenie w języku polskim”, „Streszczenie w języku angielskim”, „Cel oraz hipotezy pracy naukowej”, „Wstęp”, „Opis prac i publikacje wchodzące w skład rozprawy doktorskiej”, „Podsumowanie i kierunek przyszłych badań”, „Bibliografia”, „Dorobek naukowy oraz analiza bibliometryczna Doktorantki. Rozprawa obejmuje łącznie 124 stron razem z załączonymi publikacjami. W części „Bibliografia” Doktorantka przedstawiła wykaz najważniejszych 166 pozycji piśmiennictwa.

Oceniając dobór problematyki badawczej przez Doktorantkę muszę przyznać, iż tematyka rozprawy jest bardzo dobrze osadzona w aktualnych wyzwaniach współczesnej mikrobiologii i medycyny. Problem narastającej oporności bakterii na antybiotyki należy obecnie do najważniejszych zagrożeń zdrowia publicznego. Szczęólnego znaczenia nabiera to w przypadku bakterii zdolnych do tworzenia biofilmu oraz wykazujących aktywność pomp efflux, które znacząco ograniczają skuteczność klasycznych terapii przeciwdrobnoustrojowych. W tym kontekście terapia fotodynamiczna stanowi atrakcyjną strategię alternatywną, ponieważ jej mechanizm działania opiera się na generowaniu reaktywnych form tlenu i jednoczesnym uszkodzaniu wielu struktur komórkowych.

Doktorantka słusznie wskazuje, że wielocelowy charakter terapii fotodynamicznej może utrudniać rozwój oporności. Jednocześnie należy zaznaczyć, że część sformułowań dotyczących „niemożności” wytworzenia oporności wobec terapii fotodynamicznej jest zbyt kategorierna. Coraz więcej danych sugeruje bowiem możliwość rozwoju adaptacyjnych mechanizmów tolerancji lub oporności także wobec terapii opartych na akumulacji reaktywnych form tlenu (ROS; ang. *reactive oxygen species*)

Bardzo trafny jest natomiast wybór zagadnień dotyczących pomp efflux. Zjawisko aktywnego usuwania różnych antybiotyków przez bakterie ma kluczowe znaczenie zarówno dla klasycznej antybiotykooporności, jak i dla skuteczności terapii fotodynamicznej. Szczęólnie wartościowa jest próba wykorzystania naturalnych związków roślinnych jako potencjalnych inhibitorów pomp efflux, co wpisuje się w aktualny nurt badań nad strategiami adjuwantowymi.

Cele rozprawy zostały sformułowane jasno i logicznie. Doktorantka postawiła trzy główne hipotezy badawcze:

1. Kombinacja dwóch odpowiednio dobranych fotouczulaczy zwiększa ich akumulację w komórkach bakteryjnych oraz prowadzi do uzyskania co najmniej addytywnego efektu terapii fotodynamicznej;
2. Zastosowanie celowanych inhibitorów pomp efflux (EPIs) ogranicza dynamikę formowania się struktur przestrzennych tworzonych przez bakterie;
3. Zastosowanie wybranych inhibitorów pomp efflux (EPIs) zwiększa wewnątrzkomórkową akumulację fotouczulacza.

Hipotezy te są spójne z układem cyklu publikacji i tworzą logiczną tematykę badawczą: od oceny kombinacji fotouczulaczy, przez analizę wpływu inhibitorów pomp

efflux na populacje bakteryjne, aż po połączenie obu strategii w modelu terapii kombinowanej.

Na podkreślenie zasługuje fakt, że rozprawa nie ogranicza się wyłącznie do wykazania efektu przeciwdrobnoustrojowego, ale podejmuje próbę ilościowego opisu zmian komórkowych przy wykorzystaniu cyfrowej holotomografii (DHT). To właśnie ten element stanowi jeden z ciekawszych aspektów nowatorskich całej pracy.

W pierwszej publikacji badania Doktorantki koncentrują się na ocenie skuteczności akumulacji w komórce kombinacji dwóch fotouczulaczy: Chlorin e6 oraz Pheophorbide a. Największą zaletą tej publikacji jest wykorzystanie cyfrowej holotomografii (DHT) do ilościowej oceny zmian zachodzących w pojedynczych komórkach bakteryjnych. Doktorantka i współautorzy wykazali, że połączenie dwóch fotouczulaczy skutkuje większą skutecznością terapii fotodynamicznej (aPDT) niż stosowanie każdego z nich oddzielnie. Istotnym atutem tej pracy jest również wykorzystanie mikroskopii konfokalnej do oceny akumulacji fotouczulaczy.

Pewnym ograniczeniem pozostaje wykorzystanie wyłącznie jednego modelu bakteryjnego (*Escherichia coli*), co ogranicza możliwość szerszego uogólniania uzyskanych wyników. Ponadto mechanizm zwiększonej skuteczności terapii kombinowanej pozostaje częściowo opisowy i nie został pogłębiony np. o analizę powstawania reaktywnych for tlenu (ROS) czy wpływu na integralność błon.

Mimo pewnych ograniczeń **publikację oceniam wysoko** ze względu na jej nowatorski aspekt metodologiczny.

Publikacja druga ma charakter bardziej eksploracyjny i skupia się na ocenie wpływu szeregu naturalnych związków określanych, jako inhibitory pomp efflux na wzrost bakterii i formowanie struktur komórkowych. Zaletą tej pracy jest szeroki zakres analizowanych związków oraz wykorzystanie kilku gatunków bakterii reprezentujących zarówno bakterie Gram-dodatnie, jak i Gram-ujemne. Interesujące są wyniki uzyskane dla berberyny i *Enterococcus faecalis*. Co prawda Doktoranta stosunkowo łatwo przypisuje obserwowane efekty działania inhibitorom pomp efflux (EPIs), mimo że nie przeprowadzono bezpośrednich testów aktywności pomp efflux. Nie można wykluczyć, że część obserwowanych efektów wynikała z działania toksycznego, destabilizacji błon lub wpływu na metabolizm komórkowy. W mojej ocenie publikacja **wymagałaby ostrożniejszego języka interpretacyjnego**.

Trzecia publikacja to zdecydowanie najlepsza publikacja wchodząca w skład rozprawy i jednocześnie najlepiej realizująca główny temat pracy doktorskiej. Doktorantka wykazała, że wybrane związki pochodzenia naturalnego zwiększają akumulację Chlorin e6 i nasilają efekt terapii fotodynamicznej (aPDT) wobec wybranych bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych. **Szczególnie przekonujące są wyniki uzyskane dla kombinacji: piperyna + Chlorin e6 wobec *Bacillus cereus* oraz berberyna i palmatyny + Chlorin e6 wobec *Escherichia coli*.**

Bardzo dobrze zaprojektowano część obrazową oraz analizę fluorescencyjną. Dodatkowym atutem jest próba ilościowego powiązania zmian obserwowanych w cyfrowej holotomografii (DHT) z efektem biologicznym terapii. Publikacja stanowi wartościowy wkład do badań nad terapiami kombinowanymi.

Największą wartością rozprawy jest połączenie kilku niezależnych kierunków badawczych: terapii fotodynamicznej, inhibitorów pomp efflux, związków pochodzenia naturalnego, i zastosowanie cyfrowej holotomografii oraz analizy pojedynczych komórek bakteryjnych.

Sama terapia fotodynamiczna nie jest oczywiście zagadnieniem nowym, podobnie jak badania nad inhibitorami pomp efflux. Jednak zastosowanie cyfrowej holotomografii (DHT), jako narzędzia ilościowego do oceny skuteczności terapii fotodynamicznej (aPDT) oraz próba opisu zmian biofizycznych struktur bakteryjnych stanowi istotny wkład metodologiczny. W mojej ocenie nowość rozprawy ma charakter metodologiczny, techniczny, jak również aplikacyjny.

Z punktu widzenia mikrobiologa nowatorskość zaprezentowanych wyników jest umiarkowana, ponieważ wiele badanych związków (berberyna, piperyna, kurkumina) było wcześniej opisywanych jako potencjalne inhibitory pomp efflux (EPIs) oraz związki wspomagające działanie antybiotyków i fotouczulaczy. **Natomiast należy podkreślić, że sposób ich analizy w połączeniu z zastosowaniem cyfrowej holotomografii (DHT) stanowią realną wartość dodaną.**

Recenzowana rozprawa doktorska ma układ typowy dla osiągnięcia składającego się z tematycznie spójnych trzech publikacji. Zawiera ona: „Wykaz publikacji będących podstawą rozprawy doktorskiej”, „Wykaz skrótów”, „Streszczenie w języku polskim”, „Streszczenie w języku angielskim”, „Cel oraz hipotezy pracy naukowej”, „Wstęp”, „Opis prac i publikacje wchodzące w skład rozprawy doktorskiej”, „Podsumowanie i kierunek przyszłych

badan”, „Bibliografia”, „Dorobek naukowy oraz analiza bibliometryczna Doktorantki. Rozprawa obejmuje łącznie 124 stron razem z załączonymi publikacjami. W części „Bibliografia” Doktorantka przedstawiła wykaz najważniejszych 166 pozycji piśmiennictwa.

W zaproponowanym przez Doktorantkę „układzie” rozprawy doktorskiej, do czego ma Pani prawo, nie znajduję rozdziału „Wnioski końcowe” przedstawionych w punktach wniosków wynikających z całości pracy. Zwyczajowo w tym miejscu zamieszczane są, wypunktowane najważniejsze wnioski. Są one zawsze krótkim, konstruktywnym podsumowaniem uzyskanych wyników badań. Pozostają pełną odpowiedzią na wcześniej postawione cele i nadają kierunek dalszym pracom badawczym. Dodatkowo są wskazaniem do ich wykorzystania zarówno w nauce jak i zastosowaniu praktycznym.

Doktorantka w rozdziale „Opis prac” w sposób opisowy starała się przedstawić najważniejsze wnioski wynikające z otrzymanych wyników badań. Taki sposób prezentacji wniosków zwyczajowo umieszcza się w dyskusji z wynikami badań innych autorów. Powyższe uwagi nie umniejszają wartości pracy, są jedynie pewnym wskazaniem. Edytorska strona pracy pozostaje w gestii Doktorantki.

Podsumowując, oceniana rozprawa doktorska, w skład której wchodzi trzy publikacje, stanowi oryginalne opracowanie problemu związanego z terapią zakażeń spowodowanych przez wielolekooporne drobnoustroje, zarówno pod względem poznawczym jak i możliwością wykorzystania w praktyce.

Rozprawa świadczy o bardzo dobrym przygotowaniu metodologicznym Doktorantki. Autorka swobodnie wykorzystuje zarówno klasyczne techniki mikrobiologiczne, jak i zaawansowane metody obrazowania biomedycznego.

Na szczególne podkreślenie zasługuje: umiejętność integracji danych pochodzących z różnych metod badawczych, poprawna analiza ilościowa, prawidłowe projektowanie doświadczeń, kompetentna interpretacja wyników, bardzo dobra orientacja w aktualnej literaturze naukowej. Rozprawa pokazuje, że Doktorantka posiada dojrzałość badawczą.

Doktorantka wykazała umiejętność samodzielnego prowadzenia badań naukowych, krytycznej analizy wyników oraz właściwego osadzenia własnych badań w aktualnym stanie wiedzy. O dużej dojrzałości naukowej Doktorantki świadczą także liczne nagrody/stypendia naukowe, publikacje w czasopismach wysoce punktowanych, udział w projektach badawczych oraz ukończone kursy i szkolenia

Recenzowaną pracę oceniam bardzo wysoko. Dlatego w tym miejscu wnioskuję o przyznanie Doktorantce wyróżnienia za wybitną rozprawę doktorską.

Przedkładam jednoznacznie pozytywną opinię na temat rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Aleksandry Talarczyk pt.: „Modulacja aktywności pomp efflux i jej wpływ na skuteczność antybakteryjnej terapii fotodynamicznej z wykorzystaniem ilościowej analizy na poziomie pojedynczej komórki”, która spełnia wszystkie kryteria stawiane rozprawom doktorskim wymagane ustawą Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce zgodnie z art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. (Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce tj. Dz. U. z 2024r. poz. 1571 z późn. zm.) i wnoszę o dopuszczenie Doktorantki do dalszych etapów postępowania o nadanie tytułu doktora.



.....
Dr hab. n med. Paweł-Tomasz Sacha

Białystok, 12.05.2026