



Prof. dr hab. Beata Gutarowska,
Katedra Biotechnologii Środowiskowej
Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności
Politechnika Łódzka

Łódź, 20.06.2024

OCENA PRACY DOKTORSKIEJ

mgr Ewelina Sibińska

*Istotność rozwoju metod spektrometrycznych w procesie
identyfikacji mikroorganizmów*

wykonanej pod kierunkiem

promotora: dr hab. Pawła Pomastowskiego, prof. UMK
oraz promotora pomocniczego: dr Michała Złocha
w Interdyscyplinarnym Centrum Nowoczesnych Technologii na Wydziale Chemii
Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu

1. Celowość podjęcia problemu naukowego

Identyfikacja mikroorganizmów oraz ocena oporności na antybiotyki oparte na omicznym podejściu z zastosowaniem metod spektrometrycznych stanowią podstawę rozwoju nowoczesnej diagnostyki mikrobiologicznej. Dotychczasowe metody klasyczne są niewystarczające z powodu niskiej wykrywalności i czułości, ponadto są czasochłonne, a także często prowadzą do fałszywych wyników, co ma istotne znaczenie w celowanej i szybkiej terapii zakażeń. Metody biologii molekularnej, nazywane złotym standardem identyfikacji mają również swoje ograniczenia, wymagają doboru odpowiednich primerów do reakcji PCR, konieczności tworzenia krzywych wzorcowych dla qPCR, niektóre składniki chemiczne próbek mogą prowadzić do inhibicji reakcji. Charakteryzują się natomiast bardzo wysoką czułością i specyficnością, możliwe jest wykrycie wielu genów w jednym oznaczeniu oraz wykonanie analizy ilościowej i jakościowej w czasie rzeczywistym (RTPCR). W laboratoriach mikrobiologicznych wykorzystywane są również metody immunologiczne (testy ELISA), oparte na specyficznych reakcjach antygen-przeciwciała, jednak ich koszty, a także fałszywie dodatnie/ujemne próby wynikające z podobieństw lub zmian antygenowych na komórkach mikroorganizmów znacznie zmniejszyły ich wykorzystanie w diagnostyce mikrobiologicznej.

Poszukuje się zatem nowych metod diagnostycznych, które będą podążały za zmiennością fenotypową mikroorganizmów a przede wszystkim globalnym problemem nabywania/transmisji oporności na antybiotyki przez mikroorganizmy.

Celowana diagnostyka mikroorganizmów i ich oporności ma duże znaczenie nie tylko w mikrobiologii lekarskiej, w tym terapii zakażeń, ale również w mikrobiologii przemysłowej, środowiskowej oraz mikrobiologii żywności. W ostatnich dekadach nastąpił rozwój metod - omicznych opartych na analizach spektrometrycznych, zwłaszcza technik laserowej desorpcji/ionizacji wspomaganej matrycą (MALDI), które mają zastosowanie w analizach proteomicznych i lipidomicznych. Należy tu również wspomnieć o rozwoju metod obrazowania metabolicznego (SALDI, NALDI), które stwarzają ogromne możliwości badawcze, zarówno w medycynie, biologii, inżynierii komórkowej i wielu innych dziedzinach nauki i mają zastosowanie w badaniach umiejscowienia aktywnych biologicznie związków chemicznych oraz oddziaływania różnorodnych czynników środowiskowych i biotycznych na syntezę metabolitów komórkowych.

Ocena biochemicznego *fingerprintu* daje szanse nie tylko bardzo szybkiej identyfikacji patogenów, wykrycia produktów rozkładu antybiotyków świadczących o oporności mikroorganizmów na te biocydy, ale również uchwycenia zmian w wyniku działania czynników zewnętrznych, a także poszukiwania w komórkach drobnoustrojów bioaktywnych związków. Biolodzy oczekują pod tym względem, aby nowoczesne metody spektrometryczne wykrywały jak największy profil związków o niskiej i wysokiej masie cząsteczkowej, reprezentujących różne grupy związków, które biorą udział w pierwotnym i wtórnym metabolizmie komórkowym. Istotne są również czułość metody ze względu na niskie stężenia wykrywanych związków oraz łatwość i szybkość wykonania analizy ze względu na niestabilność niektórych związków chemicznych pochodzenia biologicznego.

Dlatego praca doktorska podjęta przez panią mgr Ewelinę Sibińską wpisuje się w najnowsze trendy diagnostyki mikrobiologicznej i stanowi ważny krok w rozwoju metod analitycznych, szczególnie spektrometrii mass z laserową desorpcją/ionizacją. Ważnym aspektem tych prac są badania na próbkach klinicznych pochodzących od pacjentów z zakażeniami stopy cukrzycowej; zastosowanie wysokowydajnej izolacji drobnoustrojów (tzw. kulturomika), porównanie różnych aparatów i baz danych do identyfikacji drobnoustrojów metodą MALDI, wykorzystanie proteomiki i lipidomiki do diagnostyki oraz detekcji antybiotykoodporności bakterii. Istotne w pracy są także badania optymalizacyjne warunków przygotowania płytek AgNPs w metodzie chemicznego osadzania z fazy gazowej, wykorzystywanych w technice spektrometrii mass z laserową desorpcją/ionizacją do wykrywania profili lipidowych drobnoustrojów, a także wykorzystanie tych rozwiązań do identyfikacji związków o niskiej masie cząsteczkowej.

Pracę doktorską stanowi cykl ośmiu publikacji (siedem opublikowanych, ósma w trakcie recenzji) powiązanych ze sobą głównym celem pracy. Przesłaniem recenzowanej pracy było opracowanie i walidacja nowoczesnych metod analitycznych, ze szczególnym uwzględnieniem spektrometrii mass z laserową desorpcją/ionizacją, które mają zastosowanie do identyfikacji mikroorganizmów oraz oceny ich antybiotykoodporności. Cel pracy został sprecyzowany bardzo ogólnie, merytorycznie jednak obejmuje wszystkie opublikowane prace. Doktorantka wytyczyła również cele szczegółowe, do sformułowań niektórych mam jednak pewne zastrzeżenia.

Cel szczegółowy Nr 1. określono jako *Istotność zastosowania nowoczesnych technik w analizie mikroorganizmów*, obejmuje publikację przeglądową. Cel określony jako istotność zastosowania metod powinien raczej brzmieć jako charakterystyka/ocena nowych metod. Ponadto jest tożsamy z tytułem pracy. Podobnie cele szczegółowe Nr 3. *Zastosowanie podejścia kulturomicznego w hodowli mikroorganizmów i jego wpływ na wydajność procesu identyfikacji w technice MALDI*; Nr 6. *Zastosowanie techniki MALDI do szybkiej identyfikacji i detekcji antybiotykooporności bakterii z próbek klinicznych oraz porównanie uzyskanych wyników z innymi metodami*; Nr 7. *Zastosowanie techniki CVD do pokrycia powierzchni płytki nanocząstkami srebra oraz charakterystyka uzyskanej warstwy*, powinny raczej zaczynać się od drugiej części zdania: ocena wpływu, porównanie, charakterystyka, słowo „zastosowanie” raczej wskazuje na metodę badawczą. Pozostałe cele szczegółowe są sformułowane poprawnie, również w opublikowanych pracach cele są określone poprawnie jako hipoteza badawcza, pytanie lub tradycyjnie jako ocena lub charakterystyka.

Podjęcie się problemu badawczego w pracy doktorskiej przez panią mgr Ewelinę Sibińską dotyczącego optymalizacji, walidacji i aplikacji metod spektrometrycznych do identyfikacji drobnoustrojów i antybiotykooporności uważam za nowatorskie i uzasadnione z punktu widzenia problemu szybkiej i precyzyjnej diagnostyki mikrobiologicznej. Jednocześnie chciałabym zwrócić uwagę, iż jest to zagadnienie wpisujące się w rozwój obszarów naukowych: chemii, mikrobiologii lekarskiej, środowiskowej, przemysłowej, medycyny, biologii, inżynierii komórkowej i wielu innych.

2. Formalna ocena pracy

Pracę doktorską stanowi cykl 8. publikacji naukowych, w tym: 1 przeglądowej i 6 prac oryginalnych opublikowanych w czasopismach w latach 2021 – 2024 oraz jednej pracy wysłanej do recenzji. Prace opublikowano w czasopismach: [P1] *Trends in Analytical Chemistry* (IF=13,1, wg innych źródeł IF=14,9), wyd. Elsevier zaliczane do Q1 w Analytical Chemistry; [P2] *Electrophoresis*, (IF=3,1), wyd. Wiley, zaliczane do Q2 w Analytical Chemistry; [P3] *International Journal of Molecular Science* (IF=4,9), wyd. MDPI, zaliczane do Q1 w Biochemistry and Molecular Biology; [P4] *Analytical Chemistry* (IF=6,8), wyd. ACS Publications, zaliczany do Q1 w Analytical Chemistry; [P5] *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* (IF=2,9), wyd. Elsevier, zaliczane do Q2 w Infectious Diseases; [P6] *Current Microbiology* (IF=2,6), wyd. Springer, zaliczane do Q2 w Applied Microbiology and Biotechnology; [P7] *Antibiotics* (IF=4,3) wyd. MDPI, zaliczane do Q2 w Microbiology i Q1 w Pharmacology. Wszystkie czasopisma znajdują się na liście JCR oraz krajowej liście ministerialnej A, ich pozycja jest znacząca, cztery z nich są lokowane w Q1, pozostałe w Q2, na uwagę zasługują publikacje w dwóch topowych czasopismach z obszaru Analytical Chemistry: *Trends in Analytical Chemistry*, *Analytical Chemistry*. Sumaryczny IF wszystkich opublikowanych prac stanowiących pracę doktorską wynosi IF=41,7, sumaryczna punktacja wg MNiSW = 730, współczynniki te świadczą o bardzo wysokim osiągnięciu naukowym pod względem wskaźników bibliometrycznych. Należy zaznaczyć, że kandydatka do stopnia naukowego doktora charakteryzuje się wysokim dorobkiem naukowym pod względem ilościowym: 16 artykułów naukowych, 13 wystąpień na konferencjach międzynarodowych i krajowych, sumaryczny IF Jej osiągnięć wynosi IF=64, MNiSW=1395.

Zgodnie z oświadczeniami doktorantki oraz współautorów udział merytoryczny doktorantki w 8. opublikowanych pracach polegał na: współtworzeniu ogólnej koncepcji pracy, przeglądzie literatury, zaplanowaniu doświadczeń, wykonaniu analiz (większości albo części, w zależności od pracy), opracowaniu i interpretacji wyników (większości albo części, w zależności od pracy), przygotowaniu wstępnej wersji i korekcie artykułu (lub współudziale w przygotowaniu i korekcie, w zależności od pracy). Trudno jest ocenić na podstawie opisów jaki jest ilościowy udział w opublikowanych pracach i czy stanowią one osiągnięcie doktorantki czy zespołu badawczego?. Z tego powodu wątpliwości recenzenta może budzić fakt włączenia do cyklu doktoratu pracy przeglądowej 6 współautorów opublikowanej w topowym czasopiśmie *Trends in Analytical Chemistry*, jest to publikacja bardzo cenna opisująca strategie i nowe wyzwania diagnostyczne w identyfikacji patogenów, w tym wirusów. Trudno jest wpisać tą publikację w osiągnięcie naukowe doktorantki nie znając udziału ilościowego, wszyscy współautorzy deklarowali udział w przygotowaniu wstępnej wersji manuskryptu, jednak niewątpliwie publikacja ta stanowi podsumowanie dotychczasowej wiedzy i teoretyczny punkt wyjścia do przeprowadzonych badań opisanych w kolejnych publikacjach. Pozostałe prace opublikowane w czasopismach są typowymi pracami oryginalnymi, zawierają wstępy teoretyczne, opis metodyki badawczej prowadzonych eksperymentów, omówienie, analizę statystyczną i dyskusję wyników badań, w niektórych publikacjach również materiały dodatkowe (supplementary materials) oraz podsumowania. Ostatnia praca dołączona do cyklu publikacji w ramach doktoratu została wysłana do recenzji w czasopiśmie *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, na etapie recenzji nie ma informacji na temat jej publikacji.

Doktorat pani E.Sibińskiej był realizowany w Szkole Doktorskiej Nauk Ścisłych i Przyrodniczych UMK w Toruniu, badania w pracy finansowane były w ramach 3 projektów NCN: *Wykorzystanie techniki Maldi ToF/MS w monitorowaniu i szybkiej diagnostyce rozwoju zakażenia stopy cukrzycowej*, kierowanego przez promotora pomocniczego dr Michała Złocha w konkursie Sonata 2; *Nowe podejście w identyfikacji mikroorganizmów ze szczególnym uwzględnieniem wirusów*, kierowanego przez prof. dr hab. Bogusława Buszewskiego w konkursie Opus 19; *Nowe podejście do obrazowania i szybkiej identyfikacji mikrobiomu w ocenie skutków radioterapii* kierowanego przez dr hab. Pawła Pomastowskiego, prof. UMK w konkursie Opus 20.

3. Ocena merytoryczna rozprawy

Publikacja [P1] jest przeglądem aktualnej wiedzy na temat nowoczesnych metod diagnostycznych w mikrobiologii lekarskiej. Przegląd literatury uwzględnia analityczne wyzwania i strategie w oznaczaniu patogenów, w kolejnych rozdziałach omawia metody biologii molekularnej, immunochemii, spektrometryczne i elektromigracyjne, sposoby przygotowania próbek do diagnostyki, przegląd świadczy o wyjątkowo wysokim poziomie wiedzy teoretycznej autorów publikacji. Wyznacza również trendy na przyszłość w rozwoju nowych precyzyjnych metod analitycznych stosowanych w diagnostyce mikroorganizmów.

Materiał badawczy w opublikowanych eksperymentalnych pracach [P2-8] stanowiły liczne izolaty kliniczne bakterii, należy zaznaczyć że wśród tych bakterii 5 gatunków (*Staphylococcus aureus*, *Escheria coli*, *Streptococcus pneumoniae*, *Klebsiella*

pneumoniae, *Pseudomonas aeruginosa*), stanowi przyczynę 75% zgonów ludzi na świecie pod względem chorób bakteryjnych. Izolaty drobnoustrojów pochodziły z próbek wymazów skórnych od pacjentów z zakażeniami stopy cukrzycowej [P6] i dodatkowo moczu pacjentów cierpiących na raka prostaty [P5].

W pracach doktorantka stosowała podejście omiczne w diagnostyce mikrobiologicznej wykorzystując kulturomikę [P3]analizy proteomiczne [P3, P5, P6], lipidomiczne [P4, P7, P8], genomiczne [P6]. Wykorzystała wiele metod badawczych, wśród nich: klasyczne metody hodowlane z wykorzystaniem wielu podłoży mikrobiologicznych w podejściu tzw. kulturomiki, metody spektrofotometryczne, metodę paskowej detekcji oporności na antybiotyki tzw. E-test, metody molekularne w oparciu o reakcję PCR z wykorzystaniem primerów 16SrDNA, genów oporności na antybiotyki, elektroforezę kapilarną, MALDI TOF MS, NALDI, cytometrię przepływową i wiele innych. Zastosowane nowoczesne metody stanowią podstawę recenzowanej pracy, zostały dobrane prawidłowo, zwalidowane i szczegółowo opisane w opublikowanych manuskryptach, nie budzą żadnych zastrzeżeń.

Przedstawione w pracach oryginalnych wyniki badań zostały opracowane bardzo starannie z wykorzystaniem nowych baz widm związków oraz specjalistycznych narzędzi statystycznych, widoczna jest w nich głęboka, konstruktywna analiza, tą część artykułów uważam za wyróżniającą. Doktorantka opracowała wyniki odpowiadając na założone hipotezy badawcze, dobór testów do opracowania wyników i przedstawienie wyników zasługują na uznanie.

W pracy [2] doktorantka zastosowała metodę elektroforezy kapilarnej do oceny antybiotykowrażliwości bakterii. Kluczowym podejściem metodycznym była inkubacja konkretnego gatunku bakterii z antybiotykiem, co pozwoliło na ocenę żywotności komórek. Doktorantka wykorzystowała zjawisko prekoncentracji poprzez agregację komórek bakterii przy użyciu jonów Ca^{2+} , w analizie elektroforetycznej komórki żywe i martwe wędrowały w różnym czasie w polu elektrycznym, co pozwoliło na uzyskanie różnego sygnału na elektroforegramie. Na podstawie analizy czasu elektromigracji komórek bakteryjnych wyznaczyła równanie oraz oszacowała % komórek żywych i martwych, co zostało zwalidowane metodą cytometrii przepływowej oraz oceną gęstości optycznej. W publikacji tej doktorantka prowadziła detekcję antybiotykooporności izolatów klinicznych bakterii *E.coli*, *S.aureus*, w tym metycylinyopornych i wrażliwych szczepów.

Ważnym i pracochłonnym etapem pracy było wykorzystanie połączenie kulturomiki z metodą MALDI do analizy mikrobiomu, który towarzyszy infekcjom stopy cukrzycowej [P3]. Zastosowanie kulturomicznego podejścia w hodowli mikroorganizmów pozwoliło na identyfikację szerokiej gamy izolatów, nie tylko opisywanych dotąd w literaturze jako najczęściej zasiedlających zakażone rany (*S.aureus*, *P.aeruginosa*), ale również wolnorosnących oportunistycznych szczepów *Helococcus kunzi*, uznawanych obecnie za patogeny skóry u osób z obniżoną odpornością. Jednocześnie dzięki porównaniu z metodą MALDI można było w kolejnych badaniach [P6] zastosować odpowiednie warunki wzrostu drobnoustrojów i wykryć większą różnorodność gatunkową w próbkach klinicznych. Nowatorskie podejście łączenia kulturomiki z metodą MALDI do analizy mikrobiomu jest warte uwagi, nie tylko w kontekście spersonalizowanych analiz diagnostycznych, ale również może stanowić nowe narzędzia w ocenach środowiskowych.

W tym miejscu należy podkreślić, że opracowane metody MALDI znacznie skracają czas analizy zarówno identyfikacji mikroorganizmów, jak również (co może jest bardziej istotne) oceny antybiotyko-wrażliwości. To ostatnie badanie na podstawie identyfikacji produktów rozkładu antybiotyków umożliwia bardzo szybkie (kilka godzin) i precyzyjne określenie wrażliwości izolatu bakteryjnego na badany antybiotyk w porównaniu z metodami klasycznymi badania antybiogramu, których wyniki otrzymujemy po kilku dniach. Szybkie podanie odpowiedniego antybiotyku w wielu schorzeniach bakteryjnych jest kluczowym elementem leczenia a celowana terapia uniemożliwia nabywanie przez drobnoustroje oporności na antybiotyki, co jest obecnie poważnym globalnym wyzwaniem.

W publikacji [4] doktorantka scharakteryzowała profile lipidowe 39 izolatów bakterii z próbek ran osób z tzw. stopą cukrzycową. Na podstawie analiz wykazała zróżnicowanie w profilu lipidów między bakteriami gram dodatnimi i ujemnymi, co wynika z budowy ich błon lipidowo-białkowych i wskazała że lipidy mogą stanowić ważne dla diagnostyki biomarkery. Uzyskane dla poszczególnych gatunków bakterii profile lipidowe tzw. lipidowe fingerprints, mogą stanowić w przyszłości szybkie i precyzyjne narzędzie do diagnostyki bakterii odpowiedzialnych za zakażenia ran stopy cukrzycowej.

Doktorantka w trakcie prowadzonych badań wykorzystywała 3 spektrometry mas typu LDI (UltrafleXtreme MALDI-TOF-MS z laserem Nd: YAG, $\lambda=355$ nm, Bruker Daltonik GmbH, Bremen, Brema, Niemcy; Microflex LT MALDI-TOF-MS z laserem N_2 , $\lambda=337$ nm, Bruker Daltonik GmbH, Bremen, Brema, Niemcy; EXS2600 MALDI-TOF-MS z laserem N_2 , $\lambda=337$ nm, Zybio Inc., Chongqing, Chiny). Aparaty porównała ze sobą pod względem wyników identyfikacji [P5], stwierdzając że jakość oprogramowania, obszerność i aktualność baz danych wpływają istotnie na skuteczność identyfikacji bakterii. Wykazała, że porównywane 2 systemy spektrometryczne Bruker BioTyper oraz Zybio EXS3600 dają wysoką efektywność identyfikacji izolatów bakteryjnych na poziomie 96 % i 92%, a ok. 90% izolatów uzyskało zbieżne wyniki, co świadczy o równoważności testowanych urządzeń i baz danych. Na podkreślenie zasługuje również fakt że jako jedna z pierwszych poddała walidacji spektrometr Zybio Inc., Chongqing, Chiny.

W pracy [6] doktorantka opracowała metodę analizy lekooporności na antybiotyki β -laktamowe (karbapenemy, cefalosporyny) bakterii patogennych *E.coli*, *P.aeruginosa*, *P.mirabilis* odpowiedzialnych m.in. za zakażenia stopy cukrzycowej oraz dróg moczowych, z zastosowaniem techniki MALDI. Walidację metody wykonała w oparciu o wyniki uzyskane z analiz molekularnych (PCR), i metody konwencjonalnej (testy paskowe). Zastosowała podejście multiplex PCR w celu jednoczesnej detekcji kilku genów odpowiedzialnych za lekooporność bakterii, co pozwoliło na walidację metody spektrometrycznej.

Pod względem metodycznym doktorantka optymalizowała wybór standardowych matryc spośród bazowych związków kwas 2,5 dihydroksybenzoesowy (DHB) [P4, P7] i kwas α -cyjano-4-hydroksybenzoesowy (HCCA) [P3, P5, P6, P7], co istotnie wpływa na fingerprint w proteomice i lipidomice, szczególnie w rozróżnianiu szczepów bakteryjnych. Zastąpiła również klasyczne matryce nanocząstkami srebra [P7, P8], co zwiększyło detekcję związków o niskiej masie cząsteczkowej. Doktorantka udowodniła w pracy [P7], że chemiczne osadzanie z fazy gazowej zapewnia równomierne pokrycie powierzchni płytki matrycy nanocząstkami srebra. AgNPs scharakteryzowała pod względem kształtu i rozmiaru, ponadto stwierdziła że wraz ze

wzrostem masy prekursora wzrasta rozmiar nanocząstek. Otrzymane nanostruktury umożliwiły wykrycie związków o niskich masach cząsteczkowych, a otrzymane profile lipidowe poprawiły identyfikację szczepów blisko spokrewnionych w porównaniu do standardowych matryc MALDI.

Kolejnym zadaniem badawczym było wykorzystanie otrzymanych matryc w technice SALDI [P8], które umożliwiło jednorodną jonizację i desorpcję analitów i w związku z tym precyzyjną analizę ilościową lipidów

Do waleń recenzowanej pracy doktorskiej należy zaliczyć fakt wykorzystania wielu metodycznych aspektów, dotyczących chemii analitycznej i mikrobiologii, rozbudowania proteomicznych i lipidomicznych baz danych, a także wykorzystania specjalistycznych narzędzi statystycznej do analizy wyników, co w konsekwencji czyni pracę multidyscyplinarną, a Autorkę specjalistą w zakresie spektrometrii mas oraz diagnostyki mikrobiologicznej. Na uwagę zasługuje także bardzo dobra znajomość literatury widoczna w publikacji przeglądowej oraz we wstępach i dyskusjach wyników w pracach oryginalnych.

Ocena merytoryczna opublikowanych (zaakceptowanych przez wielu recenzentów) prac jest bardzo wysoka, trudno znaleźć błędy i uchybienia, z uwagi na znaczenie poruszanego tematu, opracowanie i zastosowanie nowych metod badawczych nasuwają się następujące pytania do doktorantki:

1. W jaki sposób zmienność fenotypowa wśród szczepów tego samego gatunku bakterii wynikająca z izolacji od różnych pacjentów, fizjologii wzrostu, może mieć wpływ na identyfikację metodami proteomicznymi i lipidomicznymi z wykorzystaniem metody MALDI? Czy na podstawie przeprowadzonych badań można określić zmienność szczepową w obrębie gatunków i wynikający z tego procent prawidłowej identyfikacji?
2. Jaka jest powtarzalność opracowanej metody chemicznego osadzania z fazy gazowej otrzymanej matrycy z nanocząstkami srebra?
3. Czy opracowane bazy widm dla mikrobiomu związanego ze stopą cukrzycową mogą stanowić ogólnodostępną bibliotekę referencyjną, która może zostać wdrożona do rutynowych analiz diagnostycznych?
4. Co doktorantka sądzi o zastosowaniu wieloomicznego podejścia oraz maszynowego uczenia w oparciu o sztuczną inteligencję w diagnostyce mikrobiologicznej?

4. Podsumowanie i wnioski końcowe

W podsumowaniu pragnę stwierdzić, iż praca doktorska przedstawiona w cyklu publikacji Pani mgr Eweliny Sibińskiej jest oryginalnym, wartościowym opracowaniem, a uzyskane wyniki stanowią cenne źródło w doskonaleniu analityki chemicznej na potrzeby diagnostyki medycznej. W moim przekonaniu przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska pt. *Istotność rozwoju metod spektrometrycznych w procesie identyfikacji mikroorganizmów* mgr Eweliny Sibińskiej, spełnia wszystkie warunki i wymagania stawiane rozprawom doktorskim określonym w art. 13. Ust.1 Ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym z dnia 14.03.2003 (z późniejszymi zmianami).

Wnioskuje o **przyjęcie rozprawy doktorskiej** przez Komisję ds. przewodu doktorskiego na Wydziale Chemii Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu i dopuszczenie jej Autorki do dalszych etapów postępowania o ubieganie się o nadanie stopnia naukowego doktora.

Jednocześnie ze względu na wysoki poziom merytoryczny prac wchodzących w skład rozprawy doktorskiej, podnoszących istotne aspekty opracowania, walidacji i zastosowania nowoczesnych technik omicznych z szczególnym uwzględnieniem metod spektrometrii mas do diagnostyki zakażeń bakteryjnych i ich lekooporności, wyróżniających się oryginalnością, zastosowanymi nowoczesnymi narzędziami analitycznymi i opublikowanych w renomowanych czasopismach z JCR (Q1, Q2) wnoszę do Rady Dyscypliny Nauki Chemiczne Wydziału Chemii UMK w Toruniu o **wyróżnienie rozprawy doktorskiej** pani mgr Eweliny Sibińskiej.

Beata Gutonowska