



**POLITECHNIKA
GDAŃSKA**

WYDZIAŁ CHEMICZNY

dr hab. Beata Krawczyk, prof. nadzw. PG

Gdańsk 01.07.2019

e-mail: beakrawc@pg.edu.pl

tel. 583472302; 583472383

Politechnika Gdańska Wydział Chemiczny

Katedra Biotechnologii Molekularnej i Mikrobiologii

80-233 Gdańsk, ul. G. Narutowicza 11/12

RECENZJA

rozprawy doktorskiej Pani magister Aleksandry Rapackiej-Zdończyk pt. „ Mechanizmy adaptacji *Staphylococcus aureus* do stresu oksydacyjnego indukowanego metodą fotodynamiczną”

Zespół badawczy Zakładu Diagnostyki Molekularnej Międzyuczelnianego Wydziału Biotechnologii Uniwersytetu Gdańskiego i Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego od kilku lat zajmuje się problemami terapii fotodynamicznej, jej skuteczności przeciwdrobnoustrojowej oraz poznawaniem mechanizmów odpowiedzi komórkowej na stres oksydacyjny indukowany światłem. Poszukiwanie nowych leków oraz terapii przeciwko szczepom MDR stało się priorytetem w obecnym leczeniu. Obiektem badawczym Pani mgr **Aleksandry Rapackiej-Zdończyk** jest gronkowiec *Staphylococcus aureus*, który należy do naturalnej mikroflory skóry i jamy nosowo-gardłowej człowieka, ale jednocześnie jest zaliczany do tzw. alert patogenów. Zdolność do szybkiego rozprzestrzeniania się i kolonizacji skóry oraz śluzówek człowieka oraz łatwość nabywania genów oporności na antybiotyki powoduje, że gronkowce są zaliczane do jednych z najczęściej powodujących zakażenia szpitalne. Do szczególnie niebezpiecznych należą gronkowce metycylooporne (MRSA – ang. *methicillin resistant S. aureus*). Zakażone gronkowcem rany pooperacyjne dłużej i trudniej się goją a w przypadku szczepów MRSA, pojawia się problem z ich eradykacją, stąd skierowanie uwagi na ten drobnoustrój wydaje się celowe.

Ocena formalna pracy

Praca doktorska Pani mgr Aleksandry Rapackiej-Zdończyk została zrealizowana w Zakładzie Diagnostyki Molekularnej Międzyuczelnianego Wydziału Biotechnologii Uniwersytetu Gdańskiego

i Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego pod kierunkiem prof. dr hab. Krzysztofa Bielawskiego jako Promotora oraz dr hab. Mariusza Grinholc jako promotora pomocniczego.

Praca liczy 154 strony i została opracowana zgodnie z formalnymi wymogami przyjętymi dla prac doświadczalnych. Rozprawa doktorska posiada tradycyjny układ, streszczenie rozprawy naukowej napisano w języku polskim i angielskim, wstęp teoretyczny liczy 28 stron, po którym zostały przedstawione dobrze zdefiniowane cele pracy: 1. poszukiwanie markerów genetycznych odpowiedzi *S. aureus* na fotoinaktywację 2. ocena rozwoju tolerancji gronkowca na inaktywację fotodynamiczną 3. ocena adaptacji bakterii do stresu oksydacyjnego indukowanego światłem wobec fotouczulaczy endo i egzogennych).

Materiały, aparatura i metody zostały potraktowane jako oddzielne podrozdziały. Wyniki badań podzielono na dwie części, każda z nich zakończona jest krótkim podsumowaniem. Dyskusja stanowi oddzielny rozdział, po którym umieszczono końcowe wnioski jako podsumowanie rozprawy doktorskiej. Poza spisem treści i spisem skrótów, praca zawiera spis 55 rycin, 9 tabel, na końcu pracy został zamieszczony suplement przedstawiający ostateczną charakterystykę mikrobiologiczną i genetyczną szczepów *S. aureus* MSSA i MRSA. Bardzo obszerna bibliografia – 195 pozycji, cytowana literatura to prace z ostatnich 18 lat. Praca napisana jest poprawnym językiem polskim.

Szczegółowa ocena pracy

Przedmiotem badań Doktorantki jest innowacyjna metoda walki z drobnoustrojami oparta o reakcję fotodynamiczną. Inaktywacja fotodynamiczna drobnoustrojów wymaga zastosowania światła widzialnego o odpowiedniej długości fali, nietoksycznego fotouczulacza (PS) oraz tlenu cząsteczkowego. Fotouczulacz może mieć pochodzenie endogenne np. wewnątrzkomórkowe porfiryny, bądź można zastosować komercyjnie dostępne egzogenne porfiryny (np. hematoporfiryny, chloryny, bakteriochloryny). W swojej pracy Doktorantka stosuje oba podejścia. Wcześniejsze badania zespołu Zakładu Diagnostyki Molekularnej wykazały, że odpowiedź na fotoinaktywację jest zależna od szczepu oraz drobnoustroje mogą adaptować się do stresu fotooksydacyjnego jako wynik uszkodzenia materiału genetycznego, co może prowadzić do obniżenia skuteczności terapii fotodynamicznej.

Obiektem badawczym Doktorantki jest gronkowiec złocisty *Staphylococcus aureus*, stąd dosyć obszerny wstęp dotyczący problemów związanych z zakażeniami odgronkowcowymi oraz zjawiskiem narastającej oporności na antybiotyki β -laktamowe (70% wszystkich izolatów to szczepy MRSA). W nawiązaniu do celu pracy, Doktorantka opisuje ewolucję klonalną szczepów MRSA, skupiając się na wariantach kaset *SCCmec*, profilach allelicznych i typach sekwencyjnych (ST) ustalanych metodą MLST czy też na typowaniu szczepów w oparciu o gen *spa*. Metody te, co prawda

nie należą do nowych rozwiązań stosowanych w typowaniu genetycznym szczepów *S. aureus*, ale uważam za celowe wzbogacenie „Wstępu” dysertacji o schematy dotyczące budowy kaset SCC*mec* czy budowy genu *spa*. Schematyczne przedstawienie kaset I-V, na których Doktorantka skupiła się w swoich badaniach, dało by pogląd o ich ewolucji w kontekście poszukiwania markerów genetycznych. Podobna uwaga dotyczy schematu obrazującego locus *spa* i roli SSR w patogenności szczepów. Co prawda na Ryc. 54 w rozdziale Dyskusja, przedstawiono ideę badań, ale sam rysunek jest mało czytelny. Nie są to oczywiście zarzuty, tylko sugestie.

W sposób przejrzysty został opisany i zobrazowany system globalnej regulacji *agr*, który kontroluje wytwarzanie toksyn oraz wielu czynników wirulencji, a który posłużył do badania polimorfizmu hyperzmiennego regionu *agr*. Wszystkie opisane metody badawcze typowania genetycznego zostały dobrze dobrane w celu ukazania tła genetycznego *S. aureus* i ewentualnego związku z heterogeniczną odpowiedzią *S. aureus* na inaktywację fotodynamiczną.

S. aureus należy do drobnoustrojów, które szybko adaptują się do zmieniających się warunków środowiska. Odpowiednie czynniki wirulencji i transkrypcyjna regulacja genów odpowiedzi na stres ułatwia gronkowcom przeżycie w niekorzystnych, stresowych dla nich warunkach. Fotoinaktywacja wywołuje u bakterii stres oksydacyjny, stąd również we wstępie pracy zostały dokładnie opisane mechanizmy, które są zaangażowane w odpowiedź komórki np. regulon Fur związany z homeostazą jonów żelaza, systemy OxyR i SoxS czy system naprawy DNA znany jako odpowiedź SOS, który prowadzi również do powstawania oporności na rifampicynę i ciprofloksacynę. Również ta część teoretyczna pracy przygotowuje czytelnika do zaplanowanych eksperymentów związanych z określeniem częstości spontanicznych mutacji warunkujących oporność na rifampicynę pod wpływem subletalnych dawek fotouczulacza (aPDI) czy dawek światła niebieskiego (aBL).

Druga część wstępu teoretycznego pracy związana jest mechanizmem terapii fotodynamicznej, zostały opisane reaktywne formy tlenu oraz rodzaje fotouczulaczy i podstawy ich wyboru w terapii. Zespół Zakładu Diagnostyki Molekularnej od kilku lat skupia się na poszukiwaniu dominującego mechanizmu odpowiedzi komórki na fotoinaktywację. Doktorantka we wstępie swojej pracy cytuje wyniki prac doświadczalnych zespołu Zakładu Diagnostyki Molekularnej. Stanowią one również punkt wyjścia do rozprawy doktorskiej Pani Aleksandry Rapackiej-Zdończyk.

Osobnymi rozdziałami są "Materiały" (10 stron), „Aparatura (2 strony) i "Metody" (9stron). W pkt. 5.1 zostało opisane pochodzenie szczepów *S. aureus* użytych w badaniach (750 szczepów klinicznych oraz dodatkowo szczepy kontrolne i referencyjne, do badania tła genetycznego użyto 97 szczepów MRSA i 20 szczepów MSSA).

Suplement (pkt 14) ujęty w postaci Tab. 8, 9 dotyczy charakterystyki fenotypowej i genotypowej tych szczepów. Większa część opisu tych szczepów jest związana z wynikami pracy Pani Aleksandry Rapackiej-Zdończyk, ale wnioskuję, że nie wszystkie. Umieszczenie odnośnika do suplementu w „Materiałach” jest mylące, bo sugeruje, że szczepy te zostały już wcześniej przebadane.

Do pełnej charakterystyki szczepów Doktorantka powinna się odnieść dopiero w podsumowaniu lub przynajmniej podkreślić, co robiła samodzielnie, a co we współpracy. Stąd prośba do Pani mgr Aleksandry Rapackiej-Zdończyk, aby wyjaśniła tę kwestię. Różnorodność zastosowanych technik oraz bardzo duża pula przebadanych szczepów zasługuje na szczególne wyróżnienie. Oznaczanie przynależności gatunkowej wykonano w szpitalach w Gdańsku i Koszalinie (nazwy szpitalnych jednostek powinny być podane) z zastosowaniem spektrometrii mas MALDI TOF, nie ma potrzeby opisywania metodyki badawczej w tak szczegółowy sposób, skoro zostały przypisane do gatunku przez laboratorium szpitalne. Podobnie przy oznaczaniu wartości MIC czy badaniu wrażliwości na antybiotyki z użyciem systemu VITEK 2. Czy wszystkie profile antybiotykoodporności zostały oznaczone samodzielnie przez Doktorantkę?

Moja uwaga dotyczy również przygotowania reakcji PCR do identyfikacji kaset *SCC_{mec}* (str. 59, rozdz. 7.6). Skład mieszany reakcyjnej nie jest dokładnie opisany, jest to szczegół, ale uważam, że dosyć istotny. Brak podania stężenia dNTP (objętość nie jest wystarczająca), stężenia jonów magnezu (ich nawet nie wymieniono w składzie mieszaniny reakcyjnej), buforu do PCR też nie ujęto w składzie. Zamiast zwrotu „ostatnia elongacja”, sugeruję w przyszłości używać zwrotu „wydłużanie końcowe”.

Na stronie 64 w pkt. 7.15 Doktorantka opisuje metodykę badania ekspresji genów *gmk*, *recA* i *umuC*. Również w tym punkcie mam niedosyt szczegółów. Brak informacji dotyczących sposobu badania ekspresji genów. Czy jest to relatywne czy bezwzględne badanie poziomu ekspresji tych genów. Czy były stosowane kontrole wewnętrzne i jakie, oraz jaki typ starterów zastosowano w reakcji odwrotnej transkrypcji – heksamery? czy startery specyficzne? Czytelnik nie musi znać składu mieszany reakcyjnej komercyjnego zestawu. Nie podano również w ilu powtórzeniach i dla ilu szczepów te badania zostały przeprowadzone.

Wyniki

Następny, bardzo obszerny rozdział to **Wyniki** (50 stron), w którym Doktorantka przedstawia, uzasadnia i komentuje wyniki kolejnych etapów swoich badań. Wszystkie doświadczenia zostały zaplanowane bardzo precyzyjnie a przemyślany tok badań pozwolił na wyciągnięcie prawidłowych wniosków.

Pierwszym etapem badań było uzyskanie odpowiedzi, jak na fotoinaktywację z udziałem protoporfiryny IX reagują szczepy MSSA a jak MRSA. Badaniu poddano 424 izolaty gronkowców. Okazało się że wyższą tolerancję na inaktywację fotodynamiczną (aPDI) wykazują szczepy MRSA. Ta heterogeniczna odpowiedź gronkowców na fotodynamiczną inaktywację skłoniła Doktorantkę do poszukiwania związku lekooporności *S. aureus* z odpowiedzią na aPDI. Pogrupowano szczepy gronkowców ze względu na fenotyp, mechanizm lekooporności oraz ze względu na poziom oporności na antybiotyki, nie wykazując jednak istotnych zależności, pomimo wyodrębnienia grupy szczepów wykazujących podwyższoną tolerancję na aPDI.

Następny etap badań dotyczył szukania zależności pomiędzy tłem genetycznym gronkowców a tolerancją na aPDI. Doktorantka zbadała wpływ elementu *mec* na odpowiedź na indukcje fotodynamiczną. Rozdział dotyczący tej części badań w tytule „Obecność elementu *mec* nie wpływa na odpowiedź na aPDI”, zawiera już odpowiedź. Tytuł „Wpływ elementu *mec* A na odpowiedź na aPDI” wydaje mi się bardziej odpowiedni. Doktorantka nie precyzuje o jaki element *mec* chodzi, czy o gen strukturalny *mecA*, który koduje białko PBP2a czy o inne geny kompleksu kasety SCC*mec*, (*mecR1* czy *mecI*). Wnioskiem z przeprowadzonych badań jest brak zależności pomiędzy kasetą SCC*mec* a wrażliwością szczepów MRSA/MSSA na fotoinaktywację z wykorzystaniem barwnika PpIX. Jak Doktorantka opisała we „Wstępie” dysertacji, funkcjonalny operon *agr* odgrywa ważną rolę w regulacji odpowiedzi *S. aureus* na stres oksydacyjny. Sprawdzono funkcjonalność operonu *agr* poprzez zbadanie aktywności genu *hld* kodującego δ -hemolizynę. Badania te wykonano na puli 633 z 750 szczepów. Pojawia się pytanie, dlaczego dla różnych testów wykorzystywana jest różna liczba szczepów gronkowca?, czy wybór szczepów do badania odpowiedzi *S. aureus* na aPDI w zależności od polimorfizmu genów *agr* był uzależniony od stopnia ich wirulencji? Proszę o odpowiedź.

Wyniki badań wykazały, że istnieją statystycznie istotne różnice w odpowiedzi na aPDI między szczepami należącymi do różnych grup *agr* (Agr1 – Agr4), jak również są różnice wewnątrz samej grupy tj. dla Agr1 i Agr2. Stąd wniosek, że odpowiedź na aPDI jest zależna nie tylko od funkcjonalności systemu *agr*, ale również polimorfizmu w obrębie genów. Doktorantka w dalszej części pracy udowodniła na puli 418 szczepów MRSA, że typ kasety SCC*mec* (I-V) nie ma wpływu na odpowiedź na aPDI, również uwzględniając klasyfikację odpowiedzi (o podwyższonej tolerancji, średnio-wrażliwe, wrażliwe), stąd wniosek, że typ kasety SCC*mec* nie może służyć jako marker genetyczny określonej wrażliwości *S. aureus* na inaktywację fotodynamiczną. Badanie tła genetycznego w oparciu o metodę MLST oraz typowanie *spa* wykazało związek określonych klonów z wrażliwością na inaktywację fotodynamiczną, np. podwyższoną tolerancją charakteryzowały się szczepy należące do kompleksu klonalnego CC1, natomiast izolaty

z grupy klonalnej CC30 i CC8 były na ogół wrażliwe. W oparciu o typowanie *spa* wyróżniono również grupę *spa* t015 szczególnie wrażliwą na aPDI.

Wszystkie wyniki dla tej części badań, przedstawiono w postaci dobrze opracowanych, czytelnych schematów/diagramów, a uzyskane rezultaty badań zostały podsumowane. Na uwagę zasługuje rzetelność badań i odpowiednio duża pula szczepów poddanych analizie.

Druga część wyników dotyczy badania rozwoju tolerancji na fotoinaktywację w sytuacji stosowania dawek subletalnych fotouczulacza (rózu bengalskiego – 0,1 μ M) i dawek światła (10J/cm²) w przypadku aPDI czy dawek światła niebieskiego (150J/cm²) dla aBL.

Tę część doktoratu uważam za szczególnie interesującą i przełomową w badaniach nad inaktywacją fotodynamiczną. Doktorantka opracowała warunki subletalnych dawek fotoinaktywacji, które skutkowały zmniejszoną przeżywalnością bakterii o ok. 2 jednostek log₁₀. W doświadczeniu zastosowano szczep z kolekcji NARSA, JE2, a doświadczenia przeprowadzano w 3 niezależnych eksperymentach dla 15 cykli powtórzeń. Wydaje mi się, że do doświadczeń warto dołączyć szczep kliniczny, ponieważ szczepy szpitalne bardzo często inaczej reagują niż szczepy referencyjne czy szczepy doświadczalne. Schematy doświadczeń zostały bardzo ładnie opisane w postaci rysunków. Mam jednak w tym miejscu jedną małą uwagę, podpis ryciny nr 29 powinien być bardziej dokładny. Bezpośrednio w tekście czytelnik orientuje się czego on dotyczy, jednak w spisie treści rycin, nie bardzo wiadomo z czym ma on związek (Podpis „Ryc. 29 Schemat doświadczeń kontrolnych” nic nie mówi).

Zaobserwowano rozwój tolerancji dla subletalnych dawek rózu bengalskiego jako fotouczulacza w indukcji fotodynamicznej (aPDI), oraz dla subletalnych dawek światła niebieskiego aBL, co było widoczne już od 5 cyklu (odpowiednio spadek wzrostu o ok. 3 jednostki log₁₀ i o 2 log₁₀). Doktorantka doszukuje się rozwoju tolerancji w mechanizmie związanym z odpowiedzią na stres oksydacyjny (co wykazano poprzez zmniejszoną wrażliwość na H₂O₂). Ustalono, że wytworzona tolerancja jest specyficzna dla danego fotouczulacza oraz, że jest stabilna fenotypowo a sam mechanizm jest związany ze zmianami genetycznymi. Subletalne dawki RB-aPDI oraz subletalne traktowanie aBL prowadzą do zwiększonej częstości występowania spontanicznych mutacji punkowych w genie *rpoB* (zastosowano test oporności na rifampicynę) oraz zwiększonego poziomu ekspresji genów *recA* oraz *umuC*, które uczestniczą w odpowiedzi SOS komórki na stres oksydacyjny. Za bardzo interesujący rozdział uważam omówienie wpływu subletalnych dawek aPDI i aBL na zmiany w lekowrażliwości gronkowca. Doktorantka wykazała, że szczepy *S. aureus* wielokrotnie poddawane działaniu subletalnych dawek aPDI i aBL uwrażliwiają się na gentamycynę

i doksycyklinę. Jak wytłumaczyć zmiany we wrażliwości na gentamycynę i doksycyklinę pod wpływem sub-letalnych dawek aPDI i aBL ?

W badaniach nad rozwojem tolerancji na aPDI i aBL, Doktoranta podaje wyniki dla 3 niezależnych eksperymentów, ale nie ma informacji dla jakiej puli szczepów te badania zostały wykonane. Czy jest to ten sam jeden szczep JE2, dla którego były ustawiane dawki ? W rozdziale 8.18 jest mowa o populacjach *S. aureus*, więc rozumiem, że badania były robione na więcej niż na jednym szczepie. W rozdziale związanym z tolerancją brak jest dokładniejszych informacji na temat wyboru szczepu/ów na którym/ch były wykonywane badania. Proszę podać kryteria doboru szczepów.

Dyskusja dysertacji stanowi osobny rozdział. W dyskusji Doktorantka powołuje się na wyniki wcześniej opublikowanych prac zespołu, które stały się podwalinami doktoratu Pani Aleksandry Rapacka-Zdończyk. Jest ona również współautorką 4 opublikowanych prac w tym temacie (pozycja 2, 3, 4, 5), które mogły by być podstawą samego doktoratu w formie zbioru publikacji. Myślę, że brak w większości prac pierwszego autorstwa spowodował obranie innej formy przedstawienia dysertacji.

Rozdział 9.1 dotyczący identyfikacji markerów genetycznych odpowiedzi *S. aureus* na fotoinaktywację, jest jednak bardziej podsumowaniem wyników z rozdziału „Wyniki” niż samą dyskusją. W związku z wykryciem odpowiednich kompleksów klonalnych oraz typów *spa* autorka sugeruje zastosowanie zwiększonych dawek światła czy/i fotouczulacza w celu bardziej skutecznej terapii. Mamy tutaj załączek terapii spersonalizowanej.

Ciekawą dyskusję Doktorantka przeprowadziła w podrozdziale 9.2 „Dyskusji”. Zostały tutaj poruszone kwestie ryzyka rozwoju tolerancji podczas terapii fotodynamicznej w warunkach nieprawidłowo dobranych dawek światła czy fotouczulacza. Doktoranta dyskutuje opublikowane przez innych autorów badania, sugerując błędne wnioski, podważa istniejące dogmaty związane ze stresem oksydacyjnym indukowanym aPDI oraz aBL ze względu na nieprawidłowo dobraną metodykę badawczą. Pani Aleksandra Rapacka-Zdończyk podaje kryteria, którymi w tego typu badaniach naukowcy powinni kierować się. W skrócie: stosowanie dawek subletalnych, badania powinny być kontynuowane przez 15 cykli następujących po sobie, sub-opulacja przeznaczona do kolejnego cyklu musi pochodzić z zawiesiny poddanej traktowaniu a nie z przeżywającej pojedynczej kolonii oraz nabyta tolerancja powinna być sprawdzona pod względem stabilności fenotypowej. Tego typu uwagi zostaną pewnie docenione przez inne zespoły zajmujące się podobną tematyką badawczą i mają szansę być cytowane. Opierając się na doświadczeniach zespołu Zakładu Diagnostyki Molekularnej Doktoranta dostosowała cykl swoich badań do nowych kryteriów i protokołów. Wskazała na jeden z potencjalnych mechanizmów wykształcenia tolerancji przez *S.*

aureus na subletalne dawki aPDI i aBL (zwiększona częstość mutacji w genie *rpoB* oraz zwiększona ekspresja genów *recA* i *umuC*). Na koniec Doktorantka przedyskutowała kwestię rozumienia tolerancji i oporności. Ostatni rozdział to „Wnioski” składające się z 13 punktów. Z całą odpowiedzialnością mogę stwierdzić, że treści rozprawy doktorskiej zawierają elementy nowości.

Podsumowując, stwierdzam, że Pani mgr Aleksandra Rapacka-Zdończyk do realizacji swoich zadań badawczych dobrze zaplanowała etapy badań oraz dobrała poprawne metody badawcze. Zrealizowała postawione sobie cele badawcze. Treści rozprawy są przedstawione w sposób jasny oraz przejrzysty. Doktorantka wykazała się znajomością literatury w kwestii terapii fotodynamicznej i diagnostyki molekularnej *S. aureus*. Piśmiennictwo jest cytowane poprawnie i skupione na nowych, aktualnych doniesieniach naukowych. Sama praca poza nielicznymi „literówkami” jest napisana poprawnym, naukowym językiem polskim, ryciny są czytelne i starannie wykonane. Recenzowaną rozprawę doktorską uważam za wartościową, zachęcam do kontynuowania badań i poznawania mechanizmów fotoinaktywacji. Tematyka badań jest interesująca, została również doceniona w konkursie dla Młodych Naukowców, w którym Pani Aleksandra Rapacka-Zdończyk była kierownikiem projektu. Doktorantka jest współautorką 6 oryginalnych prac badawczych oraz jednej pracy przeglądowej (lata 2013-2019), co uważam za duży sukces naukowy. Uzyskała również 3 prestiżowe nagrody. Potwierdzam dojrzałość naukową Doktorantki i uważam, że spełnia ustawowe wymogi stawiane rozprawom doktorskim, określone w art. 13, ustęp 1 „Ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki” z dnia 14 marca 2003 r. [Dz. U. nr 65 poz. 595 z dnia 16 kwietnia 2003 r., Dz. U. z 201,6 r. poz. BBZ, 1,311). Wnoszę więc do Wysokiej Rady Międzyuczelnianego Wydziału Biotechnologii UG i GUMed o przyjęcie pracy jako rozprawy doktorskiej i dopuszczenie Pani mgr Aleksandry Rapackiej-Zdończyk do kolejnych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora.

Ze względu na merytoryczną i doświadczalną wartość pracy wnoszę również do Rady Międzyuczelnianego Wydziału Biotechnologii UG i GUMed o wyróżnienie rozprawy doktorskiej pt. „Mechanizmy adaptacji *Staphylococcus aureus* do stresu oksydacyjnego indukowanego metoda fotodynamiczną”, której autorem jest Pani mgr Aleksandra Rapacka-Zdończyk.

Podpis

dr hab. Beata Krawczyk, prof. nadzw. PG

Katedra Biotechnologii Molekularnej i Mikrobiologii