

Katowice dnia 17 kwietnia 2023 r.

## RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

**mgr Magdaleny Szmulik pt. "Zastosowanie zmodyfikowanej metody cytometrii przepływowej do analizy wybranych elementów morfotycznych w moczu".**

**Przygotowanej pod kierunkiem naukowym dr hab. n. med. Agnieszki Woźniak-Kosek**

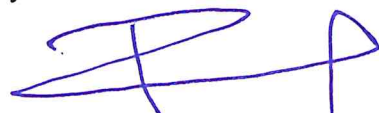
Podjęta w rozprawie tematyka dotycząca zastosowania cytometrii przepływowej do analiz laboratoryjnych oceny moczu w ujęciu mikrobiologicznym stanowi ważny i aktualny problem badawczy oraz posiada walory praktyczne do zastosowania w rutynowe diagnostyce laboratoryjnej. Cytometria przepływowa jest bardzo obiecującą techniką badawczą i diagnostyczną, która umożliwia zarówno charakterystykę jakościową, jak i ilościową badanych komórek. Autorka w swojej dysertacji analizuje przydatność dwóch aparatów, rutynowo w obecnym czasie stosowanych w laboratoriach analitycznych, opartych na cytometrycznej metodzie działania. Analizie poddano próbki moczu pobrane od pacjentów w oparciu o oznaczenia występowania wybranych elementów morfotycznych tj. bakterii, białych i czerwonych krwinek oraz drożdżaków.

### **Ocena części metodologicznej**

Dobór piśmiennictwa naukowego i wykorzystania źródeł oceniam wysoko. Piśmiennictwo obejmuje 100 pozycji, w dużej części opublikowane w ostatnim dziesięcioleciu. Stwierdzam, że cytowane piśmiennictwo jest bezpośrednio związane z tematyką pracy i jest aktualne. Autorka poprawnie prezentuje swoje poglądy oraz jest w stanie sprawnie je wspierać posługując się wynikami badań własnych oraz przedstawionym piśmiennictwem, jednak nie ustrzegła się błędów pisarskich i interpunkcyjnych w tym obszarze. Można zauważyć brak konsekwencji w stylu cytowania piśmiennictwa (np. raz podawane jest na początku imię i dalej nazwisko autora w innym przypadku najpierw nazwisko a potem imię, to samo dotyczy skrótów i pełnych nazw czasopism).

Formułowanie problemów i założeń badawczych jest poprawne. Cel pracy podzielono na cel poznawczy i praktyczny. Cele szczegółowe badań sprecyzowano jednoznacznie i rzeczowo, podobnie jak hipotezy główne i szczegółowe. Wysoko oceniam w tym przypadku przedstawienie hipotez szczegółowych w formie 5-u pytań, ponieważ doskonale oddaje to podejście do problemu badawczego, którego zastosowanie ma mieć walor praktyczny dla potencjalnych użytkowników.

Trafność doboru materiałów, metod i narzędzi badawczych wraz z umiejętnością ich zastosowania jest prawidłowe. Rozdział dotyczący przedstawionych materiałów i metod





użytych w pracy zajmuje 18 stron dysertacji i opisuje szczegółowo sprzęt i odczynniki jakie były stosowane w badaniach. Autorka doskonale dostosowała opis, aby nie wprowadzić w tekstcie naukowym elementów reklamy urządzeń dzięki którym były wykonywane badania, nazywając je w tekstcie analizatorem A i B, tylko w jednym miejscu na stronie 39 dysertacji podając dokładne dane co do pochodzenia aparatów. Na przeprowadzenie analiz zawartych w tej pracy doktorskiej Autorka uzyskała zgodę Komisji Bioetycznej. Co ważne p. mgr Magdalena Szmulik zadbała również o aspekt RODO w prowadzonych badaniach stosując się do obowiązujących przepisów prawnych w tym zakresie.

Wnioski są wyważone i wynikają z przeprowadzonych badań i ich głębokiej analizy. Autorka doskonale opracowała warsztat służący do opracowań statystycznych uzyskanych danych empirycznych. Niemniej jednak, opis części „3.4. Analiza statystyczna” mogłaby zostać opisana bardziej dokładnie z wyjaśnieniem celu przeprowadzenia poszczególnych testów statystycznych oraz z zachowaniem logicznej kolejności analiz, tzn. najpierw oceny spełnienia rozkładu otrzymanych danych z rozkładem normalnym, a następnie testów wykorzystanych do porównania poszczególnych zmiennych. Za niefortunne uważam także sformułowanie „analizę częstości z testem chi-kwadrat”. Doktorantka jako osoba zajmująca się zawodowo pracą laboratoryjną podkreśla praktyczne implikacje wyników swojej pracy popierając je danymi z piśmiennictwa naukowego. Narzędzia są dobrane prawidłowo i dzięki temu możliwe było zrealizowanie zadań badawczych.

Prawidłowość układu pracy i struktury podziału treści oceniam wysoko. Dysertacja posiada tradycyjny zwarty układ przedstawiony na 176 stronach, zawiera 10 rozdziałów zakończonych krótkim rzeczowym omówieniem wyników i dyskusją, streszczeniem w języku polskim i angielskim, spisem tabel (76), rycin (103) i piśmiennictwa. Część uzupełniająca stanowi wykaz stosowanych skrótów podany na początku opracowania.

### **Ocena części merytorycznej**

Temat pracy i trafność podjętej problematyki badawczej jest oryginalny co skłania mnie do wysokiej oceny tych parametrów

W szczególności procesu badawczego Autorka wprowadza czytelnika, prezentując wiedzę teoretyczną z zakresu zastosowania cytometrii przepływowej jako metody o znaczących walorach użytkowych w medycynie laboratoryjnej. Badanie ogólne moczu składa się z oznaczenia wielu parametrów, które są zwykle określane w dwóch etapach. Pierwszy to badanie cech fizyko-chemicznych, drugi to ocena występowania upostaciowanych elementów w moczu. To właśnie temu zakresowi wybranych badań Doktorantka poświęciła swoją dysertację. Recenzowana praca jako pierwsza w Polsce przedstawia zagadnienia dotyczące oceny liczby bakterii, krwinek białych i czerwonych oraz grzybów drożdżopodobnych w kontekście porównywania wyników tych elementów upostaciowanych w badaniu moczu w oparciu o technikę fluorescencyjnej cytometrii przepływowej oraz obrazowania cyfrowego wspieranego ogniskowaniem hydrodynamicznym. Doktorantka podejmuje również w swojej pracy próbę oceny w materiale biologicznym, jakim jest moc, z elementów morfotycznych





istotnych w diagnostyce mikrobiologicznej. Zastosowanie zmodyfikowanych metod cytometrycznych otwiera nowe możliwości w diagnostyce zakażeń układu moczowego, którego celem nadrzędnym jest skrócenie czasu oczekiwania na wiarygodny wynik szczególnie bakteriologiczny, który w klasycznych metodach jest wydłużony nawet do 48-72 godzin. Badania z zastosowaniem Aparatu A wskazują jeszcze jedną unikalną cechę dotyczącą preklasyfikacji bakterii na G(+) i G(-)

Uzyskane rezultaty w przedstawionej mi do oceny dysertacji mają znaczenie nie tylko dla szeroko rozumianego działu medycyny jakim jest ochrona zdrowia, ale także niosą ze sobą aspekt praktyczny zastosowania w medycynie laboratoryjnej

Wyniki zostały opracowane na podstawie pomiaru elementów upostaciowanych w moczu w 1131 próbkach pobranych od pacjentów leczonych w Klinikach WIM-PIB

Otrzymane wyniki przedstawiono w postaci tabel wielopolowych zawierających wyliczenia liczebności w % w odniesieniu do parametrów i metod jakimi zostały oznaczone. Autorka jasno określiła kryteria różnicujące próbki na pozytywne i negatywne dla każdej z metod. Porównania bezpośrednie przedziałów półilościowych metody B w odniesieniu do wartości liczbowych metody A przedstawiono w postaci tabel i histogramów. Do najważniejszych należą porównania dotyczące obecności bakterii i leukocytów.

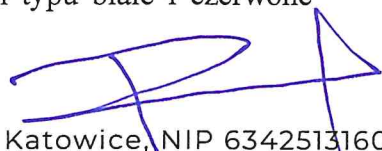
Na podstawie całości opracowania rozprawy doktorskiej sformułowano kilka wniosków, z których najciekawsze dotyczą faktu, że podwyższone parametry elementów upostaciowanych przekraczające założone punkty odcięcia dotyczą częściej kobiet niż mężczyzn.

Ze względu na szybkość wydania wyniku mikrobiologicznego zdecydowanie lepiej pozycjonowana jest metoda A, dzięki której możliwe jest zliczanie bakterii, ale także ich wstępna prekalsyfikacja na G(+) i G(-) co jest niedostępne w przypadku stosowania innych metod analitycznych. Wstępna ocena na tym poziomie jak podkreśla Doktorantka, jest niezwykle ważna dla klinicystów, którzy podejmują niejednokrotnie decyzję o empirycznym włączeniu bądź nie antybiotyku do leczenia pacjenta z bakteriurią.

Dodatkowym atutem jest fakt, że temat dysertacji doktorantka przedstawiała na konferencjach międzynarodowych oraz przygotowała pod kierunkiem i we współpracy z Promotorem publikację naukową do czasopisma o wysokim wskaźniku IF.

#### Poprawność językowa, stylistyczna i interpunkcyjna

Rozprawa została przygotowana w sposób poprawny językowo z wykorzystaniem właściwych form stylistycznych. Niemniej jednak z obowiązku Recenzenta muszę wskazać, iż w pracy występują błędy interpunkcyjne, co nie wpływa w znaczący sposób na zrozumienie tekstu i nie umniejsza wartości rozprawy. Zdania są formułowane poprawnie, choć moim zdaniem powinny być mniej rozbudowane, co spowodowałoby, że tekst byłby bardziej przejrzysty i zrozumiały dla czytelnika. Doktorantka ma tendencję do stosowania w opisach skrótów myślowych, które dla czytającego mogą być trudne do zrozumienia. Edycja pracy jest prawidłowa i niezwykle staranna. Doktorantka jednak w opisach stosuje zamiennie pojęcie liczba i ilość co w przypadku określania elementów morfotycznych typu białe i czerwone



krwinki czy bakterie nie jest prawidłowe. Dodatkowo trudno jest zrozumieć, dlaczego przy elementach policzalnych - komórkach nie ma jednostek zarówno w przypadku krwinek jak i bakterii. Dla mikroorganizmów celowym byłoby określenie jednostek wyrażonych w jednostkach tworzących kolonie (jtk) na mikrolitr czy mililitr.

)

#### **Podsumowanie uwag krytycznych do rozprawy doktorskiej:**

1. Opis części „3.4. Analiza statystyczna” mogłaby zostać opisana bardziej dokładnie z wyjaśnieniem celu przeprowadzenia poszczególnych testów statystycznych oraz z zachowaniem logicznej kolejności analiz, tzn. najpierw oceny spełnienia rozkładu otrzymanych danych z rozkładem normalnym, a następnie testów wykorzystanych do porównania poszczególnych zmiennych. Za niefortunne uważam także sformułowanie „analizę częstości z testem chi-kwadrat”.
2. Z obowiązku Recenzenta muszę wskazać, iż w pracy występują błędy interpunkcyjne, co nie wpływa w znaczący sposób na zrozumienie tekstu i nie umniejsza wartości rozprawy.
3. Zdania są formułowane poprawnie, choć moim zdaniem powinny być mniej rozbudowane, co spowodowałoby, że tekst byłby bardziej przejrzysty i zrozumiały dla czytelnika.
4. Doktorantka ma tendencję do stosowania w opisach skrótów myślowych, które dla czytającego mogą być trudne do zrozumienia.
5. Doktorantka jednak w opisach stosuje zamiennie pojęcie liczba i ilość co w przypadku określania elementów morfotycznych typu białe i czerwone krwinki czy bakterie nie jest prawidłowe.
6. Dodatkowo trudno jest zrozumieć, dlaczego przy elementach policzalnych - komórkach nie ma jednostek zarówno w przypadku krwinek jak i bakterii.
7. Dla mikroorganizmów celowym byłoby określenie jednostek wyrażonych w jtk na mikrolitr czy mililitr.
8. Nie wszystkie fragmenty w części wstęp i dyskusja zostały poparte odpowiednim piśmiennictwem, potwierdzającym obiektywnie ich zasadność i prawdziwość.
9. Cenną częścią pracy byłoby przedstawienie ograniczeń przeprowadzonych badań, w tym wykorzystanych metod i wskazanie kolejnych kroków niezbędnych do jeszcze lepszego poznania omawianego zagadnienia.

#### **Wniosek końcowy**

Doktoranta wykazuje się umiejętnością korzystania z piśmiennictwa naukowego, które jest trafnie cytowane w całej dysertacji. Rozplanowanie tekstu, zasady budowy wykresów i tabel są poprawne. Praca napisana jest starannie. Dodatkową wartość całego opracowania wnoszą kolorowe wykresy, ryciny i czytelne tabele.





Podsumowując recenzję rozprawy doktorskiej mgr Magdaleny Szmulik pt. "Zastosowanie Zmodyfikowanej metody cytometrii przepływowej do analizy wybranych elementów morfotycznych w moczu" należy podkreślić, że jest ona opracowaniem naukowym, które wzbogaca wiedzę z tego obszaru. Może być także praktyczną wskazówką dla klinicystów o celowości zastosowania odpowiedniej terapii antybiotykowej znacznie ją przyspieszając.

Dokonując oceny całościowej dysertacji stwierdzam, że stanowi ona oryginalne rozwiązanie przedstawionego problemu naukowego, wskazując jednocześnie na odpowiednio wysoki poziom wiedzy teoretycznej Autorki. Stwierdzam, że recenzowana praca odpowiada warunkom stawianym tego typu opracowaniom i wnoszę o dopuszczenie przez Wysoką Radę Naukową wojskowego Instytutu Medycyny Lotniczej pani mgr Magdaleny Szmulik do dalszych etapów obrony pracy i nadanie stopnia naukowego.

Analizując dobór tematu rozprawy, postawione cele i pytania badawcze, całą strukturę i układ pracy dodatkowo metody i wykorzystywane narzędzia badawcze, wartość naukową oraz spełnienie przesłanek formalnych, stwierdzam, że rozprawa doktorska mgr Magdaleny Szmulik pt. "Zastosowanie zmodyfikowanej metody cytometrii przepływowej do analizy wybranych elementów morfotycznych w moczu" spełnia wymogi określone w art. 13 Ustawy z dnia 14.03.2003 o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule naukowym w zakresie sztuki (Dz.U. z 15 września 2017r., poz. 1789 z późn. zm.).

Do takiego stanowiska upoważniają mnie następujące argumenty:

1. Właściwie przygotowana pod względem formalnym dysertacja;
2. Spójna i logiczna struktura pracy;
3. Właściwy dobór narzędzi badawczych do przeprowadzenia opracowania tematu pracy;
4. Jasno określone cele badawcze przygotowanej dysertacji;
5. Waler aplikacyjny w diagnostyce laboratoryjnej przedstawionego opracowania.

Z POWAŻANIEM  
DARIUSZ BORON

7178230

DARIUSZ BORON

PROF. DR HAB. N. MED.  
SPECJALISTA GINEKOLOG-POŁOŻNIK  
32-360 Olkusz, ul. K.K. Wielkiego 56  
☎ 602 211 601