



WARSZAWSKI
UNIwersytet
MEDYCZNY

KLINIKA PEDIATRII

Dr hab. med. Piotr Dziechciarz
e-mail: piotr.dziechciarz@wum.edu.pl

Ocena osiągnięcia naukowego:
„Kolka jelitowa u niemowląt - diagnostyka i dobór optymalnej
terapii probiotykowej”
Dr n.med. Małgorzaty Bernatek

Podstawa prawna

Niniejsza ocena została wykonana zgodnie z zapisami art. 219 i 221 ust. 8 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2020r., poz. 85 ze zm.) na wniosek Rady Doskonałości Naukowej

Ocena formalna

Oceny osiągnięć i dorobku Pani dr n.med. Małgorzaty Bernatek dokonałem na podstawie dostarczonych mi materiałów: (1) autoreferatu, zawierającego omówienie osiągnięcia naukowego będącego podstawą wniosku, (2) wykazu opublikowanych przez habilitantki prac naukowych, (3) wykazu projektów badawczych, w których habilitant brał udział, (4) informacji o stażach, współpracy naukowej, osiągnięciach recenzenckich i działalności w towarzystwach naukowych (3) oświadczeń współautorów o ich wkładzie w poszczególne prace oraz (5) danych bibliometrycznych.

Warunki nadania stopnia doktora habilitowanego zostały unormowane w art. 219 ust. 1 i 2. ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku.

Zgodnie z tym przepisem stopień doktora habilitowanego nadaje się osobie, która:

- 1) posiada stopień doktora;
- 2) posiada w dorobku osiągnięcia naukowe albo artystyczne, stanowiące znaczny wkład w rozwój określonej dyscypliny, w tym co najmniej:
 - a) 1 monografię naukową wydaną przez wydawnictwo, które w roku opublikowania monografii w ostatecznej formie było ujęte w wykazie sporządzonym zgodnie z przepisami wydanymi na podstawie art. 267 ust. 2 pkt 2 lit. a, lub
 - b) 1 cykl powiązanych tematycznie artykułów naukowych opublikowanych w czasopiśmie naukowym lub w recenzowanych materiałach z konferencji międzynarodowych, które w roku opublikowania artykułu w ostatecznej formie były ujęte w wykazie sporządzonym zgodnie z przepisami wydanymi na podstawie art. 267 ust. 2 pkt 2 lit. b, lub
 - c) 1 zrealizowane oryginalne osiągnięcie projektowe, konstrukcyjne, technologiczne lub artystyczne;
- 3) wykazuje się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej.

W swojej recenzji odniosę się więc jedynie do tych punktów kładąc nacisk na merytoryczną ocenę cyklu 5 prac przedstawionej przez habilitantkę.

Ocena merytoryczna

Rozprawę habilitacyjną tworzy cykl 5 powiązanych tematycznie artykułów naukowych opublikowanych w czasopiśmie naukowym które w roku opublikowania artykułu w ostatecznej formie były ujęte w wykazie sporządzonym zgodnie z przepisami wydanymi na podstawie art. 267 ust. 2 pkt. Ich łączna wartość współczynnika Impact factor wynosi 18,05, a suma punktów zgodnie z wykazem Ministra Edukacji i Nauki wynosi 420 punktów. Prace

spełniają wymogi ujęcia ich w wykazie sporządzonym zgodnie z przepisami wydanymi na podstawie art. 267 ust. 2 pkt 2 lit. b.

Wkład w daną dziedzinę medycyny jest funkcją kilku elementów: istotności poruszanego przez habilitanta zagadnienia, odpowiedniej metodyki badań, rzetelności w ich przeprowadzeniu oraz właściwie przedstawionych raportów z tych badań (artykułami naukowymi).

Poruszany przez habilitantkę aspekt stosowania probiotyków jest istotny z powodu dużego rozpowszechnienia ich stosowania, szczególnie w populacji pediatrycznej. Należy podkreślić, że niemal wszystkie probiotyki zarejestrowane w naszym kraju są suplementami diety, które nie muszą przechodzić rygorystycznej oceny przed dopuszczeniem do sprzedaży, dlatego postmarketingowe badania funkcjonalnych właściwości probiotyków przez niezależne od przemysłu ośrodki badawcze są istotne z medycznego i naukowego punktu widzenia.

Kolka niemowlęca występuje u 20-30% małych niemowląt i choć stanowi przejściowe zburzenie czynnościowe to jej krótko- i długofalowe konsekwencje, w tym obciążenie służby zdrowia, są istotnymi problemami nie tylko medycznymi ale również społecznymi.

Dlatego zagadnienie poruszane w pracach przedstawionych do oceny przez habilitantkę należy uznać za istotne z punktu widzenia współczesnej wiedzy medycznej.

W zaleceniach Rady Doskonałości Naukowej wskazane jest, aby recenzje były „kompletne, rzetelne, dokładne i obiektywne, a oceny odpowiednio uzasadnione” dlatego, pomimo faktu, że wszystkie przedstawione prace zostały opublikowane w recenzowanych czasopismach i przeszły już sito niezależnych ewaluacji, recenzent zdecydował się ponownie ocenić wszystkie 5 prac pod względem metodologii oraz raportowania wyników.

Drobnym uchybieniem jest umieszczenie przez habilitantkę w tytule osiągnięcia naukowego pojęcia „kolka jelitowa” – według obowiązującego nazewnictwa

powinno być kolka niemowlęca, którego zresztą konsekwentnie używa dalej w swoim autoreferacie.

Odnosnie dwóch prac przeprowadzonych warunkach in vitro habilitantka w autoreferacie deklaruje, że: „W mojej pracy naukowej prowadzonej w ostatnich latach określiłam najważniejsze kryteria doboru najefektywniejszych preparatów rynkowych zawierających mikroorganizmy probiotyczne.”. Recenzent przyjmuje jednak skromniejszą ocenę efektu prac habilitantki a mianowicie: efektem badań było określenie niektórych funkcjonalności niektórych preparatów probiotycznych zarejestrowanych na rynku polskim w warunkach wybranych modeli in vitro.

Poniżej przedstawiono szczegółowe uwagi do każdej z prac

1. Bernatek M, Żukiewicz-Sobczak W , Lachowicz-Wiśniewska W, Piątek J “Factors Determining Effective Probiotic Activity: Evaluation of Survival and Antibacterial Activity of Selected Probiotic Products Using an “In Vitro” Study”. *Nutrients* 2022, 14(16), 3323.

Badanie analizowało dezintegrację kapsułek preparatów probiotycznych oraz przeżywalność mikroorganizmów probiotycznych w tych preparatach. Badanie zostało przeprowadzone – jak deklaruje habilitantka – na samodzielnie opracowanym modelu eksperymentu naśladujący in vitro warunki kwasowe panujące w świetle żołądka oraz w kolejnym etapie, w obecności soli kwasów żółciowych odpowiadającym ich stężeniu w soku dwunastniczym. Ponadto w pracy przeanalizowano zdolności hamowania rozwoju patogenów przewodu pokarmowego przez drobnoustroje probiotyczne metodą bargrafu wg Strusa. Obie części badania odnosiły się do pięciu preparatów probiotyków dostępnych na rynku. Oceniając pracę habilitantki należy zauważyć, że model badania dezintegracji kapsułek jest modelem autorskim i w artykule nie ma wzmianki czy został poddany wcześniejszej walidacji. Model zaproponowany przez habilitantkę jest stosunkowo prosty i nie wiadomo w jakim stopniu imituje rzeczywiste zjawiska w żołądku i dwunastnicy, które są dalece bardziej skomplikowane. Należy jednak zaznaczyć, że protokoły testowania dezintegracji

kapsulek in vitro różnią się między sobą i nie ma jednej powszechnie stosowanej metody, dlatego metoda przyjęta przez autorkę nie może być odrzucona jako niewłaściwa.

Ocena zdolności hamowania rozwoju patogenów przewodu pokarmowego przez drobnoustroje zawarte w pięciu preparatach probiotyków została wykonana metodą co prawda wcześniej opisaną, ale poza granicami naszego kraju szerzej nieznaną, co niestety zmniejsza wpływ międzynarodowy tej pracy. Należy jednak zaznaczyć, że również i w tym przypadku nie ma jednej standardowej metody testowania przeciwbakteryjnych właściwości probiotyków co sprawia, że również i tę część badania należy uznać za poprawną metodycznie.

Dyskusja wyników została przeprowadzona sprawne, zgodnie z zasadami pisania prac naukowych, jednak zabrakło w niej opisania słabych stron badania. Krytyczna analiza własnych wyników wskazuje na dojrzałość badacza i powinna być uwzględniona w każdym omówieniu własnych wyników.

Recenzentowi trudno zgodzić się w pełni z wnioskiem wysuniętym przez habilitantkę „Można jednoznacznie stwierdzić, że im większa różnorodność szczepów bakterii w danym preparacie probiotycznym, tym większa zdolność tej populacji do hamowania rozwoju bakterii patologicznych w warunkach in vitro. Analiza wykonana była jedynie dla 5 preparatów i nie można jej ekstrapolować na inne probiotyki. Działanie probiotyków jest szczepozależne i nie zawsze bywa synergistyczne. Należałoby ostrożniej sformułować ten wniosek i odnieść go tylko do preparatów badanych ponadto unikając słowa „jednoznacznie”. Precyzja w formułowaniu wniosków płynących z prac własnych jest niewątpliwą zaletą każdego autora prac naukowych.

2. Bernatek M, Sommermeyer H, Wojtyła A I wsp “The factors determining effective probiotic activity - evaluation of survival and antibacterial activity of selected probiotic products: an "in-vitro" study”. J Health Inequal 2023; 9

Celem kolejnej pracy była ocena oporności na stres osmotyczny mikroorganizmów zawartych w różnych preparatach rynkowych probiotyków w roztworze 4% NaCl oraz ich przeżywalność podczas inkubacji w różnych stężeniach kwasu solnego.

Zarówno metodyka badania jak i przedstawienie wyników nie budzi wątpliwości recenzenta. Wyniki przedstawione są rzetelnie zgodnie z zasadami przedstawienia wyników prac naukowych.

Podobnie jak w przypadku poprzedniego artykułu autorzy w dyskusji swojej pracy nie opisali jej słabych stron. Ponadto niestety nie oparli się pokusie nadmiernego „wyostrzenia” w abstrakcie wniosku z badań: „Najwyższego możliwego efektu terapeutycznego można oczekiwać od preparatów probiotycznych zawierających największą różnorodność szczepów bakteryjnych”. Jest to nieuprawniona interpretacja własnych wyników, z trzech powodów: po pierwsze jest to badanie in vitro, a o efektach klinicznych można mówić po przeprowadzeniu badań klinicznych z randomizacją. Po drugie istnieją istotne dowody z badań in vitro i jak i badań na zwierzętach, że zarówno żywe, jak i martwe komórki probiotyczne charakteryzują pewnymi efektami biologicznymi, dlatego przeżywalność bakterii jest tylko jednym z elementów wpływających na efekty kliniczne. Po trzecie efekty probiotyków są szczepozależne i wniosek nie może być sformułowany tak ogólnie i nie należy go przenosić na inne preparaty probiotyczne.

Z badań analizujących abstrakty publikacji naukowych wiadomo, że niemały odsetek autorów formułuje swoje wnioski z tzw. nadmiernym spinem, tym niemniej poważny badacz powinien unikać twierdzeń, które nie wynikają jednoznacznie z jego badań.

Kolejne dwa badania są badaniami z randomizacją (RCT), które analizują efekty kliniczne wieloszczepowego probiotyku oraz synbiotyku u niemowląt z kolką niemowlęcą. We współczesnej medycynie badania z randomizacją są najwyżej plasowane jako badania pierwotne w hierarchii dowodów naukowych i

uważane są za bardzo wiarygodne źródło informacji. Nie ma dziedziny w medycynie w której nie wskazywano by na ogromną potrzebę prowadzenia dobrze zaplanowanych badań z randomizacją, jednak w wielu przeglądach systematycznych podkreśla się niedostatki metodologiczne analizowanych badań, które nie pozwalają na wyciągnięcie wiążących wniosków.

Ze względu na duże trudności prowadzenia badań w populacji pediatrycznej każde tego typu badanie jest szczególnie istotne, zwłaszcza jeśli odpowiada na ważny problem kliniczny. Wobec niewielkiej ilości danych naukowych wskazujących na skuteczność w kolce niemowlęcej tylko niektórych probiotyków (w tym jednego zarejestrowanego w Polsce) podjęcie się trudu przeprowadzenia badań RCT wydaje się recenzentowi istotne zarówno z naukowego jak i klinicznego punktu widzenia.

3. Bernatek M, Piątek J, Pszczoła M i wsp. „Nine-strain bacterial synbiotic improves crying and lowers faecal calprotectin in colicky babies: an open-label randomized study”. *Microorganisms* 2022, 10 (2) (430).

W badaniu autorzy postawili sobie za cel ocenę wpływu dziewięcioszczepowego synbiotyku w porównaniu do simetikonu na czas trwania płaczu ocenianego za pomocą kwestionariusza oraz na poziom kalprotektyny w kale u ambulatoryjnych dzieci w wieku 3-6 tygodni z kolką niemowlęcą, zdiagnozowaną na podstawie kryteriów Wessela. Badanie przeprowadzono metodą otwartą, właściwie dobierając preparat porównawczy (simetikon), którego efekt w kolce niemowlęcej jest podobny do placebo. Badanie zostało przeprowadzone i opisane zgodnie z zasadami poprawności naukowej jednak obciążone jest pewnymi mankamentami wynikającymi albo z nieprawidłowego opisu badania albo z niestosowania się do niektórych zasad prowadzenia badań RCT.

1. Podane wyniki nie odpowiadają wszystkim punktom końcowym przedstawionym w protokole badania zarejestrowanego na stronie rejestracyjnej badania Clinical Trials Gov. Nie przedstawiono wyników

wskazanych jako pierwszy pierwotny punkt końcowy. Nie jest jasne czy przedstawiony w protokole badania drugi pierwotny punkt końcowy jest tożsamy z opisanym w tekście. Autorzy nie przedstawili w pracy wyjaśnienia powodu dla których dokonano zmian w punktach końcowych.

2. Autorzy nie opisali metod utajnienia alokacji (allocation concealment), które jest jednym z podstawowych kryteriów wiarygodności badań z randomizacją, ponieważ zapobiega świadomemu lub podświadomemu wpływowi osoby kwalifikującej pacjenta do badania na wybór interwencji, co może skutkować wyjściową nierównowagą czynników rokowniczych w grupach. Utajnienie alokacji jest szczególnie istotne w prowadzeniu badań RCT wykonywanych metodą otwartą.
3. Mimo założeń deklarowanych w metodyce badania nie przedstawiono dla żadnego z klinicznych parametrów wyników liczbowych analizy statystycznej. Dlatego stwierdzenia autorów: „Różnica [między badanymi grupami] w czasie płaczu wynosiła 1,44 min/dzień została uznana za wysoce znaczącą różnicę”, „Pod koniec leczenia (dzień 28) w niniejszym badaniu, różnica między średnim dziennym czasem trwania płaczu w grupie simetikonu i synbiotyku wynosiła 39,2 min.- różnica, która jest nie tylko istotna statystycznie ale jest również najprawdopodobniej doceniana przez rodziców.” „Wyniki niniejszego badania wskazują, że synbiotyki wieloskładnikowe można uznać za jako opcję leczenia mającą na celu skrócenie czasu trwania płaczu u dzieci z kolką” nie mogą być uznane za udokumentowane. Wyniki badań wymagają przedstawienia zgodnie z rekomendacjami CONSORT i wysłania korekty do czasopisma. Brak udokumentowanych wyników prac klinicznych poza aspektem poznawczym ma również aspekty etyczne związane z nieraportowaniem wyników badań przeprowadzanych na ludziach.

Mimo tych mankamentów podjęte wysiłki związane z przeprowadzeniem badania z randomizacją należy ocenić wysoko.

Odnośnie części pracy oceniającej poziom kalprotektyny u dzieci z kolką niemowlęcą recenzent czuje się w obowiązku podzielić jedną uwagę. We wnioskach autorzy twierdzą, że: "Dane z badania sugerują również, że pomiar kalprotektyny w kale może być stosowany do wspomagania diagnostyki kolki niemowlęcej, a także monitorowania efektów leczenia". Wniosek ten jest nieuprawniony bo współcześnie kolkę niemowlęcą rozpoznaje się wyłącznie za pomocą objawów klinicznych i nie wymaga to, żadnego „wspomagania”. Na poziom kalprotektyny w kale wpływa nie tylko stan zapalny jelitach, ale również wiek niemowlęcia, infekcje górnych dróg oddechowych, stres bólowy oraz, jak wykazano w niektórych badaniach, również metoda karmienia. W praktyce klinicznej może to utrudniać interpretacje wyników, a nawet prowadzić do błędnych wniosków, implikować u rodziców niezasadny niepokój i domaganie się przeprowadzenia dalszych niepotrzebnych badań czy dodatkowych terapii. Ocena kalprotektyny dokonana u dzieci z kolką dokonana przez autorów ma jednak charakter poznawczy i potwierdza wyniki innych badań.

4. Piątek J, Bernatek M, Krauss H i wsp.. "Effects of a nine-strain bacterial synbiotic compared to simethicone in colicky babies: an open-label randomised study" *Beneficial Microbes*. 2021, 12 (3), 249-257

W kolejnym badaniu RCT dokonano oceny wpływu dziewięcioszczepowego synbiotyku na objawy kliniczne kolki niemowlęcej. Podobnie jak w przypadku poprzedniej pracy badanie przeprowadzono metodą otwartą, właściwie dobierając preparat porównawczy (simetikon), którego efekt w kolce niemowlęcej jest podobny do placebo. Opis przeprowadzonego badania poza nielicznymi punktami jest przeprowadzony zgodnie z zasadami obowiązującymi przy raportowaniu badań z randomizacją. Analizując badanie według listy kontrolnej CONSORT stwierdzono pewne uchybienia. Pierwszym z nich jest nie uwzględnienie informacji o 95% przedziale ufności dla pierwotnych punktów końcowych w tabeli 2 co sprawia, że trudno jest ocenić rzeczywisty efekt preparatu probiotycznego i może to powodować, że wyniki

nie zostaną uwzględnione w systematycznych przeglądach piśmiennictwa badań z randomizacją (wskazane byłoby wysłanie korekty do czasopisma). Drugim uchybieniem jest fakt, że brak jest informacji na temat finansowania badania np. kto finansował zakup preparat synbiotycznego.

Ponadto zbyt lakonicznie opisany jest proces rekrutacji pacjentów, którzy mieli być rekrutowani w szpitalach poznańskich - nie wiadomo czy byli to pacjenci hospitalizowani z powodu kolki czy z innych przyczyn, czy byli to pacjenci ambulatoryjnie rekrutowani na SOR. Profil włączanych pacjentów jest istotny dla poprawnego opisanie populacji biorącej udział w badaniu. Z punktu widzenia czystości zasad publikacji nieprawidłowe jest to, że badanie zostało zarejestrowane już po jego wykonaniu i tuż przed wysłaniem do redakcji.

Należy jednak zauważyć, że rekrutacja przebiegała bardzo szybko, w bardzo trudnym dla badań klinicznych okresie między kwietniem a lipcem 2020.

Mimo tych mankamentów podjęte wysiłki związane z przeprowadzeniem tego badania należy ocenić wysoko.

5. Sommermeyer Henning, Bernatek Małgorzata, Pszczoła Marcin, Krauss Hanna, Piątek Jacek. "Supporting the diagnosis of infantile colic by a point of care measurement of faecal calprotectin" *Frontiers in Pediatric*. 2022, 10 (978545).

Ostatnie badanie jest pracą które w opinii recenzenta jest badaniem trafności diagnostycznej oznaczenia poziomu kalprotektyny powyżej 100 µg/g w rozpoznawaniu kolki niemowlęcej. Zgodnie ze standardami dotyczącymi raportowania badań trafności diagnostycznej STARD wskazane jest podanie w pracy wszystkich parametrów testu diagnostycznego takich jak czułość, swoistość, dodatnia wartość predykcyjna, ujemny oraz dodatni wskaźnik wiarygodności (inaczej zwanymi ilorazem wiarygodności wyniku ujemnego oraz ilorazem wiarygodności wyniku dodatniego) z 95% przedziałami ufności, optymalnie z przedstawieniem tabeli 2x2. Niestety autorzy w swojej pracy opisali tylko wyniki jednego parametru czyli dokładność (accuracy). Co więcej

ocenili ją na poziomie 90% (bez przedstawienia, żadnych wyliczeń tego wyniku i 95% przedziału ufności) pisząc w następnym zadaniu, że w badanej grupie, wyniki fałszywie dodatnie wyniosły 13,2% a fałszywie ujemnie 11,2% z czego wynika, że dokładność testu wynosi mniej niż 80%. Brak podania danych, które służyły do obliczenia wyniku pozostawia czytelnika z wątpliwościami odnośnie prawidłowości wyliczeń.

W dyskusji niestety nie przedstawiono metodycznych ograniczeń badania, w tym źródeł potencjalnego błędu systematycznego, brakiem wyliczenia wielkości grupy oraz niepewności statystycznej wyników. Podobnie jak w poprzednim badaniu autorzy szczególną wagę przypisują praktycznym aspektom oznaczenia kalprotektyny u dzieci z kolką niemowlęcą, z którymi recenzent się nie zgadza (patrz wyżej).

Jednak nie umniejsza to wartości badania, którego głównym mankamentem jest niepełne raportowanie wyników badań oraz brak opisanych metodycznych ograniczeń badania.

Podsumowując: całość przedstawionego cyklu prac należy ocenić pozytywnie. Pomimo pewnych wad metodycznych wyszczególnionych powyżej, opublikowane badania posiadają dużo elementów wartościowych i pozwalają na uznanie ich jako dość ważny wkład w dziedzinę medycyny. Przeprowadzenie 2 badań RCT, 1 badania trafności diagnostycznej testu oraz dwóch 2 prac in vitro świadczy nie tylko o dużej pracowitości ale i o znacznym zacięciu naukowym oraz szerokich zainteresowań habilitantki szczególnie, że jest ona przy tym czynnym lekarzem.

Ocena aktywności naukowej realizowaną w więcej niż jednej uczelni

Informacja zawarta w autoreferacie pani Dr Małgorzaty Bernatek dowodzi, że wykazywała się ona istotną aktywnością naukową realizowaną w więcej niż jednej uczelni w tym Uniwersytetem Medycznym im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, Instytutem

Medycyny Wsi w Lublinie oraz Uniwersytetem Przyrodniczym w Poznaniu (wspólne publikacje).

Reasumując, potwierdzam, że przedstawione do oceny habilitacyjne osiągnięcie naukowe pani doktor nauk medycznych Małgorzaty Bernatek, zreferowane na podstawie pięciu, powiązanych tematycznie publikacji oraz aktywność naukowa realizowaną w więcej niż jednej uczelni odpowiada wszystkim warunkom nadania stopnia doktora habilitowanego określonym w art. 219 ust.1 pkt 2 i wyrażam pozytywną ocenę przedstawionego dorobku, który wnosi ważny wkład w rozwój dyscypliny nauki medyczne.

Kieruję więc do Komisji powołanej do przeprowadzenia postępowania habilitacyjnego Pani dr. Małgorzaty Bernatek wniosek o sporządzenie opinii popierającej nadanie Kandydatowi stopnia naukowego doktora habilitowanego.

dr hab. n.med. Piotr Dziechciarz
Piotr Dziechciarz
pediatra
gastroenterolog dziecięcy
5284586

Warszawa 2.04.2024

dr hab. n. med. Piotr Dziechciarz



WARSZAWSKI
UNIwersytet
MEDYCZNY

KLINIKA PEDIATRII

Dr hab. med. Piotr Dziechciarz
e-mail: piotr.dziechciarz@wum.edu.pl

Ocena osiągnięcia naukowego:

**„Kolka jelitowa u niemowląt - diagnostyka i dobór optymalnej
terapii probiotykowej”**

Dr n.med. Małgorzaty Bernatek

Podstawa prawna

Niniejsza ocena została wykonana zgodnie z zapisami art. 219 i 221 ust. 8 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2020r., poz. 85 ze zm.) na wniosek Rady Doskonałości Naukowej

Ocena formalna

Oceny osiągnięć i dorobku Pani dr n.med. Małgorzaty Bernatek dokonałem na podstawie dostarczonych mi materiałów: (1) autoreferatu, zawierającego omówienie osiągnięcia naukowego będącego podstawą wniosku, (2) wykazu opublikowanych przez habilitantki prac naukowych, (3) wykazu projektów badawczych, w których habilitant brał udział, (4) informacji o stażach, współpracy naukowej, osiągnięciach recenzenckich i działalności w towarzystwach naukowych (3) oświadczeń współautorów o ich wkładzie w poszczególne prace oraz (5) danych bibliometrycznych.

Warunki nadania stopnia doktora habilitowanego zostały unormowane w art. 219 ust. 1 i 2. ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku.

Zgodnie z tym przepisem stopień doktora habilitowanego nadaje się osobie, która:

- 1) posiada stopień doktora;
- 2) posiada w dorobku osiągnięcia naukowe albo artystyczne, stanowiące znaczny wkład w rozwój określonej dyscypliny, w tym co najmniej:
 - a) 1 monografię naukową wydaną przez wydawnictwo, które w roku opublikowania monografii w ostatecznej formie było ujęte w wykazie sporządzonym zgodnie z przepisami wydanymi na podstawie art. 267 ust. 2 pkt 2 lit. a, lub
 - b) 1 cykl powiązanych tematycznie artykułów naukowych opublikowanych w czasopismach naukowych lub w recenzowanych materiałach z konferencji międzynarodowych, które w roku opublikowania artykułu w ostatecznej formie były ujęte w wykazie sporządzonym zgodnie z przepisami wydanymi na podstawie art. 267 ust. 2 pkt 2 lit. b, lub
 - c) 1 zrealizowane oryginalne osiągnięcie projektowe, konstrukcyjne, technologiczne lub artystyczne;
- 3) wykazuje się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej.

W swojej recenzji odniosę się więc jedynie do tych punktów kładąc nacisk na merytoryczną ocenę cyklu 5 prac przedstawionej przez habilitantkę.

Ocena merytoryczna

Rozprawę habilitacyjną tworzy cykl 5 powiązanych tematycznie artykułów naukowych opublikowanych w czasopismach naukowych które w roku opublikowania artykułu w ostatecznej formie były ujęte w wykazie sporządzonym zgodnie z przepisami wydanymi na podstawie art. 267 ust. 2 pkt. Ich łączna wartość współczynnika Impact factor wynosi 18,05, a suma punktów zgodnie z wykazem Ministra Edukacji i Nauki wynosi 420 punktów. Prace

spełniają wymogi ujęcia ich w wykazie sporządzonym zgodnie z przepisami wydanymi na podstawie art. 267 ust. 2 pkt 2 lit. b.

Wkład w daną dziedzinę medycyny jest funkcją kilku elementów: istotności poruszanego przez habilitanta zagadnienia, odpowiedniej metodyki badań, rzetelności w ich przeprowadzeniu oraz właściwie przedstawionych raportów z tych badań (artykułami naukowymi).

Poruszany przez habilitantkę aspekt stosowania probiotyków jest istotny z powodu dużego rozpowszechnienia ich stosowania, szczególnie w populacji pediatrycznej. Należy podkreślić, że niemal wszystkie probiotyki zarejestrowane w naszym kraju są suplementami diety, które nie muszą przechodzić rygorystycznej oceny przed dopuszczeniem do sprzedaży, dlatego postmarketingowe badania funkcjonalnych właściwości probiotyków przez niezależne od przemysłu ośrodki badawcze są istotne z medycznego i naukowego punktu widzenia.

Kolka niemowlęca występuje u 20-30% małych niemowląt i choć stanowi przejściowe zaburzenie czynnościowe to jej krótko- i długofalowe konsekwencje, w tym obciążenie służby zdrowia, są istotnymi problemami nie tylko medycznymi ale również społecznymi.

Dlatego zagadnienie poruszane w pracach przedstawionych do oceny przez habilitantkę należy uznać za istotne z punktu widzenia współczesnej wiedzy medycznej.

W zaleceniach Rady Doskonałości Naukowej wskazane jest, aby recenzje były „kompletne, rzetelne, dokładne i obiektywne, a oceny odpowiednio uzasadnione” dlatego, pomimo faktu, że wszystkie przedstawione prace zostały opublikowane w recenzowanych czasopismach i przeszły już sito niezależnych ewaluacji, recenzent zdecydował się ponownie ocenić wszystkie 5 prac pod względem metodologii oraz raportowania wyników.

Drobnym uchybieniem jest umieszczenie przez habilitantkę w tytule osiągnięcia naukowego pojęcia „kolka jelitowa” – według obowiązującego nazewnictwa

powinno być kolka niemowlęca, którego zresztą konsekwentnie używa dalej w swoim autoreferacie.

Odnosnie dwóch prac przeprowadzonych warunkach in vitro habilitantka w autoreferacie deklaruje, że: „W mojej pracy naukowej prowadzonej w ostatnich latach określiłam najważniejsze kryteria doboru najefektywniejszych preparatów rynkowych zawierających mikroorganizmy probiotyczne.”. Recenzent przyjmuje jednak skromniejszą ocenę efektu prac habilitantki a mianowicie: efektem badań było określenie niektórych funkcjonalności niektórych preparatów probiotycznych zarejestrowanych na rynku polskim w warunkach wybranych modeli in vitro.

Poniżej przedstawiono szczegółowe uwagi do każdej z prac

1. Bernatek M, Żukiewicz-Sobczak W , Lachowicz-Wiśniewska W, Piątek J “Factors Determining Effective Probiotic Activity: Evaluation of Survival and Antibacterial Activity of Selected Probiotic Products Using an “In Vitro” Study”. *Nutrients* 2022, 14(16), 3323.

Badanie analizowało dezintegracje kapsulek preparatów probiotycznych oraz przeżywalność mikroorganizmów probiotycznych w tych preparatach. Badanie zostało przeprowadzone – jak deklaruje habilitantka - na samodzielnie opracowanym modelu eksperymentu naśladujący in vitro warunki kwasowe panujące w świetle żołądka oraz w kolejnym etapie, w obecności soli kwasów żółciowych odpowiadającym ich stężeniu w soku dwunastniczym. Ponadto w pracy przeanalizowano zdolności hamowania rozwoju patogenów przewodu pokarmowego przez drobnoustroje probiotyczne metodą bargrafu wg Strusa. Obie części badania odnosiły się do pięciu preparatów probiotyków dostępnych na rynku. Oceniając pracę habilitantki należy zauważyć, że model badania dezintegracji kapsulek jest modelem autorskim i w artykule nie ma wzmianki czy został poddany wcześniejszej walidacji. Model zaproponowany przez habilitantkę jest stosunkowo prosty i nie wiadomo w jakim stopniu imituje rzeczywiste zjawiska w żołądku i dwunastnicy, które są dalece bardziej skomplikowane. Należy jednak zaznaczyć, że protokoły testowania dezintegracji

kapsulek in vitro różnią się między sobą i nie ma jednej powszechnie stosowanej metody, dlatego metoda przyjęta przez autorkę nie może być odrzucona jako niewłaściwa.

Ocena zdolności hamowania rozwoju patogenów przewodu pokarmowego przez drobnoustroje zawarte w pięciu preparatach probiotyków została wykonaną metodą co prawda wcześniej opisaną, ale poza granicami naszego kraju szerzej nieznaną, co niestety zmniejsza wpływ międzynarodowy tej pracy. Należy jednak zaznaczyć, że również i w tym przypadku nie ma jednej standardowej metody testowania przeciwbakteryjnych właściwości probiotyków co sprawia, że również i tę część badania należy uznać za poprawną metodycznie.

Dyskusja wyników została przeprowadzona sprawne, zgodnie z zasadami pisania prac naukowych, jednak zabrakło w niej opisanie słabych stron badania. Krytyczna analiza własnych wyników wskazuje na dojrzałość badacza i powinna być uwzględniona w każdym omówieniu własnych wyników.

Recenzentowi trudno zgodzić się w pełni z wnioskiem wysuniętym przez habilitantkę „Można jednoznacznie stwierdzić, że im większa różnorodność szczepów bakterii w danym preparacie probiotycznym, tym większa zdolność tej populacji do hamowania rozwoju bakterii patologicznych w warunkach in vitro. Analiza wykonana była jedynie dla 5 preparatów i nie można jej ekstrapolować na inne probiotyki. Działanie probiotyków jest szczepozależne i nie zawsze bywa synergistyczne. Należałoby ostrożniej sformułować ten wniosek i odnieść go tylko do preparatów badanych ponadto unikając słowa „jednoznacznie”. Precyzja w formułowaniu wniosków płynących z prac własnych jest niewątpliwą zaletą każdego autora prac naukowych.

2. Bernatek M, Sommermeyer H, Wojtyła A I wsp “The factors determining effective probiotic activity - evaluation of survival and antibacterial activity of selected probiotic products: an "in-vitro" study”. J Health Inequal 2023; 9

Celem kolejnej pracy była ocena oporności na stres osmotyczny mikroorganizmów zawartych w różnych preparatach rynkowych probiotyków w roztworze 4% NaCl oraz ich przeżywalność podczas inkubacji w różnych stężeniach kwasu solnego.

Zarówno metodyka badania jak i przedstawienie wyników nie budzi wątpliwości recenzenta. Wyniki przedstawione są rzetelnie zgodnie z zasadami przedstawienia wyników prac naukowych.

Podobnie jak w przypadku poprzedniego artykułu autorzy w dyskusji swojej pracy nie opisali jej słabych stron. Ponadto niestety nie oparli się pokusie nadmiernego „wyostrzenia” w abstrakcie wniosku z badań: „Najwyższego możliwego efektu terapeutycznego można oczekiwać od preparatów probiotycznych zawierających największą różnorodność szczepów bakteryjnych”. Jest to nieuprawniona interpretacja własnych wyników, z trzech powodów: po pierwsze jest to badanie in vitro, a o efektach klinicznych można mówić po przeprowadzeniu badań klinicznych z randomizacją. Po drugie istnieją istotne dowody z badań in vitro i jak i badań na zwierzętach, że zarówno żywe, jak i martwe komórki probiotyczne charakteryzują pewnymi efektami biologicznymi, dlatego przeżywalność bakterii jest tylko jednym z elementów wpływających na efekty kliniczne. Po trzecie efekty probiotyków są szczepozależne i wniosek nie może być sformułowany tak ogólnie i nie należy go przenosić na inne preparaty probiotyczne.

Z badań analizujących abstrakty publikacji naukowych wiadomo, że niemały odsetek autorów formułuje swoje wnioski z tzw. nadmiernym spinem, tym niemniej poważny badacz powinien unikać twierdzeń, które nie wynikają jednoznacznie z jego badań.

Kolejne dwa badania są badaniami z randomizacją (RCT), które analizują efekty kliniczne wieloszczepowego probiotyku oraz synbiotyku u niemowląt z kolką niemowlęcą. We współczesnej medycynie badania z randomizacją są najwyżej plasowane jako badania pierwotne w hierarchii dowodów naukowych i

uważane są za bardzo wiarygodne źródło informacji. Nie ma dziedziny w medycynie w której nie wskazywano by na ogromną potrzebę prowadzenia dobrze zaplanowanych badań z randomizacją, jednak w wielu przeglądach systematycznych podkreśla się niedostatki metodologiczne analizowanych badań, które nie pozwalają na wyciągnięcie wiążących wniosków.

Ze względu na duże trudności prowadzenia badań w populacji pediatrycznej każde tego typu badanie jest szczególnie istotne, zwłaszcza jeśli odpowiada na ważny problem kliniczny. Wobec niewielkiej ilości danych naukowych wskazujących na skuteczność w kolce niemowlęcej tylko niektórych probiotyków (w tym jednego zarejestrowanego w Polsce) podjęcie się trudu przeprowadzenia badań RCT wydaje się recenzentowi istotne zarówno z naukowego jak i klinicznego punktu widzenia.

3. Bernatek M, Piątek J, Pszczoła M i wsp. „Nine-strain bacterial synbiotic improves crying and lowers faecal calprotectin in colicky babies: an open-label randomized study”. *Microorganisms* 2022, 10 (2) (430).

W badaniu autorzy postawili sobie za cel ocenę wpływu dziewięcioszczepowego synbiotyku w porównaniu do simetikonu na czas trwania płaczu ocenianego za pomocą kwestionariusza oraz na poziom kalprotektyny w kale u ambulatoryjnych dzieci w wieku 3-6 tygodni z kolką niemowlęcą, zdiagnozowaną na podstawie kryteriów Wessela. Badanie przeprowadzono metodą otwartą, właściwie dobierając preparat porównawczy (simetikon), którego efekt w kolce niemowlęcej jest podobny do placebo. Badanie zostało przeprowadzone i opisane zgodnie z zasadami poprawności naukowej jednak obciążone jest pewnymi mankamentami wynikającymi albo z nieprawidłowego opisu badania albo z niestosowania się do niektórych zasad prowadzenia badań RCT.

1. Podane wyniki nie odpowiadają wszystkim punktom końcowym przedstawionym w protokole badania zarejestrowanego na stronie rejestracyjnej badania Clinical Trials Gov. Nie przedstawiono wyników

wskazanych jako pierwszy pierwotny punkt końcowy. Nie jest jasne czy przedstawiony w protokole badania drugi pierwotny punkt końcowy jest tożsamy z opisanym w tekście. Autorzy nie przedstawili w pracy wyjaśnienia powodu dla których dokonano zmian w punktach końcowych.

2. Autorzy nie opisali metod utajnienie alokacji (allocation concealment), które jest jednym z podstawowych kryteriów wiarygodności badań z randomizacją, ponieważ zapobiega świadomemu lub podświadomemu wpływowi osoby kwalifikującej pacjenta do badania na wybór interwencji, co może skutkować wyjściową nierównowagą czynników rokowniczych w grupach. Utajnienie alokacji jest szczególnie istotne w prowadzeniu badań RCT wykonywanych metodą otwartą.
3. Mimo założeń deklarowanych w metodyce badania nie przedstawiono dla żadnego z klinicznych parametrów wyników liczbowych analizy statystycznej. Dlatego stwierdzenia autorów: „Różnica [między badanymi grupami] w czasie płaczu wynosiła 1,44 min/dzień została uznana za wysoce znaczącą różnicę”, „Pod koniec leczenia (dzień 28) w niniejszym badaniu, różnica między średnim dziennym czasem trwania płaczu w grupie simetikonu i synbiotyku wynosiła 39,2 min.- różnica, która jest nie tylko istotna statystycznie ale jest również najprawdopodobniej doceniana przez rodziców.” „Wyniki niniejszego badania wskazują, że synbiotyk wieloskładnikowy można uznać za jako opcję leczenia mającą na celu skrócenie czasu trwania płaczu u dzieci z kolką” nie mogą być uznane za udokumentowane. Wyniki badań wymagają przedstawienia zgodnie z rekomendacjami CONSORT i wysłania korekty do czasopisma. Brak udokumentowanych wyników prac klinicznych poza aspektem poznawczym ma również aspekty etyczne związane z nieraportowaniem wyników badań przeprowadzanych na ludziach.

Mimo tych mankamentów podjęte wysiłki związane z przeprowadzeniem badania z randomizacją należy ocenić wysoko.

Odnosnie części pracy oceniającej poziom kalprotektyny u dzieci z kolką niemowlęcą recenzent czuje się w obowiązku podzielić jedną uwagę. We wnioskach autorzy twierdzą, że: "Dane z badania sugerują również, że pomiar kalprotektyny w kale może być stosowany do wspomagania diagnostyki kolki niemowlęcej, a także monitorowania efektów leczenia". Wniosek ten jest nieuprawniony bo współcześnie kolkę niemowlęcą rozpoznaje się wyłącznie za pomocą objawów klinicznych i nie wymaga to, żadnego „wspomagania”. Na poziom kalprotektyny w kale wpływa nie tylko stan zapalny jelitach, ale również wiek niemowlęcia, infekcje górnych dróg oddechowych, stres bólowy oraz, jak wykazano w niektórych badaniach, również metoda karmienia. W praktyce klinicznej może to utrudniać interpretacje wyników, a nawet prowadzić do błędnych wniosków, implikować u rodziców niezasadny niepokój i domaganie się przeprowadzenia dalszych niepotrzebnych badań czy dodatkowych terapii. Ocena kalprotektyny dokonana u dzieci z kolką dokonana przez autorów ma jednak charakter poznawczy i potwierdza wyniki innych badań.

4. Piątek J, Bernatek M, Krauss H i wsp.. "Effects of a nine-strain bacterial synbiotic compared to simethicone in colicky babies: an open-label randomised study" *Beneficial Microbes*. 2021, 12 (3), 249-257

W kolejnym badaniu RCT dokonano oceny wpływu dziewięcioszczepowego synbiotyku na objawy kliniczne kolki niemowlęcej. Podobnie jak w przypadku poprzedniej pracy badanie przeprowadzono metodą otwartą, właściwie dobierając preparat porównawczy (simetikon), którego efekt w kolce niemowlęcej jest podobny do placebo. Opis przeprowadzonego badania poza nielicznymi punktami jest przeprowadzony zgodnie z zasadami obowiązującymi przy raportowaniu badań z randomizacją. Analizując badanie według listy kontrolnej CONSORT stwierdzono pewne uchybienia. Pierwszym z nich jest nie uwzględnienie informacji o 95% przedziale ufności dla pierwotnych punktów końcowych w tabeli 2 co sprawia, że trudno jest ocenić rzeczywisty efekt preparatu probiotycznego i może to powodować, że wyniki

nie zostaną uwzględnione w systematycznych przeglądach piśmiennictwa badań z randomizacją (wskazane byłoby wysłanie korekty do czasopisma). Drugim uchybieniem jest fakt, że brak jest informacji na temat finansowania badania np. kto finansował zakup preparat synbiotycznego.

Ponadto zbyt lakonicznie opisany jest proces rekrutacji pacjentów, którzy mieli być rekrutowani w szpitalach poznańskich - nie wiadomo czy byli to pacjenci hospitalizowani z powodu kolki czy z innych przyczyn, czy byli to pacjenci ambulatoryjnie rekrutowani na SOR. Profil włączanych pacjentów jest istotny dla poprawnego opisanie populacji biorącej udział w badaniu. Z punktu widzenia czystości zasad publikacji nieprawidłowe jest to, że badanie zostało zarejestrowane już po jego wykonaniu i tuż przed wysłaniem do redakcji.

Należy jednak zauważyć, że rekrutacja przebiegała bardzo szybko, w bardzo trudnym dla badań klinicznych okresie między kwietniem a lipcem 2020.

Mimo tych mankamentów podjęte wysiłki związane z przeprowadzeniem tego badania należy ocenić wysoko.

5. Sommermeyer Henning, Bernatek Małgorzata, Pszczoła Marcin, Krauss Hanna, Piątek Jacek. "Supporting the diagnosis of infantile colic by a point of care measurement of faecal calprotectin" *Frontiers in Pediatric*. 2022, 10 (978545).

Ostatnie badanie jest pracą które w opinii recenzenta jest badaniem trafności diagnostycznej oznaczenia poziomu kalprotektyny powyżej 100 µg/g w rozpoznawaniu kolki niemowlęcej. Zgodnie ze standardami dotyczącymi raportowania badań trafności diagnostycznej STARD wskazane jest podanie w pracy wszystkich parametrów testu diagnostycznego takich jak czułość, swoistość, dodatnia wartość predykcyjna, ujemny oraz dodatni wskaźnik wiarygodności (inaczej zwanymi ilorazem wiarygodności wyniku ujemnego oraz ilorazem wiarygodności wyniku dodatniego) z 95% przedziałami ufności, optymalnie z przedstawieniem tabeli 2x2. Niestety autorzy w swojej pracy opisali tylko wyniki jednego parametru czyli dokładność (accuracy). Co więcej

ocenili ją na poziomie 90% (bez przedstawienia, żadnych wyliczeń tego wyniku i 95% przedziału ufności) pisząc w następnym zadaniu, że w badanej grupie, wyniki fałszywie dodatnie wyniosły 13,2% a fałszywie ujemnie 11,2% z czego wynika, że dokładność testu wynosi mniej niż 80%. Brak podania danych, które służyły do obliczenia wyniku pozostawia czytelnika z wątpliwościami odnośnie prawidłowości wyliczeń.

W dyskusji niestety nie przedstawiono metodycznych ograniczeń badania, w tym źródeł potencjalnego błędu systematycznego, brakiem wyliczenia wielkości grupy oraz niepewności statystycznej wyników. Podobnie jak w poprzednim badaniu autorzy szczególną wagę przypisują praktycznym aspektom oznaczenia kalprotektyny u dzieci z kolką niemowlęcą, z którymi recenzent się nie zgadza (patrz wyżej).

Jednak nie umniejsza to wartości badania, którego głównym mankamentem jest niepełne raportowanie wyników badań oraz brak opisanych metodycznych ograniczeń badania.

Podsumowując: całość przedstawionego cyklu prac należy ocenić pozytywnie. Pomimo pewnych wad metodycznych wyszczególnionych powyżej, opublikowane badania posiadają dużo elementów wartościowych i pozwalają na uznanie ich jako dość ważny wkład w dziedzinę medycyny. Przeprowadzenie 2 badań RCT, 1 badania trafności diagnostycznej testu oraz dwóch 2 prac in vitro świadczy nie tylko o dużej pracowitości ale i o znacznym zacięciu naukowym oraz szerokich zainteresowań habilitantki szczególnie, że jest ona przy tym czynnym lekarzem.

Ocena aktywności naukowej realizowaną w więcej niż jednej uczelni

Informacja zawarta w autoreferacie pani Dr Małgorzaty Bernatek dowodzi, że wykazywała się ona istotną aktywnością naukową realizowaną w więcej niż jednej uczelni w tym Uniwersytecie Medycznym im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, Instytutem

Medycyny Wsi w Lublinie oraz Uniwersytetem Przyrodniczym w Poznaniu (wspólne publikacje).

Reasumując, potwierdzam, że przedstawione do oceny habilitacyjne osiągnięcie naukowe pani doktor nauk medycznych Małgorzaty Bernatek, zreferowane na podstawie pięciu, powiązanych tematycznie publikacji oraz aktywność naukowa realizowaną w więcej niż jednej uczelni odpowiada wszystkim warunkom nadania stopnia doktora habilitowanego określonym w art. 219 ust.1 pkt 2 i wyrażam pozytywną ocenę przedstawionego dorobku, który wnosi ważny wkład w rozwój dyscypliny nauki medyczne.

Kieruję więc do Komisji powołanej do przeprowadzenia postępowania habilitacyjnego Pani dr. Małgorzaty Bernatek wniosek o sporządzenie opinii popierającej nadanie Kandydatowi stopnia naukowego doktora habilitowanego.

dr hab. n.med. Piotr Dziechciarz
pediatra
Piotr Dziechciarz
5284586

Warszawa 2.04.2024

dr hab. n. med. Piotr Dziechciarz