



2 W 9

WARSZAWSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY
MEDICAL UNIVERSITY OF WARSAW

Klinika Pediatrii z Oddziałem Obserwacyjnym
Warszawa, ul. Żwirki i Wigury 63 A

Warszawa, dn. 2019.07.28

Recenzja pracy doktorskiej mgr Marty Prygiel p.t. „Ocena w badaniach na modelu mysim ochronnych właściwości szczepionki eksperymentalnej w porównaniu do szczepionek stosowanych w powszechnych szczepieniach ochronnych, przy użyciu szczepów *Bordetella pertussis* o zróżnicowanym profilu genetycznym”

wykonanej pod kierunkiem promotora, dr hab. n. med. Aleksandry Anny Zasady, profesora NIZP-PZH oraz promotora pomocniczego: dr n. med. Ewy Mosiej z Zakładu Badania Surowic i Szczepionek Narodowego Instytutu Zdrowia Publicznego - Państwowego Zakładu Higieny w Warszawie.

Uwagi wstępne

W swojej opinii założyłem, że mgr Marta Prygiel spełnia wymagania zawarte w artykułe 11 *Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym* oraz *Rozporządzenia Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 19 stycznia 2018 r. w sprawie szczegółowego trybu i warunków przeprowadzania czynności w przewodzie doktorskim, w postępowaniu habilitacyjnym oraz w postępowaniu o nadanie tytułu profesora*, które z mocy art. 179 ust. 1 *Ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. - Przepisy wprowadzające ustawę - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce* nadal obowiązują dla przewodów doktorskich wszczętych w okresie do dnia 30.04.2019 r. z tym, że stopień lub tytuł nadaje się zgodnie z klasyfikacją dziedzin nauki i dyscyplin naukowych oraz dyscyplin artystycznych (Dz. U. z 2018 r. poz. 1818).

Zgodnie cytowaną podstawą prawną, celem mojej recenzji jest stwierdzenie spełnienia wymogów określonych artykułe 13 ust. 1. *Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym*, to jest przedstawienie szczegółowego uzasadnienia, że oceniana rozprawa doktorska stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, a doktorantka wykazuje ogólną wiedzę teoretyczną w dyscyplinie biologii medycznej oraz umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej.

Niniejszym stwierdzam, że mgr Marta Prygiel spełnia wymienione wymagania. Podstawą mojej oceny była lektura pracy, publikacji doktorantki i piśmiennictwa z zakresu zagadnienia, jak też posiadana wiedza oraz doświadczenie wynikające z zaangażowania naukowego w dziedzinie nauk medycznych, nauk biologicznych oraz nauk o zdrowiu. Poniżej przedstawiam uzasadnienie.

Ocena znaczenia problemu badawczego i oryginalności rozwiązania przedstawionego w pracy doktorskiej

Doktorantka w swojej rozprawie zajęła się problemem obserwowanej od kilku lat zmniejszonej skuteczności szczepionek przeciwko krztuścowi jako możliwej przyczyny nawrotu choroby. Jak wiadomo, czynnikiem etiologicznym krztuśca jest Gram ujemna pleomorficzna, tlenowa pałeczka krztuśca, *Bordetella pertussis*. Pomimo programów powszechnych szczepień ochronnych krztusiec pozostaje endemiczny globalnie i nadal uznawany jest za istotny problem zdrowia publicznego. Szacuje się, że w 2014 roku na całym świecie na krztusiec zachorowało 24 miliony osób z czego 160 700 dzieci poniżej 5 roku życia zmarło (WHO, 2015). W Polsce w latach 50. XX wieku przed wprowadzeniem powszechnych szczepień zgłaszano rocznie ponad 50 tysięcy przypadków krztuśca, które były przyczyną ponad 1000 zgonów niemowląt (1580 zgonów w 1950 roku). Po wprowadzeniu obowiązkowych szczepień, w latach 60. XX wieku choroba nadal występuje, jednak nie prowadzi do śmierci. Na rynku dostępne są dwa rodzaje szczepionek przeciw krztuścowi: całokomórkowe będące zawiesinami całych, inaktywowanych komórek *B. pertussis* oraz bezkomórkowe zawierające wybrane, oczyszczone antygeny *B. pertussis*. Ze względu na to, iż szczepionki zawierające całe komórki *B. pertussis* uznawane są za jedne z bardziej reaktogennych, mniej odczynowe szczepionki bezkomórkowe zaczęły wypierać szczepionki całokomórkowe. Obecnie zapadalność na krztusiec jest znacznie niższa niż w erze przed rozpoczęciem szczepień, jednak od połowy lat 90-tych obserwowany jest stabilny wzrost zapadalności w krajach o wysokim odsetku szczepienia populacji, w tym w Polsce.

Teza rozprawy zakładała, że wzrost zachorowań na krztusiec obserwowany od połowy lat 90-tych w Polsce oraz w innych krajach o wysokim odsetku zaszczepionej populacji wynika zarówno z zanikania odporności poszczepiennej, jak również z presji selekcyjnej wywieranej przez powszechne szczepienia i pojawienia się nowych szczepów pałeczki krztuśca, antygenowo odmiennych od wchodzących w skład szczepionek wariantów *B. pertussis*, a przez to potencjalnie mniej wrażliwych na działanie odpowiedzi odpornościowej indukowanej przez obecnie stosowane szczepionki. Poza tezą (hipotezą) wyraźnie wymienia jej cele. Celem głównym pracy było „określenie wpływu typu oraz dawek szczepionek przeciw krztuścowi – całokomórkowej eksperymentalnej oraz szczepionek

komercyjnych (całokomórkowej i bezkomórkowej) na uzyskiwanie przewagi selekcyjnej przez szczepy *B. pertussis* o różnych genotypach, podczas zakażeń *in vivo* myszy doświadczalnych immunizowanych zmniejszającymi się dawkami badanych szczepionek". Zweryfikowanie przyjętej hipotezy Doktorantka zamierzała osiągnąć przez:

- ocenę trendu eliminacji w czasie z płuc myszy immunizowanych różnymi dawkami poszczególnych szczepionek szczepów *B. pertussis*, o różnych profilach genetycznych;
- określenie różnic odpowiedzi poszczepiennej wobec kilku wybranych antygenów: toksyny krztuścowej, pertaktyny, hemaglutyniny włóknikowej oraz fimbrii typu 2 i 3 u myszy szczepionych zmniejszającymi się dawkami poszczególnych szczepionek
- ocenę czy rodzaj i dawka szczepionki oraz czas podania mają wpływ na tempo eliminacji szczepu o określonym genotypie
- sprawdzenie czy profil genetyczny alleli kodujących immunogenne czynniki zjadliwości ma wpływ na uzyskanie przewagi selekcyjnej szczepu.

Istotą pracy było określenie wpływu zastosowanego rodzaju oraz dawek szczepionek przeciw krztuścowi – dwóch całokomórkowych: eksperymentalnej (wP-exp) oraz komercyjnej (wP) oraz jednej z dostępnych na rynku szczepionki bezkomórkowej (aP) na uzyskiwanie przewagi selekcyjnej przez szczepy *B. pertussis* o różnych profilach genetycznych, w zakażeniach *in vivo* myszy doświadczalnych uodpornianych zmniejszającymi się dawkami badanych szczepionek.

Celem sprawdzenia hipotezy przeprowadzono doświadczenia *in vivo* na około 5-tygodniowych myszach domowych szczepu BALB/cAnNCriCmd, ze stada wsobnego pochodzącego z Instytutu Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN im. M. Mossakowskiego w Warszawie. Zwierzęta losowo dzielono na grupy, używając do wykonania jednego doświadczenia 4 grup liczących po 16 sztuk. Zwierzęta z 3 grup były szczepione, natomiast czwarta grupa pełniła rolę kontroli i otrzymywała sól fizjologiczną. Dla każdej badanej szczepionki przeprowadzono 9 doświadczeń, zatem łącznie w doświadczeniach użyto 1728 zwierząt. Opis metodologii badania wskazuje, że zastosowano w miarę możliwości zasadę 3R (*Replecment, Reduction, Refinement*), a badanie należy zakwalifikować jako serię przedklinicznych doświadczeń na losowo wybranych zwierzętach z kontrolą placebo.

Uodpornianie zmniejszającymi się dawkami szczepionek stanowiło symulację spadku poziomu odpowiedzi ochronnej w czasie. W pracy przeprowadzono analizę dynamiki eliminacji z tkanki płuc myszy immunizowanych szczepionkami komercyjnymi oraz szczepionką eksperymentalną zawierającą w składzie szczepu *B. pertussis* zastosowane do zakażenia infekcji wywołanych przez szczepy *B. pertussis* o różnych profilach genetycznych (alleli genów kodujących czynniki wirulencji). Dodatkowo określono różnice oraz dynamikę

odpowiedzi poszczepiennej wobec kilku antygenów: PT (toksyny krztuścowej), PRN (pertaktyny), FHA (hemaglutyniny włókienkowej) oraz FIM (fimbrii typu 2 i 3) u myszy szczepionych zmniejszającymi się dawkami poszczególnych szczepionek. Najważniejsze wyniki przeprowadzonych badań można podsumować następująco: zwierzęta traktowane eksperymentalną szczepionką wP-exp skuteczniej eliminowały zakażenie niż po szczepionkach komercyjnych, a uodpornienie szczepionką całokomórkową wP zwiększało, średnio o 7 dni, szybkość eliminację bakterii w porównaniu ze szczepionką bezkomórkową aP, bez względu na użytą dawkę. Szczepionki całokomórkowe wzbudzały istotnie większe stężenia swoistych przeciwciał IgG anty-PRN niż szczepionka aP, natomiast jedynie szczepionka aP wzbudzała wytworzenie swoistych przeciwciał IgG anty-PT. Szczep *B. pertussis* wyizolowany z 2012 roku (1/12) utrzymywał się w płucach zwierząt dłużej niż szczep *B. pertussis* z 2007 roku (1330/07) lub mieszanina obu z nich, a tempo jego eliminacji było proporcjonalne do zastosowanej dawki szczepionki. Do najważniejszych wniosków, jakie można wysnuć z wyników badań Doktorantki należy potwierdzenie tezy, że skuteczność szczepionki zależy od jej zgodności z obecnie krążącymi szczepami pałeczek krztuśca, zatem uaktualnienie składu szczepionek poprawi ich skuteczność oraz to, że stosowanie szczepionek całokomórkowych w porównaniu do szczepionek bezkomórkowych powoduje szybszą eliminację pałeczek *B. pertussis*, natomiast uodpornianie szczepionkami bezkomórkowymi aP sprzyja rozwojowi bezobjawowego nosicielstwa i rozprzestrzenianiu pałeczek krztuśca w populacji wrażliwej.

Autorka przekonująco uzasadnia wybór tematu, buduje właściwą hipotezę badawczą, określa cele pracy jak też trafnie dostrzega lukę w obecnej wiedzy oraz potrzebę jej uzupełnienia wynikłą z sytuacji epidemiologicznej. Przedstawione przez Doktorantkę hipoteza badawcza oraz cele cechują się oryginalnością pod względem poznawczym, na co wskazałem powyżej.

Uwagi do pracy

Najważniejszą uwagą do pracy jest metodologia oceny wpływu zmniejszającej się z czasem odporności poszczepiennej. W doświadczeniach surogatem upływu czasu była immunizacja z użyciem zmniejszających się dawek szczepionki. Biorąc pod uwagę chociażby zjawisko zwiększającej się awidności oraz odpowiedzi anamnestycznej na dawki przypominające, trudno uznać, by słabsza odpowiedź wzbudzona pod wpływem niskiej dawki antygenów była tożsama ze zmniejszaniem się stężenia przeciwciał poszczepiennych obserwowanym po latach od podania ostatniej dawki przypominającej, nie mniej uznaję, że była to jedyne realnie rozwiązanie by szybko przeprowadzić badanie.

Reasumując, Autorka podjęła oryginalny, nie dostatecznie zbadany problem zdrowia publicznego o dużym znaczeniu praktycznym stosując do jego rozwiązania odpowiednio dobrane metody badawcze. Elementem potwierdzającym samodzielność przeprowadzenia

badania jest jej dokładnie opisana, rozbudowana metodologia badania, na które składała się *de facto* seria 9 eksperymentów przedklinicznych na licznej grupie zwierząt laboratoryjnych. Jakość badania gwarantuje jego przeprowadzenie w renomowanym ośrodku NIZP-PZH, o dużym doświadczeniu badawczym.

Ocena zakresu ogólnej wiedzy teoretycznej w dziedzinie nauk medycznych w dyscyplinie biologia medyczna wykorzystanej w pracy

Dysertacja jest wynikiem profesjonalnych zainteresowań mgr Marty Prygiel oraz pracy w renomowanym ośrodku, który umożliwił jej wykonanie. Przedłożona praca doktorska ma charakter interdyscyplinarny, co oceniam wysoko, gdyż dzięki temu Autorka wykazała się aktualną wiedzą nie tylko w zakresie biologii medycznej i mikrobiologii lekarskiej, ale też immunologii, chorób zakaźnych, wakcynologii, epidemiologii oraz zdrowia publicznego. Znajomość wymienionych dziedzin najbardziej widoczna jest w obszernym wstępie oraz dyskusji, które stanowią wartościowe elementy rozprawy. We wstępie Doktorantka przedstawia biologię bakterii z rodzaju *Bordetella spp.* skupiając się na gatunkach patogennych dla człowieka jak: *Bordetella bronchiseptica*, *Bordetella pertussis* i *Bordetella parapertussis* oraz omawia ich zmienność genetyczną, patogenезę krztuśca i kolejno czynniki zjadliwości, w tym toksynę krztuścową, hemaglutyninę włóknikową, fimbrie i aglutynogeny, pertaktynę, toksynę cyklazy adenylowej, cytotoksynę tchawiczą, toksynę dermonekrotyczną, białko BrkA, lipopolisacharyd, czynnik kolonizacji tchawicy oraz składniki systemu sekrecji typu III. Wyjaśnia, że ekspresja większości czynników zjadliwości zależy od warunków środowiska, a pałeczki krztuśca mogą pod wpływem bodźców fizycznych lub chemicznych zmieniać swój fenotyp na niewirulentny (Bvg-), wirulentny (Bvg+) oraz pośredni (*Bvg intermediate*). Następnie wskazuje na znaczenie poszczególnych antygenów dla rozwoju odporności poszczepiennej oraz co warto podkreślić, przedstawia powiązania działania toksyn z obrazem klinicznym krztuśca. W dalszej części wstępu Autorka wprowadza czytelnika w zagadnienia epidemiologii krztuśca, wskazując, że krztusiec jest chorobą endemiczną, której szczyty epidemii występują co 2 do 5 lat, jak też prezentuje dane historyczne i wpływ powszechnych szczepień ochronnych wprowadzonych w Polsce w 1960 roku. Opis ilustruje adekwatnym materiałem graficznym w postaci opracowanej przez siebie ryciny. Dalej omawia diagnostykę, leczenie i profilaktykę krztuśca. Pod koniec wstępu skupia się na zmienności genetycznej pałeczek *B. pertussis*, modelach zwierzęcych wykorzystywanych w badaniach nad krztuścem oraz dostępnych na rynku oraz nowych szczepionkach przeciwko tej chorobie. Podsumowując, wstęp zawiera wszystkie dane potrzebne do zrozumienia założeń, celów i metodologii pracy i dowodzi dobrej znajomości zagadnienia przez Doktorantkę.

Uwagi do wstępu – proponuję by używać nazwy „toksyna cyklazy adenylowej” zamiast „cyklaza adenylowa”, co trafniej oddaje oryginalną nazwę angielską: „*Adenylate Cyclase Toxin – ACT*” oraz „hemaglutynina włókienkowa” zamiast „włókienkowa hemaglutynina”. Ponadto zwróciłem uwagę na drobne błędy językowe typu „toksyczność komórek” (str 12) czy niezręczne zwroty np. „dość powszechne” (str 19).

W rozbudowanej dyskusji Doktorantka skupia się na przyczynach obserwowanego nawrotu krztuśca pomimo dostępnych od ponad 60 lat szczepień, przypisując go kombinacji kilku przyczyn, w tym krótszej od oczekiwanej ochronie poszczepiennej. Zdaniem Doktorantki zanikająca z czasem odpowiedź immunologiczna może wpływać na zwiększoną częstość zachorowań u młodzieży oraz osób dorosłych, co sprzyja powstaniu rezerwuaru patogenu. Kolejnym istotnym czynnikiem mogącym mieć związek ze wzrostem zachorowań jest adaptacja pałeczek *B. pertussis* do krążenia w populacjach o wysokim odsetku zaszczepionych. Presja selekcyjna, wywierana przez powszechne szczepienia sprzyja wariantom *B. pertussis*, które posiadają mechanizmy umożliwiające unikanie odpowiedzi poszczepiennej jak utrata niektórych antygenów, szczególnie tych o silnych właściwościach immunogennych lub przeciwnie wytwarzanie większej ilości toksyn. Przykładowo, wśród obecnie krążących szczepów *B. pertussis* dominują allele pertaktyny prn2, prn3 oraz prn4, stopniowo wypierające allel prn1, występujący u wszystkich szczepów dotychczas stosowanych do produkcji szczepionek całokomórkowych, jak też wykazano, że szczepy o typie ptxP3 promotora toksyny krztuścowej wytwarzają 1,6 razy więcej toksyny krztuścowej niż szczepy o typie ptxP1. Autorka krytycznie omawia przeprowadzone przez siebie doświadczenia zwracając uwagę na fakt, że ze względu na to, że naturalne zakażenia *B. pertussis* dotyczą tylko człowieka, nie jest dostępny model zwierzęcy w pełni odzwierciedlający proces chorobowy u ludzi. Przekonująco wyjaśnia, czym kierowała się dobierając profil genetyczny szczepów testowych *B. pertussis* - za najważniejsze uznała dwa białka: toksynę krztuścową oraz pertaktynę, w związku z tym zastosowała szczepy różniące się allelami genu pertaktyny (prn), genu kodującego podjednostkę S3 toksyny krztuścowej (ptxC) oraz sekwencją promotora genu toksyny krztuścowej (ptxP). Uzasadnia metodologię badań własnych podkreślając, że model myszy odegrał istotną rolę w badaniach nad odpowiedzią immunologiczną w przebiegu zakażenia *B. pertussis*, jak też, że donosowy model zakażenia myszy jest wykorzystywany do kontroli szczepionek przeciw krztuścowi oraz że dowiedziono, że klirens eliminacji bakterii z płuc myszy zakażanych donosowo koreluje ze skutecznością kliniczną szczepionki. Zwraca uwagę na małą zmienność i powtarzalność wyników uzyskanych w przyjętym modelu, który potwierdził prawdziwość przyjętej hipotezy badawczej - różnice genetyczne między szczepami użytymi do przygotowania szczepionki, a wywołującymi zakażenie wpływały na efektywność szczepionek. Doktorantka wyjaśnia, że immunizacja myszy niskimi dawkami szczepionek

(aP oraz wP) prowadzi do eliminacji szczepu *B. pertussis* w tempie zależnym od jego profilu genetycznego, podczas gdy wysoka dawka każdej z badanych szczepionek zapewnia odporność niezależnie od profilu genetycznego, co oznacza, że w przypadku zanikającej odporności zwiększa się znaczenie różnic między szczepionką a genotypem szczepu powodującego zakażenie. Doktorantka przywołuje w tekście liczne, starannie dobrane pozycje piśmiennictwa z odpowiedniej dziedziny.

Reasumując, Doktorantka przez swobodne poruszanie się w zagadnieniach związanych z tematyką swojej rozprawy dowiodła posiadania szerokiej, interdyscyplinarnej wiedzy w dziedzinie biologii medycznej i dziedzin pokrewnych.

Ocena umiejętności samodzielnego prowadzenia pracy naukowej wykazanej w trakcie przygotowywania wyników pracy i ich prezentacji


Przestawiona do oceny dysertacja została oparta na wynikach własnego eksperymentalnego badania przeprowadzonego przez Doktorantkę, którego materiał stanowiło ponad 1000 zwierząt laboratoryjnych podzielonych losowo na grupy uodparniane poszczególnymi szczepionkami oraz grupę kontrolną. Liczebność badanej grupy została dobrze oszacowana i wystarczyła do realizacji postawionych celów. Doktorantka uzyskała zgodę Lokalnej Komisji Etycznej ds. Doświadczeń na Zwierzętach (Uchwała numer 19/2014 z dnia 16.06.2014 roku) oraz zorganizowała finansowanie badań w ramach projektu badawczego NCN. Jasno sprecyzowała hipotezę badawczą i cele pracy. Zgodnie z zasadami zaprojektowała badanie. Opisała przejrzystość metodykę pracy i właściwie przeprowadziła eksperymenty na zwierzętach składające się na badanie. Przeprowadziła poprawnie analizę statystyczną. Wyniki opisała odpowiednim dla rozprawy naukowej językiem, z umiejętnym wykorzystaniem tabel i rycin. Doktorantka sprawnie poprowadziła dyskusję oraz wysnuła poprawne pod względem metodologii wnioski. Wywody są spójne i logiczne. Szczególnie przyjemny w czytaniu i płynnie prowadzony jest wywód dotyczący eliminacji zakażenia *B. pertussis* z płuc myszy oraz różnic pod względem skuteczności szczepionek całokomórkowych i bezkomórkowych, zawarte w dyskusji, które to elementy rekompensują wspomniane przeze mnie wyżej niedostatki.

Przygotowana na podstawie przeprowadzonych badań praca doktorska ma typowy układ obejmujący wstęp, założenia i cel pracy, materiały i metody, wyniki, dyskusję, obserwacje i wnioski, streszczenie polskie i angielskie, piśmiennictwo oraz spis rycin i spis tabel. Podkreślam ich prawidłowe proporcje, stąd formę rozprawy oceniam bardzo wysoko. Jestem zdania, że Doktorantka bezspornie dowiodła umiejętności samodzielnego prowadzenia pracy naukowej.

Podsumowanie i wnioski

Po lekturze przedstawionymi mi do oceny rozprawy doktorskiej oraz zapoznaniu się z dorobkiem naukowym Kandydatki, w tym 5 pracami indeksowanymi w bazie Pubmed [1-5], stwierdzam, że podjęty przez Doktorantkę temat jest oryginalny i nowatorski. Przedstawiona mi do recenzji praca cechuje się interdyscyplinarnością i starannością edytorską. Doktorantka w szczegółowy sposób przedstawia potrzebne informacje we wstępie, dyskusję przeprowadza na dobrym poziomie i prawidłowo wyciąga wnioski, które bronią sformułowanej na początku tezy i stanowią odpowiedź na założone cele. Autorka wykazała się dobrą umiejętnością korzystania z literatury przedmiotu zrećnie cytując właściwie dobrane publikacje, co dowodzi dobrej znajomości zagadnienia i aktualnego piśmiennictwa. Doktorantka zna i prawidłowo stosuje metody badawcze, potrafi właściwie zaplanować, zorganizować i przeprowadzić eksperyment przedkliniczny, a następnie poprawnie zinterpretować jego wyniki. Wypracowała dobry warsztat pisarski. Rozprawa doktorska mgr Marty Prygiel posiada walory oryginalności i wnosi wartość dodaną do wiedzy na temat szczepionek przeciwko krztuścowi i tym samym spełnia warunki określone w art. 13 ust. 1 Ustawy o stopniach naukowych z 2003 roku. Pracę oceniam wysoko przede wszystkim za metodologię przeprowadzonych eksperymentów, jak też formę, sposób opracowania wyników i prowadzenie dyskusji.

Reasumując uważam pracę doktorską za wartościową, a jej Autorkę za osobę, która wykazała się zaangażowaniem i dojrzałością cechującą pracownika naukowego. Uwzględniając powyższe, pozytywną konkluzję, którą sformułowałem na początku swojej opinii uznaję za zasadną i wobec spełnienia wymagań dotyczących prac doktorskich podanych w obowiązujących przepisach, mam zaszczyt i przyjemność zwrócić się do Wysokiej Rady Naukowej Państwowego Zakładu Higieny, Narodowego Instytutu Zdrowia Publicznego w Warszawie z wnioskiem o dopuszczenie mgr Marty Prygiel do kolejnego etapu procedowania doktoratu. Jednocześnie ze względu na wspomniane wyżej walory wnioskuję o wyróżnienie pracy.

KIEROWNIK
Kliniki Pediatrii z Oddziałem Obserwacyjnym

dr hab. n. med. Ernest Kuchar

- [1] Prygiel M, Mosiej E, Zasada AA. Szczepienia w ciąży. *Med Dosw Mikrobiol.* 2016;68(3-4):225-234.
- [2] Mosiej E, Krysztopa-Grzybowska K, Polak M, Prygiel M, Lutyńska A. Multi-locus variable-number tandem repeat analysis of *Bordetella pertussis* isolates circulating in Poland in the period 1959-2013. *J Med Microbiol.* 2017 Jun;66(6):753-761. doi: 10.1099/jmm.0.000408.
- [3] Janaszek-Seydlitz W, Prygiel M, Bucholc B, Wiatrzyk A, Czajka U, Górka P, Soliwoda U. Effect of different *Bacillus Calmette-Guerin* substrains on growth inhibition of T24 bladder cancer cells and cytokines secretion by BCG activated peripheral blood mononuclear cells of PBMCs. *Adv Clin Exp Med.* 2014 Nov-Dec;23(6):877-84. doi:
- [4] Prygiel M, Janaszek-Seydlitz W. Skuteczność oraz bezpieczeństwo szczepionek przeciw wirusowi brodawczaka ludzkiego (HPV) *Przegl Epidemiol.* 2012;66(4):657-65.
- [5] Prygiel M, Janaszek-Seydlitz W, Bucholc B. Skuteczność i bezpieczeństwo szczepionek przeciwgruźliczych w zależności od zmienności genetycznej szczepów *Mycobacterium bovis* BCG. *Przegl Epidemiol.* 2011;65(4):621-8