



Małopolskie Centrum Oparzeniowo – Plastyczne,  
Replantacji Kończyn z Ośrodkiem Terapii Hiperbarycznej  
Szpital Specjalistyczny im. Ludwika Rydygiera w Krakowie  
os. Złotej Jesieni 1, 31-826 Kraków,  
tel. 12 6468291 www.rydygierkrakow.pl  
e-mail: mcop@rydygierkrakow.pl

Kraków 7.06.2022

Recenzja rozprawy doktorskiej lek. med. Arkadiusza Janusza, pt.

**„Ocena przydatności matrycy biocelulozowej do nieantybiotykowej profilaktyki  
zakażeń kości w badaniach in vitro”.**

Problem leczenia zakażeń kości jest ogromnym wyzwaniem klinicznym i dotyczy pacjentów w każdym wieku. Epidemiologia zakażeń kości podkreśla różnicę genetyzacji stanu chorobowego pomiędzy dziećmi, u których dominują zakażenia krwiopochodne a dorosłymi, u których stany te są najczęściej zewnątrzpochodnymi powikłaniami zabiegów operacyjnych, otwartych złamań czy stanów zapalnych tkanek miękkich lub stawów. Przyczyną zakażenia są najczęściej gronkowce, paciorkowce jak i pałeczki Gram-ujemne. W ostatniej dekadzie wiele dziedzin medycyny zmieniło wcześniejsze podejście do polityki antybiotykowej z powodu dynamicznie narastającej oporności szczepów bakteryjnych, co znacząco ograniczyło możliwości skutecznej antybiotykoterapii. Wzrosła jednocześnie świadomość konieczności ochrony antybiotyków, których zresztą stosowanie w zakażeniach zewnątrzpochodnych kości kończy się nierzadko porażką z powodu ich utrudnionej penetracji do miejsca zakażenia. Znane w codziennej pracy klinicznej trudności w skuteczności antybiotykoterapii dotyczą zarówno podaży drogą dożylną jak i doustną. Stosowanie antybiotyków miejscowo nie

powinno wykroczać poza ustalenia konsensusu filadelfijskiego. Znamienne duża grupa pacjentów zmagających się często tygodniami lub miesiącami z zapalnymi powikłaniami w formie przetok czy braku zrostu kości to pacjenci po urazach lub po operacjach ortopedycznych. Leczenie takich zakażeń jest szczególnie trudne. Szybko narastająca oporność najczęstszych patogenów i ich zdolność tworzenia biofilmu są przyczyną porażek terapii antybiotykowej. Z tego powodu profilaktyka takich powikłań ma szczególnie istotne znaczenie. W związku z powyższymi problemami możliwość wprowadzenia nowych metod pozwalających na zapobieganie zakażeniom kości drogą inną niż profilaktyka antybiotykowa, jest niezmiernie cenne.

Oceniana rozprawa doktorska lek med. Arkadiusza Jawienia przedstawia typowy układ pracy i składa się z typowych rozdziałów. Praca obejmuje 122 strony manuskryptu poprzedzonego dwustronicowym **spisem treści** i kończącym się sześćdziesięcioma dziewięcioma pozycjami piśmiennictwa zawartymi na 10 stronach rozprawy.

We „**Wstępie**” pracy doktorant zwięźle i wyczerpująco przedstawia problemy epidemiologii zakażeń kości z uwzględnieniem ich podziału i patogenez. Podrozdział wstępu dotyczący mikrobiologii przedstawia różnorodność szczepów odpowiedzialnych za ten stan chorobowy z naciskiem na rolę gronkowca złocistego. Doktorant powołując się na piśmiennictwo podkreśla ryzyko wzrostu oporności gronkowca przy nieracjonalnej i nadmiernej antybiotykoterapii i analizuje odpowiedzialne za oporność genetyczne mechanizmy z naciskiem na korelację z tworzonym przez nie biofilmem. Doktorant w zrozumiały sposób tłumaczy sposób inwazji bakteryjnej w strukturę kostną i tłumaczy przyczyny trudności diagnostycznych. Kolejny podrozdział przedstawia temat profilaktyki i leczenia zakażeń kości z wykorzystaniem antybiotyków oraz ich nośników. Doktorant przedstawia charakterystykę istotnych terapeutycznie substancji jak chelerytryna, gąbka garamycynowa czy nośniki hydroksypatytowe z uwzględnieniem ich korzyści i ograniczeń. W ostatnim podrozdziale wstępu doktorant charakteryzuje bionanocelulozę z podkreśleniem walorów terapeutycznych jak i ekonomicznych. Doktorant podkreślił znaczenie swoich badań „in vitro” w perspektywie implementacji w leczeniu pacjentów z zapaleniem kości i szpiku, co szczególnie podkreśla wartość prezentowanej rozprawy doktorskiej.

Postawionym „**Celem pracy**” jest ocena nośników biocelulozowych w profilaktyce zakażeń kości.

**Uwaga:** Jeżeli celem pracy jest profilaktyka, to w zakończeniu „Wstępu” pracy powinno raczej być ujęte w podsumowaniu na str. 14 w przedostatniej linijce - zamiast sformułowania:

... w **leczeniu** pacjentów z zapaleniem kości i szpiku o różnej etiologii sugeruję zmianę na:

...w **profilaktyce** zapaleń kości i szpiku o różnej etiologii pacjentów narażonych na zakażenie kości.

Uwaga ta nie ma wpływu na ocenę merytoryczną pracy.

W rozdziale „**Materiały i Metody**” doktorant przedstawia sposób przeprowadzonych badań. Wybór gronkowca złocistego MRSA i analiza aż 49 jego szczepów podkreśla kliniczną wysoką wartość badania. Grupę kontrolną stanowił gronkowiec złocisty z Amerykańskiej Kolekcji Szczepów Wzorcowych. Doktorant posłużył się dwoma metodami badania antybiotykoodporności – metodą dyfuzyjno-

krążkową i metodą gradientowo-dyfuzyjną. Sposób przeprowadzenia badań nad skutecznością przeciwbakteryjną substancji wprowadzonych do nośników biocelulozowych został starannie wyjaśniony. Doktorant dokonał analizy skuteczności siarczanu gentamycyny, lewofloxacyny, dwuchlorku oritawancyny i chlorku chelerytryny poprzez ocenę zdolności szczepów gronkowca do produkcji biomasy biofilmowej w zależności od użytego czynnika na powierzchni polistyrenowej, hydroksyapatycie oraz na tkance kostnej szczurów. Kolejnym etapem badania była ocena minimalnego stężenia hamującego i eradykującego biofilm gronkowca złocistego przez wybrane środki przeciwdrobnoustrojowe. W następnych podrozdziałach autor opisuje metodę wytworzenia i charakterystykę nośnika biocelulozowego, sposoby jego nasączenia wybranymi substancjami przeciwdrobnoustrojowymi jak i metody oceny poziomu cytotoksyczności względem osteoblastów, ocenę zdolności osteoblastów do zasiedlania nośników BC i ich zdolność sekwestracji szczepów gronkowca złocistego. Do oceny biofilmu bakteryjnego na nośnikach z bakteryjnej celulozy wykorzystano skaningową mikroskopię elektronową.

***Uwaga:***

*Na stronie 18 w 5 linijce od dołu jest drobny błąd pisarski – brak literki t w wyrazie studzienka.*

Obszernie przedstawione „**Wyniki**” obejmują strony 36-87 i podkreślają włożony nakład pracy w innowacyjny temat doktoratu. Wyniki zobrazowane zostały czytelnymi tabelami i wykresami i zostały poddane analizie statystycznej.

„**Dyskusja**” obejmuje 25 stron rozprawy doktorskiej. W dyskusji autor podkreśla trudności terapeutyczne zakażeń kości wywołanych szczepem gronkowca złocistego ze względu na jego możliwości sekwestracji kości, co uniemożliwia penetrację antybiotyku podanego dożylnie. Rozwój biofilmu dodatkowo utrudnia miejscowe leczenie zakażenia. Poza zaletami wykazanymi w przebiegu badania doktorant podkreśla ważny walor bakteryjnej celulozy jaką jest łatwa dostępność i korzystna struktura. Również wysoko oceniania chelerytryna jest prosta do uzyskania, co rodzi nadzieję zastosowania klinicznego na szerszą skalę. W dyskusji doktorant podkreśla dużą zmienność w charakterystyce i zdolności produkcji biofilmu przez bakterie chorobotwórcze. Świadome wyłączenie z badania szczepów opornych w celu uniknięcia trudności interpretacyjnych podkreśla dojrzałość naukową i doświadczenie doktoranta. Dowodzi tego również dobór metody eliminujący brak kontroli nad migracją bakterii w trakcie doświadczeń.

„**Wnioski**” zawarte zostały na stronach 103-104. Są one rozbudowane w stosunku do „**Celu Pracy**” gdyż zawierają 8 punktów, które dają szczegółową odpowiedź zgodną z celem badania. Wnioski opisują wysoką skuteczność okładzin z biocelulozy bakteryjnej szczególnie wzbogaconych hydroksyapatytem i chelerytryną. Doktorant udowodnił wysoką skuteczność nośników biocelulozowych wzbogaconych antybiotykiem celowanym w hamowaniu penetracji gronkowca złocistego.

Na stronach 105-107 znajduje się „**Spis Tabel, Zdjęć i Wykresów**”. Następna strona przedstawia zgodę Komisji Bioetycznej.

Strony 109-112 obejmują „**Streszczenia**” w języku polskim i angielskim.

Wartość merytoryczną pracy doktorskiej lek. med. Arkadiusza Janusza oceniam wysoko i podkreślam istotną wagę kliniczną badanego tematu. Rozprawa przedstawiona

jest czytelnie, została wzbogacona przejrzystymi rycinami, wykresami i zdjęciami. Piśmiennictwo jak na tak unikatowy temat badawczy jest bogate.

Rozprawa doktorska spełnia warunki pracy doktorskiej określone w artykule 13 ust.1 ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr. 65, poz. 595, z późniejszymi zmianami). Dlatego przedkładam uprzejmie Radzie Dyscypliny Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu o dopuszczenie lek. med. Arkadiusza Janusza do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Przeprowadzone przez doktoranta badania in vitro są wartościowe i obiecujące. Dotyczą poważnego terapeutycznego problemu klinicznego w oddziałach ortopedii i chirurgii plastycznej. Praca została wykonana niesłychanie starannie, była niezmiernie pracowita i czasochłonna a jej cel ma wyjątkowo ważne znaczenie z perspektywą zastosowania w leczeniu dużej grupy chorych.

W związku z tym wnioskuję o wyróżnienie rozprawy doktorskiej lek. med. Arkadiusza Janusza.

Dr hab. n. med. Anna Chrapusta

  
Dr hab. n. med. Anna Chrapusta  
specjalista chirurgii plastycznej  
chirurg dziecięcy  
5953189