

VIDI!

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu  
RADA DYSCIPLINARNA I RADA DYSZYPLINARNA  
Pracownicy

prof. dr hab. Agnieszka Halon

Uniwersytet Medyczny  
we Wrocławiu



RPW/13440/2023 P  
Data:2023-08-02

wpl.  
dnia 03-08-2023

L. dz. RN-BM/ 1394

Katowice 26.07.2023

Recenzja pracy doktorskiej Lek. Łukasza Lisa

## Czynniki prognostyczne wystąpienia infekcji *Clostridioides difficile* oraz metody zapobiegania zakażeniu u pacjentów z przewlekłą chorobą nerek

*Clostridioides difficile* (CD) jest bezwzględnie beztlenową Gram-dodatnią laseczką posiadającą zdolność do wytwarzania formy przetrwalnikowych (spor) i toksyn. Objawem zakażenia tą bakterią jest biegunka z bólem brzucha, nudnościami i wymiotami oraz gorączką. Prawidłowa mikrobiota jelit gospodarza zapobiega przemianom form przetrwalnikowych do postaci wegetatywnych CD i zapobiega ich wzrostowi. Pod wpływem dysbiozy powstałej w następstwie stosowania leków przeciwbakteryjnych dochodzi do rozwoju objawowego zakażenia tą bakterią. W Polsce i na świecie w ciągu ostatnich dwóch dekad lat liczba zachorowań spowodowanych zakażeniem *Clostridioides difficile* (ZCD) wzrosła. Profilaktyka ZCD opiera się na działaniach mających na celu zwiększenie poziomu higieny oraz na eliminacji czynników ryzyka. Obraz kliniczny zakażenia zależy od stopnia wirulencji oraz ogólnego stanu zdrowia chorego. Chorzy z przewlekłą chorobą nerek (PChN), a w szczególności chorzy poddawani leczeniu nerkozastępczemu stanowią grupę zwiększonego ryzyka zachorowania na ZCD. Ponadto wyniki badań epidemiologicznych wskazują, że u chorych z PChN częściej stwierdza się ciężką postać ZCD oraz nawrót ZCD. W tej grupie chorych śmiertelność w przebiegu ZCD jest znacznie większa niż w populacji ogólnej.

Tematem recenzowanej rozprawy była ocena czynników prognostycznych wystąpienia ZCD oraz metody zapobiegania zakażeniu u chorych z PChN. Należy mieć nadzieję, że przeprowadzanie badań podobnych do analiz będących treścią rozprawy, pozwoli na lepsze zrozumienie patogenezы i znaczenia klinicznego ZCD u chorych z PChN, jak i pozwoli na ustalenie znaczenia poszczególnych metod zapobiegania ZCD u tych chorych.

Przedstawiona mi do oceny praca ma typowy układ. Liczy 44 strony, w tym odbitki 3 publikacji, których zbiorcze podsumowanie jest treścią dysertacji. Przed powyższymi odbitkami zamieszczone zostały streszczenia w języku polskim i angielskim. Forma edytorska

HALON

pracy z wyraźnym podziałem na rozdziały niewątpliwie ułatwia czytelnikowi zapoznanie się z treścią dysertacji.

Dysertacja rozpoczyna się *Wykazem publikacji stanowiących rozprawę doktorską*. Dwie prace oryginalne i jedna przeglądowa stanowią rdzeń rozprawy doktorskiej. Ich łączny współczynnik oddziaływania (impact factor) wynosi 6,449 a liczba punktów MNiSW 125. Doktorant jest pierwszym autorem we wszystkich trzech powyższych publikacjach. Tak więc, wiodący udział Autora dysertacji w powstaniu ocenianego cyklu prac nie budzi wątpliwości.

We *Wstępie* Doktorant wprowadził czytelnika w tematykę pracy zamieszczając podstawowe informacje dotyczące ZCD u chorych z PChN. Na początku tego rozdziału Autor przedstawił patogenezę ZCD, objawy ZCD i definicję ciężkiej postaci ZCD. Niestety omawiane zagadnienia Doktorant potraktował zdawkowo i pobieżnie. Min. nie omówił morfologii i biologii postaci wegetatywnych i postaci przetrwalnikowych CD, czynników pobudzających powstawanie form wegetatywnych oraz form przetrwalnikowych, mechanizmów dzięki którym prawidłowa mikrobiota jelit zapobiega ZCD, mechanizmów działania toksyn CD, jak i pominął, zagadnienia dotyczące czasu od ekspozycji do wystąpienia objawów ZCD oraz narastającego zjawiska pozaszpitalnej transmisji tego zakażenia. Autor nie przedyskutował również epidemicznych aspektów ZCD, w tym dostępnych danych dotyczących zapadalności na ZCD w populacji polskiej i porównań tej zapadalności z danymi pochodzącymi z innych krajów.

Następnie Doktorant przedstawił metody diagnostyki ZCD. Niestety, złożone zagadnienie wieloetapowej diagnostyki ZCD, które jest ściśle zdefiniowane w zaleceniach grup ekspertów, zostało w tej części wstępu omówione nadzwyczaj pobieżnie. Doktorant nie podał nazw wykonywanych testów, ich znaczenia i proponowanych sekwencji ich wykonywania. Nie podał również jakże istotnych zasad pobierania i transportu materiału diagnostycznego.

Następnie Autor przedstawił zasady leczenia ZCD. Niestety, zagadnienie to zastało omówione w sposób nadzwyczaj skrótowy. Autor nie przedstawił danych porównujących skuteczność leczenia i zapobiegania nawrotów wankomycyną i fidakso-mycyną. Pominął inne antybiotyki, które w pewnych sytuacjach klinicznych można zastosować w leczeniu ZCD. Doktorant użył również żargonowego określenie „odstawienie antybiotyku”, zamiast prawidłowego „zaprzestanie stosowania antybiotyku”. Można mieć również wątpliwości co do poprawności co do stosowania terminu „przeszczepienie bakterii jelitowych”. Bardziej poprawnym opisem tej procedury jest określenie transfer mikrobioty jelit. Następnie, Lek. Łukasz Lis omówił czynniki ryzyka ZCD i metody profilaktyki ZCD, ze szczególnym

uwzględnieniem chorych z PChN. W kolejnej części *Wstępu* rozprawy doktorskiej Autor przedstawiła dane dotyczące zmieniającej się epidemiologii ZCD spowodowanej rozprzestrzenianiem hiperwirulentnego szczepu CD.

*Wstęp* jest zakończony omówieniem dotychczasowych badań dotyczących epidemiologii ZCD u chorych z PChN, czynników ryzyka ZCD u chorych z PChN, jak i wyjątkowo niekorzystnych konsekwencji ZCD u tych chorych.

Ponadto, we *Wstępie* jak i w kolejnych rozdziałach pracy, nieprawidłowo, Autor utożsamia, rzekomobłoniaste zapalenie jelita grubego z ZCD. Rzekomobłoniaste zapalenie jelita grubego jest jedynie jedną z form ZCD.

Informacje podane we *Wstępie*, jakkolwiek w znacznej mierze w ocenie recenzenta niewystarczające są odpowiednio usystematyzowane. *Wstęp* spełnia swoją podstawową rolę tj, jest wprowadzeniem do dalszych rozdziałów dysertacji.

*Wstęp* kończy spis aktualnego i właściwie przytoczonego piśmiennictwa (24 pozycji), które obejmuje prace do 2021 roku.

Po *Wstępie* rozprawy doktorskiej Autor zamieścił rozdział *Cel pracy*. W tym krótkim rozdziale Doktorant uzasadnił w sposób zwięzły celowość przeprowadzonych badań. Wymienionymi przez Doktoranta celami pracy doktorskiej były: 1. Wykazanie różnic pomiędzy dwoma grupami chorych z PChN u których wystąpiła biegunka w trakcie hospitalizacji, zakażonymi CD i nie zakażonymi CD; 2. Identyfikacja czynników prognostycznych ZCD u chorych z PChN u których wystąpiła biegunka w trakcie hospitalizacji; 3. Wskazanie możliwych metod zapobiegania CDI u chorych z PChN.

Podjęty przez Lek. Łukasza Lisa temat porusza istotne i jak dotąd w niepełnym stopniu zbadane zagadnienia dotyczące ZCD u chorych z PChN, i jest nadzwyczaj trafny, z punktu widzenia poznawczego, jak i mogący mieć istotne implikacje kliniczne.

Po rozdziale rozprawy doktorskiej *Cel pracy* Autor zamieścił odbitki 3 publikacji, których zbiorcze podsumowanie jest treścią dysertacji.

Pierwsza z nich zatytułowana „*Risk factors of the Clostridium difficile infection in patients with chronic kidney disease*” została opublikowana a roku 2018 w czasopiśmie *Advances in Clinical and Experimental Medicine*, i jest pracą oryginalną.

Jest to analiza retrospektywna 207 chorych z chorych z PChN u których wystąpiła biegunka w trakcie hospitalizacji w Oddziale Nefrologii i Transplantacji Nerek Wojewódzkiego Szpitala Specjalistycznego we Wrocławiu, którzy byli hospitalizowani na ww. Oddziale w latach 2009-2012. W pracy stwierdzono, że u chorych z PChN czynnikami

ryzyka zachorowania na ZCD są: długi czas hospitalizacji i hipoalbuminemia. Natomiast zaawansowany wiek, liczba stosowanych antybiotyków, długi czas hospitalizacji i hipoalbuminemia są czynnikami ryzyka śmierci.

Do badania, którego wyniki są przedmiotem pracy doktorskiej, zakwalifikowano 207 chorych z PChN u których wystąpiła biegunka po 72 godzinach hospitalizacji. Kryteria kwalifikacji do badania jak i kryteria wykluczające z udziału w badaniu zostały ustalone w sposób staranny i jednoznaczny. Tym niemniej, kryterium rozpoznania ZCD obejmowało jedynie wykrycie antygenów toksyn CD A i B w stolcu. W razie ujemnego testu nie wykonywano zalecanego w takiej sytuacji, posiewu kału w warunkach beztlenowych na pożywece toksynotwórczej celem wykazania obecności toksynotwórczych szczepów *Clostridioides difficile*. Taki jedynie jednoetapowy, zamiast zalecanego w czasie powstawania pracy dwuetapowego, sposób postępowania, powoduje że w grupie chorych z niepotwierdzonym ZCD mogli znaleźć się chorzy z ZCD.

Poza powyższą krytyczną uwagą, metodyka badań i metody analizy statystycznej nie budzą istotnych zastrzeżeń i zostały przedstawione w rozdziale *Metody* w sposób wyczerpujący.

W rozdziale *Wyniki* Autor prezentuje w sposób uporządkowany uzyskane wyniki. Wyniki wielokierunkowej analizy zebranych danych zostały przedstawione bardzo starannie. Tabele (w liczbie 3) niewątpliwie ułatwiają czytelnikowi zapoznanie się z treścią tego rozdziału. Na początku rozdziału *Wyniki* Doktorant przedstawił charakterystykę demograficzną i kliniczną grupy badanej. W rozprawie przejrzyście i szczegółowo scharakteryzowano grupę badaną, co wskazuje na dobrą znajomość podejmowanej w pracy tematyki. Jedyna, wątpliwość, dotyczy wyników eGFR i chorych poddawanych dializoterapii. W tabeli 1 podano min. wartości eGFR. Istotna część chorych była poddawana dializoterapii. Czy u tych chorych również wyliczono eGFR? Czy też, pominięto ich w tej analizie? Ponadto w pracy nie znalazłem informacji u ilu chorych poddawanych dializoterapii stwierdzono ZCD.

Kolejny rozdział pracy, *Dyskusja*, zawiera rzeczową i samodzielną interpretację wyników, a Doktorant skonfrontował własne wyniki z rezultatami uzyskanymi przez autorów innych prac. Niestety w pracy nie podano ograniczeń badania, które w ocenie recenzenta stanowią: retrospektywny charakter analizy oraz jednoetapowy, zamiast zalecanego w czasie gdy badanie było wykonywane, dwuetapowego, sposób postępowania diagnostycznego przy podejrzeniu ZCD.

*Piśmiennictwo* obejmuje 14 prac aktualnych w czasie publikacji artykułu naukowego, które są prawidłowo dobrane i odpowiednio cytowane w tekście.

Druga z publikacji, których zbiorcze podsumowanie jest treścią dysertacji, zatytułowana „*Clostridioides difficile infection in patients with end stage renal disease. Is it preventable?*” została opublikowana a roku 2020 w czasopiśmie *Przeгляд Epidemiologiczny* i jest pracą poglądową.

Na początku tej pracy Doktorant podaje podstawowe informację dotyczące ZCD. Następnie omawia aspekty epidemiczne ZCD u chorych z PChN. Podaje min., że chorzy ze schyłkową niewydolność nerek są najbardziej narażeni na ZCD i, że ZCD u tych chorych znacznie zwiększa śmiertelność, wydłuża hospitalizację i zwiększa koszty leczenia. Ważnymi czynnikami ryzyka u pacjentów ze schyłkową niewydolność nerek są: hospitalizacja lub pobyt na oddziale intensywnej terapii w ciągu ostatnich 90 dni, zakażenie wirusem HIV, bakteriemia, długotrwałe leczenie antybiotykami i hipoalbuminemia. Natomiast, marskość wątroby, wiek powyżej 65 lat, hipoalbuminemia, dłuższy czas hospitalizacji i stosowanie antybiotyków są istotnymi czynnikami ryzyka śmierci. Główne metody zapobiegania ZCD zostały przedstawione m.in. w tabeli i obejmują mycie rąk ciepłą wodą z mydłem, izolację zakażonych pacjentów w osobnym pomieszczeniu z dostępem do własnej toalety, stosowanie masek, fartuchów jednorazowych, rękawiczek, dezynfekcję środowiska oraz systematyczną edukację personelu medycznego, a także racjonalną politykę antybiotykową. Ponadto ważne jest unikanie antybiotyków o zwiększonym ryzyku wystąpienia ZCD oraz stosowanie inhibitorów pompy protonowej (PPI) i antagonistów receptora H<sub>2</sub>, jedynie gdy są one bezwzględnie wskazane. *Piśmiennictwo* tej publikacji obejmuje 52 prac, które są prawidłowo dobrane i odpowiednio cytowane w tekście.

Trzecia z publikacji, których zbiorcze podsumowanie jest treścią dysertacji zatytułowana „*Clinical Determinants Predicting Clostridioides difficile Infection among Patients with Chronic Kidney Disease*” została opublikowana a roku 2022 w czasopiśmie *Antibiotics (Basel)* i jest pracą oryginalną.

Jest to analiza retrospektywna 279 chorych z chorych z PChN u których wystąpiła biegunka w trakcie hospitalizacji w Oddziale Nefrologii i Transplantacji Nerek Wojewódzkiego Szpitala Specjalistycznego we Wrocławiu, którzy byli hospitalizowani na ww. Oddziale w latach 2016-2020. Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej przy Wojewódzkim Szpitalu Specjalistycznym we Wrocławiu. W publikacji odnotowano ten fakt.

W pracy stwierdzono, że u chorych z PChN czynnikami ryzyka zachorowania na ZCD są: stopień zawansowania PChN, czas antybiotykoterapii, małe stężenie albumin w osoczu i niski wynik w skali Norton (ANSS). Do badania, którego wyniki są przedmiotem pracy doktorskiej, zakwalifikowano 279 chorych z chorych z PChN u których wystąpiła biegunka po 72 godzinach hospitalizacji. Kryteria kwalifikacji do badania jak i kryteria wykluczające z udziału w badaniu zostały ustalone w sposób staranny i jednoznaczny a sposób kwalifikacji do badania został przedstawiony na wykresie. Podobnie jak w pierwszej z publikacji wchodzącej w oceniany cykl publikacji, kryterium rozpoznania ZCD obejmowało jedynie wykrycie antygenów toksyn CD A i B w stolcu. Taki jedynie jednoetapowy, zamiast zalecanego jednego z wieloetapowych sposobów postępowania diagnostycznego (opisanego m.in. w Martirosian G. Zakażenia Clostridioides (Clostridium) difficile: epidemiologia, diagnostyka, terapia, profilaktyka, Narodowy Program Ochrony Antybiotyków; Warszawa 2018), powoduje że w grupie chorych z niepotwierdzonym ZCD mogli znaleźć się chorzy z ZCD.

Poza powyższą krytyczną uwagą, metodyka badań i metody analizy statystycznej nie budzą istotnych zastrzeżeń i zostały przedstawione w rozdziale *Metody* w sposób wyczerpujący.

W rozdziale *Wyniki* Autor prezentuje w sposób uporządkowany uzyskane wyniki. Wyniki wielokierunkowej analizy zebranych danych zostały przedstawione bardzo starannie. Tabele (w liczbie 3) niewątpliwie ułatwiają czytelnikowi zapoznanie się z treścią tego rozdziału.

Na początku rozdziału *Wyniki* Doktorant przedstawił charakterystykę demograficzną i kliniczną grupy badanej. W rozprawie przejrzysto i szczegółowo scharakteryzowano grupę badaną, co wskazuje na dobrą znajomość podejmowanej w pracy tematyki. Podobnie jak w pierwszej pracy, wątpliwość dotyczy chorych poddawanych dializoterapii. W pracy nie znalazłem informacji u ilu chorych poddawanych dializoterapii stwierdzono ZCD.

Kolejny rozdział pracy, *Dyskusja*, zawiera rzeczową i samodzielną interpretację wyników, a Doktorant skonfrontował własne wyniki z rezultatami uzyskanymi przez autorów innych prac. Na dojrzałość badawczą Doktoranta wskazują treść podrozdziału *Ograniczenia badania*. Krytycznie spoglądając na ograniczenia badania Autor podkreśla homogenność grupy pod względem pochodzenia oraz jednośrodkowy charakter badania. W opinii recenzenta ograniczeniami badania są ponadto retrospektywny charakter analizy oraz jednoetapowy, zamiast zalecanego wieloetapowego, sposób postępowania diagnostycznego

przy podejrzeniu ZCD. *Piśmiennictwo* obejmuje 26 prac opublikowanych do roku 2021, które są prawidłowo dobrane i odpowiednio cytowane w tekście.

Rozprawę kończy rozdział zatytułowany *Podsumowanie i wnioski*. Autor w tym rozdziale w sposób syntetyczny omawia treść trzech publikacji będących treścią dysertacji. Rozdział ten kończą 3 wnioski, których treść jest zgodna z drugim i trzecim celem pracy i ich treść logicznie wynika z analiz wyników uzyskanych w publikacjach oryginalnych będącym treścią rozprawy doktorskiej, jak i z poglądów zaprezentowanych w pracy pogładowej. Cel pierwszy badania tj. wykazanie różnic pomiędzy dwoma grupami chorych z PChN u których wystąpiła biegunka w trakcie hospitalizacji, zakażonymi CD i nie zakażonymi CD został zrealizowany w obu publikacjach prac oryginalnych, ale niestety nie znalazł odzwierciedlenia we wnioskach.

Oceniając dysertację, pomimo pewnych uwag krytycznych przedstawionych w recenzji, należy podkreślić umiejętność Doktoranta skonfrontowania własnych wyników z danymi literaturowymi. Praca jest dobrym opracowaniem odpowiednio dobranego materiału klinicznego z zastosowaniem w większości jej aspektów adekwatnych narzędzi badawczych. Rozprawa została dobrze opracowana pod względem edytorskim.

Autor dowiódł zdolności prowadzenia oryginalnych badań klinicznych oraz wykazał się dobrym przygotowaniem merytorycznym i umiejętnością samodzielnego formułowania i rozwiązywania problemów naukowych.

Kończąc pragnę jeszcze raz podkreślić istotne walory poznawcze i praktyczne wykonanych badań. Za najważniejsze osiągnięcie badawcze ocenianej rozprawy należy uznać wykazanie przez Doktoranta, że u chorych z PChN stopień zawiązania PChN, czas antybiotykoterapii, małe stężenie albumin w osoczu i niski wynik w skali Norton (ANSS) są wiodącymi czynnikami ryzyka ZCD.

W podsumowaniu recenzji, stwierdzam, że rozprawa doktorska Lek. Łukasza Lisa spełnia warunki określone w art. 187 ust 1-4 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2018 poz. 1668) wymagane na stopień doktora nauk medycznych. Dlatego wnoszę do Wysokiej Rady Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich w Wrocławiu o dopuszczenie do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Prof. dr hab. n. med. Marcin Adamczak