

Recenzja pracy mgr Natalii Słabisz pt. „Epidemiologia i diagnostyka zakażeń krwi u pacjentów hospitalizowanych, wpływ nowoczesnych technik diagnostycznych na wykrycie czynnika etiologicznego i antybiotykoterapię – analiza jednoosobkowa”
na stopień doktora

Mgr Natalia Słabisz zajęła się bardzo ważnym zagadnieniem klinicznym, tj. zakażeniami krwi u pacjentów hospitalizowanych. Zakażenia łożyska naczyniowego są jedną z najgroźniejszych postaci zakażeń, mogą prowadzić do sepsy i wstrząsu septycznego oraz obarczone są wysoką śmiertelnością. Ich epidemiologia, a zwłaszcza etiologia i lekowrażliwość wywołujących je drobnoustrojów ulegają dynamicznym zmianom, co utrudnia podejmowanie optymalnych decyzji terapeutycznych. W ostatnich latach w wielu krajach, w tym w Polsce obserwuje się wzrost lekooporności drobnoustrojów na leki przeciwnieinfekcyjne i zwiększony udział patogenów wielolekoopornych w zakażeniach inwazyjnych. Wszystko to sprawia, że leczenie empiryczne coraz częściej ma charakter złożony, tzn. niejednokrotnie stosuje się dwa lub więcej antybiotyków o bardzo szerokim spektrum, co z jednej strony zwiększa prawdopodobieństwo skuteczności terapii, z drugiej jednak – prowadzi do dalszej selekcji oporności. Aby przerwać ów mechanizm błędnego koła, konieczne jest prowadzenie racjonalnej polityki antybiotykowej, która wymaga zarówno znajomości lokalnej sytuacji epidemiologicznej, szybkiej i wiarygodnej diagnostyki mikrobiologicznej jak i ścisłej współpracy pomiędzy wszystkimi członkami zespołu zaangażowanego w opiekę nad pacjentem. Praca mgr N. Słabisz odnosi się do wszystkich wyżej wymienionych zagadnień, stąd jej badania mają bardzo istotne znaczenie praktyczne.

Praca doktorska stanowi spójny tematycznie cykl 3 publikacji i składa się z następujących części: spisu treści, wykazu publikacji wchodzących w skład rozprawy, streszczenia w języku polskim i angielskim, wprowadzenia, celów pracy, metodyki badań, wyników, podsumowania, wniosków, piśmiennictwa, oświadczeń współautorów publikacji, wykazu dorobku naukowego Doktorantki oraz kopii opublikowanych artykułów.

We wprowadzeniu Kandydatka krótko omówiła epidemiologię zakażeń krwi na świecie i w Polsce, zwracając szczególną uwagę na zmiany, które zaszły w trakcie pandemii COVID-19. Podkreśliła problem narastającej oporności drobnoustrojów i znaczenie diagnostyki mikrobiologicznej, w tym nowych, szybkich testów molekularnych oraz metod niekonwencjonalnych służących do określania synergizmu antybiotyków dla optymalizacji terapii. Wstęp jest zwięzły i stanowi dobre uzasadnienie podjętych przez Kandydatkę badań, aczkolwiek niektóre jego fragmenty są zbyt wybiórcze lub zbyt

szczegółowe (np. przedstawiono tylko jedną z kilku metod oznaczania synergizmu antybiotyków, szczegółowo omówiono tylko jeden z mechanizm oporności, tj. oporność gronkowców na metycylinę oraz zasady leczenia tylko jednego rodzaju zakażeń inwazyjnych, tj. bakteriemii o etiologii *Staphylococcus aureus*). Powyższy wybór nawiązywał zapewne do najważniejszych ustaleń wynikających z badań Doktorantki, tym niemniej byłoby lepiej, gdy omówienie było szersze.

Mgr Słabisz postawiła sobie bardzo ambitne cele tj. analizę zmian epidemiologii zakażeń krwi wywołanych przez pandemię COVID-19 oraz ocenę wpływu szybkiej diagnostyki z wykorzystaniem testów molekularnych typu multiplex-PCR na decyzje terapeutyczne w jednym z wrocławskich szpitali. Cele szczegółowe realizowane w poszczególnych publikacjach zostały zaprezentowane w części „cele pracy” w 3 akapitach, zawierających częściowo ich uzasadnienie, częściowo odniesienia do przeprowadzonych analiz. Rozprawa byłaby zapewne bardziej czytelna, gdyby cel główny został doprecyzowanymi jednoznacznymi, prosto sformułowanymi celami szczegółowymi. Wszystkie założone cele zostały zrealizowane przy użyciu adekwatnych narzędzi badawczych, co znajduje odzwierciedlenie w pracach wchodzących w skład rozprawy doktorskiej.

Na cykl publikacji składają się 3 prace oryginalne: tj. „Impact of the COVID-19 pandemic on the epidemiology of bloodstream infections in hospitalized patients - experience from a 4th Military Clinical Hospital in Poland” opublikowana w *Journal of Clinical Medicine* (IF 3,9), „Evaluation of the in vitro susceptibility of clinical isolates of NDM-producing *Klebsiella pneumoniae* to new antibiotics included in a treatment regimen for infections” zaprezentowana w *Frontiers in Microbiology* (IF 5,2) oraz „Assesing the interpretation of molecular test results in the diagnosis of bloodstream infections” wydana w *Diagnostics* (IF 3,6). We wszystkich pracach Doktorantka jest pierwszym autorem i co zasługuje na szczególne podkreślenie – w dwóch również autorem również korespondującym. Kandydatka miała wiodący udział w przygotowaniu wszystkich publikacji, który obejmował opracowanie koncepcji i metodologii badań, zbieranie danych, wykonanie badań laboratoryjnych i napisanie prac, co zostało potwierdzone w poszczególnych publikacjach w części „Author contribution”. Wszyscy współautorzy wyrazili zgodę na wykorzystanie publikacji w rozprawie doktorskiej mgr Słabisz.

W pierwszej publikacji Doktorantka analizowała częstość i etiologię zakażeń krwi u pacjentów hospitalizowanych w jednym ośrodku przed pandemią COVID-19 i w jej trakcie. Zaobserwowała istotny wzrost zapadalności, śmiertelności oraz większy udział patogenów wielolekoopornych w trakcie pandemii, a także większą częstość zakażeń wywoływanych przez MRSA i pałeczki Gram-ujemne wytwarzające karbapenemazę NDM u pacjentów zakażonych SARS-CoV-2 w porównaniu z chorymi hospitalizowanymi w tym samym okresie z innego powodu. Powyższe dane są zgodne z obserwacjami innych autorów i wskazują na złożoność problemu kontroli zakażeń w trakcie pandemii - metody służące ograniczeniu transmisji wirusa w wielu miejscach przyczyniły się do niekontrolowanego rozprzestrzeniania się bakterii lekoopornych. Spostrzeżenia te mają bardzo istotne znaczenie praktyczne, m.in. dla planowania przyszłych strategii przeciwepidemicznych.

W drugiej pracy Kandydatka oceniła wrażliwość na nowe antybiotyki 60 najbardziej opornych szczepów *Klebsiella pneumoniae* wytwarzających metalo-beta-laktamazy typu NDM uzyskanych od pacjentów hospitalizowanych w jednym ośrodku w latach 2019-2022. Dodatkowo, w badaniu tym Autorka porównała 2 metody oceny lekowrażliwości na fosfomicynę, wskazując, że tylko jedna z nich może być stosowana w praktyce oraz wykorzystała niekomercyjną metodę do oceny aktywności kombinacji aztreonamu z (ceftazydymem)-awibaktamem. Mgr Słabisz stwierdziła, że wszystkie badane izolaty były wrażliwe na erawacyklinę i tygecyklinę, oraz co istotne, również na nowe beta-laktamy, tj. cefiderokol i skojarzenie aztreonamu z (ceftazydymem)-awibaktamem. Ponieważ badane beta-laktamy i erawacyklina są stosunkowo nowymi lekami i ich zastosowanie w Polsce było dotąd ograniczone, wyniki uzyskane przez Autorkę mogą być wykorzystane również przez inne ośrodki w kraju. Obserwacje Kandydatki mają bardzo dużą wagę – pozwalają zracjonalizować terapię empiryczną w grupach ryzyka zakażeń najbardziej opornymi patogenami.

Najciekawsza wydaje mi się trzecia praca cyklu, w której Doktorantka oceniała wpływ diagnostyki molekularnej na decyzje terapeutyczne u pacjentów z zakażeniami krwi. Badania mgr Słabisz wykazały bardzo wysoką zgodność pomiędzy wynikami uzyskanymi metodami klasycznymi i molekularnymi. Ponadto testy molekularne multipleks PCR pozwalały na znacznie szybsze uzyskanie wyniku w porównaniu do metod konwencjonalnych (odpowiednio mediana 10 godz. vs 52 godz.). Wszystko to wskazuje, że oceniany test molekularny do identyfikacji i wykrywania mechanizmów oporności drobnoustrojów w dodatkowej hodowli krwi jest wiarygodny i może być wykorzystywany w celu przyspieszenia diagnostyki zakażeń inwazyjnych. Powyższe obserwacje są zgodne z doniesieniami innych autorów. Co najistotniejsze w tym badaniu i stanowi jego unikalną wartość, Doktorantka zidentyfikowała również najczęstsze błędy terapeutyczne popełniane przez klinicystów po uzyskaniu wyniku testu molekularnego. Jak sugeruje Kandydatka, błędy te wynikały zapewne z

niewłaściwej interpretacji wyników i niechęci do deeskalacji leczenia empirycznego przed uzyskaniem antybiogramu. Spostrzeżenia te mają bardzo ważne implikacje praktyczne wykraczające poza ośrodek, w którym prowadzono badania. Dowodzą, że sama implementacja nawet najlepszego testu diagnostycznego nie musi przekładać się na właściwe decyzje terapeutyczne. Aby uzyskać większą korzyść z przyspieszenia diagnostyki mikrobiologicznej zakażeń wskazane byłyby zapewne: inna prezentacja wyniku badania molekularnego, tak by zawierał sugestie dotyczące aktywności antybiotyków i opcji leczenia oraz większy udział mikrobiologa klinicznego lub zespołu szpitalnej polityki antybiotykowej przy podejmowaniu decyzji dotyczących wyboru optymalnego leczenia.

Odnosnie samej publikacji (P3) mam dwie uwagi:

1. Dość zaskakujące wydaje mi się zalecenie Zespołu ds. Szpitalnej Polityki Antybiotykowej, aby w zakażeniach krwi wywoływanych przez pałeczki *Enterobacterales* wytwarzające metalo-beta-laktamazy stosować kolistynę z aminoglikozydem (tabela 2). Czy Doktorantka mogłaby się odnieść do tego zalecenia uwzględniając własne dane na temat aktywności innych leków oraz wyniki badań innych autorów dotyczące śmiertelności w tych zakażeniach w zależności od zastosowanego leczenia?
2. W dyskusji w publikacji pojawia się informacja o analizowanych przez Doktorantkę zakażeniach łożyska („placental infections”) o etiologii *Enterococcus*. Z opisu badania nie wynika, by takie zakażenia były uwzględniane.

Mgr N. Slabisz zaprezentowała uzyskane wyniki w osobnym rozdziale, co jest bardzo dobrym zabiegiem porządkującym i zwiększającym przejrzystość rozprawy. W mojej opinii jednak wyniki powinny być bardziej szczegółowe, tj. zawierać np. wartości liczbowe, a nie tylko wartości *p*. W tej części występuje też pewna rozbieżność w stosunku do danych z publikacji P3 (Etiologia *Enterococcus faecalis* 12%, *Enterococcus faecium* 7%, a w publikacji P3 odpowiednio – 9% i 6%).

W krótkim podsumowaniu stanowiącym rodzaj dyskusji Doktorantka odniosła się do wyników innych autorów. Część ta zawiera bardzo ważny element, tj. kierunki przyszłych badań. Szkoda natomiast, że Kandydatka nie zaakcentowała mocnych i słabych stron swoich badań. Analiza ograniczeń znalazła się jedynie w publikacji P2. W tym podrozdziale w kilku miejscach zabrakło również cytowania piśmiennictwa (w znacznej części ostatniego akapitu).

Pracę kończy 9 wniosków, ale do dwóch z nich mam pewne zastrzeżenia:

Wniosek pierwszy wydaje się zbyt ogólny. Mógłby się odnosić do pacjentów uwzględnionych w badaniach Doktorantki, a nie do etiologii zakażeń krwi (BSI) w innych grupach chorych. Ponadto z

danych przedstawionych w publikacji P1 wynika, że drugim lub trzecim (w zależności od okresu) czynnikiem etiologicznym BSI były gronkowce koagulazo-ujemne (CoNS), pominięte we wniosku. Z kolei w publikacji P3 rzeczywisty udział poszczególnych drobnoustrojów w zakażeniach krwi jest trudny do oceny ze względu na niejasną (nie opisaną szczegółowo) kwalifikację do wykonania PCR w przypadku dodatniego posiewu krwi (znacznie niższy niż w publikacji P1 udział CoNS sugeruje pewną selekcję przy podejmowaniu decyzji o przeprowadzeniu testu PCR).

Wniosek siódmy jest nieco nieprecyzyjny, ponieważ Doktorantka nie oceniała czasu podjęcia właściwej decyzji terapeutycznej (wdrożenia optymalnego leczenia) w zależności od zastosowanej metody diagnostycznej. Oceniała czas uzyskania wyniku badania mikrobiologicznego i tu zaobserwowała duże różnice pomiędzy metodami, ale moment uzyskania wyniku nie jest tożsamy z interwencją leczniczą. Poza tym analizowała, czy po uzyskaniu wyniku badania molekularnego modyfikowano leczenie zgodnie z zaleceniami szpitalnej polityki antybiotykowej, nie wiadomo jednak jaki przedział czasu od uzyskania wyniku do interwencji uznano za akceptowalny.

W mojej opinii, powyższe wnioski wymagają przeformułowania, tak by precyzyjniej odnosiły się do uzyskanych wyników.

Rozprawa została przygotowana starannie, w sposób przejrzysty i poprawnie językowo. Zawiera wszystkie niezbędne elementy i uwzględnia aktualne piśmiennictwo. Wszystkie wyżej wymienione uwagi krytyczne mają wyłącznie charakter porządkowy, nie wpływają natomiast na ogólną wartość pracy, którą oceniam wysoko zarówno pod względem merytorycznym jak i metodologicznym.

W podsumowaniu stwierdzam, że rozprawa doktorska mgr Natalii Słabisz spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce. Wchodzące w jej skład publikacje o charakterze prac oryginalnych są spójne tematycznie, zostały zaprezentowane w czasopiśmie międzynarodowym o wysokim współczynniku oddziaływania (łączny IF 12,7, punktacja MEIN 310), a przedstawione w nich wyniki mają zarówno wartość poznawczą jak i ogromne znaczenie praktyczne - poszerzają naszą wiedzę na temat aktualnych możliwości diagnostycznych i terapeutycznych zakażeń inwazyjnych w Polsce.

Składam zatem wniosek do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauki Farmaceutyczne Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu o dopuszczenie mgr Natalii Słabisz do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Podpis jest prawidłowy

Dokument podpisany przez
KATARZYNA OZIERŻANOWSKA-
FANGRAT
Data: 2024.09.03 15:05:50 CEST