



UNIwersytet Medyczny w Lublinie
Wydział Farmaceutyczny

KATEDRA I ZAKŁAD MIKROBIOLOGII FARMACEUTYCZNEJ

ul. dr W. Chodźki 1, 20-093 Lublin; tel. (fax) 81-448-71-00

Lublin, 28 sierpnia 2024 r.

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Natalii Słabisz

Opartej o monotematyczny cykl prac i zatytułowanej „Epidemiologia i diagnostyka zakażeń krwi u pacjentów hospitalizowanych, wpływ nowoczesnych technik diagnostycznych na wykrycie czynnika etiologicznego i antybiotykoterapię – analiza jednoosrodkowa”, wykonanej w Katedrze i Zakładzie Mikrobiologii Farmaceutycznej i Parazytologii Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu pod kierunkiem dr hab. n. farm. Urszula Nawrot i dr hab. n. farm. Ruth Dudek-Wicher.

Zakażenia układowe, w tym zakażenia łożyska naczyniowego (BSI, ang. bloodstream infections), są ważnym problemem, z którym boryka się wielu pacjentów i pracowników ochrony zdrowia. Są one trudne w leczeniu, a drobnoustroje, które przyczyniają się do ich powstawania, często cechują specyficzne właściwości, w tym duże zdolności adaptacyjne oraz znacząca i ciągle narastająca lekooporność/wielolekooporność. Diagnostyka zakażeń krwi/łożyska naczyniowego wymaga dużych umiejętności i wiedzy w zakresie wykonania i interpretacji oraz praktycznego zastosowania otrzymanych danych. Jest to ważny problem, zwłaszcza wobec pojawiania się nowych lub zmienionych przez różne czynniki patogenów, w tym oportunistycznych. Poszukiwanie skutecznych metod ułatwiających diagnostykę infekcji i zwalczanie dynamicznie zmieniających się biologicznych czynników etiologicznych jest jednym z kluczowych kierunków badań współczesnej medycyny i farmacji oraz zawodów powiązanych.

Uważam, że przedstawiona do recenzji rozprawa pani Natalii Słabisz wpisuje się w aktualne trendy badawcze i uwzględnia praktyczne zastosowanie otrzymywanych danych w placówkach służby zdrowia celem diagnostyki różnych schorzeń, głównie zakażeń łożyska naczyniowego, i leczenia pacjentów m.in. w przebiegu chorób infekcyjnych i rozwiązywania powiązanych z tym problemów. Mieści się ona w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki farmaceutyczne.

Podstawą rozprawy doktorskiej jest cykl spójnych tematycznie trzech oryginalnych prac naukowych o sumarycznym współczynniku wpływu (IF₂₀₂₂₋₂₀₂₃) - 12.7 i punktacji MNiSW – 310, wykonanych w Katedrze i Zakładzie Mikrobiologii Farmaceutycznej i Parazytologii

Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu i opublikowanych w latach 2023-2024 w czasopiśmie o zasięgu międzynarodowym:

P1 - Słabisz N, Dudek-Wicher R, Leśnik P, Majda J, Kujawa K, Nawrot U. Impact of the COVID-19 pandemic on the epidemiology of bloodstream infections in hospitalized patients — experience from a 4th Military Clinical Hospital in Poland. *Journal of Clinical Medicine*. 2023; 12(18):5942. <https://doi.org/10.3390/jcm12185942> (IF₂₀₂₃: 3.9, MNiSW 140),

P2 - Słabisz N, Leśnik P, Janc J, Fidut M, Bartoszewicz M, Dudek-Wicher R, Nawrot U Evaluation of the in vitro susceptibility of clinical isolates of NDM-producing *Klebsiella pneumoniae* to new antibiotics included in a treatment regimen for infections. *Frontiers in Microbiology*. 2024; 15:1331628. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1331628> (IF₂₀₂₂: 5.2, MNiSW 100),

P3 - Słabisz N, Leśnik P, Żybura-Wszola K, Dudek-Wicher R, Nawrot U, Majda J. Assessing the interpretation of molecular test results in the diagnosis of bloodstream infections. *Diagnostics*. 2024; 14(9):915. <https://doi.org/10.3390/diagnostics14090915> (IF₂₀₂₂: 3.6, MNiSW 70).

W udostępnionych do recenzji materiałach po „Wykazie publikacji ...” (P1-P3) zostały umieszczone następujące rozdziały: „Streszczenie” w języku polskim oraz „Abstract” w języku angielskim, „Cele pracy”, „Metodyka badań” z podziałem na poszczególne publikacje, „Wyniki”, „Podsumowanie”, „Wnioski”, „Literatura” (33 pozycje literaturowe). Do rozprawy dołączono oświadczenia określające indywidualny wkład każdego ze Współautorów w powstawanie publikacji i zgody na ich wykorzystanie w monografii będącej rozprawą doktorską. Załączono również wykaz publikacji pani mgr Natalii Słabisz opracowany przez Dział Bibliografii i Bibliometrii BG UMW, zgodnie z którym Doktorantka jest współautorką sześciu publikacji (w tym trzech stanowiących podstawę rozprawy doktorskiej): pięciu w czasopiśmie z listy filadelfijskiej o łącznym IF wg punktacji z 2022 r. = 22,00 pkt. i jednej spoza tej listy (łącznie 485 pkt MNiSW).

Do monografii włączone zostały również kopie trzech publikacji stanowiących podstawę rozprawy doktorskiej. Dwie z nich (P1 i P3) zostały opublikowane przez wydawnictwo MDPI (Multidisciplinary Digital Publishing Institute) w 2023 r. i 2024 r., jedna (P2) przez Frontiers Media SA w 2024 r. Łączny IF ww. publikacji wynosi 12,7 (w tym dla dwóch – P2 i P3 - wg punktacji z 2022 r. i jednej – P1- wg punktacji z 2023 r.). We wszystkich publikacjach Doktorantka jest pierwszym autorem i autorem korespondencyjnym. Doktorantka umieściła również informację na temat udziału własnego w uzyskaniu celów badawczych. Był on wiodący w zakresie koncepcji pracy, pozyskiwania i opracowywania danych, a także w przygotowaniu manuskryptów. Publikacje wykorzystane do rozprawy doktorskiej zostały już ocenione i z tego względu nie są przedmiotem recenzji, jednak przedstawione w nich wyniki mają bardzo duży aspekt praktyczny i wartość merytoryczną.

W części opisowej Pani Słabisz przedstawiła zagadnienia, którymi zajmowała się podczas realizacji zadań badawczych. Celem pracy była analiza wywołanych przez pandemię COVID-19 zmian w epidemiologii zakażeń łożyska naczyniowego i ocena narastania oporności drobnoustrojów, w tym patogenów oportunistycznych, na antybiotyki. Zostały przedstawione dane na temat wpływu różnych czynników, w tym hospitalizacji z powodu COVID-19 oraz

stosowanej terapii, na występowanie zakażeń łożyska naczyniowego u pacjentów hospitalizowanych w 4. Wojskowym Szpitalu Klinicznym we Wrocławiu w latach 2018-2022 oraz cechy, w tym lekowrażliwość na poziomie fenotypowym i genotypowym, bakterii najczęściej będących czynnikami etiologicznymi tych zakażeń. Wyniki zostały przedstawione w sposób bardzo syntetyczny. Rezultaty przedstawione w publikacjach są ze sobą powiązane, stanowią chronologiczny układ, gdzie praca P1 uzasadnia wybór tematyki doktoratu, kolejne (P2-P3) wskazują na konkretne następstwa występowania pandemii (np. wzrost przypadków zakażeń łożyska naczyniowego w czasie pandemii, narastanie lekooporności, występowanie lekooporności na wyższym i istotnym statystycznie poziomie, zwłaszcza wśród patogenów z grupy *Enterobacterales*, szczególnie *Escherichia coli* i *Klebsiella pneumoniae*, w tym NDM-pozytywnych, oraz gronkowców, głównie *Staphylococcus aureus* metycylinoopornych – MRSA i -wrażliwych - MSSA). Nawiązano również do znaczenia podstawowych parametrów diagnostycznych ocenianych u pacjentów, a także decyzji terapeutycznych podejmowanych przez lekarzy, zgodnie z rekomendacjami Szpitalnej Polityki Antybiotykowej. Wyniki przedstawione w pracach poddawano analizie statystycznej z użyciem programu Statistica 13.3 i odpowiednich testów statystycznych.

Przeprowadzona analiza wykazała wzrost zapadalności na zakażenia łożyska naczyniowego w okresie pandemii COVID-19, zwłaszcza wśród pacjentów zakażonych wirusem SARS-CoV-2. Oceniono wpływ zakażenia wirusem SARS-CoV-2 na morfologię krwi oraz na poziom parametrów zapalnych takich jak białko C-reaktywne czy prokalcytonina, podjęto próbę ewaluacji przydatności tych wskaźników w predykcji wystąpienia wtórnej infekcji bakteryjnej w przebiegu zakażenia wirusowego. W publikacji P2 zwrócono uwagę na znaczący wzrost częstości występowania drobnoustrojów, szczególnie *K. pneumoniae* (60 izolatów klinicznych) wytwarzających karbapenemazę typu NDM, opornych na antybiotyki, w tym nowej generacji. Na zwiększoną częstość występowania bakterii (wielo)lekoopornych miało wpływ niekontrolowane, nadmierne i często nieuzasadnione stosowanie antybiotyków i innych środków przeciwdrobnoustrojowych oraz nieprzestrzeganie procedur związanych z kontrolą zakażeń. Wykonane przez mgr Słabisz badania wykazały dobrą skuteczność *in vitro* cefiderokolu, erawacykliny, tygecykliny oraz skojarzenia ceftazydym/awibaktam z aztreonamem wobec tych bakterii, co ma istotne znaczenie terapeutyczne. Cenna jest informacja dotycząca różnic we wrażliwości badanych drobnoustrojów na fosfomicynę w zależności od zastosowanej metody oznaczenia. Wyniki przedstawione w publikacji P3 uzyskane na podstawie analizy materiałów diagnostycznych pobranych od 118 pacjentów hospitalizowanych w latach 2021-2022, u których prowadzono rutynową hodowlę krwi i wykorzystywano metody z zakresu biologii molekularnej, potwierdziły spostrzeżenia na temat przydatności i efektywności stosowanych metod diagnostycznych w procesie diagnostycznym i terapeutycznym.

Dane uzyskane przez Panią Słabisz, opracowane zarówno w oparciu o dokumentację medyczną jak badania własne, potwierdziły wpływ pandemii COVID-19 i podejmowanych w związku z nią działań na przebieg zakażeń łożyska naczyniowego i na izolowane z nich czynniki etiologiczne oraz konieczność używania metod fenotypowych w połączeniu z molekularnymi celem diagnostyki pacjentów zakażonych (nie zarażonych!) SARS-CoV-2. Podobnie zastosowanie badań fenotypowych i PCR pozwoliło na ocenę różnic we wrażliwości

na antybiotyki u bakterii izolowanych od pacjentów z COVID-19 i u osób hospitalizowanych z innych powodów. Tym samym Doktorantka uzasadniła konieczność stosowania fenotypowych i molekularnych metod diagnostycznych w celu prawidłowej identyfikacji czynników etiologicznych zakażeń oraz określenia lekowrażliwości. Wykazane zostało, że zastosowanie tych metod przyspiesza diagnostykę oraz pozwala na personalizację leczenia. Przekłada się to bezpośrednio na wdrożenie w możliwie najkrótszym czasie terapii lub modyfikację już zastosowanego schematu leczenia, ma także istotny aspekt praktyczny w kontekście leczenia pacjenta oraz ekonomiczny i epidemiologiczny w odniesieniu m.in. do liczby i ilości używanych preparatów oraz środków przeciwdrobnoustrojowych. Może to znacząco wpłynąć na inne obszary związane z ochroną zdrowia, w tym na ograniczenie rozprzestrzeniania lekooporności i selekcji szczepów opornych, obniżenie kosztów leczenia (pomimo nieco wyższych nakładów na diagnostykę) i całkowitych kosztów pobytu pacjenta w szpitalu, a także szybszy powrót ozdrowieńców np. do aktywności zawodowej.

Doktorantka zwróciła uwagę, że metody molekularne wykorzystywane w diagnostyce zakażeń łożyska naczyniowego umożliwiają szybsze podjęcie optymalnych decyzji terapeutycznych i podjęcie skutecznej antybiotykoterapii, jednak wyniki testów PCR często nie są poprawnie interpretowane, co powoduje, że optymalizacja leczenia jest możliwa dopiero po uzyskaniu klasycznego wyniku badania mikrobiologicznego.

Moja ocena pracy jest bardzo wysoka. Uważam, że zadania badawcze sformułowane w temacie pracy dotyczą wielu zagadnień szczegółowych z zakresu ochrony zdrowia, farmacji, mikrobiologii oraz epidemiologii. Podczas realizacji pracy doktorskiej, pani mgr Natalia Słabisz poruszała się w zakresach tematycznie związanych z działalnością naukową i praktycznymi aspektami potencjalnych zastosowań rezultatów uzyskiwanych przez zespół badaczy w Katedrze i Zakładzie Mikrobiologii Farmaceutycznej i Parazytologii Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu. Pracę badawczą wykonywała pod okiem specjalistów o bardzo dużej wiedzy na temat mikroorganizmów istotnych dla efektywności leczenia pacjenta lub eradykacji drobnoustrojów.

Ze względu na przyjęty obowiązek, jako recenzent czuję się w obowiązku do postawienia pytań czy sformułowania uwag:

Zgodnie z zaleceniami producenta, wartości MIC uzyskane metodą rozcieńczeń w agarze z użyciem testu komercyjnego AD Fosfomicyn 0.25-256 (Liofilchem, Włochy) można interpretować zarówno na podstawie zaleceń EUCAST jak i CLSI. Czy istnieje zagrożenie, że wskazane przez producenta testu zasady odczytu wartości MIC z pominięciem niektórych form lub typów wzrostu albo w przypadku pojedynczych kolonii nie wpłynie na selekcję i pominięcie szczepów opornych, które mogłyby stanowić zagrożenie dla pacjenta i przyczyniać się do braku sukcesu terapeutycznego? Jakie wnioski wyciągnęła Doktorantka z doświadczeń własnych? Czy i jakie wyniki uzyskano dla bakterii rosnących w obecności fosfomicyny jako pojedyncze kolonie i czy były one również badane i analizowane pod kątem oporności na czynniki przeciwdrobnoustrojowe na poziomie fenotypowym i molekularnym? Która z metod oceny wrażliwości na fosfomicynę powinna być rekomendowana w placówkach służby zdrowia, zwłaszcza w przypadku zakażeń krwi, szczególnie u pacjentów, u których występują infekcje wirusowe czy inne choroby towarzyszące lub powikłania?

Skróty – powinny być wyjaśniane po pierwszym użyciu (np. NDM, MRSA, MSSA itd.).

Terminologia – w pracach naukowych należy unikać wyrażen używanych roboczo, skrótów myślowych lub terminów niezgodnych z definicjami, m.in. w przypadku wirusów i bakterii mówimy o zakażeniu, nie o zarażeniu (s. 9: „...zwłaszcza u pacjentów zarażonych wirusem SARS-CoV-2...”

Reasumując, jednoznacznie stwierdzam, że przedstawiona do oceny rozprawa doktorska Pani Natalii Słabisz stanowi ważną dla środowiska medycznego próbę kompleksowej oceny sytuacji epidemiologicznej związanej z zakażeniami łożyska naczyniowego i czynnikami etiologicznymi tych infekcji w następstwie pandemii COVID-19 oraz wskazuje na przydatność zarówno metod fenotypowych jak i technik molekularnych w procesie diagnostycznym i podczas podejmowania decyzji terapeutycznych pod warunkiem prawidłowej interpretacji uzyskiwanych danych. Przedstawione w pracach dane mają bardzo duże znaczenie poznawcze i praktyczne. Ze względu na konieczność standaryzacji nowych metod diagnostycznych oraz ich przydatność kliniczną i potencjalne zastosowanie w opracowaniu procedur diagnostycznych opartych na aktualnej wiedzy i możliwościach technicznych, badania prowadzone przez p. Słabisz zasługują na uwagę i powinny być kontynuowane.

Konkluzja

Podsumowując stwierdzam, że przedstawiona do oceny rozprawa doktorska autorstwa mgr Natalii Słabisz spełnia warunki określone w art. 187 ust. 1 i 2 ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce” (Dz.U. z 2018 r. poz. 1668 ze zm.). Wnoszę do Rady Dyscypliny Nauki Farmaceutyczne Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu o dopuszczenie rozprawy pani mgr Natalii Słabisz do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia naukowego doktora.

Z wyrazami szacunku,

dr hab. n. farm. Urszula Kosikowska
profesor UM
Urszula Kosikowska
Katedra i Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej
Uniwersytet Medyczny w Lublinie