



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 7.06.2021

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Marty Kłos, pt.:

**„Zakażenia krwi o etiologii Enterobacteriaceae u hospitalizowanych osób dorosłych
w Polsce południowej – wybrane aspekty”.**

Zakażenia szpitalne są poważnym problemem wpływającym nie tylko na przebieg leczenia pacjentów, ale również na rokowanie. Temat ten jest złożony i dotyczy różnego stopnia ryzyka wystąpienia, na co ma wpływ szereg czynników nakładających się na chorobę podstawową i stan ogólny pacjenta. Posiadanie wejścia dożylnego, szczególnie do naczyń centralnych, posiadanie linii tętniczej, cewnika do pęcherza moczowego, cewnika dializacyjnego czy stan intubacji, są związane z ryzykiem zakażenia bakteryjnego, które może stać się przyczyną zakażenia krwi i w następstwie tego sepsy. Dodatkowo u chorych poddanych zabiegom chirurgicznym istnieje ryzyko zakażenia miejsca operowanego, co również jest związane z zagrożeniem translokacji bakteryjnej do krwioobiegu. Niezależnie od wyjściowej przyczyny hospitalizacji wspólnym mianownikiem dla wszystkich pacjentów, u których dochodzi do zakażenia krwi czy to florą endogenną czy patogenami szpitalnymi, jest zwiększenie ryzyka śmiertelności. Kluczowym elementem leczenia jest antybiotykoterapia celowana, która może być włączona dopiero po uzyskaniu antybiogramu. Wnikliwa analiza czynników chorobotwórczych na danym oddziale czy w danym regionie kraju pozwala na zwiększenie szans trafionego zastosowania antybiotyku w momencie podejrzenia zakażenia krwi a zatem kilkadziesiąt godzin wcześniej niż uzyskanie wyniku posiewu i lekowrażliwości na zidentyfikowany szczep bakterii.

Wczesna i skuteczna antybiotykoterapia zwiększa szansę na zwalczenie zakażenia i zmniejsza ryzyko rozwoju sepsy. W związku z tym, temat niniejszej rozprawy doktorskiej uważam za bardzo wartościowy.

Przedłożona rozprawa doktorska „Zakażenia krwi o etiologii Enterobacteriaceae u hospitalizowanych osób dorosłych w Polsce południowej – wybrane aspekty” ma typowy układ i obejmuje 98 stron. Praca została napisana przejrzysto, jest jasna i zrozumiała. Doktorantka wzbogaciła pracę o wykaz skrótów stosowanych w pracy, umieszczony

przed spisem treści, co bardzo ułatwiło studiowanie rozprawy. Monografia zawiera wstęp, cel pracy, materiał i metody, wyniki, dyskusję, wnioski końcowe i streszczenie w języku polskim i angielskim. Część końcowa monografii zawiera spis tabel, spis rycin oraz piśmiennictwo.

Wprowadzenie do pracy obejmuje 25 stron i zawiera wstęp, rozdział o zakażeniach krwi u dorosłych, rozdział o lekooporności drobnoustrojów oraz o identyfikacji gatunkowej metodą MALDI-TOF MS. „**Wstęp**” pracy i rozpoczyna się wartościową charakterystyką najważniejszych klinicznie bakterii z rodziny *Enterobacteraceae*, z uwzględnieniem ich patotypów, opisem ich czynników zjadliwości oraz mechanizmów chorobotwórczości. Wiedza opisująca poszczególne pałeczki jest przekazana w sposób jasny i ujmując wszystkie istotne kliniczne aspekty. W rozdziale tym jedynie:

- na stronie 9 w 13 linii od dołu zdanie opisujące szczep *Vibrionacea* wymaga korekty językowej.
- na stronie 18 w 4 linii od dołu proponuję w zdaniu „... tworzenia się kamieni nerkowych czy trwałego uszkodzenia nerek, co prowadzi do sepsy” usunąć sformułowanie „co prowadzi do sepsy”, gdyż sepsa może spowodować uszkodzenie nerek albo uszkodzenie nerek może towarzyszyć sepsie. Niuans ten może być wychwycony jedynie przez klinicystę, dlatego uwaga nie może wpływać na ocenę pracy.

Rozdział o zakażeniach krwi u dorosłych, który może być traktowany jako kontynuacja wstępu lub część rozbudowanego wprowadzenia do pracy. Przedstawienie problemu zakażeń szpitalnych, z podkreśleniem wysokiej śmiertelności, wydłużenia hospitalizacji i zwiększenia kosztów leczenia podkreśla wysoką wartość wytyczonego później celu pracy. W rozdziale tym doktorantka opisuje zwięźle definicje pierwotnego i wtórnego zakażenia krwi, sepsy klinicznej, najczęstsze przyczyny, kroki diagnostyczne przy podejrzeniu zakażenia krwi związanego z wejściem centralnym oraz profilaktykę.

Następna część wprowadzenia to rozdział o lekooporności drobnoustrojów. Jest to konieczne dopełnienie wiedzy mikrobiologicznej, w którym doktorantka na 5 stronach przedstawia mechanizmy oporności drobnoustrojów z podziałem na oporność naturalną i nabytą. Doktorantka w przejrzysty sposób tłumaczy genetyczne podstawy oporności na antybiotyki z uwzględnieniem działania beta-laktamaz i karbapenemaz. W pracy zostały podane liczne przykłady mechanizmów oporności pałeczek *Enterobacteriaceae* uwarunkowanych obecnością genów plazmidowych, mutacji czy transferu genów. Doktorantka podkreśla również istotne przyczyny tych mutacji do jakich należą promieniowanie UV, środki chemiczne a w szczególności same antybiotyki co powoduje dużą zmienność oporności szczepów pomiędzy szpitalami, krajami o kontynentami. Wiedza przekazana przez doktorantkę w tej części pracy w jasny sposób podkreśla konieczność analizy patogenów danego oddziału szpitalnego i w podtekście ograniczone zastosowanie powielania schematów leczenia z odległych ośrodków bez prowadzenia takich badań.

Kolejnym rozdziałem rozprawy jest opis identyfikacji gatunkowej metodą MALDI-TOF MS

W rozdziale „**Materiały Metody**”, który obejmuje 9 stron manuskryptu, doktorantka opisuje szczegółowo zagadnienia charakterystyki i identyfikacji badanych szczepów na tle analizowanej epidemiologii i wytwarzanej przez bakterie lekooporności i wirulencji na tle fenotypowego oznaczania lekooporności.

„**Wyniki**” pracy, przedstawione na 23 stronach manuskryptu, obejmują analizę etiologiczną, epidemiologiczną, wirulencji i szeroką analizę lekooporności. Wyniki przedstawiają również analizę wykazanych mechanizmów oporności w badanych szczepach oraz wyniki genotypowania służącego do wykazania zakażeń wywołanych szczepami należącymi do tego samego klonu. Przedstawione wyniki obejmują

wyszczególnione trzy badane środowiska szpitalne, którymi były oddziały internistyczne, zabiegowe i oddziały intensywnej terapii. Wyniki przedstawione są przejrzysto w tabelach, które wykazują stwierdzoną lekooporność na poszczególne grupy antybiotyków wśród najczęściej występujących patogenów szpitalnych. Wartościowym dopełnieniem zobrazowania uzyskanych przez doktorantkę wyników badań genetycznych jest zamieszczenie dendrogramu podobieństwa szczepów *Klebsiella Pneumonie*, uzyskanych z posiewu krwi, do czego posłużyło badanie elektroforezy w zmiennym polu elektrycznym.

„**Dyskusja**” obejmująca 7 stron manuskryptu, porusza wszystkie istotne aspekty analizowanego tematu. Dyskusja podkreśla wysoką wartość pracy doktorskiej wynikającej z jej możliwości a nawet konieczności zastosowania w codziennej pracy oddziałów szpitalnych. Nie chodzi tu o zastosowanie konkretnego schematu antybiotykoterapii, ale o podkreślenie ogromnej zmienności flory bakteryjnej, jej dynamiki i różnorodności nawet pomiędzy oddziałami jednego szpitala. W ocenie klinicysty przedstawiona praca doktorska ta jest bardzo wartościowym narzędziem, które podkreśla ogromnie ważny aspekt konieczności stałych badań mikrobiologicznych danych oddziałów i szpitali. Wyniki takich badań pozwalają na monitorowanie i kontrolowanie flory bakteryjnej oddziału szpitalnego jak i na opracowanie wewnętrznych schematów wdrażania antybiotykoterapii w przypadku podejrzenia sepsy do momentu uzyskania wyników badań bakteriologicznych, gdyż ten okres może warunkować przeżycie pacjenta. Zastosowanie cytowanych publikacji zagranicznych może być zagrożeniem dla pacjentów, jeżeli nie dokona się analizy bakteriologicznej danego środowiska oddziału, w którym ci pacjenci są leczeni. Przedstawiona rozprawa doktorska podkreśla ten ogromnie ważny aspekt kliniczny konieczności badań i konstruowania indywidualnego schematu leczenia wczesnych objawów budzących podejrzenie sepsy.

W rozdziale „**Wyniki końcowe**” omówione są prawie wszystkie, ale nie wszystkie podpunkty celów pracy, natomiast w rozdziale „**Streszczenia**” omówione są wszystkie cele pracy, dlatego proponuję powielenie treści dotyczących badań genetycznych z rozdziału Straszanie do rozdziału Wyniki końcowe.

Oceniam wysoko wartość merytoryczną pracy doktorskiej mgr Marty Kłós i podkreślam wagę poruszonego tematu. Praca doktorantki dowodzi na konieczność konstruowania schematu wczesnej antybiotykoterapii na podstawie analizy spektrum mikrobiologicznego danego oddziału i wykazuje różnice pomiędzy środowiskami szpitalnymi. Praca doktorska mgr Marty Kłós będzie wartościowym narzędziem w rękach klinicystów.

Praca spełnia wszystkie wymogi stawiane pracom doktorskim i warunki pracy doktorskiej określone w artykule 13.1 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 Wysokiej Radzie Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego o dopuszczenie mgr Marty Kłós do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Dr hab. n. med. Anna Chrapusta