



Zmienność czynników etiologicznych i coraz większa oporność bakterii wywołujących zakażenia układu moczowego na stosowane powszechnie w leczeniu chemioterapeutyki i antybiotyki w przypadku pacjentów pediatrycznych, szczególnie w warunkach szpitalnych wymaga wypracowania standardów terapii i profilaktyki popartych wnikliwymi badaniami lokalnej populacji. Celem pracy doktorskiej mgr Agnieszki Serafickiej była ocena etiologii zakażeń układu moczowego u dzieci hospitalizowanych w III-rzędowym ośrodku referencyjnym w pediatrii, ocena różnic w lekowrażliwości flory bakteryjnej wywołującej zakażenia układu moczowego w zależności od profilu klinicznego oddziału, wskazanie czynników ryzyka zakażenia układu moczowego florą wykazującą wysoką oporność na standardowo stosowane antybiotyki oraz ocena profilu flory bakteryjnej w zakażeniach układu moczowego w zależności od wieku, płci pacjenta i współistnienia wady wrodzonej w obrębie układu moczowego. Dodatkowym atutem pracy było podjęcie przez Doktorantkę próby aplikacji otrzymanych wyników dla celów klinicznych, tj. dla zaplanowania optymalnej terapii empirycznej zakażeń układu moczowego w zależności od specyfiki oddziału, szczególnie w kontekście pacjentów ze zidentyfikowanymi czynnikami ryzyka.

Układ rozprawy doktorskiej jest typowy dla prac o charakterze doświadczalnym. Dysertacja jest klasycznym opracowaniem liczącym 170 stron. Konstrukcję pracy doktorskiej oparto na 7 głównych rozdziałach zawierających wstęp, cel badania, szczegółowo opisane materiały i metody oraz zastosowane procedury, wyniki badań, ich dyskusję, implikacje kliniczne, wnioski, oraz wykazie stosowanych skrótów, streszczenia w j. polskim i angielskim, spisu rycin i tabel, piśmiennictwa. Poszczególne rozdziały pracy są logiczne, prawidłowo ułożone i stanowią kompleksową całość. W pracy zamieszczono 8 rycin oraz 27 tabel. Dobór piśmiennictwa jest prawidłowy i obejmuje najważniejsze pozycje literaturowe z zakresu prowadzonych badań. W pracy zacytowano 139 publikacji naukowych. Proporcje poszczególnych części pracy są adekwatne do charakteru pracy, a uzyskane wyniki zinterpretowano i przedyskutowano prawidłowo. Od strony formalnej praca nie budzi zastrzeżeń. Tytuł pracy koresponduje z wyznaczonym celem i treścią rozprawy. Wstęp stanowi bardzo dobre wprowadzenie w zakres planowanych badań, nakreślając w zarysie genezę powstania pracy. Przegląd literatury oparty o aktualne i ważne publikacje stanowi niezwykle istotny wkład w pracę oraz potwierdza właściwość zaplanowanych badań.

We wstępie Doktorantka obszernie przedstawia charakterystykę zakażeń układu moczowego opisując zarówno częstość występowania zakażeń, czynniki im sprzyjające oraz rodzaje i obraz kliniczny zakażeń. Doktorantka wyczerpująco opisała czynniki etiologiczne w zakażeniach układu moczowego ze szczególnym uwzględnieniem uropatogennych szczepów *Escherichia coli*, łącznie z ich czynnikami wirulencji. Cały podrozdział poświęcony został diagnostyce zakażeń układu moczowego, co w przypadku pacjenta pediatrycznego, zazwyczaj niewspółpracującego, pokazuje wartość standardów wypracowanych dla tej grupy badanej, a mających bezpośrednie przełożenie na jakość uzyskiwanych wyników leczenia. Doktorantka podnosi problem profilaktyki i szeroko omawia standardy leczenia farmakologicznego w zakażeniach układu moczowego z uwzględnieniem głównych przyczyn lekooporności szczepów w ZUM.



Cele badania zostały sformułowane jasno, są bardzo aktualne i mają duże wartości praktyczne. W przypadku pacjentów pediatrycznych, gdzie zakażenie może szybko doprowadzić do ciężkiego stanu ogólnoustrojowego, zwiększenie skuteczności terapii ma kluczowe znaczenie. Przedłożone założenia przyczynią się do zmniejszenia zużycia antybiotyków i/lub, chemioterapeutyków, zawężenia spektrum ich działania oraz obniżenia kosztów antybiotykoterapii poprzez ograniczenie stosowania preparatów szerokopofilowych i wprowadzenie leczenia sekwencyjnego.

Część doświadczalna pracy obejmuje przedstawione przez Doktorantkę materiały i metody wykorzystane podczas badań. W rozdziale „Materiały i metody” Autorka dokładnie opisuje wyniki badań mikrobiologicznych moczu i dokumentacji medycznej dzieci hospitalizowanych w Instytucie „Centrum Zdrowia Matki Polki” w okresie od 1 kwietnia 2012r. do 1 kwietnia 2014r. i stosowane metody badawcze. Na podkreślenie zasługuje fakt, iż podstawą analizy były wyniki aż 5478 próbek moczu pozyskanych w wyżej wymienionym okresie, z których to po końcowej weryfikacji, do ostatecznej analizy zakwalifikowano 515. Zastosowane kryteria kwalifikacyjne pozwolimy rzetelnie oddać skalę problemu, jakim są zakażenia układu moczowego w puli hospitalizowanych pacjentów pediatrycznych.

W rozdziale „Wyniki” Doktorantka przedstawia zestawienie czynników etiologicznych wywołujących zakażenia układu moczowego oddzielnie dla oddziałów pediatrycznych, oddziałów intensywnej terapii, oddziału Nefrologii dla Dzieci i Kliniki Chirurgii Dziecięcej i Urologii, kategoryzując pacjentów w trzech grupach wiekowych (do 1 roku życia, 1-3 rok życia, powyżej 3 roku życia). Ciekawym ujęciem tematu jest analiza udziału procentowego *Escherichia coli*, *Enterococcus spp.* i *Klebsiella spp.* jako trzech najczęściej izolowanych czynników etiologicznych ZUM w poszczególnych grupach wiekowych. W dalszej części pracy Autorka dokonała porównania czynników etiologicznych ZUM izolowanych na wszystkich rozpatrywanych oddziałach, gdzie kryterium różnicującym był tym razem wiek pacjenta. Ostatnią w pracy analizą związaną z licznością czynników etiologicznych było porównanie i ustalenie istotności statystycznej dla pacjentów z podziałem na płeć pacjenta i obecność wady układu moczowego. Znajomość wyników tych analiz może w znacznym stopniu przyczynić się do bardziej trafnego doboru terapii. W dalszej części pracy Doktorantka przedstawia w postaci czytelnych rycin jak kształtuje się lekowrażliwość *Escherichia coli* na poszczególnych oddziałach, by następnie w postaci jednej tabeli zebrać i poddać analizie statystycznej wszystkie dane. Zaprezentowane w ten sposób wyniki wyraźnie wskazują, które antybiotyki i chemioterapeutyki wykazują największą skuteczność w danej lokalizacji i dla których preparatów wykazano istotne statystycznie różnice. Lekowrażliwość Zakażenia *Escherichia coli* zostały również ocenione na poszczególnych oddziałach w zależności od podziału na grupy wiekowe oraz zestawione z lekowrażliwością pacjentów z wadami układu moczowego. Takie ujęcie tematu wydaje się być szczególnie interesujące dla klinicystów oddziałów nefrologii, urologii i chirurgii pracujących w strukturach ośrodka o III-rzędowym stopniu referencyjności w pediatrii. Doktorantka dokonała także analizy lekowrażliwości dla trzech kolejnych najczęściej izolowanych uropatogenów, tj. dla *Enterococcus spp.*, *Klebsiella spp.* i *Pseudomonas spp.* przedstawiając wyniki zbiorcze w postaci tabel i formie



opisowej w poszczególnych grupach wiekowych z podziałem na oddziały. Wyniki zaprezentowane w pracy są przekonujące i precyzyjnie opracowane. Świadczą o rzetelnym i dokładnym przeprowadzeniu analizy danych, która umożliwiła osiągnięcie kluczowych celów postawionych w pracy. Wyniki zostały podsumowane w rozdziale „Dyskusja”, w którym Doktorantka omawia przedstawione w pracy analizy w konfrontacji z danymi literaturowymi krajowymi i zagranicznymi. W pracy wykorzystano literaturę z dobrych, recenzowanych anglojęzycznych czasopism, traktującą często temat na podstawie badań wielośrodkowych prowadzonych na przestrzeni kilku lat, w tym dotyczące populacji polskiej. Wskazuje to na szeroką wiedzę i przygotowanie merytoryczne do realizacji tematu przez Doktorantkę oraz potwierdza umiejętność korzystania z baz danych, co jest niezwykle ważne dla badacza.

W ocenie merytorycznej realizacji zmierzonych celów pracy należy podkreślić wysmienie zaplanowany oraz przemyślnych proces badawczy, który pozwolił na kompleksowe obserwacje, które w znacznym stopniu przysłużą się do poprawy procesu terapeutycznego. Dzięki wiedzy w zakresie aktywności przeciwbakteryjnej lokalnych szczepów podobne prace mogą się przysłużyć do utworzenia endemicznych map terapeutycznych, które pozwolą dobrać optymalną opcję leczenia zanim poznamy raport z badania mikrobiologicznego, co może mieć kluczowe znaczenie dla zastosowania wyników pracy w praktyce klinicznej.

Należy podkreślić, iż przeprowadzone badania są wynikiem bezpośredniej współpracy Doktorantki Pani mgr Agnieszki Serafickiej z promotorem pracy Panem prof. dr hab. n. med. Marcinem Tkaczykiem i odzwierciedlają wysmieniony poziom naukowy kierowanej przez Pana Profesora jednostki naukowej Zakładu Onkologii Doświadczalnej, Centrum Medycznej Diagnostyki Laboratoryjnej i Badań Przesiewowych Instytutu „Centrum Zdrowia Matki Polki”, tym bardziej że temat pracy jest interesujący, ale bardzo wymagający. Do najważniejszych osiągnięć Doktorantki należy zaliczyć autorskie i nowatorskie wyniki, które doprowadziły do sformułowania następujących wniosków końcowych:

1. Najczęstszymi patogenami wywołującymi zakażenia układu moczowego u dzieci w specjalistycznym szpitalu pediatrycznym są Gram-ujemne pałeczki, głównie *Escherichia coli*, *Klebsiella spp.* oraz enterokoki.
2. Flora wywołująca zakażenia układu moczowego oraz lekowrażliwość wybranych szczepów w wielospecjalistycznym szpitalu pediatrycznym różni się pomiędzy oddziałami o różnych profilach klinicznych.
 - a. na oddziałach intensywnej opieki w profilu uropatogenów dominują *Klebsiella spp.*, *Enterococcus spp.* i *Pseudomonas aeruginosa*.
 - b. odsetek szczepów *Escherichia coli* i *Enterococcus spp.* wrażliwych na standardowo stosowane w terapii antybiotyki jest znacząco wyższy na oddziałach pediatrycznych w stosunku do oddziałów intensywnej opieki.
 - c. odsetek szczepów *Klebsiella spp.* opornych na standardowo stosowane w terapii antybiotyki jest znacząco wyższy na oddziałach intensywnej opieki w stosunku do nefrologicznego.



- d. odsetek szczepów *Pseudomonas aeruginosa* opornych na standardowo stosowane leczenie był podobny w badanych oddziałach.
3. Obecność wady wrodzonej układu moczowego stanowi czynnik ryzyka zakażenia *Pseudomonas aeruginosa*, ale nie wpływa na częstość izolacji *Escherichia coli*.
 4. Płeć pacjenta może predysponować do zakażeń określonymi uropatogennymi do różnej odpowiedzi na antybiotyki jedynie wybranych bakterii.
 - a. *Escherichia coli* istotnie częściej izolowana jest od dziewczynek, zaś *Klebsiella spp.* i *Pseudomonas aeruginosa* od chłopców.
 - b. *Klebsiella spp.* izolowane od dziewczynek wykazują większą wrażliwość na antybiotyki.
 - c. *Escherichia coli* i *Pseudomonas aeruginosa* wykazywał podobną lekowrażliwość niezależnie od płci.

W odniesieniu do otrzymanych wyników chciałbym zwrócić uwagę, iż jednym z celów badania była ocena różnic w lekowrażliwości flory bakteryjnej wywołującej zakażenia układu moczowego w zależności od profilu klinicznego oddziału. Bardzo proszę Doktorantkę o wyjaśnienie, jakie czynniki mogą mieć wpływ na częstszą oporność szczepów izolowanych od pacjentów hospitalizowanych na oddziałach intensywnej opieki w porównaniu z pozostałymi oddziałami, co zostało dowiedzione w rozprawie.

W realizowanej pracy zostały szeroko opisane czynniki etiologiczne zakażeń układu moczowego: *Escherichia coli*, pałeczki z rodzaju *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Stenotrophomonas maltophilia*, bakterie Gram-dodatnie z rodzaju *Staphylococcus*, *Streptococcus* i *Enterococcus* oraz bakterie beztlenowe, grzyby, wirusy i pierwotniaki. Jednocześnie, znaczna część przedstawionych przez Doktorantkę analiz poświęcona jest *Escherichia coli* dlatego, proszę o uzasadnienie z czego ten wybór wynika.

Dodatkowo, w pracy zostały przedstawione analizy dotyczące standardowo stosowanych w leczeniu antybiotyków oraz oporności typu ESBL (ang. *extended-spectrum beta-lactamases*). W związku z powyższym, bardzo proszę Doktorantkę o wyjaśnienie znaczenia mechanizmu oporności ESBL dla skuteczności terapii zakażeń bakteryjnych.

Recenzowana rozprawa Pani mgr Agnieszki Serafickiej ma niewątpliwie walor aplikacyjny wynikający z aktualności poruszanych zagadnień, co podkreśla wysoki poziom merytoryczny recenzowanej pracy doktorskiej oraz uzasadnia kontynuację dalszych badań w tym zakresie. Dlatego chciałbym podkreślić, że dysertacja Pani mgr Agnieszki Serafickiej jest przykładem doskonałego modelu współpracy Pana prof. dr hab. n. med. Marcina Tkaczyka oraz Doktorantki, która korzystając z wieloletniego oraz bogatego warsztatu naukowego swojego Promotora osiągnęła wymierne efekty, które z całą pewnością określić można miarą sukcesu. Opiniowana rozprawa doktorska zasługuje na uznanie, gdyż świadczy o bardzo dobrym przygotowaniu merytorycznym Doktorantki, a jasno określone cele badawcze pozwoliły na uzyskanie istotnych i wiarygodnych wyników.



UNIWERSYTET
MEDYCZNY
W ŁODZI



Reasumując stwierdzam, że przedstawiona do oceny rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003r. o stopniach naukowych i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 z późn. zm.). Mam zaszczyt i przyjemność przedstawić Wysokiej Radzie Naukowej Instytutu „Centrum Zdrowia Matki i Polki” wniosek o dopuszczenie Pani mgr Agnieszki Serafickiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego oraz ze względu na wysoki poziom naukowy tej dysertacji, wnioskuję o wyróżnienie recenzowanej pracy doktorskiej.

Z poważaniem,

KIEROWNIK

Katedry Chemii i Biochemii Medycznej
Wydział Lekarski Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

Ireneusz Majstorski
prof. dr hab. n. med. Ireneusz Majstorski