

Prof. dr hab. med. Katarzyna Kiliś-Pstrusińska

**Recenzja rozprawy doktorskiej magister Agnieszki Serafickiej pt.: „Ocena lekowrażliwości flory bakteryjnej izolowanej z dróg moczowych dzieci hospitalizowanych w oddziałach pediatrii, chirurgii i intensywnej terapii III-rzędowego ośrodka referencyjnego w pediatrii”.**

Zakażenia układu moczowego (ZUM) należą do najczęstszych schorzeń infekcyjnych u dzieci. Leczenie ich pozostaje wyzwaniem. U dzieci istotne jest jak najszybsze rozpoczęcie terapii, początkowo empirycznej, a po uzyskaniu wyniku posiewu moczu i antybiogramu – terapii celowanej. Wybór leku powinien uwzględniać nie tylko stan kliniczny pacjenta, ale również opierać się na wiedzy na temat profilu i lokalnej lekowrażliwości uropatogenów. Obecnie narasta oporność szczepów bakteryjnych będących najczęstszymi czynnikami etiologicznymi ZUM, szczególnie w warunkach szpitalnych. Badania na temat lekowrażliwości uropatogenów w populacji pediatricznej są nieliczne. Większość prac dotyczy dorosłych, co wynika z liczebności tej grupy i specyfiki pacjentów po okresie intensywnego rozwoju.

Zatem badania podjęte przez Doktorantkę należy określić jako aktualne, oryginalne, o dużym potencjale poznawczym i klinicznych implikacjach. Ponadto przedmiot pracy pokazuje, jak ważne jest we współczesnej medycynie współdziałanie wielu specjalistów dla realizacji najwyższych standardów opieki nad chorymi.

Cele pracy zostały określone przez Doktorantkę jako:

1. Ocena etiologii zakażeń układu moczowego u dzieci hospitalizowanych w III – rzędowym ośrodku referencyjnym w pediatrii.
2. Ocena różnic w lekowrażliwości flory bakteryjnej wywołującej zakażenia układu moczowego w zależności od profilu klinicznego oddziału.

3. Wskazanie czynników ryzyka zakażenia układu moczowego florą wykazującą wysoką oporność na standardowo stosowane antybiotyki.

4. Ocena profilu flory bakteryjnej w zakażeniach układu moczowego w zależności od wieku, płci pacjenta oraz współistnienia wady wrodzonej.

Ponadto doktorantka podjęła się odpowiedzi na dwa pytania:

1. Jak optymalnie zaplanować terapię empiryczną zakażeń w zależności od specyfiki oddziału?

2. Jak optymalnie zaplanować terapię empiryczną dla szpitala specjalistycznego uwzględniając zidentyfikowane czynniki ryzyka?

Cele pracy są właściwie sformułowane, dobrze wpisują się w przedmiot badań Autorki i wynikają z tematu pracy.

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska ma charakter monografii. Zawiera 170 stron. Została zredagowana w sposób poprawny, typowy dla tego rodzaju publikacji. Składają się na nią: wykaz skrótów, wstęp, określenie celów pracy, opis materiału i metod, wyniki, dyskusja, implikacje kliniczne, wnioski, piśmiennictwo, streszczenie w języku polskim i angielskim, spis tabel i rycin oraz podziękowania. Rozprawa doktorska została opracowana bardzo staranie, z dużą dbałością o szczegóły.

Wstęp jest obszerny, liczy 48 stron, stanowi kompendium wiedzy na temat zakażeń układu moczowego. Autorka przedstawiła dane epidemiologiczne ZUM w populacji pediatrycznej, rodzaje i obraz kliniczny ZUM, czynniki sprzyjające ZUM oraz czynniki etiologiczne tego schorzenia. W kolejnych częściach omówiła diagnostykę, leczenie farmakologiczne i profilaktykę ZUM oraz lekooporność szczepów będących najczęstszymi uropatogenami oraz powikłania ZUM. Tę część rozprawy kończy uzasadnienie podjęcia badań. Kompleksowe ujęcie wymienionych powyżej zagadnień świadczy o szerokiej i szczegółowej wiedzy Doktorantki na temat ZUM nie tylko u dzieci, ale także u dorosłych, co zasługuje na uznanie, tym bardziej, że Autorka nie jest lekarzem. Czasami jednak trudno określić, które informacje odnoszą się do populacji pediatrycznej, które - ogólnej, a które - dorosłych. Poszczególne rozdziały i podrozdziały są przystępnie napisane. Doktorantka nie ustrzegła się nieścisłości (częściowo wymienione poniżej). M.in. przedmiotem dyskusji pozostaje potraktowanie bezobjawowego bakteriomoczu jako postaci klinicznej zakażenia, co w świetle aktualnych badań nad mikrobiomem układu moczowego powinno być inaczej klasyfikowane.



Autorka często przytacza dane epidemiologiczne z piśmiennictwa dotyczącego dorosłych (s.15, piśmiennictwo nr 15; s.19, piśmiennictwo nr 25; s.24 – odnośnie *E.coli* i *Klebsiella pneumoniae* jako czynnika etiologicznego ZUM; s.33 – *Ps. aeruginosa*, jak poprzednio), nie podając analogicznych informacji dla populacji pediatrycznej, co powinno być uzupełnione. Rycina nr 1 (s.17, podział układu moczowego jest nieprawidłowy) nie koresponduje z zawartym w tekście prawidłowym podziałem na zakażenia górnego i dolnego odcinka układu moczowego i wymaga zmiany. Objawy mało specyficzne dla ZUM dominują nie tylko w grupie dzieci do 6 miesiąca życia. Wśród czynników sprzyjających ZUM (s.19-20) Autorka pominęła płęć, jakkolwiek wspominała wcześniej o predyspozycji płęci żeńskiej, także inne - oprócz odpływu pęcherzowo-moczowodowego - wady układu moczowego, ponadto zaparcia (te zostały wymienione jako sprzyjające nawrotom, ale mogą być również przyczyną pierwszego incydentu ZUM). W kilku przypadkach przedstawiając częstość występowania czynników etiologicznych ZUM Doktorantka nie podaje źródła danych (s.25, 31, 34, 36). Ryciny nr 2 i 3 obrazują etiologię niepowikłanych i powikłanych ZUM, jednakże nie jest jasne, czy zostały one przygotowane w oparciu o dane w podanym piśmiennictwie (Hryniewicz, 2015), czy też są przedrukami rycin tam zawartych. W rzeczywistości są to ryciny Autorki.

Nie można zgodzić się ze sformułowaniem Doktorantki, że (s.34) „udział gronkowców w etiologii w ZUM” jest znikomy. Zależy to od wieku pacjenta pediatrycznego. Doktorantka stwierdziła, że „ujemne wyniki testów paskowych moczu w kierunku esterazy leukocytarnej i azotynów z dużym prawdopodobieństwem wykluczają zakażenie układu moczowego, zaś dodatnie wyniki powinny być potwierdzone dodatnim wywiadem w zakresie objawów klinicznych i posiewem moczu” (s.38) – dodałabym: także badaniem ogólnym moczu z oceną mikroskopową osadu moczu. Bakteriomocz może być objawem laboratoryjnym ZUM, a nie objawem ZUM (zbyt ogólne) (s.38).

Wydaje się, że Doktorantka stosuje skrót myślowy pisząc o rozpoznaniu ZUM na podstawie posiewu moczu. ZUM jest jednostką chorobową, zatem rozpoznanie stawiane jest na podstawie całości obrazu chorobowego, tj. wywiadu, wyniku badania fizykalnego i wyników badań dodatkowych.

Autorka wspomina o pobraniach moczu na badanie mikrobiologiczne przy użyciu specjalnych wkładek pieluchowych czy woreczków podklejanych do zewnętrznych narządów moczowo - płciowych (s. 43). Rekomendacje polskich i zagranicznych towarzystw podkreślają, że takie

sposoby pobrania moczu na posiew nie dają wiarygodnych wyników i nie powinny być stosowane.

W leczeniu infekcji dolnych dróg moczowych wymieniono leki, jednak nie wszystkie z nich powinny być tak samo traktowane, zwłaszcza w pracy, która odwołuje się do problemu narastającej antybiotykooporności bakterii. Antybiotyki w tym rozpoznaniu należy stosować jako leki II rzutu. Z kolei cefuroksym może być stosowany także w leczeniu odmiedniczkowego zapalenia nerek

W przedłożonej dysertacji na szczególną uwagę zasługuje przedstawienie charakterystyki najczęstszych uropatogenów, ich czynników wirulencji oraz omówienie mechanizmów oporności bakterii na leki. Autorka dokładnie przeanalizowała m.in. działanie beta-laktamaz o rozszerzonym spectrum substratowym czy karbapenemaz klasy A, B i D. Determinują one brak lub osłabienie wrażliwości bakterii na antybiotyki, co powoduje, jak słusznie konstatuje Doktorantka, że zastosowanie leku, nawet wysokiej generacji, w ciężkich zakażeniach czy u chorych z czynnikami ryzyka jego powikłanego charakteru, może prowadzić do niepowodzenia terapeutycznego. Znajomość wielolekooporności uropatogenów ma istotne znaczenie w praktyce klinicznej i bezwzględnie powinna być brana pod uwagę w podejmowaniu decyzji o zlecanych lekach, a niestety niejednokrotnie jest marginalizowana.

Wstęp kończy uzasadnienie podjęcia badań będących przedmiotem rozprawy doktorskiej. Zawarte w nim treści świadczą o szerokim spojrzeniu Doktorantki na problem ZUM u pacjentów pediatrycznych w dobie narastającej antybiotykooporności. Jednocześnie wskazują na świadomość Autorki, że leczenie pacjenta powinno być ściśle związane z zastosowaniem w praktyce wyników rzetelnych badań naukowych.

Badania Doktorantki polegały na retrospektywnej analizie wyników badań bakteriologicznych moczu i dokumentacji medycznej dzieci hospitalizowanych w Instytucie Centrum Zdrowia Matki Polki (ICZMP) w okresie od 01.04.2012r. do 01.04.2014r. Doktorantka przeanalizowała i porównała uropatogeny wyizolowane z moczu dzieci z ZUM hospitalizowanych w wybranych oddziałach ICZMP. Następnie uzyskane dane zostały poddane dalszej ocenie zależnie od wieku pacjenta (<1 roku życia, 1-3 rok życia, > 3 roku życia), płci i obecności wady układu moczowego. W kolejnych etapach pracy dokonano zestawienia i porównania lekowrażliwości najczęściej izolowanych uropatogenów oraz ich związku z wcześniej analizowanymi parametrami, tj. wiekiem, płcią pacjentów i obciążeniem wadą układu moczowego. Do ostatecznej analizy zakwalifikowano wyniki 515 posiewów bakteryjnych moczu. Nie jest dla mnie jasne, czy próbki moczu pochodziły od dzieci z



podejrzeniem ZUM czy z rozpoznaniem ZUM, bo jak wiadomo bakteriomocz w ilości  $\geq 1000$  CFU/ml (zgodnie z przyjętymi kryteriami kwalifikacyjnymi) nie jest wystarczający do rozpoznania ZUM. Autorka podała, że wyjściowo w analizie wzięto pod uwagę wyniki 5478 próbek moczu uzyskanych od pacjentów z podejrzeniem ZUM. W kryteriach zakwalifikowania i wykluczenia próbek moczu brak informacji, na jakiej podstawie ostatecznie rozpoznano ZUM.

Kolejna wątpliwość dotyczy metodyki badań. Zawarty w dysertacji opis w podrozdziale „Metodyka wykonywanych badań” jest typowy dla badań prospektywnych, a nie badań retrospektywnych, zrealizowanych w pracy doktorskiej.

Wyniki badań podano w osobnym rozdziale. Starannie wykonane, przejrzyste tabele (w liczbie 27) ułatwiają recepcję pracy. Przytoczę wybrane wyniki. Na oddziałach pediatrycznych (poza nefrologicznym) najczęściej izolowano *E.coli*, niezależnie od wieku pacjentów. Odmienne, na oddziałach intensywnej opieki (OIO) dominowały pod względem częstości występowania *Klebsiella spp.* i *Enterococcus spp.* W Pododdziale Nefrologii dla Dzieci (PND) najczęściej czynnikiem etiologicznym była *E.coli*, głównie u dzieci do 1 r.ż. W Klinice Chirurgii Dziecięcej i Urologii (KChDiU) odnotowano związek częstości wyizolowanych patogenów z wiekiem: *E. coli* występowała najczęściej powyżej 3 r.ż., *Klebsiella spp.* do 1 r.ż., natomiast w grupie pośredniej z jednakową częstością wyizolowano *E.coli* i *Pseudomonas spp.* Na stronach 75 i 76, w tabeli nr 4 i na rycinie nr 4, przedstawiono „Udział procentowy *Escherichia coli*, *Enterococcus spp.*, *Klebsiella spp.* w poszczególnych grupach wiekowych”. Tytuły są takie same, natomiast różne wartości (tekst zgodny z tabelą, a nie ryciną). Ciekawa jest obserwacja wysokiego odsetka izolacji *Ps. aeruginosa* w grupie pacjentów 1-3 r.ż. w KChDiU, a nie u starszych dzieci.

W analizie zabrakło mi porównania najczęściej izolowanych patogenów zależnie od wieku bez podziału na oddziały. W tekście nie zawarto informacji, dlaczego analizie lekowrażliwości poddano 410 szczepów z 515 badanych. Autorka omawiając lekowrażliwość uropatogenów szczegółowo przedstawiła wyniki dotyczące lekowrażliwości *E.coli*, zależnie od wieku i płci pacjentów, występowania wady układu moczowego i profilu oddziału, na którym byli hospitalizowani. Natomiast w przypadku bakterii *Enterococcus spp.*, *Klebsiella spp.* i *Pseudomonas spp.* nie podano stosownych wyników w odniesieniu do wady układu moczowego lub jej braku. Proszę o wyjaśnienie. W pracy poddano ocenie izolaty *Candida spp.*, chociaż tytuł dysertacji zawiera „florę bakteryjną”. Traktuję to jako przeoczenie, z

drugiej strony obserwacje poczynione przez Doktorantkę odnośnie tego uropatogenu są ważne i dobrze, że zostały zawarte w rozprawie doktorskiej

Doktorantka umiejętnie skonfrontowała rezultaty własnych badań z innymi pracami naukowymi, wykazała się dokładnością i rzeczowością w interpretacji danych. Nie dziwią odmienne wyniki przedstawione w pracy Rokosz i wsp. (pozycja nr 118 piśmiennictwa), gdyż próbki moczu były pobierane od pacjentów dorosłych. Obserwacje dotyczące populacji pediatrycznej z różnych ośrodków polskich i zagranicznych w dużym stopniu są zbieżne z rezultatami pracy Doktorantki. Autorka krytycznie odniosła się do prac przedstawiających odmienne wyniki. Interesującym byłby komentarz do liczebności szczepów wytwarzających mechanizm odporności typu ESBL. Doktorantka stwierdziła, że w analizowanym przez nią materiale 4,82% szczepów *E.coli* i 48,57% *Klebsiella spp.* manifestowało ten mechanizm oporności. W pracach innych autorów analogicznie odnotowano m.in. 1,27%, 2,5%, 4,4%, 7%, 67% dla *E.coli* i 0,42%, 56% dla *Klebsiella spp.*

Bardzo wartościowy jest rozdział „Implikacje kliniczne”, w którym Doktorantka krótko podsumowała zasadność stosowania w empirycznej terapii ZUM różnych antybiotyków z uwagi na ich lekowrażliwość, zależnie od profilu oddziału, wieku dziecka i postaci klinicznej ZUM. Treść rozdziału i sposób jej prezentacji świadczy o badawczej dojrzałości Autorki, wieloaspektowym podejściu do uzyskanych wyników i umiejętności przełożenia ich na praktykę kliniczną. Celna jest uwaga Doktorantki o współpracy diagnosty laboratoryjnego z lekarzem jako nieodzownym elemencie prawidłowego procesu diagnostyczno-terapeutycznego. Sugeruję przygotowanie, na podstawie uzyskanych wyników, krótkich rekomendacji wyboru leku empirycznego w ZUM dla poszczególnych oddziałów Instytutu CZMP.

Całość pracy kończą zwięzłe wnioski, korespondujące z wynikami badań. We wnioskach brakuje odniesienia do celu pacy, jakim była „Ocena profilu flory bakteryjnej w zakażeniach układu moczowego w zależności od wieku”. Także jednoznacznie nie wskazano „czynników ryzyka zakażenia układu moczowego florą wykazującą wysoką oporność na standardowo stosowane antybiotyki”.

Piśmiennictwo jest obszerne, obejmuje 139 pozycji. Ta liczba cytowanych prac świadczy o zaangażowaniu Autorki w zgłębianiu problemu dysertacji. Piśmiennictwo zawiera prace sprzed 2000 roku (ok.17%), co nie do końca jest zasadne: część pozycji jest niezbędna, np. fundamentalna praca Kasa z 1957r, ale niektóre dotyczą zagadnień, które ulegają stałej modyfikacji, np. pozycja nr 45 [Nicolle L. E.: A practical guide to the management of



complicated urinary tract infection. Drugs 1997]. Pozostałe uwagi: niektóre prace są nieprawidłowo cytowane w tekście, np. pozycja nr 20; wyniki badań opublikowane w 2002, 2005, 2007 roku nie mogą być uznane za „wyniki z ostatnich badań” (s.30, pozycje 56, 35, 36), wszak są one sprzed 15-20 lat. Autorka powołuje się na Rekomendacje PTND (odnośniki do piśmiennictwa w tekście), przytaczając wyniki badań amerykańskich, australijskich itd. W takiej sytuacji wspomniane prace powinny być podane jako odnośniki literaturowe (o ile Autorka bezpośrednio z nich skorzystała) albo powinny być zaznaczone jako cytowania [cyt. za poz. nr 95]

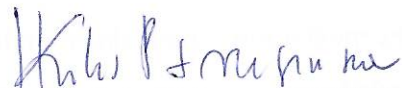
Podsumowując: rozprawę doktorską magister Agnieszki Serafickiej oceniam bardzo dobrze. Stanowi ona oryginalne rozwiązanie istotnego problemu naukowego (jakim było określenie profilu i lekowrażliwości uropatogenów izolowanych z moczu dzieci hospitalizowanych w oddziałach pediatrii, chirurgii i intensywnej terapii III-rzędowego ośrodka referencyjnego w pediatrii), które przeprowadzono za pomocą poprawnej metodyki i właściwej analizy wyników. Doktorantka w swej dysertacji zaprezentowała szeroką wiedzę w zakresie nefrologii, w tym nefrologii dziecięcej, a także w zakresie mikrobiologii i diagnostyki laboratoryjnej, z uwzględnieniem pediatrycznej specyfiki tych obszarów. Dysertacja ma charakter interdyscyplinarny, wpisuje się w pożądane we współczesnej medycynie trendy translacyjne. Doktorantka wykazała się umiejętnością prowadzenia pracy badawczej oraz rozwiązywania problemów naukowych i klinicznych. Przyczyniła się do poszerzenia wiedzy w obszarze, w którym dominują prace dla populacji dorosłych.

Należy podkreślić, że liczba przeanalizowanych przez Autorkę danych była bardzo duża i wymagała ogromnego nakładu pracy. Takie badania powinny być przeprowadzone we wszystkich ośrodkach, zwłaszcza klinicznych, do których trafiają dzieci z ciężkimi postaciami przewlekłych ZUM. Zachęcam Doktorantkę do kontynuowania badań pod kątem ewentualnej zmiany w czasie profilu czynników etiologicznych ZUM i ich lekowrażliwości. Aktualizacja tych danych (po okresie 8 lat) byłaby niezmiernie cenna pod względem poznawczym, jak i z uwagi na efektywność postępowania diagnostyczno-terapeutycznego u dzieci z zakażeniem układu moczowego.

Stwierdzam, że przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska magister Agnieszki Serafickiej spełnia warunki określone w Rozporządzeniu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 19 stycznia 2018 r. – Dz.U. z 30.01.2018r. poz 261 oraz art. 179 ustawy z

dnia 3 lipca 2018r. Przepisy wprowadzające ustawę - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce.

W związku z tym zwracam się do Wysokiej Rady Naukowej Instytutu „Centrum Zdrowia Matki Polki” w Łodzi o dopuszczenie magister Agnieszki Serafickiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

  
Prof. dr hab. Katarzyna Kiliś-Pstrusińska

Wrocław, dnia 9.11.2022r.



Z obowiązku recenzenta podaję dodatkowe uwagi, które mogą być łatwo skorygowane i nie mają istotnego znaczenia dla ostatecznej oceny pracy:

- s.14: nefrotomia, wymieniona w wersji „obce ciało” - niejasne
- s.15: *cystitiscystica*, *cystitisglandularis*, itd. – powinno być *cystitis cystica*, *cystitis glandularis* itd.
- s. 24: „Upośledzenie odpływu moczu przyczynia się do rozwoju bakteriomoczu, a w sytuacji schyłkowej nawet do bakteriemii” – zdanie wymaga przeformułowania. Nietrafne określenie: rozwój bakteriomoczu, niejasne „sytuacja schyłkowa”.
- s. 29: „Zakażenia górnych dróg moczowych, szczególnie odmiedniczkowe zapalenie nerek,..”. To są synonimy.
- s. 29: reakcje zapalne są wywoływane lub wzbudzone, a nie „wybudzane”
- brak odnośnika literaturowego: „*Stenotrophomonas maltophilia*. W ostatnich latach obserwuje się kilkukrotny wzrost częstości zakażeń wywołanych przez te bakterie”.
- s. 42: NPOA to Narodowy Program Ochrony Antybiotyków
- s. 51: „niepowikłane zakażenie układu moczowego (zapalenie pęcherza moczowego)” – zapis sugeruje równoważność tych dwóch stanów, co nie jest zasadne
- s. 59: „uropatia zaporowa (kamica, guz)” – u dzieci częściej ma inną przyczynę (wady wrodzone)
- s. 59: czyste przerywane cewnikowanie zapobiega zastojowi moczu i nie jest czynnikiem predysponującym do powikłanych ZUM
- s. 59: „zaleganie moczu w pęcherzu w objętości powyżej 100 ml” – podana ilość moczu dotyczy dorosłych, u dzieci zależnie od wieku biologicznego i rozwojowego



Prof. dr hab. Katarzyna Kiliś-Pstrusińska

