UNIWERSYTET
MIKOŁAJA KOPERNIKA
W TORUNIU
Wydział Farmaceutyczny
Collegium Medicum w Bydgoszczy

Katedra Mikrobiologii

ul. Curie Skłodowskiej 9, 85-094 Bydgoszcz
e-mail: kizmikrob@cm.umk.pl
tel. +48 52 585 44 80, 52 585 40 47

Bydgoszcz, dn. 18.08.2023 r.

RECENZJA

rozprawy doktorskiej lek. Agnieszki Ponurkiewicz pt. „Analiza lekowrażliwości i występowania wybranych mechanizmów oporności na leki przeciwbakteryjne drobnoustrojów szpitalnych izolowanych w latach 2008-2016 z materiałów klinicznych pacjentów Samodzielnego Publicznego Zakładu Opieki Zdrowotnej w Hajnówce" wykonanej pod kierunkiem dr hab. n. med. Pawła Tomasza Sacha z Zakładu Diagnostyki Mikrobiologicznej i Immunologii Infekcyjnej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku

1. Podstawa recenzji

Podstawę przygotowania recenzji rozprawy doktorskiej lek. Agnieszki Ponurkiewicz zatytułowanej: „Analiza lekowrażliwości i występowania wybranych mechanizmów oporności na leki przeciwbakteryjne drobnoustrojów szpitalnych izolowanych w latach 2008-2016 z materiałów klinicznych pacjentów Samodzielnego Publicznego Zakładu Opieki Zdrowotnej w Hajnówce" stanowi pismo z dnia 03.07.2023 r. sygnowane przez prof. dr hab. Wojciecha Miltyka, Dziekana Kolegium Nauk Farmaceutycznych Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku, w którym zamieszczono informację o powołaniu mnie uchwałą Senatu Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku z dnia 29.06.2023 r. na recenzenta niniejszej rozprawy.

Tematyka rozprawy doktorskiej lek. Agnieszki Ponurkiewicz wpisuje się w moje zainteresowania naukowo-badawcze, co czyni mnie upoważnionym do przygotowania recenzji.

2. Uwagi ogólne dotyczące rozprawy doktorskiej

Recenzowana rozprawa doktorska została przygotowana pod kierunkiem promotora, dr hab. n. med. Pawła Tomasza Sacha z Zakładu Diagnostyki Mikrobiologicznej i Immunologii Infekcyjnej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku.

Rozprawa doktorska została przedstawiona w postaci monografii. Stanowi zwarte opracowanie liczące 208 stron maszynopisu i zawiera 81 tabel i 10 rycin. Wszystkie tabele ponumerowano kolejno od 1 do 39.2. W przypadku 17 tabel dokonano podziału na podtabele, w wyniku czego łączna liczba tabel w pracy wynosi 81. Treść rozprawy została podzielona na typowe dla tego rodzaju prac sekcje: Wstęp, Założenia i Cel pracy, Materiały i Metody, Wyniki, Dyskusja, Wnioski, Streszczenie w języku polskim i angielskim, Bibliografia. Całość opracowania poprzedza „Wykaz nazw i skrótów".

Pani Agnieszka Ponurkiewicz przygotowując rozprawę doktorską wykorzystała aż 208 pozycji bibliograficznych polsko- i anglojęzycznych, w postaci artykułów, wydawnictw

UNIWERSYTET
MIKOŁAJA KOPERNIKA
W TORUNIU
Wydział Farmaceutyczny
Collegium Medicum w Bydgoszczy

Katedra Mikrobiologii

ul. Curie Skłodowskiej 9, 85-094 Bydgoszcz
e-mail: kizmikrob@cm.umk.pl
tel. +48 52 585 44 80, 52 585 40 47

książkowych oraz informacji pochodzących ze stron internetowych. Spośród cytowanych pozycji bibliograficznych 130 (62,5%), to pozycje z ostatnich 10 lat, a 159 to prace obcojęzyczne.

Reasumując, układ przedłożonej do recenzji rozprawy doktorskiej nie budzi moich zastrzeżeń. Zarówno kompozycja pracy, jak i proporcje jej poszczególnych rozdziałów są prawidłowe. Pani Agnieszka Ponurkiewicz poprawnie dobrała także piśmiennictwo, do którego odwoływała się przygotowując swoją dysertację. Opiera się głównie na pozycjach zagranicznych, anglojęzycznych, pochodzących z ostatnich 10 lat. Załączone tabele i ryciny są prawidłowo skonstruowane i wzbogacają treść rozprawy, jednocześnie ułatwiając odbiór przedstawionych treści. Praca napisana jest jasnym, zrozumiałym i naukowym językiem. Wszystko to wskazuje na dobre opanowanie przez lek. Agnieszkę Ponurkiewicz zasad przygotowania i redagowania prac naukowych. Kończąc ten punkt recenzji mam kilka drobnych uwag natury redakcyjnej:

- we wstępie pracy brakuje trochę elementów graficznych, np. schematów ilustrujących patogenezę omawianych drobnoustrojów, które ułatwiłyby odbiór tekstu i urozmaiciły jego formę
- tabele w niniejszej rozprawie są duże, a układ danych w nich zawartych jest przejrzysty, niemniej jednak umieszczenie ich zbiorczo na końcu rozdziału nie jest rozwiązaniem optymalnym, gdyż utrudnia to odbiór opisanych wyników przez czytelnika i zmusza go do przeszukiwania tekstu pracy
- w tabelach i na wykresach nazwy drobnoustrojów są pisane czcionką prostą zamiast kursywą
- jeżeli w tekście podano już pełną nazwę danego gatunku bakterii, to w dalszej części pracy człon rodzajowy należy zapisywać w formie skróconej
- nazwa rzędu Enterobacterales raz pisana jest czcionka prostą, co jest prawidłowe a raz kursywą. Trzeba ujednolicić zapis
- w niektórych miejscach pracy (np. str. 14) człon spp. po nazwie rodzaju jest pisany kursywą a powinien być czcionką prostą
- wprowadzone i wyjaśnione w tekście pracy skróty powinny być już stosowane w dalszej jego części, a nie używane zmiennie lub łącznie ze swoim rozwinięciem, np. skrót VRE
- w tabelach i na wykresach (np. tab. 2, ryc. 2, ryc. 3, itd.) brakuje uporządkowania danych. Niekiedy gatunki są wymieniane w kolejności alfabetycznej a niekiedy w losowej. Proponuję, aby tego typu dane układać w kolejności związanej z częstością izolacji
- w przypadku rycin dotyczących mechanizmów oporności linie łączące punkty są zbędne. Utrudniają one odbiór przedstawionych danych i sugerują, że znamy przebieg zmian tych danych w czasie (w sposób ciągły)
- w tabelach 36, 37, 38, itd. pojawia się niezgodność między tytułami tych tabel a nagłówkami kolumn. W tytule tabeli napisano „materiały", natomiast w nagłówkach wymieniono zarówno materiały kliniczne, jak i układy np. moczowo-płciowy, a w takim przypadku powinien zostać wymieniony materiał pobrany z danego układu, np. mocz i/lub wymaz z pochwy
- w rozdziale Bibliografia występują błędy edytorskie oraz błędy dotyczące zapisu nazw gatunkowych bakterii (brak kursywy), np. pozycje: 7, 28, 29 itd.

UNIWERSYTET
MIKOŁAJA KOPERNIKA
W TORUNIU
Wydział Farmaceutyczny
Collegium Medicum w Bydgoszczy

Katedra Mikrobiologii

ul. Curie Skłodowskiej 9, 85-094 Bydgoszcz
e-mail: kizmikrob@cm.umk.pl
tel. +48 52 585 44 80, 52 585 40 47

3. Tematyka rozprawy doktorskiej i jej kontekst

Uważam, że praca porusza bardzo ważny temat nabywania antybiotykooporności przez drobnoustroje odpowiedzialne za zakażenia szpitalne. Doktorantka przeprowadziła analizę antybiotykowrażliwości i występowania mechanizmów oporności na leki przeciwbakteryjne u drobnoustrojów izolowanych z materiału klinicznego.

Odkrycie penicyliny, a następnie opracowanie kolejnych leków przeciwdrobnoustrojowych to jedno z ważniejszych odkryć w historii medycyny. W kolejnych latach badania wykazały jednak, że bakterie mogą cechować się opornością naturalną lub też nabywać oporność na dostępne antybiotyki. Przez kilkanaście lat problem ten był rozwiązywany poprzez wprowadzanie nowych leków przeciwdrobnoustrojowych. Jednak, obserwowane w ostatnich dziesięcioleciach nadużywanie oraz niewłaściwe stosowanie antybiotyków, jak również aspekty ekonomiczne i społeczne znacznie przyspieszyły rozprzestrzenianie się wzorców oporności na leki przeciwdrobnoustrojowe u bakterii. Oporność bakterii na antybiotyki jest przyczyną wyższych kosztów leczenia, przedłużających się pobytów w szpitalu i zwiększonej śmiertelności pacjentów. Według danych przedstawionych przez Światową Organizację Zdrowia (WHO), obecnie co najmniej 700 000 osób na całym świecie umiera każdego roku z powodu zakażeń wywołanych przez bakterie oporne na środki przeciwdrobnoustrojowe. Według szacunków WHO, liczba zgonów może wzrosnąć do 10 milionów w 2050 roku. Obecnie, oporność bakterii na antybiotyki to problem ważny i aktualny na całym świecie. Antybiotykooporność stanowi jedno z najważniejszych wyzwań współczesnej medycyny, zarówno w obszarze nadzoru epidemiologicznego, jak i diagnostyki mikrobiologicznej i terapii. Najpoważniejszym problemem jest stale rosnąca liczba bakterii opornych na powszechnie stosowane antybiotyki, w tym leki ostatniej szansy. W lutym 2017 roku, WHO opublikowało listę drobnoustrojów, obejmującą bakterie oznaczone akronimem ESKAPE (*Enterococcus faecium, Staphylococcus aureus, Klebsiella pneumoniae, Acinetobacter baumannii, Pseudomonas aeruginosa* i gatunki *Enterobacter* spp.), którym nadano najwyższy "priorytet", ponieważ stanowią one wysokie zagrożenie dla ludzi. Zrozumienie mechanizmów oporności oraz epidemiologii zakażeń tymi bakteriami jest kluczowym krokiem w rozwoju nowych leków przeciwdrobnoustrojowych do zwalczania bakterii wieloantybiotykoopornych.

Problem oporności bakterii na antybiotyki jest również aktualny w Polsce. Według danych sieci EARS-Net, w Polsce w 2021 roku odnotowano znaczny wzrost izolacji wieloantybiotykoopornych szczepów *A. baumannii*, o 43% w porównaniu do roku 2020. Niepokojącym zjawiskiem jest również wysoka częstość występowania oporności (34,3%) na wankomycynę wśród *E. faecium* na tle pozostałych państw europejskich. Polska znajduje się ponadto wśród krajów o najwyższym odsetku szczepów *E. faecalis* z opornością wysokiego stopnia na gentamycynę (HLGR) oraz szczepów *Escherichia coli* opornych na fluorochinolony. Jednak dane te dotyczą szczepów bakterii wyosobnionych z krwi oraz płynu mózgowo-

Katedra Mikrobiologii

ul. Curie Skłodowskiej 9, 85-094 Bydgoszcz
e-mail: kizmikrob@cm.umk.pl
tel. +48 52 585 44 80, 52 585 40 47

rdzeniowego. W związku z czym monitoring oporności wśród szczepów klinicznych izolowanych z różnych materiałów jest koniecznością.

Narastanie oporność na antybiotyki wśród bakterii jest procesem naturalnym i nieuniknionym, jednakże zjawisko to w ostatnich latach jest znacznie przyspieszone poprzez nadużywanie oraz niewłaściwe stosowanie leków przeciwdrobnoustrojowych. Odpowiednio opracowane dane epidemiologiczne z zakażeń związanych z opieką zdrowotną na terenie Polski to podstawa do monitorowania oporności na antybiotyki, jednocześnie ograniczenia rozprzestrzeniania się drobnoustrojów z grupy ESKAPE. Podjęcie tematyki oporności na antybiotyki wśród szczepów izolowanych z zakażeń szpitalnych jest ważne i aktualne. Podjęta tematyka badawcza jest istotna, zarówno ze względów klinicznych, jak i ekonomicznych.

Tytuł pracy trafnie nawiązuje do podjętego problemu badawczego i jest spójny z treścią rozprawy, chociaż budzi pewne zastrzeżenia, o których wspominam w dalszej części recenzji.

Przedstawiony powyżej opis kontekstu naukowego podjętego problemu badawczego jednoznacznie wskazuje, że rozprawa doktorska lek. Agnieszki Ponurkiewicz porusza bardzo ważny i aktualny problem współczesnej medycyny. W tym kontekście warto kontynuować monitorowanie lekooporności nabywanej przez drobnoustroje izolowane od pacjentów w placówkach medycznych na przestrzeni lat.

4. Szczegółowa ocena rozprawy doktorskiej

W części teoretycznej pracy Pani Agnieszka Ponurkiewicz opisała niezwykle istotny problem, jakim jest występowanie zakażeń szpitalnych. Zakażenia te stanowią poważne i złożone zagadnienie pod względem zarówno medycznym, jak i ekonomicznym oraz prawnym. Doktorantka podała definicję zakażeń szpitalnych oraz ich podział na egzo- i endogenne, a także przedstawiła czynniki ryzyka warunkujące ich występowanie.

W kolejnych rozdziałach części teoretycznej pracy dokonała charakterystyki patogenów mogących być czynnikami etiologicznymi zakażeń szpitalnych, dzieląc je na bakterie Gram-dodatnie (*S. aureus*, *Enterococcus faecalis*, *E. faecium*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*) oraz Gram-ujemne (pałeczki *Enterobacteriales*, pałeczki niefermentujące z rodzaju *Pseudomonas* i *Acinetobacter*), a także opisała mechanizmy oporności na antybiotyki występujące u omawianych drobnoustrojów.

Celem naukowym rozprawy doktorskiej była analiza lekowrażliwości oraz występowania mechanizmów oporności na leki przeciwbakteryjne drobnoustrojów szpitalnych pozyskiwanych z materiałów klinicznych w Samodzielnym Publicznym Zakładzie Opieki Zdrowotnej (SP ZOZ) w Hajnówce.

Szczegółowa analiza obejmowała ocenę częstości izolacji poszczególnych gatunków bakterii Gram-ujemnych i Gram-dodatnich, ocenę częstości występowania u nich różnych mechanizmów oporności na antybiotyki, a także ocenę wrażliwości na antybiotyki wśród najczęściej izolowanych gatunków bakterii, z uwzględnieniem oddziałów oraz materiałów klinicznych, z jakich szczepy te pochodziły.

Szczepy bakteryjne będące przedmiotem analizy zostały wyizolowane w latach 2008 – 2016 z różnych materiałów klinicznych. Badany materiał pochodził z 12 oddziałów szpitalnych

UNIWERSYTET
MIKOŁAJA KOPERNIKA
W TORUNIU
Wydział Farmaceutyczny
Collegium Medicum w Bydgoszczy

Katedra Mikrobiologii

ul. Curie Skłodowskiej 9, 85-094 Bydgoszcz
e-mail: kizmikrob@cm.umk.pl
tel. +48 52 585 44 80, 52 585 40 47

SPZOZ w Hajnówce. Uzyskane materiały kliniczne posiewano na klasycznych zestawach podłoży mikrobiologicznych, a identyfikację bakterii oraz ocenę wrażliwości na antybiotyki przeprowadzano przy użyciu systemów automatycznych ATB i/lub VITEK- 2 (bioMerieux). Identyfikację przeprowadzano z wykorzystaniem pasków ID 32 E, ID 32 STAPH, ID 32 STREP, ID 32 GN lub kart GNI (Gram Negative Identification) i GPI (Gram Positive Identification). Lekowrażliwość wyizolowanych szczepów oceniano stosując testy wrażliwości ATB oraz kart AST.

Analizę statystyczną przeprowadzano przy użyciu pakietu statystycznego (STATISTICA, TIBCO, Software Inc., USA).

Plan eksperymentu jest prawidłowy, a metody badawcze są właściwie dobrane.

Uzyskane wyniki dostarczają bardzo cennych i aplikacyjnych informacji. Opis ich jest prawidłowy, a tekst jest wzbogacony dużą liczbą tabel oraz rycin. Doktorantka wskazuje, które gatunki drobnoustrojów dominowały, opisuje jak wyglądała sytuacja epidemiologiczna w poszczególnych oddziałach i z jakich materiałów klinicznych izolowano najwięcej drobnoustrojów. Szczegółowo opisuje zagadnienia związane z ustaloną antybiotykowrażliwością analizowanych szczepów i wskazuje antybiotyki o najwyższej skuteczności w omawianym okresie dla poszczególnych gatunków/grup drobnoustrojów. Charakteryzuje też częstość występowania mechanizmów oporności na antybiotyki w analizowanej populacji.

Przygotowanie dyskusji dla tak dużej liczby wyników stanowiło z pewnością duże wyzwanie, z którym Doktorantka poradziła sobie dobrze. Dyskusja konfrontuje wyniki z informacjami z piśmiennictwa oraz stanowi próbę interpretacji uzyskanych wyników. Sugeruję jednak, aby na przyszłość Autorka zwracała większą uwagę na usystematyzowanie dyskutowanych zagadnień i „nie powracanie" do już raz omówionego problemu. W dyskusji np. pojawiają się naprzemiennie informacje o ESBL, MRSA, MBL i następnie ponownie o ESBL.

Wnioski przedstawione przez Doktorantkę są uprawnione i prawidłowo sformułowane. Uważam, że warto byłoby jednak opracować je w bardziej syntetycznej formie i dodać podsumowanie zawierające informację o tym, czy rzeczywiście oporność narastała na przestrzeni lat i czy któreś z tych wyników faktycznie są niepokojące.

Chociaż rozprawa jest napisana prawidłowo, zgodnie ze wszystkimi zasadami redagowania prac naukowych i dostarcza bardzo cennych wyników, to jednak mam kilka uwag, pytań i sugestii, o odniesienie się do których proszę Doktorantkę:

1. Tytuł rozprawy doktorskiej wskazuje, że przedmiot badań stanowi analiza antybiotykowrażliwości oraz częstość występowania mechanizmów oporności na antybiotyki u drobnoustrojów **szpitalnych**. Niestety w metodyce pracy nie została podana żadna definicja drobnoustroju szpitalnego przyjęta przez Doktorantkę na potrzeby realizacji niniejszej analizy. Można wręcz wywnioskować, że analizie poddano wyniki uzyskane dla wszystkich szczepów izolowanych z zakażeń u pacjentów szpitala. W pewnym stopniu polemizowałbym też z tym, że *S. pneumoniae* czy *S.*

Katedra Mikrobiologii

ul. Curie Skłodowskiej 9, 85-094 Bydgoszcz
e-mail: kizmikrob@cm.umk.pl
tel. +48 52 585 44 80, 52 585 40 47

pyogenes należą do drobnoustrojów szpitalnych, gdyż raczej są typowymi patogenami związanymi z zakażeniami pozaszpitalnymi. Zgodnie z obowiązującymi definicjami, za drobnoustrój szpitalny uznawany jest patogen odpowiedzialny za zakażenia szpitalne lub patogen alarmowy izolowany ze środowiska szpitalnego. Autorka powinna wprowadzić kryterium włączenia szczepów do analizy uwzględniającego, np. wystąpienie objawów chorobowych związanych z zakażeniem po 48 godzinach od przyjęcia do szpitala (odpowiedzialnego za zakażenie związane z opieka zdrowotną). Czy z analizy były wykluczane wyniki uzyskiwane od tego samego pacjenta w określonym odstępie czasu? Jeśli tak, to w jakim? Jakie były szczegółowe kryteria włączania szczepów do analizy?

2. Niefortunnie sformułowane jest zdanie z akapitu 3 na stronie 16 („Najczęstszymi postaciami klinicznymi są …"). Postać kliniczna dotyczy raczej konkretnego zakażenia, a w tym zdaniu autorka wymienia rodzaje zakażeń/ jednostki chorobowe. Ponadto doprecyzowania wymaga pochodzenie tych danych liczbowych – czy dotyczą one Hajnówki, czy np. Polski, Europy, …
3. Doktorantka używa w pracy terminów „flora bakteryjna", „mikroflora". Sugeruję stosowanie terminu mikrobiota/mikrobiom, np. w odniesieniu do jelit (np. str.19)
4. W rozprawie wielokrotnie pojawiają się sformułowania „lekooporność", „lekowrażliwość". Obecnie terminy te raczej zastępowane są w mikrobiologii przez „antybiotykooporność" i „antybiotykowrażliwość". Dziwnie brzmi też sformułowanie pojawiające się chociażby w opisie celów pracy „lekowrażliwość na antybiotyki". W takiej sytuacji należy pisać po prostu wrażliwość / oporność na antybiotyki.
5. Obecnie nie używa się już terminu „posocznica", tylko „sepsa" (np. str. 20, 29)
6. We wstępie pracy brakuje danych epidemicznych dotyczących zakażeń wywoływanych przez opisane gatunki (aktualne informacje z Polski, UE, Świata), oraz informacji o leczeniu tych zakażeń. Oczywiście zdaję sobie sprawę, że wstęp rozprawy jest już i tak bardzo obszerny, ale wspomniane wyżej informacje stanowiłyby cenne uzupełnienie.
7. Doktorantka przynajmniej dwukrotnie (w różnych miejscach pracy) wyjaśnia znaczenie β-laktamaz o rozszerzonym spektrum substratowym. Moim zdaniem jest to zbędne.
8. Przeredagowania wymagają cele pracy. Są oczywiście zrozumiałe i zgodne z założeniami rozprawy, ale niepotrzebnie nadmiernie rozbudowane. Proponowałbym następującą formę:
   - Ocena częstości izolacji różnych gatunków bakterii Gram-ujemnych i Gram-dodatnich w SP ZOZ w Hajnówce;
   - Ocena częstości występowania różnych mechanizmów oporności na antybiotyki wśród bakterii Gram-ujemnych i Gram-dodatnich izolowanych w SP ZOZ w Hajnówce
   - Ocena wrażliwości na antybiotyki wśród najczęściej izolowanych gatunków bakterii Gram-ujemnych i Gram-dodatnich izolowanych w SP ZOZ w Hajnówce

UNIWERSYTET
MIKOŁAJA KOPERNIKA
W TORUNIU
Wydział Farmaceutyczny
Collegium Medicum w Bydgoszczy

Katedra Mikrobiologii

ul. Curie Skłodowskiej 9, 85-094 Bydgoszcz
e-mail: kizmikrob@cm.umk.pl
tel. +48 52 585 44 80, 52 585 40 47

z uwzględnieniem zróżnicowania w zależności od oddziału i rodzaju materiału klinicznego

9. W rozdziale 3.1. Materiał brakuje pewnych istotnych informacji. Doktorantka nie podaje ile szczepów bakterii przebadała, ile pochodziło z poszczególnych materiałów klinicznych, ile próbek danego materiału uwzględniono w analizie, a także ile szczepów i materiałów pochodziło z poszczególnych oddziałów. Dane te mogłyby być przedstawione graficznie w postaci rycin, co wzbogaciłoby ten rozdział i ułatwiło odbiór. Oczywiście znaczą część tych informacji, o których wspominam powyżej, odnajdujemy później w rozdziale Wyniki, ale uważam, że takie ogólne, sumaryczne zestawienie powinno znaleźć się w rozdziale Materiał. Ponadto w sekcji 3.1. pojawia się zdanie: „Pobieranie i transport próbek do badań mikrobiologicznych odbywał się zgodnie z procedurami i standardami obowiązującymi w SPZOZ w Hajnówce". Standardy te nie są powszechnie znane i należałoby je krótko przybliżyć czytelnikowi lub odwołać się do jakichś ogólnodostępnych rekomendacji/procedur. Brakuje tu też jednoznacznie sformułowanego kryterium włączenia szczepów do badań. Należałoby doprecyzować czy uwzględniano wszystkie izolaty, czy np. tylko te, które uznawano za czynnik etiologiczny danego zakażenia z pominięciem szczepów uznanych za zanieczyszczenie. Nie wynika to jednoznacznie z tekstu. Wspomniałem już o tym odnosząc się do tytułu rozprawy doktorskiej.
10. Podrozdział 3.2. Metody powinien być bardziej rozbudowany. Należałoby chociażby doprecyzować do jakiej grupy metod oceny antybiotykowrażliwości należy zastosowanie systemu VITEK 2 oraz wzbogacić o podstawowe informacje dwa ostatnie akapity tego rozdziału (przynajmniej wymienić wykrywane mechanizmy i przypisać ich metody wykrywania). Zawarty w pracy opis metodyki jest oczywiście prawidłowy i idealny w przypadku publikacji naukowej, natomiast w odniesieniu do dysertacji doktorskiej pozostawia pewien niedosyt.
11. Wymieniając używane podłoża i odczynniki Doktorantka powinna podawać informacje o ich producencie.
12. Zdanie: „W ramach retrospektywnej analizy przeanalizowano raporty badań dotyczące 6974 szczepów należących do bakterii Gram – dodatnich i Gram - ujemnych a uzyskane wyniki przedstawiono w tabelach i na rycinach." powinno zostać przeniesione do rozdziału 3.1. Materiał.
13. Analiza wyników, sposób ich opisu, grupowania danych i ich interpretacja również powoduje u mnie pojawienie się pewnych wątpliwości i uwag, o ustosunkowanie się do których uprzejmie proszę Doktorantkę:
    - wybrany do analizy przez Autorkę okres od 2008 do 2016 roku jest już znacznie oddalony w czasie. Dlaczego Autorka nie włączyła szczepów z ostatnich lat do analizy? Byłoby to bardzo cenne, szczególnie biorąc pod uwagę bardzo szybkie tempo narastania oporności na antybiotyki w ostatnich latach
    - w tekście wprowadzającym do przedstawienia celów pracy, Doktorantka zwraca uwagę na duże znaczenie szczepów wieloantybiotykoopornych (MDR). W związku

Katedra Mikrobiologii

ul. Curie Skłodowskiej 9, 85-094 Bydgoszcz
e-mail: kizmikrob@cm.umk.pl
tel. +48 52 585 44 80, 52 585 40 47

z tym uważam, że istotną wartość dodaną stanowiłaby analiza, która wykazałaby jaki jest odsetek szczepów MDR w puli szczepów badanych przez Autorkę.

- z uwagi na znaczne rozdrobnienie wyników dla poszczególnych oddziałów, należy rozważyć zebranie tych oddziałów w grupy, np. oddziały zachowawcze, oddziały intensywne, itd.
- sugeruję jeszcze raz przyjrzeć się przeszeregowaniu materiałów klinicznych do grup, np. wymaz z ucha powinien być analizowany łącznie z materiałami z dróg oddechowych, a same drogi oddechowe należałoby podzielić na dwie podkategorie, tj. górne i dolne drogi oddechowe
- wśród szczepów *E. faecium* wykazywano izolaty wrażliwe na ampicylinę. Jest to rzadki fenotyp wrażliwości u tego gatunku. Jak potwierdzano wrażliwość?
- wyniki oznaczeń interpretowano zgodnie z rekomendacjami obowiązującymi w danym roku. Wobec tego nie jestem pewien poprawności zasady interpretacji izolatów wytwarzających β-laktamazy o rozszerzonym spektrum działania (ESBL), jako opornych na wszystkie antybiotyki beta-laktamowe. Proszę o wskazanie źródła dla zastosowanej zasady (tab. 20.1, str. 102)
- oporność na ampicylinę i imipenem jest spodziewanym fenotypem *E. faecium*, nie dziwi więc jego dominacja u badanych szczepów (str. 59: „Wszystkie 32 szczepy izolowane na oddziale położniczym były oporne na ampicylinę")
- nie do końca rozumiem kryteria analizy pod względem mechanizmów oporności – proszę o doprecyzowanie. Czy jeśli przedstawiono wyniki analizy dla szczepów: a) MRSA, b) MLS, c) MRSA+MLS; to w grupie a) były też izolaty z grupy c) czy też jeden izolat był klasyfikowany wyłącznie do jednej z grup?
- czy Autorka zastosowała zasadę raportowania oporności na imipenem na podstawie oporności na ampicylinę? Zasada ta występuje dla *E. faecium* w starszych wersjach EUCAST i powinna być stosowana. Na podstawie analizy wyników przedstawionych w tabeli 32 – nie mam pewności, czy ta zasada została wykorzystana
- nie jestem również pewien wyników analizy dla pałeczek Gram-ujemnych. Dla przykładu, czy w tabeli 21 przedstawione są wyniki wszystkich izolatów *Proteus mirabilis*, czy tylko tych bez mechanizmów oporności, czy tych z jakimkolwiek mechanizmem oporności?
- oprócz analizy dla poszczególnych gatunków *Staphylococcus* spp., należy dodać wspólną analizę dla gronkowców koagulazo-ujemnych.

5. Wniosek końcowy

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska stanowi bardzo cenną i dobrze przygotowaną retrospektywną analizę wyników badań, obejmującą ocenę wrażliwości na antybiotyki i występowanie mechanizmów oporności. Praca porusza bardzo istotny i powszechny problem. Wybrana tematyka jest niezwykle interesująca, a uzyskane wyniki badań mogą posłużyć jako

UNIWERSYTET
MIKOŁAJA KOPERNIKA
W TORUNIU
Wydział Farmaceutyczny
Collegium Medicum w Bydgoszczy

Katedra Mikrobiologii

ul. Curie Skłodowskiej 9, 85-094 Bydgoszcz
e-mail: kizmikrob@cm.umk.pl
tel. +48 52 585 44 80, 52 585 40 47

wartościowy materiał porównawczy przy kontynuacji badań w kolejnych latach. Mają również duże znaczenie praktyczne, ponieważ mogą być wykorzystywane we właściwym prognozowaniu i decyzjach terapeutycznych. Tego typu opracowania stanowią też bardzo wartościowy materiał, na podstawie którego można prognozować trendy dotyczące zmian w antybiotykooporności różnych gatunków bakterii. Podkreślić trzeba bezwzględnie dużą lukę w wiedzy na temat zmian antybiotykooporności patogenów szpitalnych, zwłaszcza w mniejszych ośrodkach. Rozprawa lek. Agnieszki Ponurkiewicz stanowi odpowiedź na wiele pytań stawianych w tym zakresie i bez wątpienia przyczynia się do zmniejszenia wspomnianej luki informacyjnej.

Moje uwagi, chociaż dość liczne, mają charakter sugestii lub prośby o uzupełnienie informacji lub doprecyzowanie opisu i w żadnym stopniu nie przekreślają pozytywnej oceny recenzowanej pracy doktorskiej. Podyktowane są one raczej mnogością zebranych danych, co skłania czytelnika, w tym recenzenta, do stawiania pytań i formułowania sugestii, których uwzględnienie pozwoliłoby „wyciągnąć" jeszcze więcej cennych informacji z ogromnej liczby zgromadzonych i opracowanych przez Doktorantkę wyników.

Reasumując, stwierdzam, że rozprawa doktorska lek. Agnieszki Ponurkiewicz spełnia wymogi zawarte w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2022 r., poz. 574) i wnioskuję do Senatu Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku o dopuszczenie lek. Agnieszki Ponurkiewicz do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie doceniając ogromny nakład pracy, ilość zebranych i przeanalizowanych danych, szczegółowość opracowania, wartość wykonanych analiz i wkład autorki w rozwój wiedzy o zmianach antybiotykooporności bakterii wnioskuje o wyróżnienie niniejszej rozprawy.

Kierownik
Zakładu Oceny Działań
Przeciwdrobnoustrojowych
Krzysztof Skowron
dr hab. inż. Krzysztof Skowron, prof. UMK
Katedra Mikrobiologii