

Lublin, dn. 24.04.2023 r.

Recenzja

rozprawy doktorskiej pt. „Czynniki etiologiczne zakażeń u pacjentów leczonych w Klinice Chirurgii Szcękowo-Twarzowej i Plastycznej Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego w Białymstoku” wykonanej przez Pana lek. dent. Piotra Bortnika pod kierunkiem promotora – Pana dr hab. n. med. Piotra Wieczorka z Zakładu Diagnostyki Mikrobiologicznej i Immunologii Infekcyjnej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku oraz promotora pomocniczego – Pana dr hab. n. med. Jana Borysa z Kliniki Chirurgii Szcękowo-Twarzowej i Plastycznej Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego w Białymstoku

Zakażenia w obrębie twarzoczaszki mają zazwyczaj charakter endogenny. Są wywoływane przede wszystkim przez bakterie należące do mikrobioty kolonizującej jamę ustną oraz nosogardło, jak również skórę w obrębie twarzy. Zróżnicowanie tej mikrobioty rzutuje na różnorodność grup, rodzajów i gatunków bakterii, stanowiących potencjalne czynniki etiologiczne zakażeń w chirurgii szczękowo-twarzowej. Udział poszczególnych drobnoustrojów w tych zakażeniach jest determinowany przez specyfikę każdego oddziału szpitalnego, jak również czynniki demograficzne i kliniczne charakterystyczne dla populacji hospitalizowanych pacjentów.

Celem rozprawy doktorskiej Pana lek. dent. Piotra Bortnika była retrospektywna analiza bakteryjnych czynników etiologicznych odpowiedzialnych za zakażenia tkanek miękkich twarzy i szyi u pacjentów leczonych w Klinice Chirurgii Szcękowo-Twarzowej i Plastycznej Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego w Białymstoku w latach 2013-2017, z uwzględnieniem oceny profilu gatunkowego mikrobioty bakteryjnej oraz jego zmian w etiologii zakażeń okołoszczękowych, przeglądu i porównania drobnoustrojów wywołujących zakażenia zębo- i niezębopochodne oraz oceny lekowrażliwości izolowanych szczepów bakteryjnych na wybrane antybiotyki.

Recenzowana dysertacja stanowi monografię zawierającą typowe rozdziały („Wstęp”, „Cel pracy”, „Materiały i metody”, „Wyniki”, „Dyskusja”, „Wnioski”, „Streszczenie”, „Summary”, „Piśmiennictwo”) oraz dodatkowe informacje obejmujące wykazy tabel, rycin oraz skrótów i symboli, jak również skrótów nazw rodzajowych i gatunkowych bakterii oraz ich grup zastosowane w pracy. Rozprawa doktorska liczy 153 strony. Piśmiennictwo zawiera 182 pozycje literaturowe. Moja uwaga dotyczy niektórych pozycji bibliograficznych z lat 80-tych i 90-tych ubiegłego wieku o charakterze podręczników akademickich.

We „Wstępie” Doktorant przedstawił problem zakażeń w obrębie twarzoczaszki oraz scharakteryzował obszernie bakterie stanowiące najczęstsze czynniki etiologiczne tych infekcji, uwzględniając ich czynniki wirulencji oraz mechanizmy lekooporności. Zwrócił również uwagę na problem zakażeń szpitalnych w chirurgii twarzowo-szczękowej, zwłaszcza zakażeń miejsca operowanego. Należy zaznaczyć, że „Wstęp” zawiera aktualne i istotne

treści, stanowiące bardzo dobre uzasadnienie podjętego tematu badawczego oraz konstruktywne wprowadzenie w tematykę rozprawy doktorskiej.

Materiał do badań stanowiło ogółem 385 szczepów bakteryjnych wyizolowanych w ramach rutynowej diagnostyki mikrobiologicznej od pacjentów hospitalizowanych w Klinice Chirurgii Szczękowo-Twarzowej i Plastycznej Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego w Białymstoku w latach 2013-2017 z zastosowaniem obowiązujących procedur i standardów. Szczepy te izolowano z treści ropnej, wymazów z obszarów jamy ustnej, krwi oraz innych materiałów biologicznych (klinicznych), a następnie poddawano identyfikacji i ocenie lekowrażliwości z zastosowaniem analizatora mikrobiologicznego Vitek 2 (bioMerieux). Wyniki badań lekowrażliwości analizowano statystycznie, stosując test Chi-kwadrat oraz dokładny test Fishera. Obliczenia wykonano w programie Statistica 13.3 (StatSift, Polska). Badania w ramach rozprawy doktorskiej przeprowadzono w oparciu o zgodę Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku (Uchwała nr R-I-002/519/2017).

W rozdziale „Wyniki” Doktorant przedstawił wielokierunkową i szczegółową analizę retrospektywną profilu grupowego/rodzajowego/gatunkowego oraz lekowrażliwości szczepów bakteryjnych izolowanych z materiałów klinicznych od pacjentów leczonych w Klinice Chirurgii Szczękowo-Twarzowej i Plastycznej Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego w Białymstoku w latach 2013-2017. Obejmowała ona poszczególne lata i/lub cały okres 5-letni oraz uwzględniała: (i) przegląd materiałów klinicznych pobranych od pacjentów, (ii) występowanie oraz udział procentowy poszczególnych grup drobnoustrojów takich jak pałeczki beztlenowe Gram-ujemne i Gram-dodatnie, ziarenkowce beztlenowe Gram-ujemne i Gram-dodatnie, laseczki beztlenowe, paciorkowce z rodzajów *Enterococcus* i *Streptococcus*, paciorkowce z innych rodzajów, gronkowce, inne ziarenkowce, pałeczki jelitowe, pałeczki niefermentujące z rodzajów *Acinetobacter*, *Pseudomonas* i *Stenotrophomonas* oraz inne pałeczki, wraz z określeniem trendów, (iii) profile gatunkowe izolowanych szczepów bakteryjnych w obrębie wymienionych grup, (iv) profile lekowrażliwości tych izolatów wraz z analizą statystyczną zmian, (v) porównanie gatunków i rodzajów bakterii izolowanych z zakażeń zębo- i niezębopochodnych ogółem oraz z uwzględnieniem rodzaju materiału klinicznego. Wyniki te zilustrowano w postaci 42 rycin oraz 6 tabel. Należy podkreślić, że zakres eksperymentów przeprowadzonych w ramach rozprawy doktorskiej, zgodny z postawionymi celami badawczymi, jest bardzo obszerny. Doktorant wykonał ogromną pracę, przygotowując wielokierunkową i wieloaspektową analizę przedstawionych wyników.

Doktorant wykazał, że w analizowanym pięcioletnim okresie 45,9% wszystkich materiałów klinicznych stanowiły wymazy, zaś 38,6% – materiały z treści ropnej. W zakażeniach twarzoczaszki ogółem najczęściej występowały cztery grupy drobnoustrojów: pałeczki beztlenowe Gram-ujemne, paciorkowce z rodzaju *Streptococcus*, pałeczki jelitowe oraz gronkowce; obejmowały one około 72% izolowanych szczepów.

Z przypadków infekcji, które zaklasyfikowano jako zębopochodne, wyizolowano 264 szczepy. Wśród nich stwierdzono 120 izolatów bakterii Gram-ujemnych, w obrębie których zidentyfikowano z częstością powyżej 5%, pałeczki beztlenowe (*Prevotella* spp., *Fusobacterium* spp.), ziarenkowce beztlenowe (*Veilonella* spp.) i pałeczki jelitowe (*Escherichia coli*). Z kolei, spośród 144 bakterii Gram-dodatnich potwierdzono występowanie paciorkowców z rodzaju *Streptococcus*, ziarenkowców beztlenowych (*Parvimonas micra*,

Fingoldia magna), enterokoków (*Enterococcus faecalis*) oraz gronkowców (*Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*).

Z przypadków zakażeń niezębopochodnych, wyizolowano 121 szczepów. W zakażeniach tych wśród 68 szczepów bakterii Gram-ujemnych z częstością powyżej 5% występowały pałeczki jelitowe (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Proteus mirabilis*), pałeczki beztlenowe (*Prevotella* spp.), pałeczki niefermentujące (*Acinetobacter baumannii*) oraz ziarenkowce beztlenowe (*Veilonella* spp.), a wśród 53 szczepów bakterii Gram-dodatnich – enterokoki (*Enterococcus faecalis*), paciorkowce z rodzaju *Streptococcus* oraz gronkowce (*Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*).

Czy Doktorant mógłby przedstawić dane dotyczące częstości występowania zakażeń o etiologii mieszanej w obrębie głowy i szyi?

Analizę lekowrażliwości badanych szczepów przeprowadzono w następujących grupach: bakterie beztlenowe Gram-ujemne (pałeczki i ziarniaki), bakterie beztlenowe Gram-dodatnie (pałeczki i ziarniaki), paciorkowce z rodzajów *Streptococcus* i *Enterococcus*, gronkowce oraz pałeczki jelitowe. W grupie bakterii beztlenowych Gram-ujemnych wykazano wysoki odsetek szczepów opornych na klindamycynę (44,3%) i amoksycylinę (40,6%) oraz istotny statystycznie wzrost niewrażliwości na klindamycynę w okresie 5-letnim (z 0 do 50%). W analizowanym przedziale czasowym szczepy te charakteryzowały się 100% wrażliwością na imipenem, piperacylinę z tazobaktamem oraz tikarcylinę z kwasem klawulanowym, jak również niemal 100% wrażliwością na amoksycylinę z kwasem klawulanowym. Wysoki odsetek szczepów bakterii beztlenowych Gram-dodatnich wykazywał oporność na metronidazol (55%) oraz w niektórych latach – na moksyflokscynę i wankomycynę. W badanym okresie szczepy te cechowały się 100% wrażliwością na imipenem, piperacylinę, piperacylinę z tazobaktamem, tikarcylinę z kwasem klawulanowym oraz amoksycylinę z kwasem klawulanowym. Paciorkowce z rodzajów *Streptococcus* i *Enterococcus* charakteryzowały się w okresie 5-letnim 100% wrażliwością na linezolid, lewofloksacynę, imipenem, teikoplaninę i tygecycylinę, jak również niemal 100% wrażliwością na wankomycynę. Wysoki odsetek szczepów paciorkowców z rodzaju *Streptococcus* wykazywał oporność na klindamycynę (38,6%) oraz na erytromycynę (55,3%). W analizowanym przedziale czasu stwierdzono 100% wrażliwość szczepów gronkowców na linezolid, rifampicynę, wankomycynę i tygecycylinę. W okresie 5-letnim stwierdzono wysoki odsetek szczepów gronkowców opornych na klindamycynę (29,3%) i erytromycynę (39%) oraz 21,4% szczepów metycylinoopornych. W przypadku pałeczek jelitowych na uwagę zasługuje wysoki odsetek szczepów opornych na amoksycylinę z kwasem klawulanowym (51,9%) oraz kolistynę (29,3%), jak również pojawienie się szczepów opornych na karbapenemy.

Czy Doktorant mógłby przedstawić swoją opinię dotyczącą proponowanych zasad terapii empirycznej w zakażeniach głowy i szyi w świetle uzyskanych wyników?

W „Dyskusji” Doktorant skonfrontował rezultaty badań własnych z danymi literaturowymi, wskazując na podobieństwa i różnice, jak również przedstawiając interpretację zaobserwowanych rozbieżności. Rozdział ten potwierdza ugruntowaną wiedzę Doktoranta w zakresie mikrobiologicznych aspektów zakażeń w obrębie głowy i szyi.

W oparciu o wyniki badań własnych Doktorant sformułował 7 wniosków. W mojej opinii wnioski nie powinny zawierać szczegółowych informacji, ale przedstawiać pewne

trendy o wymiarze poznawczym lub aplikacyjnym, będąc również podstawą do dalszych badań. Biorąc jednak pod uwagę dużą liczbę przedstawionych rezultatów badań, nie jest łatwo wybrać te najbardziej reprezentatywne.

Chciałabym zaznaczyć, że w recenzowanej pracy zauważyłam nieliczne błędy edytorskie oraz pewne niefortunne sformułowania. Ponadto, aktualna nazwa *Propionibacterium acnes* to *Cutibacterium acnes*. Te drobne niedociągnięcia nie rzutują jednak na moją wysoką ocenę rozprawy.

Podsumowując, cel rozprawy doktorskiej Pana lek. dent. Piotra Bortnika został zrealizowany. Recenzowana praca spełnia wymagania formalne i merytoryczne. Stanowi oryginalne i bardzo cenne z klinicznego punktu widzenia opracowanie epidemiologiczne w zakresie etiologii zakażeń tkanek miękkich twarzy i szyi u pacjentów leczonych w Klinice Chirurgii Szcękowo-Twarzowej i Plastycznej Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego w Białymstoku wraz z oceną profili lekowrażliwości izolowanych szczepów bakteryjnych. Praca ta jest bardzo dobrym przykładem interprofesjonalnego podejścia do problemu zakażeń oraz ich leczenia, zwłaszcza terapii empirycznej, jak również znaczenia współpracy mikrobiolog-klinicysta w zespole terapeutycznym. Ponadto, chciałabym podkreślić, że recenzowaną dysertację oceniam jako wyróżniającą się.

W związku z powyższym zwracam się do Senatu Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku o dopuszczenie Pana lek. dent. Piotra Bortnika do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne.

KIEROWNIK
Katedry i Zakładu Mikrobiologii Farmaceutycznej

prof. dr hab. n. farm. Anna Malm