

Recenzja rozprawy doktorskiej Mgr Estery Jachowicz pt.: „**Antimicrobial consumption and incidence of *Clostridioides difficile* infection in selected Polish patients population**”

wykonanej w Katedrze Mikrobiologii Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego pod kierunkiem Prof. dr hab. Jadwigi Wójkowskiej-Mach.

Clostridioides difficile (dawniej *Clostridium difficile*) jest Gram-dodatnią, beztlenową bakterią zdolną do wytwarzania zarodników. Drobnoustrój ten występuje u ludzi (3-5% w przypadku osób dorosłych, 50% u niemowląt, 10-30% u pacjentów długo hospitalizowanych) i jest przyczyną groźnych stanów zapalnych dolnego odcinka przewodu pokarmowego (rzekomoblioniaste zapalenie jelit). Do czynników mających wpływ na rozwój zakażenia *C. difficile* (CDI) należy zaliczyć: (i) długotrwałą terapię antybiotykową, (ii) stosowanie leków neutralizujących pH soku żołądkowego (iii) zjadliwość szczepu, (iii) podeszły wiek pacjenta, (iv) ogólną kondycję zdrowotną pacjenta. Zazwyczaj infekcja ma charakter endogenny związany z przełamaniem bariery jaką stanowi naturalna mikrobiota organizmu człowieka. W przypadku zakażeń egzogennych dochodzi do przeniesienia bakterii lub jej przetrwalników z jednej osoby (bezobjawowy nosiciel) na drugą. Bakterie *C. difficile* zasiedlając jelito uwalniają toksyny: (i) enteroroksynę (produkt genu *tcdA*), której działanie prowadzi do martwicy krwotocznej, (ii) cytotoksynę (produkt genu *tcdB*) wywołującą martwicę komórek nabłonka jelitowego i powstawanie błon rzekomych. W przypadku obu toksyn można określić ich działanie jako synergistyczne. Niektóre szczepy *C. difficile* (np. BI/NAP1/027) wytwarzają dodatkowo toksynę CDT (toksyna typu AB) o działaniu genotoksycznym w stosunku do komórek eukariotycznych. Infekcje hiperwirulentnymi szczepami wiążą się z cięższym przebiegiem klinicznym choroby.

Szpitalne infekcje *C. difficile* niosą za sobą wysokie koszty. W USA szacowane są one na niemal 800 mln \$ rocznie. W przypadku krajów Unii Europejskiej szacunki ekonomiczne mówią o wydatkach szacowanych na ok. 300 mln euro rocznie. W Polsce odnotowuje się znacząco wyższy niż w innych krajach UE odsetek zapadalności na infekcje wywołane przez *C. difficile*. Według raportu dotyczącego epidemiologii, diagnostyki, terapii i profilaktyki

zakażeń wywołanych przez *C. difficile* (http://antybiotyki.edu.pl/wp-content/uploads/Rekomendacje/clostridium-difficile-2018-3_12_net.pdf), w roku 2017 zapadalność na CDI wynosiła w naszym kraju 30,4 przypadki na 100.000 mieszkańców (22,7 w 2016 roku), odnotowano 11667 zachorowań, hospitalizowano 88,1% chorych. Już z tych danych widać, jak ważny jest to problem. Zmierzenie się z tym wyzwaniem wymaga szczegółowego monitorowania zakażeń CDI przy użyciu nowoczesnych narzędzi badawczych.

W przedstawionej mi do recenzji rozprawie doktorskiej Autorka zajęła się analizą epidemiologiczną infekcji *C. difficile* w kontekście stosowania w praktyce terapeutycznej antybiotyków. Analiza dotyczyła danych zebranych z (i) oddziałów Szpitala Wojewódzkiego św. Łukasza w Tarnowie (badanie jednośrodkowe, praca Jachowicz i in., 2020, *Microorganisms* 8:810), (ii) baz danych Narodowego Funduszu Zdrowia (badanie wielośrodkowe, praca Jachowicz i in., 2022, *Int. J. Environ. Res. Pub. Health* 19:3155), oraz (iii) bazy danych European Center for Disease Prevention and Control za rok 2016 (badanie ogólnoeuropejskie, praca Jachowicz I in., 2020, *Antibiotics* 9:127).

Autorka postawiła przed sobą następujące cele cząstkowe (praca doktorska str. 12/13):

- (i) „Opisanie epidemiologii CDI u pacjentów hospitalizowanych w oddziałach zabiegowych za pomocą współczynników epidemiologicznych, takich jak: zachorowalność skumulowana i gęstość zachorowań;
- (ii) Ocena związku między występowaniem infekcji szpitalnych (HA-CDI) i pozaszpitalnych (CA-CDI) w warunkach szpitalnych oddziałów zabiegowych;
- (iii) Analiza stosowania antybiotyków u pacjentów oddziałów zabiegowych z uwzględnieniem antybiotyków stosowanych w terapii i profilaktyce okołoperacyjnej;
- (iv) Ocena korelacji całkowitego spożycia wybranych grup antybiotyków z natężeniem występowania HA-CDI;
- (v) Określenie epidemiologii powypisowego-CDI w odniesieniu do charakterystyki pacjenta po endoprotezoplastyce stawu biodrowego lub kolanowego;
- (vi) Określenie ambulatoryjnej konsumpcji antybiotyków u pacjentów po endoprotezoplastyce stawu biodrowego lub kolanowego;

- (vii) Określenie zapadalności na CA-CDI oraz HA-CDI w krajach Unii Europejskiej w kontekście konsumpcji wybranych grup antybiotyków w warunkach ambulatoryjnych i opieki szpitalnej”.

Tak zarysowane cele pozwalają na stwierdzenie, że poruszona w pracy problematyka mieści się w głównym nurcie badań mających za cel lepsze zrozumienie epidemiologii, terapii i profilaktyki zakażeń wywołanych przez *C. difficile*.

Ocena formalna

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska obejmuje trzy spójne tematycznie prace oryginalne opublikowane w latach 2020-2022 w następujących czasopismach o zasięgu międzynarodowym: *Microorganisms* – artykuł Jachowicz i in., 2020 (9 autorów; IF₂₀₂₁=4,926; punkty MEN 40), *International Journal of Environmental Research and Public Health* – artykuł Jachowicz i in., 2022 (5 autorów; IF₂₀₂₁=4,614; punkty MEN 140), oraz *Antibiotics* – artykuł Jachowicz i in., 2020 (5 autorów, IF₂₀₂₁=5,222; punkty MEN 70). Punktację Ministerstwa Edukacji Narodowej podano za wykazem czasopism naukowych z 21 grudnia 2021 r. Ze względu na fakt opublikowania wzmiankowanych artykułów w czasopismach naukowych o zasięgu międzynarodowym zostały one poddane krytycznej analizie przez niezależnych recenzentów. W pracach tych o łącznym współczynniku istotności IF=14,762 Mgr Estera Jachowicz jest pierwszą autorką, a z załączonych oświadczeń współautorów wynika, że brała ona udział w opracowaniu koncepcji badań oraz pełniła ona wiodącą rolę w analizie danych, opracowaniu i interpretacji wyników badań, a także brała udział w pisaniu manuskryptów. Prace te zostały poprzedzone krótkim wstępem, po którym zamieszczono następujące rozdziały: materiały i metody, wyniki, dyskusja i wnioski, bibliografia. Dane literaturowe są obszerne tak w części opisowej jak i w przypadku każdego z trzech artykułów co daje wyobrażenie o obyciu Autorki z poruszaną problematyką. Badania zostały przeprowadzone po uzyskaniu dwóch pozytywnych opinii Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Jagiellońskiego. Obydwa dokumenty zostały włączone do pracy doktorskiej. Podsumowując ocenę formalną stwierdzam, że przedstawiona rozprawa spełnia podstawowe kryteria przyjęte dla tego typu opracowań.

Ocena merytoryczna

Rozdziały poprzedzające cykl trzech publikacji w sposób syntetyczny przedstawiają zagadnienia związane z epidemiologią zakażeń *C. difficile*. We wstępie oprócz informacji o hiperwirulentnym szczepie BI/NAP1/027 będącym przyczyną infekcji o poważnym przebiegu warto byłoby wspomnieć o innych rybotypach *C. difficile* zwłaszcza w przypadku szczepów patogennych izolowanych w naszym kraju. Dodatkowo w odniesieniu do narastającej oporności szczepów *C. difficile* na antybiotyki zasadne by było przedstawienie stanu wiedzy na temat rozwoju oporności tego patogena na leki. W rozdziale Materiały i metody przedstawiono źródła danych, które posłużyły do przeprowadzenia analiz, oraz użyte metody statystyczne. Zdefiniowano także podstawowe pojęcia i współczynniki epidemiologiczne, a także przedstawiono kryteria diagnostyczne stosowane w przypadku zakażeń *C. difficile*. W kolejnych rozdziałach przedstawiono w sposób syntetyczny uzyskane wyniki oraz przeprowadzono ich dyskusję z literaturą przedmiotu.

Uważam, że najważniejsze osiągnięcia naukowe zaprezentowane w trzech artykułach naukowych to:

1) W pracy Jachowicz i in., 2020 (*Microorganisms*, 8:810) wykazanie w badaniu jednoośrodkowym, że stosowanie antybiotyków z grupy fluorochinolonów było silnie związane z występowaniem infekcji typu HA-CDI. Nie stwierdzono natomiast takiej zależności w odniesieniu do antybiotyków beta-laktamowych. Analiza stosowania antybiotyków w sześciu oddziałach szpitalnych wykazała ich najwyższe zużycie na oddziale urologii. Niemal połowę z nich stanowiły fluorochinolony. W części dyskusja bardzo rzeczowo wspomniano o ograniczeniach przeprowadzonych analiz wymieniając brak informacji na temat : (i) antybiotykoodporności izolatów, (ii) historii stosowania antybiotyków przez pacjentów przed pobytem w szpitalu, (iii) robotypu izolatów (str. 8 omawianego artykułu). Wysoko oceniam tak sumienne podejście do swojej pracy.

2) W pracy Jachowicz i in., 2022 (*Int. J. Environ. Res. Pub. Health*, 19:3155) w przeprowadzonym badaniu wieloośrodkowym analiza 83525 przypadków zabiegów artroplastyki stawu biodrowego lub kolana ujawniła 192 przypadki CDI. Częściej miało to miejsce w przypadku artroplastyki stawu biodrowego (83%) niż kolana (17%). Zaobserwowano, że rozwój zakażenia korelował z wiekiem (>65 roku życia), politerapią, długim pobytem w szpitalu, czy też zabiegami z powodu urazu. Stwierdzono także pacjenci przebywający na oddziale intensywnej terapii zapadali na CDI istotnie częściej niż inni pacjenci. Również u pacjentów z innymi zakażeniami infekcje *C. difficile* były częstsze.

Zwrócono uwagę, że zachorowalność na CDI po wypisie była zależna od przepisanego antybiotyku. W tej analizie ponownie podkreślono, że występowanie CDI korelowało ze stosowaniem m.in. fluorochinolonów.

3) W pracy Jachowicz i in., 2021 (Antibiotics, 9:127) przedstawiono analizę danych dotyczących infekcji *C. difficile* w skali europejskiej co pozwoliło na ocenę sytuacji w naszym kraju. W porównaniu z danymi ogólnoeuropejskim zapadalność na CDI w Polsce była istotnie wyższa (odpowiednio 4,6/10000 i 7,6/10000 osobodni leczenia). Więcej przypadków CDI odnotowano w środowisku szpitalnym niż pozaszpitalnym. Stwierdzono ponadto, że w porównaniu z danymi ze szpitali antybiotyki na poziomie ambulatoryjnym były przepisywane w Polsce 16,3 razy częściej. W Europie, w tym samym czasie obserwowano natomiast 10-krotną różnicę pomiędzy szpitalem a ambulatorium w przepisywaniu antybiotyków. Przy okazji zwrócono uwagę, że analizowane dane ogólnoeuropejskie mogą być niepełne ze względu na szczupłość informacji dostarczonych przez niektóre kraje (str. 6 omawianego artykułu, podrozdział: Limitations). Przedstawiając uzyskane wyniki zauważono istnienie zależności pomiędzy antybiotykami z określonej grupy a ich spożyciem. Najczęściej stosowanymi były antybiotyki o szerokim spektrum działania. W tym artykule, tak jak w poprzednich, uzyskane wyniki zostały krytycznie omówione w rozdziale dyskusja ze wskazaniem na czynniki wpływające na obraz epidemiologiczny zakażeń wywołanych przez *C. difficile* w Polsce. Jednocześnie zaproponowano konkretne rozwiązania mające na celu poprawę sytuacji epidemiologicznej w odniesieniu do przedmiotowych zakażeń.

Pytania i zagadnienia do dyskusji podczas publicznej obrony

- 1) Na czym polega molekularny mechanizm odpowiedzialny za hiperwirulencję szczepów *C. difficile* NAP1.
- 2) Rozwój antybiotykooporności w przypadku *C. difficile* w skali globalnej i lokalnie, w Polsce.
- 3) Probiotyki a profilaktyka zakażeń *C. difficile*.

Podsumowując chciałbym stwierdzić, że przedstawiona do recenzji praca spełnia wymagania stawiane rozprawom doktorskim i stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego. Tym samym spełnia wymogi stawiane dysertacjom na stopień naukowy doktora, określonym w art. 13 pkt 1 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule

naukowym, oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. 2003 Nr 65 poz. 595) i jednocześnie ujętym w przepisach wprowadzających ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (art. 179, pkt 1 ustawy z dnia 3 lipca 2018 r.). Nie mam wątpliwości, że Autorka posiada szeroką wiedzę z zakresu epidemiologii zakażeń bakteryjnych oraz wykazała się umiejętnościami samodzielnego prowadzenia badań naukowych. Mając to na uwadze zwracam się do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauki medyczne Uniwersytetu Jagiellońskiego z wnioskiem o dopuszczenie Pani mgr Estery Jachowicz do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



prof. dr hab. Tadeusz Kaczorowski

Gdańsk, 5 września 2022 r.