

Akceptuję
[Signature]

Gdańsk, 27/06/2023

dr hab. med. Sławomir Lizakowski
Klinika Nefrologii, Transplantologii
i Chorób Wewnętrznych
Gdański Uniwersytet Medyczny

Ocena rozprawy doktorskiej lek. Piotra Wilkowskiego zatytułowanej
**„Zakażenia układu moczowego szczepami wielolekoopornymi u pacjentów po
transplantacji narządów”**

Układ moczowy zdrowej osoby jest chroniony przed zakażeniami dzięki wielu nieimmunologicznym oraz immunologicznym mechanizmom, które nie są w pełni wydolne w przypadku pacjentów po przeszczepieniu narządów. Poza obniżeniem odporności humoralnej i komórkowej w wyniku stosowania leków immunosupresyjnych dodatkowy problem mogą stanowić różnego rodzaju zaburzenia urologiczne istniejące jeszcze przed zabiegiem, odpływ wsteczny pęcherzowo-moczowodowy do nerki przeszczepionej, czy też instrumentacje na drogach moczowych odbywające się często po transplantacji. Wszystko to sprawia, że zakażenia układu moczowego (ZUM) stanowią najczęstsze powikłania infekcyjne wśród biorców narządów unaczynionych (szczególnie nerki). Zgodnie z definicją, każde ZUM u pacjenta po transplantacji należy traktować jako powikłane. Tłumaczy to w znaczącym stopniu epidemiologię, etiologię i przebieg kliniczny ZUM w tej grupie chorych. Najczęstsze czynniki etiologiczne ZUM u chorych po przeszczepieniu nerki są zatem podobne jak w przypadku powikłanych ZUM w populacji ogólnej. Najczęściej identyfikowanym patogenem w posiewach moczu jest *Escherichia coli*, która jest również najczęściej izolowana z krwi w przypadkach posocznicy nerkopochodnej. Często stwierdza się też obecność *Pseudomonas species* oraz *Klebsiella species*. Podkreśla się rosnącą częstość zakażeń szczepami wieloopornymi, zwłaszcza pałeczkami z rodziny *Enterobacteriaceae*, zawierającymi β -laktamazy o rozszerzonym spektrum substratowym (ESBL, *extended-spectrum beta-lactamases*), które mogą odpowiadać za prawie 40% ZUM u pacjentów po transplantacji nerki, czy też prawie 20% po transplantacji wątroby (dane przedstawiane przez Doktoranta). Ryzyko zakażenia pałeczką ESBL rośnie z każdym kolejnym incydentem ZUM, a w przypadku posocznicy odsetek szczepów ESBL *Escherichia coli* i *Klebsiella species* przekracza 50%. Nadużywanie antybiotyków zwiększa ryzyko pojawiania się nowych mechanizmów oporności, a tempo i zakres prac nad nowymi lekami przeciwbakteryjnymi są niesatysfakcjonujące. W ciągu ostatnich lat amerykańska Agencja Żywności i Leków FDA i Europejska Agencja Leków EMA zarejestrowały 11 antybiotyków, z których aż 9 (czyli ponad 80 proc.) wywodzi się z już istniejących klas, co oznacza, że

oporność na nie już istnieje lub jest kwestią niedalekiej przyszłości. Poza „klasycznymi” lekami przeciwbakteryjnymi (takimi jak antybiotyki, czy chemioterapeutyki), ostatnio coraz częściej w terapii zakażeń próbuje się wykorzystywać inne środki. Zgodnie z cytowanym już raportem WHO aktualnie w badaniach klinicznych znajduje się ok. 30 takich preparatów: wśród nich są swoiste przeciwciała przeciwko toksynom i innym produktom bakteryjnym, bakteriofagi i ich enzymy, środki modulujące naturalną mikrobiotę człowieka oraz związki immunomodulacyjne.

Biorąc pod uwagę powyższe informacje, uważam, że podjęcie problemu zakażeń bakteriami wielolekoopornymi, ze szczególnym uwzględnieniem szczepu *K. pneumoniae*, u biorców przeszczepu nerki lub wątroby są godne uwagi i poparcia.

Przeprowadzone przez Doktoranta badania miały na celu:

- ocenę częstości występowania ZUM wywołanych bakteriami wielolekoopornymi u biorców przeszczepów narządowych oraz czynników ryzyka tych zakażeń,
- analizę wpływu nosicielstwa bakterii patogennych w przewodzie pokarmowym na częstość występowania ZUM wywołanych przez te szczepy,
- ocenę wyników zastosowania niestandardowych schematów leczenia nawracających ZUM wywołanych przez wielolekooporne szczepy bakterii.

Temat i cele pracy doktorskiej lek. Piotr Wilkowskiego należy uznać za aktualne, interesujące i klinicznie istotne.

Podstawę rozprawy doktorskiej stanowi cykl pięciu, tematycznie spójnych, pełnotekstowych, oryginalnych artykułów opublikowanych w latach 2016-2023. Publikacje te dotyczą epidemiologii, diagnostyki i leczenia ZUM u pacjentów po przeszczepieniu narządu, ze szczególnym uwzględnieniem zakażeń szczepami lekoopornymi. Cztery artykuły zostały opublikowane w czasopismach z listy filadelfijskiej (Transplantation Proceedings, Annals of Transplantation, Jundishapur Journal of Microbiology) o łącznej wartości współczynnika oddziaływania (Impact Factor) 4,579 oraz jednego artykułu w czasopiśmie spoza tej listy (Przegląd Epidemiologiczny). Łączna liczba punktów MEiSW dla wszystkich prac wynosi 225. Całość uzupełnia wykaz komunikatów zjazdowych Doktoranta. Należy podkreślić, że Doktorant jest pierwszym autorem wszystkich publikacji składających się na rozprawę doktorską, a jego wkład autorski w ich powstanie wynosi od 35 do 65%. Z oświadczeń współautorów prac składających się na rozprawę doktorską wynika, że lek. Piotr Wilkowski był współautorem koncepcji wszystkich przeprowadzonych badań, dokonywał analizy i interpretacji otrzymanych wyników oraz przygotowywał manuskrypty.

Ponieważ oryginalne prace badawcze, które składają się na rozprawę doktorską, były wcześniej poddane recenzjom przez redakcje czasopism i niezależnych recenzentów, moja recenzja tak przygotowanej rozprawy przede wszystkim koncentruje się na ocenie autoreferatu.

Trzy z prezentowanych prac dotyczą opisów serii przypadków, w których zastosowano nowatorskie podejście do leczenia zakażeń układu moczowego u chorych poddawanych immunosupresji drobnoustrojami wielolekoopornymi. W pozostałych dwóch pracach Doktorant

przedstawił zagadnienia dotyczące epidemiologii zakażeń układu moczowego, ze szczególnym uwzględnieniem szczepów wielolekoopornych, u pacjentów po przeszczepieniu nerki lub wątroby.

Przedstawiona do oceny rozprawa zatytułowana ma typowy dla tego rodzaju prac układ. Pierwsze strony obejmuje wykaz publikacji wchodzących w skład pracy doktorskiej oraz wykaz streszczeń prezentowanych podczas kongresów naukowych. Następnie znajdują się spis treści, wykaz skrótów, spis tabel i rycin oraz streszczenia w języku polskim i angielskim, które bardzo dobrze odzwierciedlają zawartość pracy. Kolejne 6 stron to wstęp, w którym lek. Piotr Wilkowski w sposób jasny i precyzyjny przedstawia problem ZUM u pacjentów po przeszczepieniu narządów unaczynionych z uwzględnieniem mechanizmów działania antybiotyków oraz oporności bakterii, szczególnie szczepów *K. pneumoniae*, wskazując tym samym na zasadność podjętej pracy. Czytanie tego rozdziału ułatwiają zawarte w nim ryciny i tabele, jakkolwiek niektóre z nich w mojej ocenie są niepotrzebne i niewiele wnoszą do opisu prezentowanego zagadnienia (*ryciny 7 i 8* tj. wzory strukturalne penicylin i kwasu klawulanowego oraz *tabela 2* przedstawiająca systematykę bakterii *K. pneumoniae*). We wstępie zawarte jest również omówienie publikacji stanowiących zasadniczą część rozprawy doktorskiej (podrozdział „Prezentacja prac”). Kolejny rozdział stanowią założenia i cele prac, a następnie zawarte są kopie publikacji wchodzących w skład cyklu. Następną część dysertacji zawiera podsumowanie badań i wnioski wynikające z poszczególnych prac. W części stanowiącej zakończenie pracy zawarta jest zgoda Komisji Bioetycznej przy Warszawskim Uniwersytecie Medycznym (KB/157/2015) oraz oświadczenia zgody współautorów prac na ich wykorzystanie w postępowaniu o nadanie stopnia doktora nauk medycznych wraz z określeniem procentowego udziału w przygotowanie publikacji. Całość pracy jest zakończona zestawieniem aktualnego i dobrze dobranej 30 pozycji piśmiennictwa.

Jakkolwiek przedstawienie wykazu prac w kolejności chronologicznej jest zrozumiałe, to w mojej ocenie omawianie ich powinno odbywać w kolejności nieco zmienionej, co pozwalałoby na łatwiejszą interpretację otrzymanych wyników. Pozwolę sobie zatem pokrótce omówić poszczególne prace w innej kolejności, aniżeli zaproponował Doktorant).

Praca piąta („Szczepy wielolekooporne jako czynniki etiologiczne zakażeń układu moczowego u pacjentów po transplantacji narządów”, Przegląd epidemiologiczny, w trakcie publikacji) przedstawia statystyczne dane dotyczące stwierdzanych ZUM u chorych hospitalizowanych po przeszczepieniu narządów i stanowi dobry wstęp do prezentowanego cyklu prac dotyczącego leczenia tych zakażeń. Doktorant wraz z współpracownikami przeanalizował wszystkie przypadki ZUM, które stwierdzono wśród pacjentów po transplantacji narządów unaczynionych hospitalizowanych w Klinice Immunologii, Transplantologii i Chorób Wewnętrznych w latach 2014 - 2016. ZUM stwierdzono u 12,9% wszystkich hospitalizowanych pacjentów. W głównej mierze problem dotyczył pacjentów po przeszczepieniu nerki (80%), ale również bardzo często występował u biorców wątroby (20%), przy czym aż 34% spowodowanych było przez szczepy wielolekooporne.

Praca trzecia („*Clinical significance of gastrointestinal carriage of Klebsiella pneumoniae-producing Extended-Spectrum Beta-Lactamases in kidney graft recipients*”, *Transplantation Proceedings*, 2018) była próbą poszukiwania czynników predysponujących do występowania ZUM szczepami wielolekoopornymi. Oceniono w niej częstość występowania kolonizacji przewodu pokarmowego biorców nerki przez *K. pneumoniae* ESBL(+) oraz częstość występowania ZUM wywołanych przez tę bakterię. Wykazano silny związek między nosicielstwem a występowaniem ZUM wywołanych przez ten drobnoustrój. Wyniki tej pracy były podstawą wprowadzenia rutynowych badań w kierunku nosicielstwa bakterii wielolekoopornych w przewodzie pokarmowym u pacjentów hospitalizowanych w ośrodku, w którym pracuje Doktorant.

Pierwsza praca z cyklu („*Successful treatment of urinary tract infection in kidney transplant recipients caused by multiresistant Klebsiella pneumoniae producing New Delhi Metallo-Beta-Lactamase (NDM-1) with strains genotyping*”, *Transplantation Proceedings*, 2016) opisuje 3 przypadki ZUM u biorców nerki wywołanych bakterią *Klebsiella pneumoniae* NDM (*New Delhi metallo-β-lactamase*). Stwierdzono skuteczność leczenia tej infekcji przy zastosowaniu dwóch dożylnych antybiotyków (karbapenemu oraz kolistyny) wraz z profilaktycznym zastosowaniem fosfomycyny.

W drugiej oraz czwartej z załączonych prac („*Successful treatment of Extended-Spectrum - Lactamase-Producing Klebsiella pneumoniae recurrent urinary tract infection with high doses of amoxicillin with clavulanic acid in a kidney transplant recipients: A case report*”, *Transplantation Proceedings*, 2017 oraz „*Breaking antimicrobial resistance: high-dose amoxicillin with clavulanic Acid for urinary tract infections due to Extended-Spectrum Beta-Lactamase (ESBL)-producing Klebsiella pneumoniae*”, *Annals of Transplantation* 2023) Doktorant wraz z współpracownikami wykazali, że możliwe jest przełamanie oporności szczepów *K. pneumoniae* ESBL(+) poprzez zastosowanie maksymalnych dawek terapeutycznych doustnej amoksycyliny z kwasem klawulanowym stosowanych długoterminowo (> 6 m-cy). Zasugerowano, że takie leczenie może być jedyną skuteczną opcją terapeutyczną dla pacjentów z nawracającymi infekcjami leczonych w warunkach ambulatoryjnych, gdy inne metody zawodzą. Według autorów wypracowany schemat jest łatwy do zastosowania, wygodny, jak się okazuje bezpieczny dla pacjentów, a także korzystny pod względem ekonomicznym. Takie leczenie mogłoby stanowić bezpieczną i niedrogą alternatywę dla karbapenemów w wybranych przypadkach ZUM. Sukces takiej terapii był podstawą do rozpoczęcia stosowania dużych dawek amoksycyliny u pacjentów po przeszczepieniu nerki z nawracającymi infekcjami o etiologii *Klebsiella pneumoniae* wytwarzającymi ESBL w ośrodku, w którym pracuje Doktorant.

Na podstawie wyników opublikowanych prac Doktorant wyciąga następujące wnioski:

1. W przypadku zakażenia układu moczowego spowodowanego przez szczepy *K. pneumoniae* NDM-1 przedłużone leczenie skojarzone, a następnie zastosowanie doustnej profilaktyki nawrotu przy użyciu fosfomycyny może być skuteczną metodą leczenia

2. Zakażenia układu moczowego etiologii *K. pneumoniae* ESBL(+) mogą być skutecznie leczone przy użyciu długoterminowej terapii opartej na wysokich dawkach amoksycyliny w połączeniu z kwasem klawulanowym w standardowej dawce.
3. Istnieje silny związek pomiędzy kolonizacją przez bakterie *K. pneumoniae* ESBL(+) przewodu pokarmowego, płcią żeńską biorcy przeszczepu oraz dawką przyjmowanego kwasu mykofenolowego, a infekcjami dróg moczowych o etiologii *K. pneumoniae* ESBL(+)
4. Wśród pacjentów hospitalizowanych po transplantacji narządów zakażenia układu moczowego występują częściej u osób płci męskiej niż w populacji ogólnej i częściej są wywołane przez bakterie Gram-dodatnie.

Znaczna część przypadków ZUM stanowią zakażenia wywołane przez szczepy wielolekooporne z przeważającym odsetkiem bakterii Gram-ujemnych

Zakażenia układu moczowego nie dotyczą wyłącznie biorców przeszczepu nerki, ale także wątroby.

Około 1/3 zakażeń występuje w okresie pierwszego roku od przeszczepu narządu.

Etiologia mieszana jest częsta i stanowi 25% rozpoznanych zakażeń układu moczowego

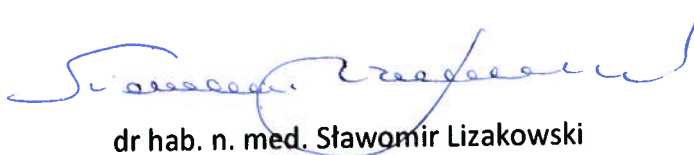
Z obowiązku recenzenta przedstawiam nieliczne uwagi, które nasunęły mi się w trakcie studiowania rozprawy:

- Lepiej byłoby, aby wnioski dotyczyły zbiorczo wszystkich prac, a nie były przedstawiane jako wnioski wynikające z poszczególnych publikacji
- W wersji elektronicznej przedstawionej mi do recenzji pojawiło się 40 (!) pustych stron, a ponadto na wielu stronach nie ma numeracji
- W rozdziale „Poświadczenie Biblioteki WUM znalazła się ponownie zgoda Komisji Bioetycznej
- Pojawiło się kilka, w mojej ocenie, niefortunnych sformułowań (np. tabela nr 1 na stronie 19 „... badania ‘Lancetu’, na stronie 28 „Dawkowanie preparatów amoksycyliny i kwasu klawulanowego wynikają po części z dostępności na rynku odpowiednich preparatów ...”, czy też na stronie 30 „Obecność ZUM wśród biorców przeszczepu nerki nie budzi podejrzenia – zakażenia te są od początku definiowane jako powikłane”)

Wyżej wymienione uwagi w żadnej mierze nie umniejszają wysokiej wartości merytorycznej przeprowadzonych badań, znaczącej pracy włożonej przez Doktoranta w zaplanowanie prac, przeprowadzenie analiz, obliczeń statystycznych i przygotowanie publikacji, jak również samej rozprawy doktorskiej. Doktorant wykazał się szeroką wiedzą, dużą dojrzałością w zakresie przeprowadzania badań i analizowania uzyskanych wyników. Zaproponowany schemat długotrwałego leczenia ZUM o etiologii *Klebsiella pneumoniae* ESBL (+) sam chętnie rozważę w codziennej praktyce, w leczeniu pacjentów po przeszczepieniu nerki.

W oparciu o powyższe omówienie pracy stwierdzam, że Doktorant odpowiedział na postawione pytania badawcze, wykazała się umiejętnością prowadzenia pracy naukowej oraz interpretacji uzyskanych wyników i stwierdzam, że przedstawiona rozprawa pt. „**Zakażenia układu moczowego szczepami wielolekoopornymi u pacjentów po transplantacji narządów**” spełnia wszystkie kryteria określone w art. 13 Ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w dziedzinie sztuki z dnia 14 marca 2003 r.

Zwracam się zatem do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauk Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego o dopuszczenie lek. Piotra Wilkowskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



dr hab. n. med. Sławomir Lizakowski