

4. Streszczenie w języku polskim i angielskim

Wstęp: Do oddziału anestezjologii i intensywnej terapii przyjmowani są chorzy w stanie zagrożenia życia, z urazami wielonarządowymi, schorzeniami prowadzącymi do ostrej niewydolności oddechowej, niewydolności krążenia, chorzy po rozległych zabiegach operacyjnych, nieprzytomni z różnych przyczyn, z ostrym zawałem mięśnia sercowego i pacjenci po nagłym zatrzymaniu krążenia. Prawidłowe funkcjonowanie organizmu człowieka jest w dużej mierze uzależnione od obecności mikrobiomu, czyli różnorodnych drobnoustrojów bytujących na skórze, w układzie oddechowym, pokarmowym czy moczowo-płciowym. Hospitalizacja, zwłaszcza długotrwała jest przyczyną zmian w składzie ludzkiej mikrobioty. Środowisko szpitalne sprzyja rozwojowi i rozprzestrzenianiu drobnoustrojów w tym wielolekoopornych, które mogą skolonizować pacjenta i doprowadzić do zakażenia. Szczególnie podatni na zakażenia szpitalne są pacjenci z immunosupresją, po zabiegach chirurgicznych, z ranami niegojącymi się i oparzeniami oraz pacjenci z oddziałów intensywnej terapii. Zmianom składu mikrobioty sprzyjają m.in.: antybiotykoterapia, intubacja, obecność cewników oraz żywienie pozajelitowe.

Cel pracy: Celem pracy jest poszukiwanie zależności wystąpienia kolonizacji bakteriami chorobotwórczymi i potencjalnie chorobotwórczymi (tworzącymi biofilm) oraz grzybami w odniesieniu do 45 czynników ryzyka obciążających organizm chorego leczonego w Klinice Anestezjologii i Intensywnej Terapii i tym samym sprzyjających kolonizacji w określonych dobach hospitalizacji. Dodatkowym celem badań jest określenie podatności często izolowanych drobnoustrojów na antyseptyki i lawaseptyki powszechnie stosowane w pielęgnacji i leczeniu pacjentów na OIT.

Materialy i Metody: Do analizy wykorzystane dane z Karty Przyjęć i Wypisów Oddziału Anestezjologii i Intensywnej Terapii Klinicznego Szpitala Wojewódzkiego nr 1 im. F. Chopina w Rzeszowie. Dane zebrano z okresu od 1 października 2016 r. do 30 listopada 2017 r. Do analizy zakwalifikowano 115 pacjentów. Pacjenci zostali sklasyfikowani pod względem przyczyny hospitalizacji i występowania czynników ryzyka zakażenia. Przygotowano zestawienie izolowanych od pacjentów drobnoustrojów w I, IV, IX i XI dobie od przyjęcia na oddział. Wymazy były pobierane z policzka, powłok skórnych oraz odbytu. W badaniach *in vitro* wykorzystano szczepy wzorcowe drobnoustrojów patogennych (*Staphylococcus aureus* ATCC 33591, *Enterococcus faecium* ATCC 19434, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 4352, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Candida albicans* ATCC 10231) oraz po 3 szczepy

kliniczne każdego z w/w gatunków. Szczepy wzorcowe kliniczne pochodzą z kolekcji Katedry i Zakładu Mikrobiologii Farmaceutycznej Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu. Oceniono aktywność przeciwdrobnoustrojową czterech substancji przeciwdrobnoustrojowych (oktenidyna, poliheksanidyna, chlorheksydyna i powidon jodu). Zastosowano metody: oceny siły tworzenia biofilmu przez badane szczepy z wykorzystaniem chlorku tetrazoliowego i fioletu krystalicznego, oceny minimalnego stężenia hamującego wzrost drobnoustrojów oraz oceny minimalnego stężenia eradykującego biofilm.

Wyniki: Do badania zakwalifikowano 115 pacjentów: 41 kobiet (35,7%) i 74 mężczyzn (64,3%). Średnia wieku wynosiła 62,36 lat. Z pobranego materiału mikrobiologicznego wyizolowano 19 rodzajów drobnoustrojów (16 rodzajów bakterii i 3 rodzaje grzybów). Z policzka izolowano najczęściej szczepy z gatunku *Candida albicans* (i rodzaju *Candida* spp.), a także *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae* i *Pseudomonas aeruginosa*. Liczba gatunków lub wyszczególnionych grup drobnoustrojów wyizolowanych z powłok brzusznych była istotnie niższa w porównaniu do liczby gatunków wyizolowanych z policzków pacjentów (n=16: n=31; 34%:66%, odpowiednio, p<0.5). Gatunkami izolowanymi najczęściej były *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* oraz *Enterococcus faecium*. Skład gatunkowy drobnoustrojów pobranych z odbytu różnił się w porównaniu do składu gatunkowego drobnoustrojów izolowanych z policzka oraz powłok brzucha pacjentów. Zaobserwowano przewagę w liczbie szczepów należących do gatunku *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* oraz *Enterococcus faecium*. W badaniach *in vitro* nad skutecznością środków przeciwdrobnoustrojowych każdy z badanych preparatów wykazał się działaniem hamującym wzrost drobnoustrojów w dużym rozcieńczeniu. Aktywna w największym rozcieńczeniu była chlorheksydyna (zakres aktywnych rozcieńczeń preparatu wyjściowego: 0,02% – 0,78%), oktenidyna i poliheksanidyna hamowały wzrost bakterii w zakresach rozcieńczeń badanych preparatów odpowiednio: 0,1% – 3,13% oraz 0,2% – 6,25%, natomiast najwyższe wartości aktywnego stężenia preparatu wyjściowego zanotowano dla powidonu jodu: 1,56% – 12,5%. Biofilmy utworzone przez drobnoustroje były mniej wrażliwe na działanie badanych preparatów. Chlorheksydyna i poliheksanidyna eradykowały biofilmy każdego z badanych szczepów (zakresy aktywnych rozcieńczeń preparatu wyjściowego, odpowiednio: 0,39%–25% oraz 6,25%–100%). Preparat z oktenidyną był aktywny w zakresie rozcieńczeń 3,13%–100% z wyjątkiem szczepu klinicznego P2, który okazał się oporny na działanie OCT. Powidon jodu eradykował biofilm w zakresie rozcieńczeń preparatu

wyjściowego 3,13%–100% poza biofilmem szczepu klinicznego K1, który był odporny na działanie PVP-I.

Dyskusja: Uzyskane dane wykazały nawracającą obecność drobnoustrojów kolonizujących przyjętych pacjentów. Mikroorganizmy te cechowały się zróżnicowaną (zarówno w znaczeniu między- jak i wewnątrzgatunkowym) wrażliwością na zastosowane środki antyseptyczne co sugeruje konieczność wykonywania analiz oceny stopnia eradykacji drobnoustrojów z wykorzystaniem antyseptyków ukierunkowanych na specyficzne szczepy zasiedlające poszczególne powłoki ciała pacjenta. Jednocześnie na skutek zastosowania procedur higienicznych i antyseptycznych liczba drobnoustrojów była istotnie najniższa w dobie XI od przyjęcia pacjenta co wskazuje na ten moment czasowy jako najodpowiedniejszy (w aspekcie mikrobiologicznym) do wykonania transplantacji. Uzyskane wyniki wykazują zasadność spersonalizowanego podejścia do pacjenta uwzględniające specyfikę jego stanu ogólnego i mikrobiologicznego oraz właściwości zastosowanych środków przeciwdrobnoustrojowych w tym szczególnie antyseptyków.

Wnioski: Kolonizacja drobnoustrojami jest procesem nawracającym i wymaga ciągłego monitorowania w celu detekcji obecności patogenów zagrażających zdrowiu i życiu pacjentów. Zastosowane procedury szpitalne obejmujące wykorzystanie środków antyseptycznych cechują się wysoką, ale nie pełną skutecznością względem drobnoustrojów, które kolonizują pacjentów. Stosując środki antyseptyczne w profilaktyce mikrobiologicznej chorego należy mieć na względzie wysokie różnice między- oraz wewnątrzgatunkowe wrażliwości drobnoustrojów, które przekładają się na skuteczność eradykacji mikrobiologicznej. Zastosowane procedury higieniczne i antyseptyczne przekładają się na najistotniejsze obniżenie liczby wyizolowanych drobnoustrojów w dobie XI; w świetle wykonanych badań wykonanie transplantacji w tym czasie powinno korelować z niskim ryzykiem powikłań wywołanych przez obecność drobnoustrojów

Introduction: The anaesthesiology and intensive care unit admits patients in a life-threatening condition, with multi-organ injuries, diseases leading to acute respiratory failure, circulatory failure, patients after extensive surgical procedures, unconscious for various reasons, with acute myocardial infarction and patients after emergency cardiac arrest. The proper functioning of the human body largely depends on the presence of the microbiome, i.e., various microorganisms that live on the skin, in the respiratory, digestive and

genitourinary systems. Hospitalization, especially long-term hospitalization, causes changes in the composition of the human microbiota. The hospital environment is conducive to the development and spread of microorganisms, including multi-drug resistant ones, which can colonize the patient and lead to infection. Patients with immunosuppression, after surgical procedures, non-healing wounds and burns, and patients from intensive care units are particularly susceptible to nosocomial infections. Changes in the composition of the microbiota are favored by, among others, antibiotic therapy, intubation, the presence of catheters and parenteral nutrition.

Aim of the study: The aim of the study is to look for the relationship between the occurrence of colonization with pathogenic and potentially pathogenic (biofilm) bacteria and fungi in relation to 45 risk factors burdening the body of a patient treated in the Department of Anesthesiology and Intensive Therapy, and thus favoring colonization on specific days of hospitalization. An additional aim of the research is to determine the susceptibility of often isolated microorganisms to antiseptics and lavaseptics commonly used in the care and treatment of ICU patients.

Materials and Methods: The data from the Admission and Departure Cards of the Department of Anaesthesiology and Intensive Therapy of the Clinical Hospital of the Provincial Hospital No. F. Chopin in Rzeszów. Data were collected from October 1, 2016 to November 30, 2017. 115 patients were qualified for the analysis. Patients were classified according to the reason for hospitalization and the presence of infection risk factors. A list of microorganisms isolated from patients was prepared on the 1st, 4th, 9th and 11th day after admission to the Department. Swabs were taken from the cheek, skin and anus. In vitro studies were performed with reference strains of pathogenic microorganisms (*Staphylococcus aureus* ATCC 33591, *Enterococcus faecium* ATCC 19434, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 4352, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Candida albicans* ATCC 10231) and 3 strains of each clinical species. The standard clinical strains come from the collection of the Chair and Department of Pharmaceutical Microbiology of the Wrocław Medical University. The antimicrobial activity of four antimicrobial substances (octenidine, polyhexanidine, chlorhexidine and iodine povidone) was assessed. The methods used were evaluation of the strength of biofilm formation by the tested strains with the use of tetrazolium chloride and crystal violet, evaluation of the minimum concentration inhibiting the growth of microorganisms, and evaluation of the minimum concentration eradicating the biofilm.

Results: 115 patients were enrolled in the study: 41 women (35.7%) and 74 men (64.3%). The mean age was 62.36 years. 19 types of microorganisms (16 types of bacteria and 3 types of fungi) were isolated from the collected microbiological material. The most common strains of *Candida albicans* (and *Candida* spp.) As well as *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae* and *Pseudomonas aeruginosa* were isolated from the cheek. The number of species or specified groups of microorganisms isolated from the abdominal integuments was significantly lower compared to the number of species isolated from the cheeks of the patients (n = 16: n = 31; 34%: 66%, respectively, p <0.5). The most frequently isolated species were *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* and *Enterococcus faecium*. The species composition of microorganisms collected from the rectum was different compared to the species composition of microorganisms isolated from the cheeks and abdominal wall of the patients. An advantage was observed in the number of strains belonging to the species *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium*. In *in vitro* studies on the efficacy of antimicrobial agents, each of the tested preparations showed an activity of inhibiting the growth of microorganisms in high dilution. Chlorhexidine was active in the highest dilution (range of active dilutions of the starting preparation: 0.02% - 0.78%), octenidine and polyhexanidine inhibited the growth of bacteria in the dilution ranges of the tested preparations, respectively: 0.1% - 3.13% and 0, 2% - 6.25%, while the highest values of the active concentration of the starting preparation were recorded for povidone iodine: 1.56% - 12.5%. Biofilms formed by microorganisms were less sensitive to the effects of the tested preparations. Chlorhexidine and polyhexanidine eradicated the biofilms of each of the tested strains (ranges of active dilutions of the starting preparation: 0.39% –25% and 6.25% – 100%, respectively). The octenidine formulation was active in the dilution range of 3.13% – 100%, with the exception of the clinical strain P2, which turned out to be resistant to OCT. Iodine povidone eradicated the biofilm in the dilution range of the starting formulation 3.13% –100%, except for the clinical strain K1 biofilm which was resistant to PVP-I.

Discussion: The obtained data showed the recurrent presence of microbes colonizing the admitted patients. These microorganisms were characterized by different (both interspecific and intraspecific) sensitivity to the applied antiseptics, which suggests the need to perform analyzes to assess the degree of microorganism eradication with the use of antiseptics targeting specific strains inhabiting the individual body shells of the patient. At the same time, as a result of the application of hygienic and antiseptic procedures, the number of microorganisms was significantly the lowest on day 11 since the patient was admitted, which

indicates this time point as the most appropriate (in microbiological terms) for transplantation. The obtained results demonstrate the legitimacy of a personalized approach to the patient, taking into account the specificity of his general and microbiological condition as well as the properties of the antimicrobial agents used, especially antiseptics.

Conclusions: Microbial colonization is a recurrent process and requires continuous monitoring in order to detect the presence of pathogens that threaten the health and life of patients. The applied hospital procedures involving the use of antiseptics are highly, but not fully effective against microorganisms that colonized patients. When using antiseptics in microbiological prophylaxis of the patient, one should take into account the high inter- and intra-species differences in the sensitivity of microorganisms, which translate into the effectiveness of microbiological eradication. The applied hygienic and antiseptic procedures translate into the most significant reduction in the number of isolated microorganisms in the 11th day; in the light of the performed studies, transplantation performed at this time should correlate with a low risk of complications caused by the presence of microorganisms

