

Kraków, dnia 11 września 2019

Recenzja

pracy doktorskiej Pani lek. med. Beaty Mielczarek o tytule „Znaczenie kliniczne występowania szczepów z rodzaju *Acinetobacter* w populacji pacjentów OIT z uwzględnieniem ciśnienia kolonizacji jako parametru wskaźnikowego”.

Pracę wykonano w Klinice Anestezjologii i Intensywnej Terapii Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu.

Promotor: dr hab. n. med. Lidia Łysenko, prof. nadzw.

Przedmiotem pracy doktorskiej Pani lek med. Beaty Mielczarek jest, zgodnie z tytułem pracy, próba oceny wpływu kolonizacji szczepami z rodzaju *Acinetobacter* (*Ac*) na stan kliniczny pacjentów hospitalizowanych na OIT, ze szczególnym uwzględnieniem ciśnienia kolonizacji jako parametru wskaźnikowego.

Podjęty temat pracy jest niezwykle aktualny ze względu na to, że obecnie zakażenia tym rodzajem bakterii, szczególnie gatunkiem *Acinetobacter baumannii* (*Acb*) to istotny problem medyczny, stanowiący poważne zagrożenie, przede wszystkim u chorych hospitalizowanych na Oddziałach intensywnej Terapii, występujące z rosnącą z roku na rok częstością, powagą przebiegu oraz śmiertelnością. Problem ten dotyczy całego świata, także i Polski.

Acinetobacter baumannii w ostatnich latach to jeden z najczęstszych czynników sprawczych zakażeń nabytych w jednostkach opieki zdrowotnej, należący do grupy sześciu (akronim ESKAPE) najbardziej rozpowszechnionych mikroorganizmów zasiedlających środowisko szpitalne.

W obliczu wysokiej śmiertelności chorych z tym zakażeniem, mimo terapii zgodnej z aktualną wiedzą, nadal poszukuje się nowych metod oceny ryzyka niepowodzenia terapeutycznego oraz prawidłowego postępowania zapobiegawczego przed wystąpieniem samego zakażenia. Szereg organizacji i instytucji (między innymi CDC czy ECDC) opracowują zasady epidemiologicznego postępowania chroniącego pacjentów przed przenoszeniem, nabywaniem – kolonizacją czy zakażeniem wywoływanym przez szczepy bakterii z rodzaju *Acinetobacter*.

Właśnie tym zagadnieniom (ocenie zależności między obecnymi szczepami *Acinetobacter*, a stanem klinicznym chorych na OIT, w tym stopniem narażenia chorych na kolonizację i zakażenia tymi szczepami) poświęcona jest oceniana praca.

Wybór tematu jest tym bardziej wartościowy, że publikacje opisujące w/w zjawiska (kolonizacji i następowego zakażenia szczepami *Acinetobacter*), w Polsce są jak dotąd nieliczne.

Przedstawiona praca (bardzo obszerna) ma układ typowy dla rozpraw doktorskich, zawarta jest na aż 224 stronach maszynopisu, a w spisie literatury Autorka zebrała 173 pozycje literatury, w tym znaczących polskich publikacji i większość zagranicznych z ostatnich 5 lat.

Wstęp poprzedzony jest obfitym wykazem skrótów stosowanych w rozprawie, często tylko w języku polskim, ale także i w języku angielskim.

Wstęp przedstawiony na 33 stronach maszynopisu, obejmuje zagadnienia dotyczące dość nowego pojęcia jakim jest ciśnienie kolonizacji, uważane za parametr krytyczny wskazujący stopień zagrożenia nabyciem niejednokrotnie opornych szczepów bakteryjnych przez pacjentów OIT. Coraz częściej to pojęcie uważa się za miernik dokładności stosowania odpowiednich zasad aseptyki przez pracowników ochrony zdrowia. W następnej części wstępu, Autorka pracy w sposób wyjątkowo szczegółowy przedstawia charakterystykę bakterii z rodzaju *Acinetobacter*. Wiedza zawarta w tym rozdziale (mimo, że autorka nie jest mikrobiologiem) wskazuje na bardzo dokładne śledzenie literatury w tym zakresie. Z obowiązku recenzenta proponuje stosowania określenia Zakażenia miejsca operowanego, a nie zakażenia rany chirurgicznej (str. 15) i nazewnictwa fimbrie a nie włosków (str.16, 21) przyjętych przez mikrobiologów. Także ciekawe są podrozdziały omawiające czynniki ryzyka kolonizacji i zakażeń. Ostatni podrozdział wstępu dotyczący raportów o sytuacji epidemiologicznej na świecie i w Polsce związanej z zakażeniami powodowanymi przez szczepy *Acinetobacter* wśród chorych hospitalizowanych, potwierdza znajomość i wiedzę Doktorantki w tym zakresie.

Podkreślam jeszcze raz , że wstęp jest napisany z niezwykłą starannością i w szczegółowy sposób.

Cele pracy w ujęciu Doktorantki są jasne, spójne i zgodne z treścią wstępu i konsekwentnie realizowane w czasie przeprowadzonych badań.

Są nimi:

- Cel główny
 - próba wykazania zależności, jaka występuje między szczepami *Acinetobacter* a chorymi leczonymi na OIT;
 - identyfikacja gatunków z rodzaju *Acinetobacter* stanowiących stały składnik flory omawianego OIT na przestrzeni 15- miesięcznego okresu badawczego;
 - wykazanie stopnia narażenia chorych na kolonizację i zakażenie szczepami tych bakterii.
- 11 celów szczegółowych, to próba odpowiedzi na szereg pytań obejmujących najogólniej zagadnienia dotyczące wpływu kolonizacji szczepami *Acinetobacter* na losy pacjentów hospitalizowanych na OIT. Wśród najważniejszych (bo bardzo praktyczny) to odpowiedz na pytanie czy pomiar poziomu ciśnienia kolonizacji Ac jest przydatny na OIT w ramach nadzoru epidemiologicznego.

W rozdziale „**Material i metody badań**” Kandydatka poprzez retrospektywny przegląd dokumentacji medycznej chorych na OIT II Kliniki Anestezjologii i Intensywnej Terapii Samodzielnego Publicznego Szpitala Klinicznego nr I we Wrocławiu w okresie od 6.01.2014 r. do 29. 03. 2015r. dokonała szczegółowej analizy danych.

Badana populacja chorych została podzielona na trzy grupy w zależności od stanu skolonizowania szczepami *Ac*: AD – skolonizowani przy przyjęciu, AN- skolonizowani podczas leczenia na OIT i B- nieskolonizowani.

Cała analiza danych została podzielona na 4 etapy:

- gromadzenia danych mikrobiologicznych,
- gromadzenie danych klinicznych dotyczących badanej populacji (jakościowe i ilościowe),
- analiza zgromadzonych danych dotyczących badanej populacji z uwzględnieniem podziału na AN, AD oraz B,
- analiza wpływu poziomu CK Ac na populację chorych OIT, zgromadzenie danych o zakażeniach powodowanych przez Ac w badanej grupie chorych, analiza czynników ryzyka kolonizacji Ac, analiza śmiertelności i czynników prognostycznych zgonu w badanej populacji.

W zakresie I etapu została stworzona karta hospitalizacji i kolonizacji chorych (HiK). Zamieszczone na końcu rozprawy wszystkie karty z całego okresu badania (202 chorych) obrazują ogrom pracy wykonany przez Autorkę rozprawy.

Na ich podstawie wyliczono ciśnienie kolonizacji Ac (CKAc) wywierane przez szczepy Ac na poddanym badaniu OIT. Jednostką czasu pomiaru CKAc był jeden tydzień. W tworzeniu kart HiK i wyliczeniu CKAc wykorzystano informacje pochodzące z dokumentacji OIT, zamieszczone w indywidualnych kartach nadzoru mikrobiologicznego (IKNM). Na uwagę zasługuje dobra współpraca klinicystów z zespołem mikrobiologów z laboratorium microFAM we Wrocławiu.

Ustalono także szczegółowe kryteria decydujące o kwalifikacji danego chorego do umieszczenia w bazie danych.

W drugiej części tego etapu określono gatunki i ich wrażliwości na chemioterapeutyki szczepów z rodzaju Ac kolonizujących grupy chorych zaliczonych do AD i AN.

II etap badań to także gromadzenie danych (jakościowych i ilościowych), tym razem klinicznych badanej populacji, które podzielono do 9 zbiorów.

Wydzielono choroby współistniejące oraz przyczyny przyjęcia chorych na OIT w badanej populacji.

Etap III to już analiza zgromadzonych danych w poszczególnych grupach AN, AD i B, a etap IV (najistotniejszy w niniejszej pracy), to z kolei analiza wpływu kolonizacji szczepami Ac na chorych OIT, czyli próba odpowiedzi na szereg pytań dotyczących związku pomiędzy CKAc a cechami ilościowymi i jakościowymi badanej populacji.

Wszystkie analizowane dane zostały wprowadzone do jednolitej bazy Exel (Microsoft). Na jej podstawie sporządzono arkusze kalkulacyjne do przeprowadzenia analizy statystycznej z użyciem pakietu statystycznego STATISTYCA v.12.0 (StatSoft).

Do analiz wykorzystano profesjonalne testy takie jak:

Test Shapiro-Wilka, test Kołmogorowa- Smirnowa i Lillieforsa, test U Manna- Withneya i test Kruskala- Wallisa.

Dodatkowo siłę i kierunek związku między dwiema zmiennymi ilościowymi oszacowano obliczając wartość współczynnika korelacji Pearsona r , a między zmiennymi jakościowymi wykorzystując test chi-kwadrat Pearsona. Także zastosowano test Fishera i uwzględniono poprawkę Bonferroniego, zwiększającego poziom istotności przeprowadzonych testów.

Jako oceniająca muszę zaznaczyć wyjątkowo dobrą współpracę, jak to wynika z przedstawionych wyników badań, pomiędzy Autorką niniejszej rozprawy a opracowującym statystycznie jej wyniki badań.

Rozdział „Wyniki” to bardzo obszerny przeszło 100 stronicowy tekst, ilustrowany 78 rycinami, a wyniki badań przedstawione aż w 39 tabelach.

Wyniki są podzielone na trzy główne części. Według czytającej, nie wydzielenie osobno III etapu (zgodnie z założeniem w metodyce badań) utrudnia trochę zapoznanie się w jej wynikami.

W pierwszej części wyliczono CKAc na badanym OIT w 64 tygodniach obserwacji.

Wykazano, że w $\frac{3}{4}$ czasu obserwacji chorzy leczeni na OIT byli poddani hiperendemicznemu poziomowi CKAc. Analiza mikrobiologiczna wykazała dominację gatunku *Acinetobacter baumannii* wśród szczepów kolonizujących. Nie wykazano istotnej statystycznie różnicy pomiędzy grupami badanych AN i AD. Ustalono wysoką oporność wszystkich szczepów Acb, z tym, że szczepy izolowane od chorych grupy AD miały mniej oporny charakter niż szczepy nabyte przez chorych grupy AN.

Wśród całej badanej populacji rozpoznano 42 zakażenia wywołane przez szczepy Ac, w tym u 31 z grupy AN i 11 z grupy AD. W grupie AN 45,8% chorych uległo zakażeniu, natomiast w grupie AD zakażenie wystąpiło u 37% chorych łącznie z 6 zakażeniami będącymi przyczyną przyjęcia na OIT. Ponieważ nie wykazano różnicy statystycznie w poziomie CKAc w obu grupach, można przyjąć, że fakt hiperendemicznego poziomu CKAc w obu grupach jest istotnym zjawiskiem lecz niewystarczającym do wystąpienia późniejszego zakażenia.

W tabeli 11 przedstawiono postacie kliniczne zakażeń wywołanych przez szczepy Ac wśród chorych OIT (grupy AN jak i AD: dostarczonych i nabytych). Tabela bardzo ważna, chociaż ze względu na różną liczebność w grupach, trudna do interpretacji. Tym niemniej wśród zakażeń nabytych na OIT zdecydowaną przewagę stanowiły zapalenia płuc o charakterze VAP, a wśród zakażeń dostarczonych na OIT (rozpoznanych przy przyjęciu), także zapalenie płuc, w tym szczególnie HAP.

Etap II to gromadzenie danych klinicznych, które zostały wykorzystane w analizie statystycznej etapu III. W analizach ilościowych przeprowadzono analizę cech socjodemograficznych i klinicznych. Wykazano, że nieznacznie w grupie badanej przeważały kobiety i badani chorzy byli populacją ludzi starszych. Liczba dni leczenia badanej grupy wykazała duży rozrzut. Tylko 25% populacji było leczone w przedziale 10 -241 dni. W tej grupie chorych (oprócz 2 pacjentów) wszyscy byli leczeni poniżej 110 dni. I tutaj moja

sugestia, aby w ewentualnych publikacjach nie uwzględniać tych 2 przypadków, których analiza bardzo utrudniała, poprzez podwójne tabele, analizę prowadzonych badań.

Tylko 25% pacjentów nie miało stosowanych amin katecholowych i wentylacji mechanicznej i tyle samo miały zastosowane żywienie parenteralne, jak i enteralne. Jedynie 25% chorych nie miało wcale lub tylko przez jeden dzień antybiotykoterapie. Wśród pacjentów po zabiegach chirurgicznych (jama brzuszna lub jama brzuszna i klatka piersiowa) połowa miała wykonywaną procedurę jeden raz, a 25% - co najmniej 2-lub 3-krotnie.

W analizach statystycznych cech ilościowych w grupach różniących się skolonizowaniem stwierdzono, że skolonizowanych kobiet było istotnie mniej, wiek nie był czynnikiem związanym z kolonizacją, skolonizowani przebywali na OIT istotnie dłużej niż pacjenci nieskolonizowani. Chorzy z grupy nabywców od momentu przyjęcia do nabycia szczepów Ac (AN) byli pod wpływem istotnie statystycznie wyższych wartości CKAc niż chorzy, którzy nie skolonizowali się szczepami Ac podczas leczenia na OIT.

W grupie B (nieskolonizowanych) czas wentylacji mechanicznej, stosowania amin katecholowych, terapii nerkozastępczej, żywienia enteralnego, czas trwania antybiotykoterapii, był istotnie krótszy niż w grupie pacjentów skolonizowanych (AN +AD). Nie zanotowano istotnie statystycznie związku pomiędzy skolonizowaniem szczepami Ac a zabiegami brzuszными wykonywanymi w trakcie leczenia na OIT, natomiast pacjentów u których nie wykonywano takich zabiegów w trakcie hospitalizacji na OIT było istotnie więcej w grupie B niż w AN. Liczba dni z kaniulacją w drogach oddechowych, z cewnikiem moczowym, centralnym cewnikiem żylnym w grupie B była istotnie statystycznie mniejsza niż w grupie AN, AD i AN+AD.

Współczynnik wykorzystania urządzeń medycznych świadczy o wysokim zużyciu tych urządzeń w badanej populacji OIT, a czas obciążenia personelu pielęgniarskiego pracą nad chorymi z grupy AN był istotnie statystycznie dłuższy od czasu poświęconemu nad chorymi z grupy B.

Dalsza analiza wykazała, że skolonizowanie szczepami Ac zależy istotnie od rodzaju przyjęcia. W grupie AN udział pacjentów przyjętych z oddziału chirurgicznego był istotnie mniejszy niż w grupie B, natomiast odsetek skolonizowanych chorych przyjętych z oddziału internistycznego był następujący: najmniejszy w grupie B, istotnie większy w grupie AN, a największy w grupie AD. W grupie chorych z oddziału hematologicznego stwierdzono istotnie krótszy czas kolonizacja- zakażenie niż w grupie chorych z oddziału chirurgicznego. Uzyskane dalsze dane wykazały, że choroby o charakterze przewlekłym, między innymi przewlekła immunosupresja usposabiają chorych do kolonizacji szczepami Ac, a zakażenia

zidentyfikowane przy przyjęciu na OIT występowały znacznie rzadziej u chorych grupy B niż AN i AD. Wśród przyczyn przyjęcia na OIT 14 okazało się czynnikami ryzyka kolonizacji szczepami Ac na OIT, 10 zwiększało ryzyko dostarczenia przez chorych szczepów Ac na OIT, a 3 z nich wiązały się ze zmniejszeniem prawdopodobieństwa kolonizacji chorych szczepami Ac na OIT.

Ostatnia część wyników to analiza IV etapu badań. Najciekawsze, to analiza czynników prognostycznych nabycia szczepów na OIT, w której stwierdzono, że czas (liczba dni leczenia, stosowania procedur terapeutycznych i kaniulacji) będący pod naciskiem CKAc oraz liczba zakażeń szczepami Ac na OIT, stany chorobowe przy przyjęciu są czynnikami ryzyka kolonizacji szczepami Ac na OIT. Wieloetapowa analiza wykazała, że prawdopodobieństwo kolonizacji chorych OIT szczepami Ac zależy od wartości CKAc i występującej w danym momencie liczby zakażeń o etiologii Ac, z tym, że wpływ liczby zakażeń jest silniejszy niż CKAc.

Analiza wykazała, że skolonizowanie szczepami Ac oraz zakażenie o tej etiologii zwiększała śmiertelność.

Określono także niezależne czynniki prognostyczne zgonu w badanej populacji. Należą do nich: kolonizacja szczepami Ac przy przyjęciu, przyjęcie z oddziału hematologicznego, wstrząs septyczny, nagłe zatrzymanie krążenia i terapia nerkozastępcza.

Rozdział „**Omówienie**” w ocenianej rozprawie jest najbardziej wartościowy. Zawarte na 26 stronach treści dowodzą, iż Autorka zna doskonale temat. Całość tego rozdziału jest podzielona na kilka części, choć muszę stwierdzić, że ze względu na nie wypunktowanie ich nastęrczało to trochę trudności dla czytającej. Także w niektórych fragmentach powtarzane są pewne kwestie.

Na koniec Pani lek med. Beata Mielczarek wysuwa aż 14 wniosków, które są jasno sformułowane, prawdziwe i bezpośrednio wynikające z uzyskanych wyników.

W podsumowaniu

Oceniana praca w moim przekonaniu, mająca walory praktyczne, to także bardzo wartościowe osiągnięcie naukowe. W wyniku tych badań można stwierdzić, że pomiar CKAc może być przydatny dla celów epidemiologicznych, zwłaszcza dla działań ograniczania rozprzestrzeniania się drobnoustrojów alarmowych.

W tekście pracy występują nieliczne błędy literowe i niezręczności stylistyczne. Także z obowiązku recenzenta stwierdzam, iż wystąpiły błędy w numeracji tabel i rycin w tekście. Chodzi o tabele 29-33 a nie 28-32 (str. 119), dalej rycina 78 a nie 66 (str. 143).

Zaznaczam, że te nieliczne niedociągnięcia nie zmniejszają wartości pracy i przedstawiona mi do oceny praca stanowi samodzielne rozwiązanie problemu naukowego, a jej zawartość wykazuje ogólną wiedzę teoretyczną Doktorantki w danej dziedzinie naukowej.

Rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz. 595, z późn. Zm.) .

Przedstawioną pracę doktorską Pani lek med. Beaty Mielczarek oceniam bardzo dobrze. Zatem pozwalam sobie przedstawić Radzie Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu wniosek o dopuszczeniu Pani lek med. Beaty Mielczarek do dalszych etapów przewodu doktorskiego.


Prof. dr hab. med. Małgorzata Bulanda