Warszawa dnia 10.09.2023 r.

Elżbieta Magdalena Stefaniuk, dr hab. n. med., prof. UŁa
Wydział Medyczny Uczelni Łazarskiego w Warszawie

Recenzja rozprawy doktorskiej
mgr Anny Marii Ziółko

„Analiza nosicielstwa drobnoustrojów wielolekoopornych wśród chorych przyjętych do szpitala" wykonanej w Szpitalu Matki Bożej Nieustającej Pomocy w Wołominie pod kierunkiem prof. dr hab. n. med. Ewy Augustynowicz-Kopeć i promotora pomocniczego - dr n. med. Roberta Kuthana

Przedstawiona do recenzji praca doktorska zawiera wyniki i analizę badań wykonanych przez Doktorantkę - Panią mgr Annę Marię Ziółko w latach 2012-2018, dotyczących jakże ciągle aktualnego zagadnienia nosicielstwa wielolekoopornych szczepów drobnoustrojów chorobotwórczych u pacjentów przyjmowanych do szpitali. Badania w kierunku nosicielstwa obejmowały chorych przyjmowanych do Szpitala Matki Bożej Nieustającej Pomocy w Wołominie z domu pacjenta, z placówek opieki długoterminowej oraz z innych podmiotów medycznych województwa mazowieckiego.

Nosicielstwo wielolekoopornych drobnoustrojów chorobotwórczych (MDRO – ang. Multidrug-Resistant Organism) stanowi istotne zagrożenie w obszarze zdrowia publicznego; sprzyja transmisji tzw. patogenów alarmowych (ang. alert pathogens) w środowisku szpitalnym, a tym samym stanowi ryzyko wystąpienia zakażeń szpitalnych u pacjentów hospitalizowanych. Zakażenia szpitalne o etiologii drobnoustrojów wielolekoopornych stanowią znaczny problem terapeutyczny, wydłużają czas hospitalizacji, stwarzają bezpośrednie zagrożenie dla zdrowia i życia pacjentów, mają zatem wpływ na bezpieczeństwo hospitalizowanych pacjentów. Liczba zakażeń szpitalnych w Polsce, mimo obowiązującego od przeszło dwudziestu lat prawnego obowiązku monitorowania i rejestracji, jest wciąż niedoszacowana. W celu ograniczania występowania zakażeń i minimalizacji ich skutków, od pacjentów nowo przyjmowanych do szpitali pobierane są odpowiednie materiały kliniczne do badań przesiewowych w kierunku nosicielstwa patogenów alarmowych. Niewiele publikacji dotyczy nosicielstwa MDRO, a przedstawiane w nich wyniki różnią się czasem trwania badania, liczbą i rodzajem badanej populacji oraz grupą analizowanych patogenów alarmowych.

W związku z powyższym, podjęty przez Panią mgr Annę Marię Ziółko temat rozprawy doktorskiej jest jak najbardziej aktualny i uzasadniony. Przedstawiona praca jest przygotowana w formie monografii (141 stron), posiada typowy układ stosowany w rozprawach doktorskich, a mianowicie zawiera wstęp, cel pracy, materiały i metody, opis wyników, dyskusję, wnioski, piśmiennictwo oraz streszczenie w języku polskim i angielskim. Na uwagę zasługuje estetyka przygotowanej dysertacji.

Doktorantka we wstępie, liczącym 25 stron, w sposób przejrzysty, wyczerpujący i interesujący przedstawiła zmiany zachodzące na przestrzeni wieków w rozumieniu tematu chorób zakaźnych i zakażeń, podejście do zagadnienia zakażeń szpitalnych w Europie i na świecie, a także w Polsce, w szczególności odnosząc się do stosowania nowych metod wykrywania i zapobiegania zakażeniom, a także aktów prawnych i rekomendacji regulujących definicje i postępowanie w tym zakresie. Omawiane zagadnienia są zlustrowane czterema rycinami i oparte są na wiedzy Doktorantki oraz 43 odnośnikach.

Celem pracy była ocena poziomu nosicielstwa wielolekoopornych drobnoustrojów chorobotwórczych u pacjentów przyjmowanych do szpitala II stopnia. Aby zrealizować cel zdefiniowano poziom nosicielstwa MDRO w szpitalu II stopnia; określono wpływ czynników ryzyka (płeć, wiek, wcześniejszy pobyt w placówce opieki długoterminowej lub innym podmiocie leczniczym, wykonywanie cyklicznych zabiegów inwazyjnych) na występowanie nosicielstwa MDRO; przeprowadzono szczegółową analizę czynników etiologicznych nosicielstwa w szpitalu II stopnia oraz analizę wpływu nosicelstwa MDRO na występowanie zakażeń układu moczowego (ZUM). Wg mojej opinii, *dużą wartość dla niniejszej dysertacji stanowiłaby analiza korelacji nosicielstwa patogenów alarmowych z zakażeniami dolnych dróg oddechowych, w szczególności u pacjentów Oddziału Intensywnej Terapii oraz oddziałów zachowawczych.* Cel pracy był realizowany poprzez opracowanie i wdrożenie przez Doktorantkę autorskiego programu mikrobiologicznych badań przesiewowych, jako narzędzia wspomagającego analizę bieżącej sytuacji epidemiologicznej w szpitalu II stopnia. Cel pracy został w pełni zrealizowany i zaowocował zmianami podejścia w szpitalu do kwestii nosicielstwa patogenów alarmowych oraz pozwolił na sformalizowanie zasad postępowania zapobiegającego rozprzestrzenianiu zakażeń szpitalnych.

Materiały i metody Doktorantka przedstawiła w sposób przejrzysty na 11 stronach maszynopisu, dla lepszego zobrazowania opracowanej metodyki badania, szczegóły przedstawiła na 6 rycinach. W sposób czytelny przedstawiła zasady analizy statystycznej danych i ustalania wskaźników epidemiologicznych, które posłużyły do interpretacji wyników badania.

Przedstawiony w pracy program analizy nosicielstwa wielolekoopornych drobnoustrojów chorobotwórczych był jednym z najdłużej trwających, dotychczas opisanych w literaturze badań, i jednocześnie obejmujący wszystkie potencjalne grupy patogenów alarmowych. Podczas realizacji programu badano i analizowano nosicielstwo ziarenkowców Gram-dodatnich: gronkowców złocistych opornych na metycylinę (MRSA) i enterokoków opornych na wankomycynę (VRE), Gram-ujemnych pałeczek *Enterobacterales* wytwarzających β-laktamazy o rozszerzonym spektrum substratowym (ESBL), karbapenemazy klasy A (KPC) lub karbapenemazy klasy B (MBL), oraz Gram-ujemnych pałeczek niefermentujących *Acinetobacter baumannii* i *Pseudomonas aeruginosa* opornych na karbapenemy. Wyniki przeprowadzonych analiz zaprezentowane zostały z wykorzystaniem wskaźników epidemiologicznych definiujących liczbę nosicieli w przeliczeniu na 1000 pacjento-dni lub na 100 hospitalizacji, w odniesieniu do poszczególnych oddziałów szpitalnych.

Przeprowadzone przez Doktorantkę badanie objęto osoby dorosłe (>18 r.ż.) przyjmowane do podwarszawskiego szpitala II stopnia. Kwalifikacja pacjentów do wykonania badania przesiewowego dokonywana była wg ściśle określonych przez

Doktorantkę kryteriów. Badanie wykonywano u pacjentów przyjmowanych do jednego z sześciu wybranych oddziałów szpitalnych, z których, ze względu na ich różnorodność, utworzono cztery grupy: grupa I - oddziały zachowawcze (oddział chorób wewnętrznych i oddział neurologii), grupa II - oddziały zabiegowe (oddział chirurgii ogólnej i oddział chirurgii urazowo-ortopedycznej), grupa III - oddział anestezjologii i intensywnej terapii oraz grupa IV - oddział chorób wewnętrznych i nefrologii ze stacją dializ. Jako czynniki ryzyka wystąpienia nosicielstwa MDRO przyjęto: wiek powyżej 60 r.ż., pobyt w placówkach opieki długoterminowej, wcześniejsza hospitalizacja w innym szpitalu, hemodializa, antybiotykoterapia z powodu wcześniejszego zakażenie lub udokumentowane nosicielstwo patogenów alarmowych. Materiał diagnostyczny stanowiły wymazy z przedniej ściany przedsionka nosa, ze skóry w okolicy pachy i z odbytu, które pobierano w trakcie pierwszych 48 godzin hospitalizacji. *Brakuje tutaj nieco komentarza, czy pobieranie wymazów na nosicielstwo u pacjentów przebywających w oddziałach szpitalnych do 48 godzin od przyjęcia, nie stanowiło ryzyka błędnej interpretacji wyników? Wg jakich kryteriów doktorantka kwalifikowała wyizolowany szczep drobnoustroju jako nosicielstwo, z którym pacjent został przyjęty do szpitala, a nie nosicielstwo nabyte już w oddziale szpitalnym?*

Bieżąca analiza uzyskiwanych wyników oraz sytuacja epidemiologiczna w Polsce (ogólnopolska epidemia zakażeń o etiologii pałeczek Gram-ujemnych wytwarzających karbapenemazy) były podstawą dokonywania przez Doktorantkę w czasie trwania programu korekcji przyjętych wcześniej założeń i kryteriów. Zmiany dotyczyły przede wszystkim rodzajów materiałów pobieranych do badań oraz wyodrębnienia w trakcie trwania programu nowej grupy pacjentów obarczonych ryzykiem nosicielstwa szczepów CPE (pałeczki Enterobacterales wytwarzające karbapenemazy). Ostatecznie Doktorantka wyodrębniła trzy etapy programu: etap I - od 1.01.2012 do 31.08.2013 – obejmujący pięć grup pacjentów oraz trzy rodzaje materiałów pobieranych do badań (wymazy z przedniej ściany przedsionka nosa, wymazy ze skóry okolicy pachy, wymazy z odbytu); etap II - od 1.09.2013 do 31.12.2015 – obejmujący pięć grup pacjentów i dwa rodzaje materiałow do badań (wymazy z przedniej ściany przedsionka nosa i wymazy z odbytu) oraz etap III - od 1.01.2016 do 31.12.2018) – do pięciu dotychczasowych grup pacjentów, dołączono grupę 6, utrzymując dwa rodzaje materiałów pobieranych do badań (wymazy z przedniej ściany przedsionka nosa oraz wymazy z odbytu). Materiały do badań pobrano łącznie od 11025 dorosłych pacjentów, co stanowiło 19,25% populacji pacjentów hospitalizowanych w wołomińskim szpitalu. Diagnostykę mikrobiologiczną pobieranych od pacjentów wymazów doktorantka prowadziła z wykorzystaniem podłoży chromogennych pozwalających na wykrycie drobnoustrojów o określonym fenotypie oporności, ale nie w każdym przypadku umozliwiających ostateczną identyfikację drobnoustroju do poziomu gatunku. *Zwracam się z prośbą do doktorantki o informację odnośnie stosowanych w badaniu metod identyfikacyjnych oraz metod potwierdzających wykryte mechanizmy oporności.*

Wyniki prac badawczych Doktorantka przedstawiła w sposób bardzo skondensowany na 35 stronach maszynopisu, 11 rycinach i 38 tabelach, pozwalając w klarowny sposób podążać za głównym nurtem prowadzonych prac mimo dużej liczby przedstawionych wyników. Doktorantka przyjęła oryginalny, ale zarazem praktyczny i przejrzysty sposób przedstawienia wyników. Rozdział Wyniki składa się z ośmiu podrozdziałów; każdy z nich zawiera oddzielne Podsumowanie wyników, co ułatwia czytającemu przeanalizowanie

najważniejszych rezultatów wykonanych badań. Wyniki pracy pozwoliły Doktorantce na sformułowanie 11 wniosków odpowiadających założonym celom pracy. Są one sformułowane w sposób właściwy i mają poparcie w uzyskanych wcześniej wynikach.

W analizowanym 7-letnim okresie Doktorantka stwierdziła 3,5-krotny wzrost nosicielstwa MDRO w szpitalu II stopnia. W toku programu zdiagnozowano 2925 (26,53%) nosicieli MDRO, a wskaźnik określający liczbę nosicieli wynosił 9,16/1000 pacjento-dni i 5,11/100 hospitalizacji. Jednocześnie, Doktorantka zwróciła uwagę, iż niepokojący jest fakt, że w oddziałach zabiegowych, hospitalizujących pacjentów poddawanych inwazyjnym procedurom medycznym sprzyjającym zakażenim szptalnym, przebadano zaledwie ok. 4% populacji chorych. Potwierdzono wysokie ryzyko występowania nosicielstwa MDRO wśród osób, które w okresie poprzedzającym aktualną hospitalizację były leczone w innych podmiotach medycznych lub byli pensjonariuszami placówek opieki długoterminowej. W przypadku wcześniejszej hospitalizacji, ryzyko wydaje sie być większe. Nie stwierdzono różnic istotnych statystycznie związanych z płcią nosicieli MDRO. Potwierdzono natomiast występowanie różnic związanych z wiekiem nosicieli MDRO. Badanie wykazało, że mężczyźni dominowali wśród nosicieli do 69 r.ż., a kobiety powyżej 70 r.ż. Najliczniejszą grupę nosicieli stanowili męczyźni w wieku 60-69 lat i kobiety w wieku 80-89 lat. Przeprowadzona analiza pozwala rozważyć zmianę kryteriów włączenia kobiet do badań przesiewowych – z 60 na 70 lat. Stwierdzono, że najliczniesza, wynoszącą ok. 80% grupę nosicieli MDRO stanowili nosiciele *Enterobaterales* ESBL, KPC i MBL. *Enterobacterales* MBL izolowano wyłącznie w latach 2015-2018, przy czym najwięcej *K. pneumoniae* MBL zdiagnozowano w roku 2017. W większości przypadków dominowali nosiciele *E. coli* ESBL, jedynie na oddziale AiIT nosiciele *K. pneumoniae* ESBL. Zaobserwowano, że wśród nosicieli Gram-dodatnich ziarenkowców grupę przeszło 2-krotnie większą niż nosiciele *S.aureus* MRSA stanowili nosiciele *Enterococcus* spp. VRE. Wśród nosicieli wankomycynoopornych enterokoków aż 97,99% stanowili nosiciele *E. faecium* VRE. Ustalono, że wśród nosicieli pałeczek niefermentujących dominowali nosiciele *A. baumannii* opornych na karbapenemy.

Przedstawiona w badaniu analiza nosicielstwa MDRO należy do jednej z nielicznych prac polskich i zagranicznych wykorzystujących wskaźniki epidemiologiczne. Na podkreślenie zasługuje fakt, iż Doktorantka w swojej pracy po raz pierwszy w Polsce analizowała poziom wykorzystania badań przesiewowych w diagnostyce MDRO przy użyciu dwóch wskaźników – liczby badań/łóżko/rok oraz liczby badań/1000 pacjento-dni. Tym samym, wyprzedziła zalecenia Ministra Zdrowia, opublikowane w maju 2023 r. w rozporządzeniu zmieniającym rozporządzenie ws. listy czynników alarmowych, rejestrów zakażeń szpitalnych i czynników alarmowych oraz raportów o bieżącej sytuacji epidemiologicznej szpitala. Świadczy to niewątpliwie o dużym doświadczeniu Doktorantki i Jej zrozumieniu zagadnienia nosicielstwa MDRO stanowiącego istotne ryzyko wystąpienia zakażeń o tej etiologii.

Dyskusja jest napisana dojrzałym językiem naukowym, Doktorantka umiejętnie konfrontuje uzyskane wyniki z badaniami innych autorów. Cytowana literatura obejmująca ogółem 158 odnośników literaturowych jest spójna z omawianą tematyką i stanowi uzupełnienie opisywanych wyników prac badawczych.

Wychwycone przeze mnie nieliczne błędy edytorskie dotyczące m.in. pisowni nazw łacińskich drobnoustrojów, drobnych błędów stylistycznych i szyku zdań, nie obniżają mojej

wysokiej oceny całości rozprawy. Doktorantka dużym nakładem pracy uzyskała bardzo wiele cennych danych wartych opublikowania.

Podsumowując, pozytywnie oceniam zakres prac badawczych zaprezentowanych w niniejszej dysertacji, ze względu na ich charakter nie tylko poznawczy, ale również praktyczny. Oceniając zatem walory naukowe pragnę podkreślić, że Doktorantka wykazała się dużą samodzielnością i umiejętnością formułowania hipotez badawczych, doborem odpowiedniej metodyki badawczej oraz wyciąganiem wniosków na podstawie analizy uzyskanych wyników. Rozwiązanie zadań badawczych wymagało od Doktorantki dużego zaangażowania, determinacji, a także dociekliwości przy interpretacji wyników. Na szczególną uwagę zasługuje ostrożne i pełne krytycyzmu naukowego rozumowanie, uwieńczone poprawnym wnioskowaniem.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska Pani mgr Anny Marii Ziółko pt. **„Analiza nosicielstwa drobnoustrojów wielolekoopornych wśród chorych przyjętych do szpitala"**, w mojej opinii, spełnia warunki nowości naukowej oraz formalno-ustawowe warunki stawiane rozprawom dla uzyskania stopnia doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu, w dyscyplinie nauk o zdrowiu, określone w art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. z 2003 r., nr 65 poz. 695 z późniejszymi zmianami). **Wobec powyższego, mam zaszczyt przedstawić Wysokiej Radzie Dyscypliny Nauk o Zdrowiu Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego wniosek o przyjęcie niniejszej rozprawy doktorskiej i dopuszczenie Doktorantki Pani mgr Anny Marii Ziółko do dalszych etapów przewodu doktorskiego.**

Elżbieta M. Stefaniuk