

Recenzja

rozprawy doktorskiej lekarz Magdaleny Iżyckiej pt. *”Epidemiologiczne aspekty nosicielstwa Clostridioides difficile”*.

W ostatniej dekadzie jednym z najpoważniejszych problemów epidemiologicznych był wzrost zakażeń wywołanych przez *C. difficile* (*Clostridium difficile*) w szpitalach. W 2016 roku według Kroniki Epidemiologicznej zakażenia *C. difficile* stanowiły 28,3 % wszystkich zarejestrowanych ognisk zakażeń szpitalnych. Zostało zgłoszonych 8 716 zachorowań, z których 540 zakończyło się zgonem. Według danych z Narodowego Instytutu Zdrowia Publicznego – Państwowego Zakładu Higieny w Polsce w roku 2017 zapadalność na infekcję wywołaną przez *C. difficile* (*C. difficile* infection, CDI) wynosiła 30,2 na 100 000 mieszkańców. Liczba zachorowań wynosiła 11667. Spośród chorych 88,1% było hospitalizowanych [8]. W latach 2011-2013 przeprowadzono badania w 13 szpitalach w Polsce, stwierdzając, że przeważają CDI wywołane przez PCR rybotyp 027 (62%). Drugim najczęstszym czynnikiem etiologicznym tych zakażeń jest rybotyp 176, odpowiedzialny za 14 % CDI.

Infekcje CDI znacząco częściej występują u pacjentów z czynnikami ryzyka, do których zaliczamy: antybiotykoterapię, wiek powyżej 65 roku życia, hospitalizacja powyżej 4 tygodni, lub pobyt w ośrodku długoterminowej opieki medycznej, choroby współistniejące, choroby związane z immunosupresją lub chemioterapią, stosowanie inhibitorów pompy protonowej. Do przewlekłych chorób, które sprzyjają infekcji CDI zaliczamy: przewlekłą chorobę nerek, dializoterapię, mukowiscydozę, cukrzycę, udar mózgu, niedożywienie, choroba alkoholowa, przewlekłe choroby serca, przewlekłe choroby płuc, pierwotne i wtórne zaburzenia odporności, w tym HIV, choroby nowotworowe, nieswoiste choroby zapalne jelit [4]. Prawie każdy stosowany antybiotyk może być czynnikiem ryzyka rozwoju CDI, nawet leki stosowane w leczeniu CDI – wankomycyna i metronidazol, stanowią czynnik ryzyka choroby. Poszczególne antybiotyki różnią się istotnie, w zależności od stopnia ryzyka wywoływania CDI.

Zakażenie *C. difficile* jest główną przyczyną biegunek poantybiotykowych szczególnie u osób hospitalizowanych. Kliniczna manifestacja może przebiegać pod postacią od łagodnej do ciężkiej biegunki, ale także jako rzekomobłoniaste zapalenie jelit czy toksyczne rozdęcie okrężnicy (łac. *megacolon toxicum*). W przebiegu zakażenia może dochodzić do różnych powikłań, z których wymienia się perforację jelita, sepsę, a nawet śmierć.

Transmisja *C. difficile* w placówce opieki zdrowotnej najprawdopodobniej jest wynikiem rozprzestrzeniania się drogą fekalno-oralną lub bezpośredniego kontaktu ze skażonym środowiskiem. Głównymi drogami rozprzestrzeniania się *C. difficile* są: ręce personelu medycznego oraz zanieczyszczone środowisko, ale także nieodpowiednio wyczyszczony pokój po chorym na CDI, termometry i inna aparatura medyczna.

W ostatnich latach coraz większą uwagę zwraca się na nosicielstwo *C. difficile*, czyli obecność w przewodzie pokarmowym bakterii bez objawów klinicznych. Bezobjawowa kolonizacja *C. difficile* wynosi 3-26 % wśród dorosłych pacjentów hospitalizowanych w szpitalach. Częstość występowania bakterii *C. difficile* w stolcu wśród bezobjawowych dorosłych wynosi <2%. Badania sugerują, że osoby, które są bezobjawowo skolonizowane bakterią przez dłuższy czas, mają zmniejszone ryzyko rozwoju CDI. Długotrwała kolonizacja może być zależna od zwiększenia przeciwciał w surowicy przeciw toksynom A i B.

Zrozumienie epidemiologicznych aspektów nosicielstwa *C. difficile* może przyczynić się do lepszej kontroli i zapobiegania zakażeniom wywołanym przez *C. difficile* związanym z opieką medyczną.

Przedstawiona mi do recenzji rozprawa liczy 115 stron i ma formę niepublikowanego opracowania komputerowego w twardej oprawie. W spisie treści poszczególne rozdziały nie posiadają oznaczenia numerycznego, ale ze względu na łatwiejszą analizę pozwoliłem sobie nadać im kolejne numery. Rozprawa składa się z 10 rozdziałów poprzedzonych spisem treści, wykazem słów kluczowych i skrótów. Dysertacja zawiera streszczenia w języku polskim i angielskim. Zawiera także spis tytułów 14 tabel, 18 rycin i 170 pozycji piśmiennictwa.

We „*Wstępie*” liczącym 21 stron, który stanowi **Rozdział I** monografii, Autorka wprowadza czytelnika w problematykę będącą przedmiotem dysertacji. Jednocześnie przedstawia krótki rys historyczny dotyczący problemu badań infekcji *C. difficile*. Kolejno w formie podrozdziałów we „*Wstępie*” omawia czynniki epidemiologiczne, definicję zakażenia, definicję nawrotu zakażenia i typy zakażeń w zależności od miejsca nabycia zakażenia, manifestacje kliniczne, czynniki ryzyka zakażenia, czynniki patogenności bakterii. Zwraca uwagę na powszechność występowania bakterii w środowisku i duża oporność na czynniki bakteriobójcze oraz łatwość zakażenia. Opisując manifestacje kliniczne zwraca uwagę na problem nawrotowości zakażenia, który może między innymi wynikać z coraz częstszego zakażenia hiperwirulentnym szczepem epidemicznym NAP 1 (*North American Pulsed Field Type 1*). Zwraca uwagę na szybko narastającą częstość zakażeń, szczególnie szpitalnych zarówno w Polsce jak i za granicą. W podrozdziale „*Czynniki ryzyka zakażenia*” omawia kolejno trzy główne grupy tych czynników związanych ze stosowaniem leków, ze szczególnym uwzględnieniem antybiotyków i inhibitorów pompy protonowej, z samym pacjentem (wiek, układ immunologiczny) oraz z narażeniem na spory obecne w środowisku głównie szpitalnym. W podrozdziale czynniki patogenności opisuje rolę toksyn A i B produkowanych przez toksynotwórcze, patogenne szczepy *C. difficile* w patogenezie zakażenia. Następnie szczegółowo wyjaśnia definicję nosicielstwa, a następnie omawia mechanizm i konsekwencje nosicielstwa, jak również jego epidemiologię i czas trwania. W mechanizmie nosicielstwa Autorka analizuje wpływ mikrobioty jelitowej, metabolizm kwasów żółciowych, rolę układu immunologicznego. Następnie omawia diagnostykę infekcji *C. difficile*, postępowanie z osobami skolonizowanymi, zagrożenie jakie stanowią dla innych pacjentów i leczenie nosicielstwa. W ostatnim podrozdziale wstępu Autorka opisuje występowanie *C. difficile* w środowisku szpitalnym.

W **Rozdziale II** Autorka przedstawia cele pracy, wyszczególniając cel główny i cele szczegółowe. Głównym celem niniejszej rozprawy doktorskiej była analiza retrospektywna oraz prospektywna narażenia pacjentów na występowanie nosicielstwa *C. difficile*. Cele szczegółowe: 1. określenie czynników ryzyka nabycia nosicielstwa przed hospitalizacją, 2.

analiza wpływu warunków szpitalnych i przebiegu hospitalizacji na możliwość nabycia nosicielstwa, 3. ocena odległych skutków nosicielstwa, 4. analiza nosicielstwa wśród pracowników szpitala (personel lekarski i pielęgniarstwo) w oddziale chorób wewnętrznych.

Rozdział III „Metodologia” zawiera charakterystykę badanej populacji i opisy metodologiczne zastosowanych badań. Badanie prowadzone było w dwóch oddziałach Szpitala Uniwersyteckiego w Warszawie między 2014 a 2017 rokiem. Początkowo pacjentów kwalifikowano z Kliniki Gastroenterologii i Chorób Przemiany Materii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego, a następnie od 2016 roku z Kliniki Gastroenterologii i Chorób Wewnętrznych. Autorka szczegółowo przedstawiła kryteria włączenia i wyłączenia, metody gromadzenia danych. Dokładnie opisała kwestionariusz jaki każdy pacjent wypełniał w momencie przyjęcia do szpitala. Następnie dokładnie scharakteryzowała sposób i czas pobierania materiału do badań mikrobiologicznych (do 48. godziny od przyjęcia i w dniu wypisu) oraz metodykę tych badań. W kolejnym fragmencie rozdziału „*Metodologia*” autorka omawia szczegółowo użyte metody statystyczne. Opisuując analizowane podpopulacje zwraca uwagę, że analiza czynników mogących mieć wpływ na fakt nosicielstwa przy przyjęciu została przeprowadzona w populacji wszystkich pacjentów. Fakt nosicielstwa przy wypisie analizowano natomiast w populacji pacjentów, którzy nie byli nosicielami podczas przyjęcia. Analizę nosicielstwa przy przyjęciu lub wypisie prowadzono w populacji wszystkich pacjentów.

Na przeprowadzenie badań Autorka uzyskała zgodę Komisji Bioetycznej przy Warszawskim Uniwersytecie Medycznym. Skan zgody przedstawiony został w ostatnim **Rozdziale** dysertacji. W **Rozdziale IV „Wyniki”** Autorka kolejno prezentuje w sposób przejrzysty uzyskane wyniki badań w postaci opisów, tabel i wykresów. Charakteryzuje grupę osób włączonych do badania. Następnie przedstawia nosicielstwo w poszczególnych latach. Ocenia czynniki wpływające na stopień nosicielstwa w chwili przyjęcia do szpitala, m. in. choroby przewlekłe, stosowane leki, przebyte hospitalizacje. W kolejnym podrozdziale przedstawia czynniki wpływające na ryzyko nosicielstwa przy wypisie, w których dodatkowo uwzględnia warunki sanitarne i lokalowe szpitala, rodzaj oddziału, konieczność przebywania na korytarzu i zabiegi endoskopowe. W następnym podrozdziale omawia czynniki związane z nosicielstwem ogólnym u analizowanych pacjentów. W ostatnim podrozdziale Autorka ocenia stopień nosicielstwa u pracowników opieki zdrowotnej.

W **rozdziale V „Dyskusja”** Autorka w sposób rzeczowy i krytyczny analizuje uzyskane wyniki oraz konfrontuje wyniki badań własnych z wynikami innych badaczy. Lektura tego rozdziału wskazuje na dobrą znajomość trudnego obszaru badań oraz przemyślany sposób analizy tematu

stanowiącego przedmiot rozprawy doktorskiej. Dyskusja również podzielona jest na podrozdziały, w których Autorka, w kolejnych etapach, analizuje kolejno uzyskane wyniki. Dodatkowo analizuje wpływ nosicielstwa dla pacjentów oraz ich rodzin, środki zapobiegawcze, sposoby izolacji i profilaktykę pierwotną infekcji *C. difficile*. Oddzielną część dyskusji Autorka poświęca problemowi nosicielstwa *C. difficile* wśród pracowników służby zdrowia porównując uzyskane wyniki z wynikami badań w różnych krajów, zwracając przy tym uwagę, że w Polsce tak naprawdę problem nosicielstwa w grupie pracowników medycznych nie był do tej pory dokładnie analizowany. Następne podrozdziały poświęcone są problemowi zakażenia pracowników służby zdrowia i zanieczyszczenia *C. difficile* w szpitalu, zarówno dłoni personelu, sprzętu i aparatury medycznej, co ma istotne znaczenie w aspekcie analizowano wpływu zabiegów endoskopowych i typu oddziałów na stopień nosicielstwa. Podrozdział „*Pomieszczenia*” poświęcony jest problemowi zanieczyszczenia powierzchni i odpowiedniej dezynfekcji pomieszczeń, co również ma bezpośredni wpływ na ryzyko zakażenia i nosicielstwa.

Rozdział VI „Ograniczenia badania” został wyodrębniony z „*Dyskusji*”. Autorka wyszczególnia kolejne aspekty mogące wpływać niekorzystnie na otrzymane wyniki lub utrudniać ich analizę począwszy od „lokalnego charakteru” badania, oceny pacjentów jedynie z oddziału o profilu internistycznym, niskiego odsetka pacjentów, u których przeprowadzono analizę mikrobiologiczną, niepełną analizę związku pomiędzy stosowanymi lekami a ryzykiem i stopniem nosicielstwa. Podobne ograniczenie dotyczyło oceny pracowników, co wynikało z oceny jedynie osób pracujących na oddziale internistycznym.

Rozdział VII „Podsumowanie” Autorka zwraca uwagę na narastające wskaźniki zapadalności na zakażenie *C. difficile*, co niesie za sobą konieczność wprowadzenia aktywnego poszukiwania nosicieli zarówno wśród pacjentów jak i pracowników służby zdrowia oraz zastosowania procedur dezynfekcyjnych skutecznych wobec *C. difficile*. Autorka zwraca jednak uwagę, na potencjalny problem z brakiem akceptacji takiego postępowania u pacjentów i znacznym wzrostem kosztów, które związane są z przeprowadzeniem koniecznych badań.

Rozdział „Wnioski” zawiera siedem wniosków, które stanowią podsumowanie przeprowadzonych badań. Kolejne wnioski stanowią:

1. Podstawowym czynnikiem nabycia nosicielstwa *C. difficile* w okresie przed przyjęciem do szpitala jest przyjmowanie antybiotyków oraz stosowanie glikokortykosteroidów.
2. Stosowanie metronidazolu i karbapenemów zwiększa ryzyko wystąpienia kolonizacji.
3. Probiotyki mogą zwiększać ryzyko nosicielstwa.

4. Przewlekłe choroby układu oddechowego oraz zespół zależności alkoholowej są czynnikami ryzyka predysponującymi do wystąpienia kolonizacji przewodu pokarmowego *C. difficile*. Do chorób mogących mieć również wpływ należy marskość wątroby.

5. W trakcie hospitalizacji nie wyodrębniono istotnych czynników ryzyka występowania kolonizacji.

6. Wśród wszystkich nosicieli oraz członków rodzin mieszkających w obrębie wspólnego gospodarstwa domowego nie stwierdzono podwyższonego ryzyka wystąpienia objawów świadczących o zakażeniu *C. difficile*.

7. Personel medyczny (lekarze i pielęgniarki) nie należą do grupy podwyższonego ryzyka nabywania nosicielstwa *C. difficile*.

Rozdział VIII „Piśmiennictwo”, zawiera 170 poprawnie, tematycznie dobranych pozycji literaturowych, z których 165 to pozycje angielskojęzyczne, a 5 polskojęzyczne. Godny podkreślenia jest fakt ujęcia w analizie piśmiennictwa wytycznych Grupy Ekspertów Polskiego Towarzystwa Gastroenterologii dotyczących infekcji *C. difficile* opublikowanych w 2020 roku. Ostatni **Rozdział IX** to kopia zgody Komisji Bioetycznej Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego na przeprowadzenie badań, poddanych analizie w recenzowanej dysertacji.

Pomimo ciekawego i ambitnego celu badawczego, jaki Autorka postawiła sobie w rozprawie doktorskiej, dużego znaczenia praktycznego pracy i poprawności językowej z obowiązku recenzenta pozwolę sobie na kilka uwag dotyczących dysertacji.

Uwagi merytoryczne

1. Autorka swojej rozprawie doktorskiej używa wielokrotnie pojęć „flora” lub „mikroflora” dotyczących bakterii bytujących w przewodzie pokarmowym. Ze względu na wyłączenie bakterii i grzybów z królestwa roślin, słowo *flora* (*mikroflora*) w odniesieniu do mikroorganizmów zastąpiono pojęciem *biota* (*mikrobiota*). Obecnie „mikrobiota” oznacza wszystkie drobnoustroje, czyli bakterie, grzyby, wirusy i archeony, zasiedlające organizm człowieka, natomiast termin „mikrobiom” oznacza zbiór ich genomów.
2. W ograniczeniach badania Autorka nie odnotowała słabej charakterystyki grup pacjentów, szczególnie braku badań biochemicznych. Mimo, że analiza obejmuje wpływ chorób przewlekłych na ryzyko nosicielstwa *C. difficile*, to brak wyników badań biochemicznych uniemożliwia pełną ocenę pacjentów, z potencjalnie większym ryzykiem infekcji bakteryjnych np. z hipoalbuminemią, hipertransaminazemią czy zaburzeniami gospodarki węglowodanowej, bez jawnej cukrzycy.

3. Głównym celem niniejszej rozprawy doktorskiej była analiza retrospektywna oraz prospektywna narażenia pacjentów na występowanie nosicielstwa *C. difficile*. Cele szczegółowe: 1. określenie czynników ryzyka nabycia nosicielstwa przed hospitalizacją, 2. analiza wpływu warunków szpitalnych i przebiegu hospitalizacji na możliwość nabycia nosicielstwa, 3. ocena odległych skutków nosicielstwa, 4. analiza nosicielstwa wśród pracowników szpitala (personel lekarski i pielęgniarz) w oddziale chorób wewnętrznych. Liczba wniosków powinna odpowiadać liczbie celów. W Rozdziale „Wnioski” Autorka formułuje siedem wniosków. Wydaje się, że wnioski 1-4 odpowiadają na pytanie postawione w pierwszym celu szczegółowym i powinny być omówione razem, jako jeden wniosek. Wniosek piąty, który odpowiada celowi drugiemu, wydaje się być zbyt ogólny i mało szczegółowy, biorąc pod uwagę choćby rodzaj sali w zależności od leżących na niej liczby pacjentów. W przypadku tym wystąpiła wyraźna tendencja do zwiększenia ryzyka nosicielstwa w salach, w których przebywają więcej niż 2 osoby. Wniosek szósty odpowiada celowi trzeciemu, a wniosek siódmy celowi czwartemu.
4. Wyniki przedstawione są w postaci starannie opracowanych tabel i rycin. Autorka podaje, że ostatecznie do analizy dotyczącej czynników ryzyka nabycia nosicielstwa przed hospitalizacją włączono 131 osób, a 115 osób uwzględniono w analizie obejmującej czynniki ryzyka nabycia nosicielstwa w trakcie hospitalizacji. W omówieniu pierwszej części wyników „Nosicielstwo *Clostridioides difficile* w poszczególnych latach” Autorka podaje, że spośród wszystkich pacjentów włączonych do badania 24 osoby (16,6%) miały kolonizację *C. difficile* przy przyjęciu do oddziału, a u kolejnych 8 osób (9,4%) stwierdzono. Zatem w pierwszym przypadku cała grupa to 144 osoby, a w drugim cała grupa to 85 osób. Podobnie wygląda analiza nosicielstwa przedstawiona na wykresach 2-4, na których przedstawiono odsetek nosicieli przed i w trakcie hospitalizacji. Wyjaśnienia wymaga tutaj odsetek wszystkich nosicieli, który nie jest sumą pacjentów z nosicielstwem przed i w trakcie hospitalizacji.
- Podobnie w Tabelach 7 i 8 analiza obejmuje 92 osoby, a w Tabelach 11 i 12 z kolei 139 osób. Wydaje się, że wyniki przedstawione w tabelach wymagają omówienia i komentarza dotyczącego liczebności poszczególnych analizowanych grup oraz wyjaśnienia istniejących różnic. Niewątpliwie, biorąc pod uwagę istniejące różnice oraz kilka analizowanych grup/podgrup w tabelach i rycinach powinna zostać jednoznacznie określona liczebność analizowanych grup/podgrup w górnych wierszach z tytułami kolumn co ułatwi analizę i interpretację wyników.

Reasumując uważam, że przedłożona mi do recenzji rozprawa doktorska lekarz Magdaleny Iżyckiej pt. *"Epidemiologiczne aspekty nosicielstwa Clostridioides difficile"* porusza ważne aspekty dotyczące jednego z najważniejszych problemów epidemiologicznych ostatniej dekady, jakim jest wzrost zakażeń wywołanych przez *C. difficile*, szczególnie w szpitalach, narastanie problemu antybiotykooporności i nosicielstwa. W związku z bardzo nielicznymi badaniami dotyczącymi problemu nosicielstwa *C. difficile*, a w warunkach polskich praktycznie całkowitym brakiem takich opracowań, dysertacja stanowi istotne uzupełnienie stanu wiedzy w tym obszarze. Przedstawione uwagi w żaden sposób nie obniżają wartości merytorycznej rozprawy. Autorka dysertacji wykazała się skrupulatnością, wnikliwością i rzetelnością, jak również bardzo dobrą znajomością warsztatu badawczego i obecnego stanu wiedzy.

Biorąc pod uwagę powyższe, jak również fakt, iż rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. nr 65, poz. 595 z późn. zm.) w związku z art. 179 ust. 1 ustawy z dnia 3 lipca 2018r. Przepisy wprowadzające ustawę - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018r. poz. 1669 z późn.zm.) zwracam się do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauk Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego o dopuszczenie Autorki, lekarz Magdaleny Iżyckiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Dr hab. n. med. Michał Kukla

