

Dąbrowa Górnicza, dnia 23.01.2020

Oddział Chirurgii Urazowo-Ortopedycznej

Zagłębiowskie Centrum Onkologii

w Dąbrowie Górniczej

Recenzja rozprawy doktorskiej lekarza Piotra Dudka pt „Ocena wpływu różnych częstotliwości sonikacji na przeżycie bakterii najczęściej powodujących zakażenia okołoprotezowe stawów biodrowych i kolanowych” wykonanej pod kierunkiem naukowym dr hab. Dariusza Marcza w Klinice Ortopedii i Reumoortopedii CMKP SPSK im. Prof. Adama Grucy w Otwocku

Zakażenia związane z opieką zdrowotną - HAI (ang. *Healthcare Associated Infections*), w tym zakażenia szpitalne pozostające w ścisłym związku przyczynowym z pobytem chorego w szpitalu, stanowią aktualnie najpoważniejszy problem zdrowia publicznego, który dotyczy wszystkich ośrodków medycznych na całym świecie. Ryzyko wystąpienia zakażeń nabytych w szpitalu pozostaje w precyzyjnym związku z rodzajem wykonywanych u pacjentów zabiegów diagnostycznych i terapeutycznych. Obecnie w Unii Europejskiej - EU (ang. *European Union*) występuje rocznie około 4 mln. przypadków HAIs, z czego około 37 tysięcy stanowi bezpośrednią przyczynę zgonu.

Jednym z najważniejszych czynników ryzyka zakażeń u pacjentów chirurgicznych jest stosowanie inwazyjnych procedur związanych z naruszeniem ciągłości tkanek. W ortopedii i traumatologii narządu ruchu ze względu na charakter i specyfikę oddziału najczęstszą formą kliniczną są zakażenia miejsca operowanego - SSI (ang. *Surgical site infection*). Zakażenia

miejsca operowanego ze względu na przebieg możemy podzielić na powierzchniowe, głębokie i narządowe. Umownie przyjęto, że infekcje występujące po 48-72 h od momentu przyjęcia do szpitala są rozpoznawane jako zakażenia nabyte w szpitalu.

Zakażenia okołowszczepowe zwane również zakażeniami związanymi z biomateriałem - BAIs (ang. *Biomaterial Associated Infections*) są zapoczątkowywane przez drobnoustroje, które przyłączając się do powierzchni implantu tworzą biofilm bakteryjny jako zorganizowana wielokomórkowa struktura bakteryjna sprzyjająca wymianie informacji genetycznej poprzez transfer horyzontalny HGT (ang. *Horizontal Gene Transfer*) zwany również poziomym transferem genów i plazmidów.

Najczęstszymi drobnoustrojami odpowiedzialnymi za zakażenia SSI w oddziałach ortopedycznych w większości przypadków jest *Staphylococcus aureus* oraz gronkowce koagulazo-ujemne - CNS (ang. *coagulase negative Staphylococci*), rzadziej pałeczki Gram-ujemne. W zakażeniu po protezoplastyce stawu i chirurgii implantacyjnej dominują głównie CNS oraz *Staphylococcus aureus*. W dalszej kolejności za zakażenia związane ze stosowaniem biomateriału odpowiadają paciorkowce, w tym głównie β -hemolityczne, pałeczki Gram-ujemne z rodziny *Enterobacteriaceae* (*Escherichia coli*, *Proteus* spp., *Klebsiella* spp.), a także *Pseudomonas aeruginosa*. Rzadziej izolowane są inne drobnoustroje takie jak: *Corynebacterium* spp., *Enterococcus* spp., *Bacillus* spp. czy *Propionbacterium* spp. Za około 1% zakażeń okołoprotezowych odpowiadają grzyby.

Warunkiem prawidłowego leczenia zakażenia endoprotezy czy innego implantu jest uzyskanie materiału biologicznego pozwalającego wyhodować szczepy bakterii oraz określić antybiogram, a z uwagi na to, iż zakażona rana jest siedliskiem wielu szczepów (nadkażenie rany) wynik posiewu i antybiogram może często odbiegać od stanu faktycznego, co w konsekwencji prowadzi do błędnych decyzji medycznych.

Stąd określenie rodzaju drobnoustroju zakażonego implantu wydaje się kluczowe dla prowadzenia właściwego leczenia. Z uwagi na to uważam, że temat pracy badawczej dotyczący sonikacji wszczepu podjęty przez Doktoranta jest bardzo ciekawy, aktualny, ważny, oryginalny oraz co najważniejsze w pełni uzasadniony, ponieważ z pewnością znajdzie zastosowanie kliniczne.

Praca doktorska obejmuje 104 strony starannie opracowanego maszynopisu. Zawiera ona 19. stronicowy wstęp, 1. stronicowy opis celów pracy, 14. stron tekstu dotyczącego materiału i metod badawczych, 33. stronicowe wyniki, 9. stronicowa dyskusja oraz wnioski. Praca doktorska jest wydana w wyjątkowo estetycznej formie, a wyniki badań są ilustrowane czytelnymi rycinami i tabelami. W pracy zamieszczono również dwa 3. stronicowe streszczenia w języku polskim i angielskim oraz piśmiennictwo i inne.

Z formalnego punktu widzenia rozprawa ta spełnia kryteria pracy naukowej na stopień doktora nauk medycznych.

Podjęta w pracy problematyka stanowi uzupełnienie aktualnego stanu wiedzy i weryfikacji doświadczalnej w obszarze badań nad oceną wpływu różnych częstotliwości sonikacji na przeżycie bakterii endoprotez stawu kolanowego oraz biodrowego i została przedstawiona w sposób chronologiczny.

We wstępie Doktorant przedstawił kryteria rozpoznania PJI wraz z algorytmem postępowania w diagnostyce wg AAOS. Opisał również patogenezę zakażeń okołoprotezowych i czynniki ryzyka ich występowania. W dalszej części wstępu w sposób obszerny przedstawił aktualną wiedzę na temat powstawania biofilmu oraz wybrane metody jego usuwania.

W swojej pracy do osiągnięcia celu, jakim była ocena sonikacji Doktorant postawił 3 hipotezy badawcze:

1. Sonikacja (przy użyciu odpowiedniego protokołu) jest badaniem bezpiecznym dla przeżycia bakterii,
2. Częstotliwość ultradźwięków, jako główny parametr sonikacji, ma wpływ na przeżycie bakterii,
3. Sonikacja zwiększa czułość i swoistość badania mikrobiologicznego w diagnostyce PJI.

W kolejnym rozdziale tj. Materiał i metody Doktorant opisał część laboratoryjną i kliniczną doświadczenia. Analizował różne częstotliwości ultradźwięków wykorzystywanych podczas sonikacji dla 4 szczepów tj. ATCC 29213, ATCC 29212, ATCC 27853, ATCC 25922 i dla każdego z nich stworzył 4 grupy; kontrolna oraz o częstotliwościach 35, 40 i 53 kHz. Liczba

badan̄ mikrobiologicznych wynosiła 40 dla kaŹdej z grup. Dodatkowo celem potwierdzenia skutecznoŹci sonikacji Doktorant przeprowadził analizę przypadków obluzowań septycznych (125 chorych) i aseptycznych (77 chorych) endoprotez stawu kolanowego i biodrowego.

W kolejnym rozdziale Doktorant przedstawił uzyskane w swoich badaniach wyniki laboratoryjne, które popart̄ wnikliwą analizą statystyczną, a następn̄ie zawarł je w pierwszych trzech wnioskach swojej pracy. Wykazał równ̄ież w części klinicznej, iŹ czułoŹć i swoistoŹć standardowego postępowania mikrobiologicznego w wykrywaniu patogenu sprawczego wynosi 70%, a posiewu materiału biologicznego uzyskanego w trakcie sonikacji blisko 87%.

Na podstawie przeprowadzonych badan̄ Doktorant sformułowal̄ 4 wnioski:

1. Sonikacja ma negatywny wpływ na przeŹycie bakterii w formie planktonicznej.
2. CzęŹć bakterii w formie planktonicznej ulega uszkodzeniu/zabiciu przy działaniu ultradŹwięków, co wyraża się mniejszą ilością CFU w posiewach próbek poddanych sonikacji w stosunku do próbek kontrolnych.
3. Optymalna częŹtotliwoŹć ultradŹwięków (czyli taka, która w najmniejszym stopniu uszkadza/zabija bakterie w formie planktonicznej) w procesie sonikacji dla *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli* to 35 kHz i 40 kHz. Dla bakterii *E. faecalis* opisywane częŹtotliwoŹci ultradŹwięków (35, 40, 53 kHz) wykazały jednakowy wpływ na przeŹywalnoŹć.
4. Sonikacja jest skuteczną metodą zwiększającą czułoŹć badania mikrobiologicznego w diagnostyce infekcji okołoprotezowych stawu biodrowego i kolanowego.

Zaproponowany projekt badawczy jest ciekawy, a sama praca doktorska napisana w sposób wysoce merytoryczny. Z obowiązku recenzenta znalazłem kilka nieŹciŹtoŹci, które przedstawiam poniŹej, w Źaden sposób jednak nie obniŹają one mojej pozytywnej oceny całej pracy.

1. Liczba postawionych hipotez badawczych wynosi 3, a sformułowanych wniosków 4.
2. W pracy nie analizowano szczepu ATCC 35218 (*E. coli* wytwarzających ESBL).
3. Drobne błędy literowe i stylistyczne.

Podsumowując stwierdzam, że przedstawiona mi do oceny praca doktorska lekarza Piotra Dudka jest wartościowa i posiada duży potencjał poznawczy. Stanowi spójną całość tematyczną, zawierając istotne cechy nowatorskie, które są przydatne w praktyce klinicznej, a co najważniejsze spełnia kryteria stawiane osiągnięciom na stopień naukowy doktora nauk medycznych.

Priorytetowym elementem i najnowocześniejszym standardem współczesnej medycyny w zapobieganiu zakażeniom związanym z opieką zdrowotną, zwłaszcza w operacjach wszczepienia implantów, jest aktywne monitorowanie zakażeń poprzez ciągły nadzór nad czynnikami ryzyka rozwoju zakażenia związanymi głównie z wykonywanymi procedurami inwazyjnymi i higieną rąk oraz szybkim przepływem informacji w nowoczesnym systemie kontroli zakażeń opartym o badania prospektywne oraz politykę antybiotykową szpitala. Jednak mimo zachowania najwyższych standardów będzie dochodzić do powikłań infekcyjnych. W takich przypadkach prawidłowa diagnostyka ma szczególne znaczenia do postawienia błyskawicznego i trafnego rozpoznania oraz wdrożenia optymalnego leczenia, a wyniki pracy lekarza Piotra Dudka idealnie wpisują się w nowoczesne, a wręcz nowatorskie postępowanie medyczne.

Powyzsze upowazniają mnie do przedłożenia Wysokiej Radzie Centrum Medycznego Kształcenia Podyplomowego w Warszawie wniosku o wszczęcie dalszych etapów przewodu doktorskiego i nadanie lekarzowi Piotrowi Dudkowi stopnia naukowego doktora.

Ponadto, bardzo wysoka wartość merytoryczna rozprawy, a także estetyczna forma rozprawy doktorskiej oraz spełnione wymagania formalne upowazniają mnie do złożenia wniosku o wyróżnienie rozprawy doktorskiej.



Prof. dr hab. n. med. Tomasz Bielecki