

**Iek. Natalia Emilia Olszewska**

***Kolonizacja bakteryjna żółci jako potencjalnie  
modyfikowalny czynnik ryzyka powikłań po  
pankreatoduodenektomii u chorych na raka głowy  
trzustki***

**Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu  
w dyscyplinie nauki medyczne**

Promotor: prof. dr hab. Maciej Słodkowski

Promotor pomocniczy: dr n. med. Tomasz Guzel

Katedra i Klinika Chirurgii Ogólnej, Gastroenterologicznej i Onkologicznej  
Warszawski Uniwersytet Medyczny



Obrona rozprawy doktorskiej przed Radą Dyscypliny Nauk Medycznych  
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

Warszawa 2026 r.

**Słowa kluczowe w języku polskim:**

Antybiotykoterapia

Bakteriobilia

Bakterie

Okołooperacyjna profilaktyka antybiotykowa

Pankreatoduodenektomia

Pooperacyjna przetoka trzustkowa

Powikłania pooperacyjne

Rak trzustki

**Słowa kluczowe w języku angielskim:**

Antibiotic therapy

Bacteriobilia

Bacteria

Perioperative antibiotic prophylaxis

Pancreatoduodenectomy

Postoperative pancreatic fistula

Postoperative complications

Pancreatic Cancer

## **Podziękowania**

*Serdecznie dziękuję Panu*

*prof. dr hab. n. med. Maciejowi Słodkowskiemu*

*Kierownikowi Kliniki i Promotorowi niniejszej pracy doktorskiej za stworzenie możliwości rozwoju naukowego oraz umożliwienie realizacji pracy doktorskiej w tak inspirującym i wymagającym obszarze chirurgii.*

*Dr n. med. Tomaszowi Guzelowi*

*za nieocenione wsparcie na każdym etapie pracy naukowej, życzliwość oraz stałą gotowość do pomocy — za to, że zawsze mogę na Niego liczyć.*

*Prof. dr hab. n. med. Piotrowi Paluszkiewiczowi*

*za wsparcie merytoryczne, cenne wskazówki oraz inspirujące i pouczające dyskusje naukowe.*

*Dr n. med. mgr mat. Zbigniewowi Lewandowskiemu*

*za inspirację do pogłębionych rozważań statystycznych.*

## **Wykaz publikacji stanowiących cykl rozprawy doktorskiej:**

1. **Olszewska N, Guzel T, Śmigielska K, Paluszkiewicz P, Milner A, Podsiadły E, Słodkowski M.** *Bile Bacterial Colonization Increases Risk of Postoperative Pancreatic Fistula and Worsens Overall Survival Following Pancreatoduodenectomy.* Journal of Clinical Medicine. 2026; 15(4):1566. <https://doi.org/10.3390/jcm15041566>

**MEiN 140 pkt**

**Impact Factor 2.9**

**Q1**

2. **Olszewska N, Guzel T, Milner A, Paluszkiewicz P, Podsiadły E, Słodkowski M.** *Should Preoperative Biliary Decontamination Be Considered to Minimize Morbidity and Mortality Following Pancreatoduodenectomy?* Antibiotics. 2026; 15(2):134. <https://doi.org/10.3390/antibiotics15020134>

**MEiN 70 pkt**

**Impact Factor 4.6**

**Q1**

## **Sumaryczna bibliometria cyklu publikacji:**

Sumaryczna punktacja MEiN **210 pkt**

Sumaryczny Impact Factor **7.5**

## **Spis treści:**

Słowa kluczowe w języku polskim .....	2
Słowa kluczowe w języku angielskim .....	2
Podziękowania .....	3
Wykaz publikacji stanowiących pracę doktorską .....	4
Wykaz stosowanych skrótów .....	6
Streszczenie w języku polskim .....	7
Streszczenie w języku angielskim .....	11
Wstęp .....	15
Założenia i cel pracy .....	20
Kopie opublikowanych prac .....	21
Podsumowanie i wnioski .....	49
Opinia Komisji Bioetycznej .....	52
Oświadczenia wszystkich współautorów cyklu publikacji .....	53

## **Wykaz stosowanych skrótów**

AMR	Antimicrobial Resistance
BRM	Bacteria with Resistance Mechanisms
ERCP	Endoscopic Retrograde Cholangiopancreatography
ISGPS	International Study Group of Pancreatic Surgery
OS	Overall survival
PBD	Preoperative Biliary Drainage
PC	Pancreatic Cancer
PD	Pancreatoduodenectomy
PDAC	Pancreatic Ductal Adenocarcinoma
POPF	Postoperative Pancreatic Fistula

## Streszczenie w języku polskim

### Wstęp

Gruczolakorak przewodowy trzustki (Pancreatic Ductal Adenocarcinoma – PDAC) jest jednym z najgorzej rokujących nowotworów litych, charakteryzuje się skrajnie agresywnym przebiegiem klinicznym, wczesną skłonnością do uogólnienia choroby oraz ograniczoną odpowiedzią na leczenie systemowe. W przypadku PDAC zlokalizowanego w głowie trzustki jedyną metodą leczenia o potencjale radykalnym jest rozległa resekcja w polu trzustkowo–dwunastniczym (pankreatoduodenektomia – PD), stanowiąca zasadniczy element leczenia skojarzonego z chemioterapią uzupełniającą lub/i radioterapią. Jednocześnie przyjmuje się, że PD w przypadku PDAC jest jedną z najbardziej skomplikowanych operacji w chirurgii jamy brzusznej, a częstość powikłań pooperacyjnych – w tym pooperacyjnej przetoki trzustkowej (Postoperative Pancreatic Fistula – POPF), i ciężkich zakażeń wewnątrzbrzusznych – pozostaje znamienne wysoka. W tym kontekście identyfikacja modyfikowalnych czynników ryzyka powikłań może poprawić wyniki leczenia chirurgicznego, co umożliwi optymalizację terapii skojarzonej, a w konsekwencji wpływa na poprawę rokowania odległego.

Kolonizacja bakteryjna żółci stanowi częste zjawisko wśród chorych kwalifikowanych do pankreatoduodenektomii i może mieć istotne znaczenie kliniczne. Problem ten dotyczy szczególnie pacjentów, u których wykonano przedoperacyjny drenaż dróg żółciowych z wykorzystaniem endoskopowej cholangiopankreatografii wstecznej (Endoscopic Retrograde Cholangiopancreatography – ERCP). Przerwanie fizjologicznego mechanizmu antyrefluksowego brodawki dwunastniczej większej oraz obecność protezy w drogach żółciowych sprzyjają translokacji i przetrwałej obecności drobnoustrojów w układzie żółciowym. Dostępne dane wskazują, że bakteriobilia może być przyczyną pooperacyjnych powikłań septycznych, jednak jej znaczenie w odniesieniu do pooperacyjnej przetoki trzustkowej oraz przeżycia odległego nie zostało jednoznacznie określone w jednorodnej populacji chorych z PDAC. Równocześnie, obowiązujące schematy okołoperacyjnej profilaktyki antybiotykowej w chirurgii trzustki nie uwzględniają w pełni rzeczywistego spektrum drobnoustrojów izolowanych śródoperacyjnie z żółci. Niniejsza rozprawa doktorska obejmuje cykl dwóch prac oryginalnych opartych na retrospektywnej analizie jednolitej kohorty 138 pacjentów z histopatologicznie potwierdzonym PDAC głowy trzustki, u których wykonano PD w jednym ośrodku referencyjnym w latach 2017–2022.

## Cele

Celem niniejszej rozprawy doktorskiej była kompleksowa ocena znaczenia kolonizacji bakteryjnej żółci u chorych z PDAC zlokalizowanym w głowie trzustki, poddanych PD, ze szczególnym uwzględnieniem jej związku z występowaniem powikłań pooperacyjnych oraz przeżyciem odległym. Ponadto zakres pracy obejmował analizę mikrobiologiczną żółci wraz z rozważeniem możliwości modyfikacji strategii terapii antybiotykowej w okresie okołooperacyjnym.

## Publikacja #1

*Olszewska N, Guzel T, Śmigielska K, Paluszkiewicz P, Milner A, Podsiadły E, Słodkowski M. Bile Bacterial Colonization Increases Risk of Postoperative Pancreatic Fistula and Worsens Overall Survival Following Pancreatoduodenectomy. Journal of Clinical Medicine. 2026; 15(4):1566.*

Pierwsza praca pt. „*Bile Bacterial Colonization Increases Risk of Postoperative Pancreatic Fistula and Worsens Overall Survival Following Pancreatoduodenectomy*” analizuje kliniczne znaczenie kolonizacji bakteryjnej żółci u pacjentów z gruczolakorakiem przewodowym głowy trzustki poddanych pankreatoduodenektomii, ze szczególnym uwzględnieniem jej związku z występowaniem POPF oraz przeżyciem całkowitym (Overall Survival – OS). W analizie wieloczynnikowej wykazano, że bakteriobilia stanowiła niezależny czynnik ryzyka klinicznie istotnej POPF (Odds Ratio (OR) 5,50;  $p = 0,034$ ), w tym POPF stopnia B (OR 8,04;  $p = 0,048$ ), natomiast obecność bakterii z mechanizmami oporności (Bacteria with Resistance Mechanisms – BRM) była niezależnie związana z występowaniem POPF stopnia C (OR 6,17;  $p = 0,047$ ). Analiza przeżycia metodą Kaplana–Meiera wykazała istotnie krótsze przeżycie całkowite w grupie pacjentów z dodatnim posiewem żółci (mediana 26,7 vs. 54,7 miesiąca;  $p = 0,009$ ), a w modelu regresji Coxa dodatni posiew pozostawał niezależnym czynnikiem prognostycznym pogarszającym rokowanie (HR 1,95;  $p = 0,019$ ), niezależnie od zaawansowania nowotworu.

Uzyskane wyniki wskazują, że kolonizacja bakteryjna żółci może stanowić istotny czynnik determinujący zarówno przebieg pooperacyjny, jak i odległe wyniki leczenia u chorych z PDAC poddanych PD.

## Publikacja #2

*Olszewska N, Guzel T, Milner A, Paluszkiwicz P, Podsiadły E, Słodkowski M. Should Preoperative Biliary Decontamination Be Considered to Minimize Morbidity and Mortality Following Pancreatoduodenectomy? Antibiotics. 2026; 15(2):134.*

Druga praca pt. „Should Preoperative Biliary Decontamination Be Considered to Minimize Morbidity and Mortality Following Pancreatoduodenectomy?” jest dalszym etapem analiz mikrobiologicznych, koncentrującym się na ich przełożeniu na decyzje terapeutyczne oraz potencjalne modyfikacje postępowania w okresie okołoperacyjnym. Kolonizację bakteryjną żółci w badanej grupie stwierdzono u 76,8% chorych, przy czym jej częstość była istotnie wyższa u pacjentów po ERCP (93,1% vs. 32,4%). Obecność bakteriobalii wiązała się ze zwiększoną 5-letnią śmiertelnością (OR 3,01; p = 0,007), wyższą częstością POPF typu B (OR 5,11; p = 0,088) oraz zakażeń miejsca operowanego (OR 2,9; p = 0,038). Wyodrębnienie bakterii BRM identyfikowało podgrupę chorych o szczególnie wysokim ryzyku niekorzystnych zdarzeń, w tym zwiększonej śmiertelności wewnątrzszpitalnej (OR 8,43; p = 0,004), konieczności reoperacji (OR 4,17; p = 0,017) oraz POPF stopnia C (OR 4,97; p = 0,026). Analiza przeżycia metodą Kaplana–Meiera wykazała istotnie gorsze OS u pacjentów z bakteriobią (log-rank p = 0,038).

Kolonizacja żółci w większości przypadków była polimikrobowa. Wśród wyizolowanych 252 mikroorganizmów dominowały pałeczki Gram-ujemne (61,3%) oraz ziarenkowce Gram-dodatnie (30,6%), a szczepy BRM stanowiły 9,8%. Analiza wrażliwości bakterii na antybiotyki wykazała niską skuteczność schematów opartych na cefalosporynach w skojarzeniu z metronidazolem (pokrycie 30,2%), podczas gdy najwyższą skuteczność wykazano dla kombinacji amoksycylina/kwas klawulanowy z gentamycyną (93,6%).

Przedstawione wyniki wskazują na związek kolonizacji bakteryjnej żółci z wystąpieniem powikłań okresu pooperacyjnego u chorych z PDAC poddanych PD. Dodatkowo wykazano związek bakteriobalii ze skróceniem przeżycia całkowitego chorych z gruczolakorakiem przewodowym głowy trzustki leczonych operacyjnie. Uzyskane wyniki stanowią podstawę do rozważenia zastosowania empirycznej antybiotykoterapii w okresie okołoperacyjnym, dostosowanej do profilu bakterii najczęściej izolowanych z żółci, zamiast wyłącznie standardowej profilaktyki antybiotykowej. Proponowane podejście powinno uwzględniać schematy zapewniające szerokie spektrum działania przeciwbakteryjnego, na przykład oparte na połączeniu amoksycylina/kwas klawulanowy z gentamycyną.

## **Wnioski**

Przedstawiony cykl prac dostarcza dane wskazujące na związek kolonizacji bakteryjnej żółci ze zwiększoną częstością powikłań pooperacyjnych oraz skróceniem przeżycia całkowitego u chorych z gruczolakorakiem przewodowym głowy trzustki poddanych pankreatoduodenektomii. Wysoki odsetek bakteriobalii u tych chorych oraz obecność szczepów z mechanizmami oporności sugerują zasadność traktowania pankreatoduodenektomii w tej grupie pacjentów jako operacji „skażonej”, co może uzasadniać rozważenie zastosowania antybiotykoterapii okołoperacyjnej o szerszym spektrum działania, takiej jak skojarzenie amoksycyliny z kwasem klawulanowym oraz gentamycyny.

Uzyskane wyniki poszerzają aktualną wiedzę dotyczącą roli bakteriobalii w chirurgii trzustki oraz stanowią podstawę do dalszej weryfikacji tych obserwacji w interwencyjnych badaniach prospektywnych oraz badaniach randomizowanych.

## Streszczenie w języku angielskim

### *Biliary bacterial colonization as a potentially modifiable risk factor for postoperative complications following pancreatoduodenectomy in patients with pancreatic head cancer*

#### **Introduction**

Pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC) remains one of the most lethal solid malignancies, characterized by highly aggressive tumor biology, early metastatic dissemination, and limited responsiveness to systemic treatment. Only chance for patients to conquer this malignant disease is radical surgical resection combined with regional lymphadenectomy, followed by adjuvant chemotherapy. A pancreatoduodenectomy (PD) is the standard surgical approach for tumors localized in the head of the pancreas.

However, PD is among the most technically demanding procedures in abdominal surgery, and postoperative morbidity—particularly postoperative pancreatic fistula (POPF) and infectious complications—remains substantial. In this context, the identification of modifiable risk factors is critical not only for improving short-term surgical outcomes but also for optimizing multimodal oncologic treatment and long-term survival.

Bacterial colonization of bile (bacterobilia) is frequently observed in patients undergoing PD and may lead to significant clinical implications. This condition is particularly frequent among patients who undergo preoperative biliary drainage via endoscopic retrograde cholangiopancreatography (ERCP), where disruption of the physiological barrier of the sphincter of Oddi and the presence of a biliary stent facilitate microbial translocation and persistent colonization of the biliary tract.

Although available data suggest an association between bacterobilia and infectious complications, its impact on clinically relevant POPF and long-term survival has not been clearly explained in a homogeneous cohort of patients with PDAC. Furthermore, current perioperative antibiotic prophylaxis protocols in pancreatic surgery do not adequately reflect the actual microbiological spectrum of pathogens isolated intraoperatively from bile.

This doctoral dissertation comprises a series of two original studies based on a retrospective analysis of a homogeneous cohort of 138 patients with histopathologically confirmed PDAC of the pancreatic head who underwent PD between 2017 and 2022 in referral surgical center.

## **Objectives**

The primary aim of this doctoral thesis was to comprehensively evaluate the clinical significance of bacterial bile colonization in patients with PDAC of the pancreatic head undergoing PD, with particular emphasis on its association with postoperative complications and long-term overall survival (OS).

Additionally, the study included a detailed microbiological evaluation of bile cultures to assess whether current perioperative antibiotic prophylaxis should be modified based on the pathogens identified intraoperatively in bile.

## **Publication #1**

**Olszewska N, et al.** *Bile Bacterial Colonization Increases Risk of Postoperative Pancreatic Fistula and Worsens Overall Survival Following Pancreatoduodenectomy.* Journal of Clinical Medicine. 2026; 15(4):1566.

The first study titled “*Bile Bacterial Colonization Increases Risk of Postoperative Pancreatic Fistula and Worsens Overall Survival Following Pancreatoduodenectomy*” evaluated the clinical relevance of bacterobilia in patients with pancreatic head PDAC undergoing PD, focusing on its association with postoperative pancreatic fistula and overall survival.

Multivariable analysis demonstrated that bacterobilia was an independent risk factor for clinically relevant POPF (OR 5.50;  $p = 0.034$ ) and grade B POPF (OR 8.04;  $p = 0.048$ ). Moreover, the presence of bacteria with resistance mechanisms (BRM) was independently associated with grade C POPF (OR 6.17;  $p = 0.047$ ).

Survival analysis revealed significantly reduced OS in patients with positive bile cultures (median 26.7 vs. 54.7 months;  $p = 0.009$ ). In Cox proportional hazards model, positive bile culture remained an independent predictor of impaired survival (HR 1.95;  $p = 0.019$ ), irrespective of tumor stage.

These findings indicate that bacterobilia represents a clinically significant factor influencing both perioperative morbidity and long-term oncologic outcomes in patients with PDAC undergoing PD.

## **Publication #2**

**Olszewska N, et al.** *Should Preoperative Biliary Decontamination Be Considered to Minimize Morbidity and Mortality Following Pancreatoduodenectomy?* Antibiotics. 2026; 15(2):134.

The second study titled “*Should Preoperative Biliary Decontamination Be Considered to Minimize Morbidity and Mortality Following Pancreatoduodenectomy?*” expanded upon the microbiological findings and translated them into potential therapeutic implications and perioperative management strategies.

Bacterial bile colonization was identified in 76.8% of the cohort, with a significantly higher incidence among patients undergoing ERCP (93.1% vs. 32.4%). Bacterobilia was associated with increased five-year mortality (OR 3.01;  $p = 0.007$ ), higher rates of POPF grade B (OR 5.11;  $p = 0.088$ ), and surgical site infections (OR 2.9;  $p = 0.038$ ).

Isolation of BRM identified a subgroup of patients at particularly high risk for adverse events, including increased in-hospital mortality (OR 8.43;  $p = 0.004$ ), need for reoperation (OR 4.17;  $p = 0.017$ ), and severe POPF grade C (OR 4.97;  $p = 0.026$ ). Kaplan–Meier analysis demonstrated significantly reduced OS in patients with bacterobilia (log-rank  $p = 0.038$ ).

Bile colonization was polymicrobial. Among 252 isolated microorganisms, Gram-negative rods predominated (61.3%), followed by Gram-positive cocci (30.6%); BRM accounted for 9.8%.

Antimicrobial susceptibility analysis revealed poor coverage with cephalosporin-based regimens combined with metronidazole (30.2%), whereas the highest coverage was achieved with amoxicillin/clavulanate plus gentamicin (93.6%).

These results underscore the substantial clinical impact of bacterobilia, suggesting its influence on both perioperative morbidity and long-term survival in patients with PDAC undergoing PD. Collectively, these findings provide a compelling rationale for reconsidering standard perioperative prophylaxis in favor of targeted antibiotic strategies tailored to the local microbiological bile profile.

## **Conclusions**

This series of studies demonstrates a significant association between bacterial bile colonization and increased postoperative morbidity as well as impaired OS in patients with pancreatic head PDAC undergoing PD.

The high prevalence of bacterobilia in this population and the presence of BRM organisms suggest that PD in these patients may reasonably be considered as a “contaminated” operation. These findings underscore the need to reconsider current perioperative antibiotic protocols and support a targeted approach guided by

microbiological data, potentially incorporating broader-spectrum combinations such as amoxicillin/clavulanate with gentamicin to ensure adequate antimicrobial coverage.

The presented results expand current understanding of the role of bacterobilia in pancreatic surgery and provide a robust foundation for future interventional prospective and randomized studies aimed at validating these observations and improving perioperative therapeutic strategies.

# ***Kolonizacja bakteryjna żółci jako potencjalnie modyfikowalny czynnik ryzyka powikłań po pankreatoduodenektomii u chorych na raka głowy trzustki***

## **Wstęp**

Gruczolakorak przewodowy trzustki (Pancreatic Ductal Adenocarcinoma – PDAC) stanowi jedno z największych wyzwań współczesnej onkologii. Charakteryzuje się agresywnym przebiegiem, wczesnym ogólnoustrojowym rozsiewem oraz ograniczoną skutecznością leczenia systemowego. Z uwagi na brak swoistych i wczesnych objawów klinicznych, mimo istotnego postępu w zakresie diagnostyki obrazowej, optymalizacji leczenia okołoperacyjnego oraz rozwoju terapii skojarzonych, rokowanie w raku trzustki pozostaje niekorzystne – odsetek przeżyć 5-letnich w większości populacji mieści się w granicach 6–12%. Rosnąca zapadalność na PDAC, szczególnie w krajach rozwiniętych, sprawia, że mimo 10. pozycji pod względem częstości występowania, znajduje się na 3. miejscu wśród przyczyn zgonów z powodu nowotworów złośliwych na świecie. Zgodnie z danymi National Cancer Institute (USA) oraz Cancer Research (UK), prognozy epidemiologiczne wskazują, że liczba nowych rozpoznań PDAC będzie stale wzrastać, do 2040 roku nawet o ponad 5%, co dodatkowo podkreśla znaczenie tego rozpoznania jako jednego z głównych problemów współczesnej onkologii.

Podstawą leczenia radykalnego pozostaje doszczętna resekcja chirurgiczna z regionalną limfadenektomią, w przypadku guzów zlokalizowanych w głowie trzustki – pankreatoduodenektomia (PD), wraz z następczą chemioterapią zazwyczaj opartą na schemacie FOLFIRINOX (oksalipłaty, irynotekan, leukoworyna, 5-fluorouracyl) lub na schematach opartych na gemcytabinie (w przypadku przeciwwskazań do zastosowania FOLFIRINOX). Pankreatoduodenektomia, mimo standaryzacji techniki operacyjnej, nadal należy do najbardziej skomplikowanych operacji w chirurgii jamy brzusznej. Znaczny poziom trudności technicznej zabiegu, spowodowany koniecznością wykonania kilku zespożeń w celu odtworzenia ciągłości przewodu pokarmowego, a także szczególne właściwości mięszu trzustki, predysponują do nieszczelności zespożeń i sprawiają, że częstość powikłań pooperacyjnych pozostaje wysoka i wynosi od około 20% do ponad 50%, nawet w ośrodkach referencyjnych o dużym doświadczeniu w dziedzinie chirurgii trzustki.

Jednym z najcięższych powikłań po PD pozostaje pooperacyjna przetoka trzustkowa (Postoperative Pancreatic Fistula – POPF), definiowana zgodnie z kryteriami International Study Group of Pancreatic Surgery (ISGPS). Klinicznie istotne przetoki (stopnia B i C) prowadzą do przedłużonej hospitalizacji, konieczności interwencji małoinwazyjnych lub reoperacji, a w najcięższych przypadkach do niewydolności wielonarządowej i zgonu pacjenta. Ponadto wystąpienie ciężkich powikłań pooperacyjnych uniemożliwia wdrożenie leczenia uzupełniającego lub prowadzi do jego opóźnienia, co w konsekwencji może niekorzystnie wpływać na wyniki leczenia onkologicznego oraz przeżycie odległe chorych.

W ostatnich latach, obok uznanych czynników ryzyka pooperacyjnej przetoki trzustkowej – takich jak średnica głównego przewodu trzustkowego (Wirsunga), konsystencja mięszu trzustki czy choroby współistniejące pacjenta – coraz większe zainteresowanie budzi potencjalna rola mikrobiomu dróg żółciowych jako czynnika modulującego proces gojenia zespolenia trzustkowo-jelitowego oraz odpowiedź zapalną w okresie pooperacyjnym.

Znaczny odsetek pacjentów z nowotworami okołobrodawkowymi ma objawy cholestazy, często z zapaleniem dróg żółciowych, co wymaga przedoperacyjnego drenażu dróg żółciowych (najczęściej w drodze endoskopowej cholangiopankreatografii wstecznej (Endoscopic Retrograde Cholangiopancreatography – ERCP)). Zabieg ten, choć klinicznie uzasadniony, wiąże się z bardzo wysokim odsetkiem kolonizacji bakteryjnej żółci (bacteriobilia), sięgającym do 90%. Obturacja dróg żółciowych przez guz nowotworowy prowadzi do wzrostu ciśnienia śródprzewodowego i zastoju żółci zaburzając jej fizjologiczne właściwości bakteriostatyczne. Ponadto, instrumentalizacja brodawki Vatera podczas ERCP oraz implantacja protezy żółciowej znoszą naturalną barierę antyrefluksową, ułatwiając wstępującą kolonizację bakteryjną z dwunastnicy. W konsekwencji dochodzi nie tylko do przejściowej kontaminacji, lecz do utrwalonej obecności drobnoustrojów, często zdolnych do tworzenia biofilmu na powierzchni stentu i opornych na antybiotykoterapię. Taki zmieniony mikrobiom dróg żółciowych może stanowić istotny czynnik ryzyka zakażeń miejsca operowanego, przetok trzustkowych o ciężkim przebiegu oraz powikłań septycznych.

Wpływ kolonizacji bakteryjnej żółci na przebieg pooperacyjny może być wiązany z: bezpośrednie skażenie pola operacyjnego, nasilenie odpowiedzi zapalnej, zaburzenie procesów gojenia tkanek oraz interakcją z mikrośrodowiskiem nowotworu. Ponadto, coraz więcej danych pochodzących z badań przedklinicznych i klinicznych wskazuje, że

mikrobiom może modulować skuteczność leczenia systemowego, w tym chemioterapii opartej na gemcytabinie, paklitakselu czy oksaliplatynie, oraz wpływać na progresję choroby nowotworowej.

Pomimo narastającej liczby publikacji opisujących istotne znaczenie kolonizacji bakteryjnej żółci w kontekście powikłań po PD, obowiązujące wytyczne dotyczące profilaktyki antybiotykowej nadal kwalifikują ten zabieg do grupy operacji „czysto-skażonych”, rekomendując rutynowe stosowanie cefalosporyn I generacji oraz metronidazolu jako standardowej profilaktyki okołoperacyjnej. Schemat ten nie uwzględnia jednak rzeczywistego spektrum drobnoustrojów kolonizujących drogi żółciowe, w tym często występujących szczepów opornych na standardową profilaktykę. Powstaje zatem istotna luka pomiędzy zaleceniami ogólnymi, a specyfiką chirurgii trzustki w erze powszechnego drenażu dróg żółciowych i narastającej oporności na antybiotyki.

Obie prace wchodzące w skład niniejszego cyklu zostały oparte na jednolitej, retrospektywnie analizowanej kohorcie pacjentów leczonych w referencyjnym ośrodku o dużej liczbie wykonywanych zabiegów z zakresu chirurgii trzustki w latach 2017–2022. Spośród 725 pacjentów operowanych z powodu nowotworu trzustki do dalszej analizy zakwalifikowano wyłącznie chorych poddanych PD, u których w badaniu histopatologicznym potwierdzono rozpoznanie PDAC głowy trzustki. W celu uzyskania możliwie jednorodnej populacji badanej z analizy wykluczono chorych poddanych innym typom resekcji, laparotomiom oraz pacjentów po leczeniu neoadiuwantowym, w celu uzyskania możliwie jednorodnej populacji badanej. Ostateczna kohorta obejmowała 138 pacjentów z PDAC głowy trzustki.

U wszystkich chorych śródoperacyjnie pobierano próbki żółci bezpośrednio po przecięciu przewodu żółciowego wspólnego, zachowując ściśle warunki aseptyki. Próbkę poddawano identyfikacji drobnoustrojów metodą MALDI-TOF oraz analizie wrażliwości na antybiotyki zgodnie ze standardami EUCAST.

Pierwsza praca pt. *„Bile Bacterial Colonization Increases Risk of Postoperative Pancreatic Fistula and Worsens Overall Survival Following Pancreatoduodenectomy”* stanowi analizę kliniczną znaczenia kolonizacji bakteryjnej żółci u pacjentów z PDAC poddanych PD. Jej zasadniczym celem była ocena związku pomiędzy obecnością bakteriobalii – w tym bakterii z mechanizmami oporności (BRM)

– a występowaniem pooperacyjnej przetoki trzustkowej, ze szczególnym uwzględnieniem przetok klinicznie istotnych (stopnia B i C według ISGPS).

Drugim, równorzędnym celem pracy była analiza wpływu dodatnich posiewów żółci na przeżycie całkowite (overall survival, OS) chorych po pankreatoduodenektomii, z uwzględnieniem stadium zaawansowania choroby nowotworowej. W badaniu zastosowano analizę jedno- i wieloczynnikową w celu identyfikacji niezależnych czynników ryzyka powikłań pooperacyjnych oraz analizę przeżycia metodą Kaplana–Meiera i regresji Coxa.

Praca ta stanowi koncepcyjny punkt wyjścia dla całego cyklu badawczego, identyfikując kolonizację bakteryjną żółci jako potencjalny czynnik modyfikujący zarówno przebieg okołoperacyjny, jak i odległe rokowanie chorych z rakiem głowy trzustki po PD.

Druga praca pt. „*Should Preoperative Biliary Decontamination Be Considered to Minimize Morbidity and Mortality Following Pancreatoduodenectomy?*” stanowi kontynuację analiz mikrobiologicznych, rozszerzając je o wymiar praktyczny poprzez ocenę ich znaczenia dla strategii terapeutycznych oraz postępowania okołoperacyjnego. Jej celem była szczegółowa charakterystyka mikrobiologiczna żółci u pacjentów z PDAC poddanych PD oraz analiza profilu wrażliwości wyizolowanych drobnoustrojów na dostępne antybiotyki.

W badaniu przeprowadzono ocenę skuteczności różnych schematów antybiotykoterapii, w tym symulację antybiotykowrażliwości przez wybrane kombinacje leków przeciwbakteryjnych, z uwzględnieniem drobnoustrojów Gram-dodatnich, Gram-ujemnych, beztlenowych oraz szczepów BRM. Celem pracy było określenie, czy stosowana standardowo profilaktyka okołoperacyjna odpowiada rzeczywistemu profilowi mikrobiologicznemu tej populacji oraz czy istnieją przesłanki do rozważenia celowanej dekolonizacji dróg żółciowych w okresie okołoperacyjnym u pacjentów kwalifikowanych do PD.

Przedstawiony cykl dwóch prac stanowi kompleksową analizę znaczenia kolonizacji bakteryjnej żółci u chorych z PDAC głowy trzustki poddanych PD. W obliczu utrzymującej się wysokiej częstości powikłań pooperacyjnych oraz niezadowolających wyników leczenia odległego w PDAC, identyfikacja modyfikowalnych czynników ryzyka ma istotne znaczenie kliniczne.

Pierwsza z prac podejmuje problem bakteriobalii jako potencjalnego czynnika determinującego przebieg okołoperacyjny oraz OS, wpisując się w aktualny nurt badań nad rolą mikrobiomu w chirurgii onkologicznej. Druga praca rozwija tę koncepcję, analizując profil mikrobiologiczny żółci oraz adekwatność stosowanej okołoperacyjnej profilaktyki antybiotykowej, co umożliwia sformułowanie wniosków o bezpośrednim znaczeniu klinicznym i praktycznym zastosowaniu.

Spójność niniejszego cyklu wynika z oparcia obu prac na tej samej, jednorodnej grupie chorych z histopatologicznie potwierdzonym PDAC głowy trzustki. Taka konstrukcja pozwala na wieloaspektową ocenę badanego problemu — od identyfikacji potencjalnego czynnika ryzyka, poprzez analizę jego znaczenia klinicznego, aż po rozważenie potencjalnej modyfikacji postępowania okołoperacyjnego.

Niniejsza rozprawa ma na celu usystematyzowanie aktualnej wiedzy dotyczącej znaczenia bakteriobalii w chirurgii trzustki oraz wskazanie obszarów wymagających dalszej weryfikacji w badaniach prospektywnych. Uzyskane obserwacje mogą stanowić punkt wyjścia do przyszłych analiz nad optymalizacją postępowania okołoperacyjnego, przy zachowaniu ostrożności interpretacyjnej właściwej dla badań retrospektywnych.

## **Założenia i cel pracy**

1. Określenie znaczenia klinicznego kolonizacji bakteryjnej żółci w odniesieniu do powikłań pooperacyjnych i przeżycia odległego u chorych z PDAC głowy trzustki poddanych PD.
2. Charakterystyka profilu mikrobiologicznego żółci u chorych z PDAC głowy trzustki.
3. Określenie adekwatności stosowanej okołooperacyjnej profilaktyki antybiotykowej względem rzeczywistego profilu drobnoustrojów izolowanych z żółci.
4. Wskazanie potencjalnych kierunków optymalizacji postępowania okołooperacyjnego w zakresie okołooperacyjnej strategii antybiotykowej.

**Kopie opublikowanych prac**

Article

# Bile Bacterial Colonization Increases Risk of Postoperative Pancreatic Fistula and Worsens Overall Survival Following Pancreatoduodenectomy

Natalia Olszewska <sup>1,\*</sup>, Tomasz Guzel <sup>1,\*</sup>, Kaja Śmigielka <sup>1</sup>, Piotr Paluszkiwicz <sup>1</sup>, Agnieszka Milner <sup>2</sup>, Edyta Podsiadły <sup>3</sup> and Maciej Słodkowski <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of General, Gastroenterological and Oncological Surgery, Medical University of Warsaw, 02-097 Warsaw, Poland; smigielska@gmail.com (K.Ś.); piotr\_paluszkiwicz@o2.pl (P.P.); maciej.slodkowski@wum.edu.pl (M.S.)

<sup>2</sup> Microbiological Laboratory, University Center for Laboratory Medicine, Medical University of Warsaw, 02-097 Warsaw, Poland; agnieszka.milner@uckwum.pl

<sup>3</sup> Department of Dental Microbiology, Medical University of Warsaw, 02-097 Warsaw, Poland; edyta.podsiadly@uckwum.pl

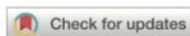
\* Correspondence: natalia.olszewska@wum.edu.pl (N.O.); tomasz.guzel@wum.edu.pl (T.G.)

## Simple Summary

We analyzed bile samples collected during pancreatoduodenectomy in patients with PDAC. The importance of this study lies in the conclusion that bacteriobilia might be associated with higher rates of postoperative pancreatic fistula and shorter overall survival, independently of the cancer stage, and thus should be recognized as a negative prognostic factor following PD.

## Abstract

**Background:** Postoperative pancreatic fistula (POPF) is a major source of morbidity following a pancreatoduodenectomy (PD), often delaying or precluding adjuvant chemotherapy and potentially compromising long-term oncologic outcomes. While established risk models focus on anatomical and biochemical factors, the role of biliary microbiota remains underexplored. This study aimed to assess relationship between bacteriobilia and the incidence of POPF, as well as its impact on overall survival (OS) in patients undergoing a PD for pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC). **Methods:** We analyzed the medical histories of 725 patients with a pancreatic tumor who were qualified for surgery between 2017 and 2022. This retrospective cohort study included 138 patients who underwent a PD for histologically confirmed PDAC. Intraoperative bile cultures were obtained and analyzed for microbial presence and resistance patterns. **Results:** Bacteriobilia was detected in 76.8% of patients, including bacteria with resistance mechanisms (BRM) present in 12.3% of bile samples. Bacterial bile colonization conferred an increased odds of POPF grade B (OR 5.11;  $p = 0.088$ ), whereas BRM were strongly predisposed to POPF grade C (OR 4.97;  $p = 0.026$ ). Upon a multivariate analysis, bacteriobilia independently drove clinically relevant POPF and POPF grade B (OR 5.50;  $p = 0.034$  and OR 8.04;  $p = 0.048$ , respectively), while BRM remained a key determinant of POPF grade C (OR 6.17;  $p = 0.047$ ). Beyond morbidity, bile colonization markedly impaired overall survival irrespective of tumor stage (26.7 vs. 54.7 months; log-rank  $p = 0.009$ ). **Conclusions:** Bacterial bile colonization may contribute not only to higher rates of POPF but to a significantly reduced OS in patients undergoing a PD for PDAC. Bacteriobilia should be considered as a prognostic factor for worse survival after a PD.



Academic Editors: Andrea Benedetti Cacciaguerra and Paolo Vincenzi

Received: 23 January 2026

Revised: 9 February 2026

Accepted: 14 February 2026

Published: 16 February 2026

Copyright: © 2026 by the authors.

Licensee MDPI, Basel, Switzerland.

This article is an open access article

distributed under the terms and

conditions of the [Creative Commons](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

Attribution (CC BY) license.

**Keywords:** pancreatoduodenectomy; bile bacterial colonization; pancreatic cancer; survival; postoperative pancreatic fistula

## 1. Introduction

Pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC) remains one of the most lethal malignancies of the gastrointestinal tract, with a 5-year survival rate ranging from 6% to 12%, depending on the stage at diagnosis and the treatment modalities applied [1]. Due to its aggressive biological behavior and because it frequently presents with late-onset symptoms, curative treatment is achievable only for a minority of patients. The cornerstone of therapy is radical surgical resection combined with regional lymphadenectomy, followed by adjuvant chemotherapy [2].

A pancreatoduodenectomy (PD) is the standard surgical approach for tumors localized in the head of the pancreas. Despite advances in surgical techniques and perioperative care, a PD remains one of the most complex procedures in abdominal surgery, associated with a high morbidity rate ranging from 30% to 55%, depending largely on the surgeon's experience and institutional volume [3–6]. Among the postoperative complications, anastomosis leakage leading to postoperative pancreatic fistula (POPF) remains the most feared and clinically significant. Clinically relevant POPF, defined by the International Study Group on Pancreatic Fistula (ISGPS) as grade B or C, occurs in approximately 7% to 33% of cases and is associated with a mortality rate of up to 25% in POPF grade C [3–7]. Clinically significant postoperative complications, particularly POPF, are known to compromise oncological outcomes. Their occurrence frequently leads to delays in the initiation of adjuvant chemotherapy and, in some cases, may result in patients being unable to receive systemic treatment entirely [8,9].

Despite various efforts to optimize surgical techniques, perioperative management, and anastomotic reconstruction strategies, the exact pathophysiological mechanisms underlying the development of POPF remain incompletely understood [10,11]. Recently, attention has turned toward the potential role of microbial factors in the pathogenesis of postoperative complications. Emerging evidence suggests that bacterial colonization of the biliary tract may contribute to impaired healing of the pancreatico-enteric anastomosis and increase the risk of POPF, as well as other infectious complications, thereby influencing both short-term outcomes and long-term survival [12–14].

The aim of this study is to evaluate the impact of biliary bacterial colonization on the incidence of postoperative complications—particularly pancreatic fistula—following a PD for PDAC, and to explore its potential association with long-term oncological outcomes.

## 2. Materials and Methods

We conducted a retrospective study including 725 patients who were qualified for surgical treatment due to a pancreatic tumor at the Department of General Gastroenterological and Oncological Surgery, University Clinical Center of the Medical University of Warsaw, between 2017 and 2022. This institution is recognized as a high-volume center [15]. Demographic characteristics, laboratory parameters, and complete medical histories of the study population were retrospectively reviewed and analyzed.

This study was carried out in accordance with the principles of the Declaration of Helsinki and received approval from the institutional Bioethics Committee. The reporting of the study findings adheres to the STROBE (Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology) guidelines.

2.1. Study Design and Eligibility Criteria

To ensure the standardization and homogeneity of the study cohort, clearly defined inclusion and exclusion criteria were applied. Of the initial 725 patients evaluated, only those who underwent a pancreatoduodenectomy ( $n = 314$ ) for a tumor located in the head of the pancreas were considered eligible for inclusion. Patients who had undergone other types of pancreatic procedures—such as distal pancreatectomy, total pancreatectomy, local tumor excision, or exploratory laparotomy without resection—were excluded from further evaluation. Patients who had received preoperative chemotherapy were also excluded from the analysis to avoid any potential bias related to treatment response or altered tissue characteristics.

Following histopathological verification, we conducted a retrospective cohort study. For the statistical analysis, we enrolled only those patients with a confirmed diagnosis of PDAC ( $n = 138$ ) (Figure 1).

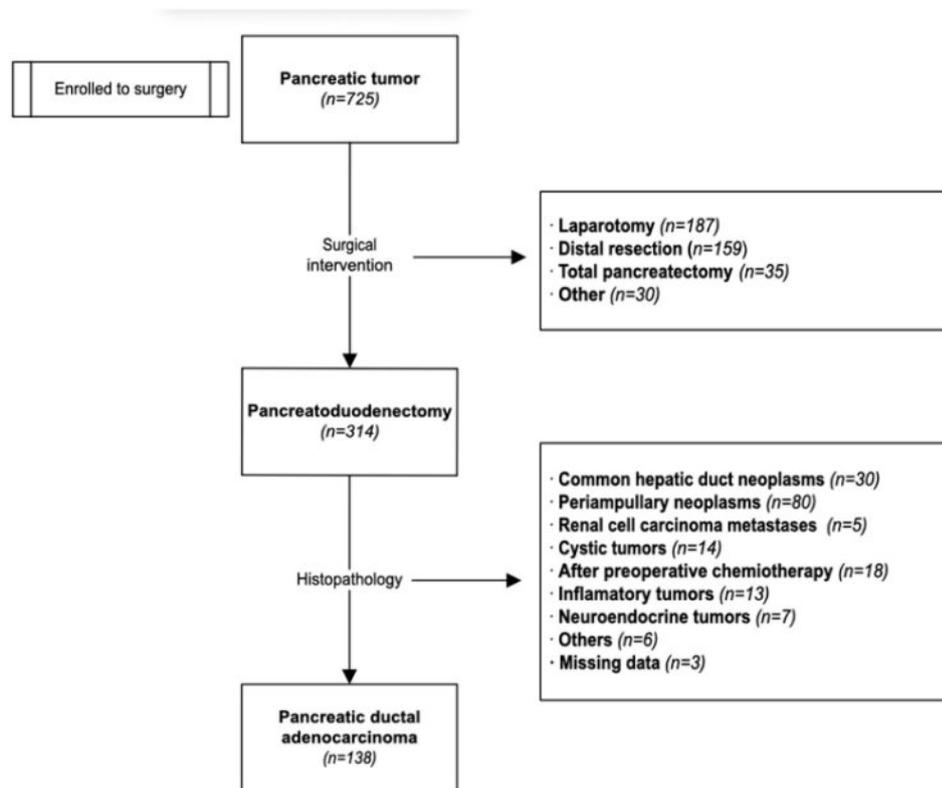


Figure 1. Flowchart illustrating the study design and the patient selection process.

2.2. Surgical Technique

Pancreatoduodenectomies were performed by three highly experienced pancreatic surgeons. Use of the classical Whipple procedure or the pylorus-preserving Traverso–Longmire technique was determined by tumor location and intraoperative assessment. Reconstruction of the remaining pancreas was carried out using pancreatico-enteric anastomosis, either by the duct-to-mucosa or the invagination technique. The choice of anastomotic method was guided by the surgeon’s expertise and the anatomical characteristics of the pancreatic duct and surrounding tissues.

Biliary reconstruction was performed by creating a hepaticojejunostomy using either a continuous single-layer suture or interrupted single sutures, depending on the diameter and condition of the common hepatic duct. Gastrointestinal continuity was restored using one of two configurations: a gastrojejunostomy with an omega loop and Braun anastomosis, or a duodenojejunostomy with an omega loop, based on the resection technique and intraoperative findings.

In most cases an oncological lymphadenectomy was carried out following the standardized Heidelberg technique, which involves an en-bloc dissection of the lymphatic tissue within the anatomical triangle formed by the celiac axis/hepatic artery, the superior mesenteric artery, and the portal vein/superior mesenteric vein [16,17]. This approach ensures comprehensive clearance of regional lymph nodes and is considered a key element of radical pancreatic head resection [18]. An antibiotic prophylaxis of 2 g of Cefazoline and 500 mg of Metronidazol were administered within 30 min before incision, with intraoperative redosing every 4 h until wound closure.

Patients in whom intraoperative exploration revealed distant metastases or locally advanced, non-resectable tumors were not subjected to pancreatic resection, in accordance with oncological safety principles and current surgical guidelines [19]. Postoperative Pancreatic Fistula (POPF) was defined and classified according to the criteria established by the ISGPS [20].

### 2.3. Microbiological Identification Methods

Intraoperative bile samples for microbiological culture were obtained immediately after transection of the common bile duct, using a new scalpel blade to ensure aseptic conditions. Samples were cultured using bacteriological media according to laboratory procedures. Bacterial cultures were performed on Columbia Blood Agar with 5% sheep blood, MacConkey Agar, Schaedler Agar with 5% sheep blood, Schaedler Agar supplemented with colistin–nalidixic acid (CNA), and Schaedler Agar supplemented with kanamycin and vancomycin. Bacterial identification was performed with MALDI-TOF mass spectrometry with Microflex LT mass (Bruker Daltonics, Bremen, Germany) using the MBT Compass IVD software (Bruker Daltonics, Bremen, Germany) according to the manufacturer's instructions. Bacteria classified as drug-resistant with resistance mechanisms (BRM) were defined as isolates exhibiting specific, well-characterized antimicrobial resistance mechanisms conferring reduced susceptibility or resistance to antimicrobial agents; these isolates were grouped and analyzed as a separate subgroup. Production carbapenemases (MBL, KPC OXA-48) by isolates was investigated by DDST-EDTA (double-disk synergy test with ethylenediaminetetraacetic acid) and detected MBL, and a CDT (combined disk test) detected KPC. Production of OXA-48 was detected using an antibiogram disc with temocillin. The Rapidec<sup>®</sup> Carba NP and/or the GeneXpert qualitative real-time PCR method (Cepheid, Sunnyvale, CA, USA) were also performed. ESBL was detected with the phenotypic confirmation method—double-disk synergy test (DDST).

### 2.4. Statistical Analysis

A statistical analysis was performed using IBM SPSS Statistics (v.30.0.0.0). Descriptive data are presented as means with standard deviations or as frequencies and percentages. Group comparisons used the Chi-squared or Fisher's exact test for categorical variables, and the Student's *t*-test or the Mann–Whitney U test for continuous variables, depending on the distribution. For ordinal outcomes, linear-by-linear association tests assessed the trends. Associations with POPF were evaluated using the univariate odds ratios (OR) with 95% confidence intervals. A multivariable analysis was performed to identify independent risk factors for postoperative pancreatic fistula (POPF). P-values in the multivariable

logistic regression were calculated using the likelihood ratio test, while confidence intervals were estimated using the Wald method. Overall survival was analyzed with Kaplan–Meier curves and log-rank tests. Surgical techniques were not considered under analysis in this study.

To evaluate the impact of bacterial colonization (positive bile culture) and the stage of pancreatic cancer on OS, a survival analysis was performed using the Cox proportional hazards regression model. Nodal status (N stage) was used as a surrogate marker of cancer advancement. For the purpose of this analysis, patients were categorized into two prognostic groups based on the extent of lymph node involvement: those with N0 were classified as having low-stage cancer, while those with N1 or higher were considered to have high-stage cancer. This binary classification was applied to enable an efficient stratification of outcomes and an interaction analysis with bacterial colonization status. A multivariable model was constructed including both variables and an interaction term (culture × N stage) to assess whether the prognostic effect of bacterial colonization depended on cancer advancement. A *p*-value < 0.05 was considered statistically significant. The proportional hazards assumption was formally tested and met for all Cox regression models.

### 3. Results

#### 3.1. Baseline Characteristics of the Study Population

Characteristics of the study cohort, which comprised 138 patients who underwent a pancreatoduodenectomy, are presented in Table 1. Most patients were classified as ASA physical status II, reflecting moderate systemic comorbidity.

**Table 1.** Characteristics of the study population, incidence of bile colonization, and postoperative pancreatic fistula (POPF).

Variable	Mean ± SD/Total (n = 138) (%)	Range or Categories
Age (years)	66.3 ± 9.8	37–89
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	25.2 ± 4.6	16.4–42.2
Male sex	72 (52.2%)	Male/Female
Preoperative diabetes mellitus	34 (24.6%)	
American Society of Anesthesiologists (ASA) classification:		
I	18 (13.1%)	
II	87 (63.0%)	
III	33 (23.9%)	
Preoperative Endoscopic Retrograde Cholangiopancreatography (ERCP)	101 (73.2%)	
Positive bile culture (Bacteriobilia)	106 (76.8%)	
Positive bile culture in patients after preoperative ERCP	94 (93.1% <sup>a</sup> )	
Bacteria with resistance mechanisms (BRM)	17 (12.3%)	
POPF clinically relevant:	24 (17.4%)	
POPF grade B	16 (11.6%)	
POPF grade C	8 (5.8%)	

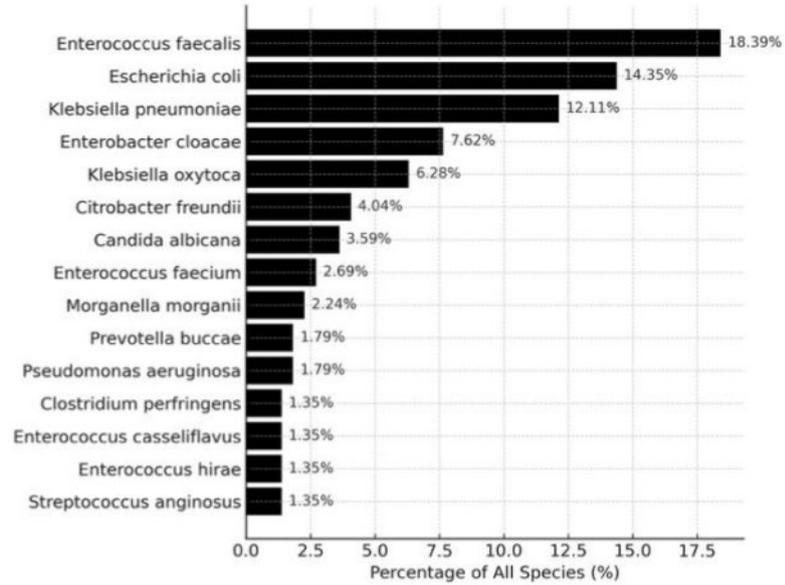
<sup>a</sup> Percentage of all patients after ERCP (n = 101).

#### 3.2. Bile Colonization and Postoperative Pancreatic Fistula

Positive bile cultures were found in 76.8% of the patients, with BRM isolated in 12.3% of the cases. Clinically relevant POPF were identified in 24 patients (17.4%), including 16 grade B and 8 grade C fistulas (11.6%, and 5.8%, respectively) (Table 1).

The most frequently isolated microorganisms from the bile cultures are presented in Figure 2. Percentages indicate the proportion of each microorganism among all isolates

identified in the bile samples. Species detected in fewer than 1.0% of cultures are not displayed individually and are summarized below the figure.



Other species, that was detected in bile, in percentage less than 1.0% each: *Serratia marcescens*, *Hafnia alvei*, *Propionibacterium acnes*, *Citrobacter braakii*, *Citrobacter amalonaticus*, *Proteus mirabilis*, *Veillonella parvula*, *Raoultella ornithinolytica*, *Bacteroides* spp., *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Enterococcus gallinarum*, *Parabacteroides distasonis*, *Streptococcus gallolyticus*, *Clostridium bifermens*, *Enterococcus gilvus*, *Bacteroides thetaioamicus*, *Gemella morbillarum*, *Enterococcus avium*, *Prevotella oris*, *Bacteroides fragilis*, *Kluyvera ascorbata*, *Alcaligenes faecalis*, *Enterobacter aerogenes*, *Acinetobacter baumannii*, *Enterobacter kobei*, *Finegoldia magna*, *Prevotella denticola*, *Enterobacter asburiae*, *Klebsiella variicola*, *Proteus hauserii*, *Aeromonas caviae*, *Candida glabrata*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei*, *Streptococcus mitis*

Figure 2. Microbiological spectrum of bile cultures in the study cohort.

Bacterial colonization of bile was polyetiologic (223 bacterial isolates consisting of 53 different bacterial species), with a mean of three different microbial species isolated per sample.

In 17 bile samples, bacteria with resistance mechanisms (BRM) were identified, representing 16.04% of all patients with positive bile cultures (17 patients with BRM in 106 of all bile positive patients). A total of 23 BRM isolates were cultured from these patients, with some individuals harboring two different BRM species. The most frequent resistance mechanism was extended-spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL) production, detected in 17 of 23 isolates (73.9%), vancomycin-resistant enterococcus (VRE) accounted for 13.0% of the isolates, while NDM-producing strains were identified in three patients (Table 2).

Table 2. Characteristics of bacteria with resistance mechanisms.

Bacterial Species	Resistance Mechanism	Total (n = 23) (%)
<i>Enterococcus casseliflavus</i>	VRE	2 (8.7%)
<i>Enterococcus gallinarum</i>	VRE	1 (4.3%)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ESBL + NDM	3 (13.0%)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ESBL	7 (30.4%)
<i>Klebsiella oxytoca</i>	ESBL	1 (4.3%)
<i>Escherichia coli</i>	ESBL	7 (30.4%)
<i>Enterobacter aerogenes</i>	ESBL	1 (4.3%)
<i>Enterobacter cloacae</i>	ESBL	1 (4.3%)

VRE—vancomycin-resistant enterococcus; ESBL—extended-spectrum beta-lactamases; NDM—New Delhi metallo- $\beta$ -lactamase.

### 3.3. Association Between Bile Bacterial Colonization and Postoperative Pancreatic Fistula

Bacteriobilia showed a higher rate of POPF grade B (14.2% vs. 3.1%), with a large effect size, although the estimate was imprecise (OR 5.11,  $p = 0.088$ ). Grade C fistulas developed in 4.7% vs. 9.4% of patients, with no significant relationship to bile contamination ( $p = 0.323$ ). In the analyzed cohort, the presence of BRM was not associated with the occurrence of POPF grade B. For POPF grade C, patients colonized with BRM had a higher, statistically significant risk (OR = 4.97,  $p = 0.026$ ) (Table 3).

**Table 3.** Association between bile colonization and the occurrence of different types of postoperative pancreatic fistula (POPF).

POPF Grade B		
Bacteria status:	OR with 95% CI	<i>p</i> -value
negative	1.00	
positive	5.11 (0.65–40.30)	0.088
Bacteria resistance:		
no BRM	1.00	
BRM	1.02 (0.21–4.93)	0.981
POPF Grade C		
Bacteria status:	OR with 95% CI	<i>p</i> -value
negative	1.00	
positive	0.48 (0.11–2.12)	0.323
Bacteria resistance:		
no BRM	1.00	
BRM	OR 4.97 (1.071–23.07)	0.026 *

\* indicates statistical significance.

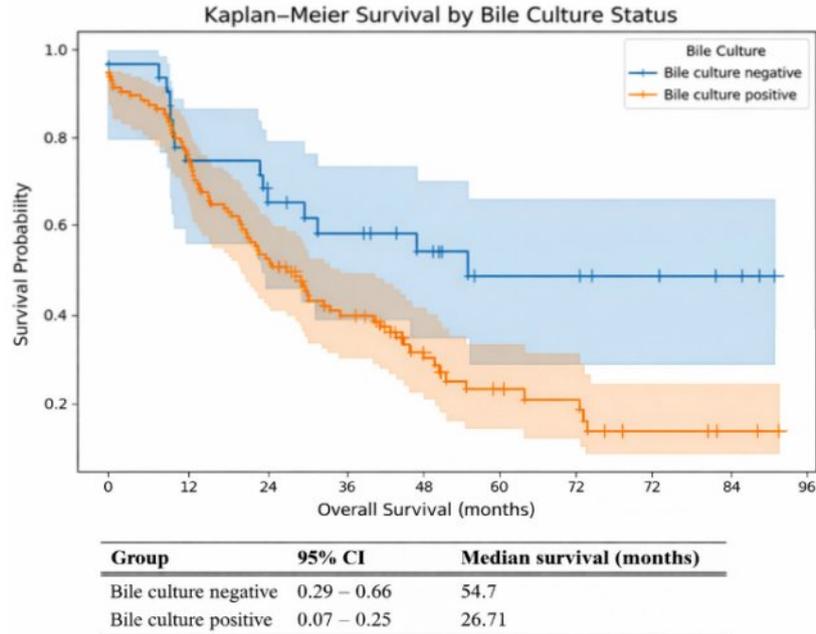
Multivariable logistic regression was performed to assess whether positive microbiological culture in bile (bacteriobilia) and BRM are independent risk factors for occurrence of POPF. Models were adjusted for age, sex (male), BMI, ASA physical status, and pancreatic duct anastomosis technique (duct to mucosa vs. invagination). Three endpoints were analyzed: POPF grade B, POPF grade C, and clinically relevant POPF (grade B + grade C). After adjustment for patient-related factors and anastomotic technique, bacteriobilia was independently associated with the clinically relevant POPF (grades B/C) and POPF grade B (OR 5.50,  $p = 0.034$  and OR 8.04;  $p = 0.048$ , respectively), whereas BRM were significant independent predictors of POPF grade C (OR 6.17,  $p = 0.047$ ) (Table 4). However, the confidence interval remained wide, reflecting limited precision due to the low number of events. There were no statistically significant results for other confounders (age, sex, BMI, ASA, anastomosis technique).

### 3.4. Bile Colonization and Overall Survival After a PD

Patients with positive bile cultures (orange line) had a significantly reduced overall survival (OS) compared to those with negative cultures (blue line) (log-rank test,  $p = 0.009$ ). Median survival was markedly shorter in the bile-positive group (26.7 months, and 54.7 months, respectively), indicating a negative impact of biliary contamination on long-term outcomes (Figure 3).

The results of the multivariable Cox proportional hazards regression model are highly significant (Chi-square = 17.653,  $p < 0.001$ ). Both positive bacterial culture and cancer disease staging were found to be statistically significant predictors of reduced OS (HR = 1.95,  $p = 0.019$ , and HR = 2.29,  $p < 0.001$ , respectively). Importantly, the interaction term between culture status and staging (positive culture  $\times$  staging) was not statistically significant

(HR = 0.60,  $p = 0.463$ ), indicating that the prognostic effect of bacterial colonization does not differ depending on the pancreatic cancer stage (Table 5).



**Figure 3.** Kaplan–Meier overall survival curves stratified by intraoperative bile culture status. Shaded areas indicate 95% confidence intervals, and tick marks represent censored observations. Median overall survival values are provided below the figure.

**Table 4.** Multivariable logistic regression analysis of microbiological risk factors for POPF, adjusted for age, sex, BMI, ASA physical status, and type of pancreatic duct anastomosis technique. The table presents OR, 95% confidence intervals (95% CI), and  $p$ -value.

	POPF Grade B	POPF Grade C	POPF Clinically Relevant
Bacteriobilia	OR 8.04 (0.98–66.18); $p = 0.048$ *	OR 1.61 (0.16–16.48); $p = 0.686$	OR 5.50 (1.14–26.6); $p = 0.034$ *
BRM	OR 0.63 (0.12–3.33); $p = 0.590$	OR 6.17 (1.02–45.61); $p = 0.047$ *	OR 1.66 (0.45–6.02); $p = 0.444$
Age	OR 0.997 (0.95–1.05); $p = 0.942$	OR 0.95 (0.87–1.05); $p = 0.316$	OR 0.985 (0.94–1.04); $p = 0.558$
Sex (male)	OR 1.58 (0.53–4.71); $p = 0.417$	OR 1.67 (0.29–10.02); $p = 0.560$	OR 1.72 (0.65–4.56); $p = 0.278$
BMI	OR 1.05 (0.94–1.17); $p = 0.378$	OR 1.05 (0.90–1.23); $p = 0.525$	OR 1.06 (0.96–1.17); $p = 0.257$
ASA	OR 0.39 (0.11–1.41); $p = 0.151$	OR 0.55 (0.09–3.32); $p = 0.515$	OR 0.37 (0.12–1.15); $p = 0.087$
Pancreatic anastomosis technique (duct to mucosa)	OR 0.94 (0.25–3.46); $p = 0.921$	OR 0.59 (0.12–3.07); $p = 0.533$	OR 0.75 (0.25–2.29); $p = 0.619$

\* indicates statistical significance.

**Table 5.** Summary of Cox regression results including interaction term.

Variable	HR (95% CI)	$p$ -Value
Positive culture	1.95 (1.12–3.41)	0.019 *
Staging	2.29 (1.40–3.75)	0.001 *
Positive culture × Staging (interaction)	0.60 (0.15–2.37)	0.463

Chi-square = 17.653,  $p < 0.001$ , \* indicates statistical significance.

#### 4. Discussion

Despite many advances in pancreatic surgery, there remains a lack of an effective strategy to reliably reduce or prevent POPF after a PD. Accurate risk prediction is essential not only for perioperative planning but for individualized patient consent. Although several risk scores have been developed—incorporating factors such as pancreatic duct diameter, gland texture, bilirubin levels, BMI, tumor type, and sex—none have achieved universal validation or consistently high predictive values [21–23]. The findings of our study support the hypothesis that bacterial colonization of bile may be associated with the development of POPF and a shortened OS after a PD.

Our findings revealed a borderline statistical association between bacteriobilia and the development of POPF grade B, with a substantial effect size observed in a univariate analysis (OR 5.11,  $p = 0.088$ ). A subsequent multivariate analysis confirmed that bacteriobilia is a significant risk factor for both POPF grade B and clinically relevant POPF (OR 8.04,  $p = 0.048$ , and OR 5.50,  $p = 0.034$ , respectively). Notably, our observations are consistent with previous studies that have reported similar, significant associations [13,14,24].

A meta-analysis of eight studies conducted by Filson et al. did not find a statistically significant association between positive bile cultures and the development of POPF [25]. The Filson study included highly heterogeneous patient populations, frequently combining different tumor types and surgical indications, which may have masked associations detectable in more well-defined cohorts. By contrast, our study focused exclusively on a homogenous group of patients undergoing a PD for PDAC, thereby minimizing selection bias and allowing for a more focused assessment of microbial influence. Moreover, the meta-analysis combined all POPF events into a single outcome without distinguishing the fistula grade, potentially attenuating the observed effect of microbiological factors. Although individual studies within the analysis, including those by Ohgi et al. and Pretzsch et al., identified associations between specific pathogens and clinically relevant POPF, these associations may have been obscured by aggregation across heterogeneous study populations [13,14].

Similarly, in our study, BRM in bile were associated with higher rates of POPF grade C in both the univariable (OR 4.97;  $p = 0.026$ ) and the multivariable analyses (OR 6.17;  $p = 0.047$ ), supporting the hypothesis that a presence of BRM in bile may impair anastomotic healing and promote the progression to severe pancreatic fistula.

Our Kaplan–Meier survival analysis revealed a significantly shorter OS in patients with positive intraoperative bile cultures compared to those without (log-rank  $p = 0.009$ ). Notably, the median OS was nearly twice shorter in the bile-positive group (26.7 months vs. 54.7 months), suggesting that biliary colonization may unfavorably affect long-term outcomes. A multivariable Cox regression analysis was conducted to determine whether a positive bile culture serves as an independent predictor of OS. The results demonstrated that both bacterial bile colonization and cancer advancement were independently associated with reduced survival. Notably, the interaction between culture status and cancer stage was not statistically significant ( $p = 0.463$ ), indicating that the effect of bacterial colonization on survival did not vary according to disease stage.

Our findings are concordant with both preclinical and clinical data demonstrating that bacterial contamination alters the antitumor activity of bile; sterile bile reduced pancreatic cancer cell viability in both in vitro and in vivo models, whereas contaminated bile exhibited attenuated or even opposing effects [26–28]. A recent study by Jiang et al. demonstrated that alterations in bile microbial composition significantly correlated with progression-free survival in pancreatic cancer patients [29]. Hence, the microbiome may contribute to chemotherapy resistance through several pathways. Certain bacterial species are capable of enzymatically converting prodrugs into their active metabolites or, con-

versely, inactivating chemotherapeutic agents, thereby diminishing their cytotoxic effects on cancer cells. Additionally, microbiota can significantly influence the pharmacokinetics and pharmacodynamics of anticancer drugs by modulating their metabolism, bioavailability, and elimination [28,30–32].

Geller et al. demonstrated in a murine model that microbiota contributes to chemoresistance by administering gemcitabine with or without ciprofloxacin [31]. Antibiotic-treated mice showed effective bacterial depletion and a significantly enhanced antitumor response, while the controls exhibited rapid tumor progression ( $p < 0.001$ ) [31]. Subsequent studies have corroborated these observations, demonstrating that the microbiome may also influence the therapeutic efficacy of other chemotherapeutic agents, including oxaliplatin and paclitaxel [30]. As shown in Figure 2, bile cultures revealed a broad bacterial spectrum, predominantly *Enterobacterales* and *Enterococcus* spp., with 16.04% of colonized patients harboring at least one BRM. The microbiota profile—dominated by *Enterococcus faecalis* (18.39%), *Escherichia coli* (14.35%), and *Klebsiella pneumoniae* (12.11%)—was consistent with previous studies [12,14,24,25,33,34]. These pathogens have been associated with both severe postoperative complications and diminished oncological outcomes. Notably, *Klebsiella pneumoniae* has been linked to reduced gemcitabine efficacy [28], while *Enterococcus faecalis* has been implicated in higher perioperative mortality [35]. Our findings align with those of Hoffmann et al., who reported that similar biliary pathogens were significant risk factors for clinically relevant POPF, further supporting their potential role in adverse postoperative outcomes [36].

This high prevalence of bacteria in bile, particularly BRM, suggests a need to reevaluate standard perioperative antibiotic strategies. In selected high-risk patients—particularly those with positive intraoperative bile cultures or clinical predictors of bacterial biliary colonization—early and broader-spectrum antimicrobial prophylaxis or even perioperative antibiotic treatment may be warranted. Our study, along with prior reports, observed an association between preoperative ERCP and bacteriobilia, with bile colonization frequently identified in patients undergoing ERCP, and those patients might be good candidates for different antibiotic administration before a PD [12,24,33,34]. However, the indications for ECPW (cholangitis/elevated bilirubin levels) and their association with possible bile contamination were not analyzed in this study. This issue is the subject of ongoing research, which is being prepared for publication.

Our findings suggest that bile colonization could contribute to anastomotic complications and shorten the long term survival. Therefore, in line with the recommendations of Krüger et al. and Stein-Thoeringer et al. [33,35], we suggest that alternative perioperative antibiotic prophylaxis regimens—such as piperacillin–tazobactam or, as indicated by recently published data, amoxicillin–clavulanate combined with gentamicin [37]—may represent a rational and clinically relevant strategy and should be considered in patients undergoing a pancreatoduodenectomy.

This study has several important limitations that should be acknowledged. First, its retrospective design and single-center setting limit the ability to draw causal inferences, particularly with respect to survival outcomes. As such, the findings should be interpreted as hypothesis-generating rather than definitive evidence of causality. In addition, the impact of adjuvant chemotherapy on survival was not analyzed in the present study. All patients were managed according to an intention-to-treat strategy, and postoperative antibiotic therapy was initiated or adjusted based on clinical status and microbiological findings, particularly in cases of suspected infection or sepsis. However, data regarding the timing, type, and completion of adjuvant chemotherapy were not uniformly available and could not be reliably assessed.

Finally, the limited number of events for some outcomes may have reduced the precision of the effect estimates, as reflected by wide confidence intervals in selected analyses. Despite these limitations, the findings offer clinically relevant insights and help define the priorities for future prospective and interventional studies.

## 5. Conclusions

Our findings indicate that bacterial colonization of bile may contribute to early post-operative complications, including POPF, and that bacteriobilia may serve as a potential prognostic factor for shortened survival following a PD. The presented results support a consideration of microbiota-guided perioperative approaches, including preoperative biliary decontamination as a potential strategy to improve short- and long-term outcomes in patients undergoing pancreatic resection. Further prospective studies in larger cohorts are required to validate these associations and to clarify whether modulation of the biliary microbiome has a role as an adjunct in the surgical management of pancreatic cancer.

**Author Contributions:** Conceptualization, N.O., T.G., and P.P.; methodology, N.O., T.G., and P.P.; software, N.O. and A.M.; validation, N.O., T.G., P.P., E.P., and M.S.; formal analysis, N.O. and A.M.; investigation, N.O., T.G., and K.Ś.; resources, N.O. and M.S.; data curation, N.O., A.M., and K.Ś.; writing—original draft preparation, N.O.; writing—review and editing, N.O., T.G., P.P., E.P., and M.S.; visualization, N.O., K.Ś., and A.M.; supervision, N.O., T.G., M.S., and E.P.; project administration, N.O.; funding acquisition, N.O. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

**Funding:** This research received no external funding.

**Institutional Review Board Statement:** This study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki, and approved by the Ethics Committee of Medical University of Warsaw (protocol code AKBE/268/2024; 14 October 2024).

**Informed Consent Statement:** Patient consent was waived due to the retrospective nature of the analysis of existing data. However, all patients had provided written informed consent for hospitalization, treatment, and data collection.

**Data Availability Statement:** Data are available upon request.

**Acknowledgments:** We sincerely thank the Department of Epidemiology and Biostatistics of the Medical University of Warsaw for great support with statistical analysis.

**Conflicts of Interest:** The authors declare no conflicts of interest.

## Abbreviations

The following abbreviations are used in this manuscript:

AMR	Antimicrobial Resistance
BRM	Bacteria with Resistance Mechanisms
ERCP	Endoscopic Retrograde Cholangiopancreatography
PBD	Preoperative Biliary Drainage
PC	Pancreatic Cancer
PD	Pancreatoduodenectomy
PDAC	Pancreatic Ductal Adenocarcinoma
POPF	Postoperative Pancreatic Fistula

## References

1. Luo, W.; Wang, J.; Chen, H.; Ye, L.; Qiu, J.; Liu, Y.; Wang, R.; Weng, G.; Liu, T.; Su, D.; et al. Epidemiology of pancreatic cancer: New version, new vision. *Chin. J. Cancer Res.* **2023**, *35*, 438–450. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

2. Rawla, P.; Sunkara, T.; Gaduputi, V. Epidemiology of Pancreatic Cancer: Global Trends, Etiology and Risk Factors. *World J. Oncol.* **2019**, *10*, 10–27. [[CrossRef](#)]
3. Reyna-Sepúlveda, F.; Muñoz-Maldonado, G.; Pérez-Rodríguez, E.; Hernández-Trejo, F.; Guevara-Charles, A.; Hernández-Guedea, M. Prognostic factors for survival and surgical complications in Whipple's pancreatoduodenectomy during a 10-year experience. *Cir. Cir.* **2019**, *87*, 205–210. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
4. Russell, T.B.; Labib, P.L.; Denson, J.; Streeter, A.; Ausania, F.; Pando, E.; Roberts, K.J.; Kausar, A.; Mavroeidis, V.K.; Marangoni, G.; et al. Postoperative complications after pancreatoduodenectomy for malignancy: Results from the Recurrence After Whipple's (RAW) study. *BJS Open* **2023**, *7*, zrad106. [[CrossRef](#)]
5. Simon, R. Complications After Pancreaticoduodenectomy. *Surg. Clin. N. Am.* **2021**, *101*, 865–874. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
6. Russell, T.B.; Aroori, S. Procedure-specific morbidity of pancreatoduodenectomy: A systematic review of incidence and risk factors. *ANZ J. Surg.* **2022**, *92*, 1347–1355. [[CrossRef](#)]
7. Pedrazzoli, S. Pancreatoduodenectomy (PD) and postoperative pancreatic fistula (POPF): A systematic review and analysis of the POPF-related mortality rate in 60,739 patients retrieved from the English literature published between 1990 and 2015. *Medicine* **2017**, *96*, e6858. [[CrossRef](#)]
8. Russell, T.B.; Labib, P.L.; Ausania, F.; Pando, E.; Roberts, K.J.; Kausar, A.; Mavroeidis, V.K.; Marangoni, G.; Thomasset, S.C.; Frampton, A.E.; et al. Serious complications of pancreatoduodenectomy correlate with lower rates of adjuvant chemotherapy: Results from the recurrence after Whipple's (RAW) study. *Eur. J. Surg. Oncol.* **2023**, *49*, 106919. [[CrossRef](#)]
9. Mackay, T.M.; Smits, F.J.; Roos, D.; Bonsing, B.A.; Bosscha, K.; Busch, O.R.; Creemers, G.J.; van Dam, R.M.; van Eijck, C.H.; Gerhards, M.F.; et al. The risk of not receiving adjuvant chemotherapy after resection of pancreatic ductal adenocarcinoma: A nationwide analysis. *HPB* **2020**, *22*, 233–240. [[CrossRef](#)]
10. Karki, S.; Kandel, B.; Sharma, D.; Koirala, N.; Lakhey, P.J. Relevance of the International Study Group of Pancreatic Surgery and the Dutch Pancreatic Cancer Group Classifications of Pancreas-Specific Risk Factors in Predicting Clinically Relevant Postoperative Pancreatic Fistula in the Whipple Procedure. *Cureus* **2025**, *17*, e84051. [[CrossRef](#)]
11. Hu, B.Y.; Wan, T.; Zhang, W.Z.; Dong, J.H. Risk factors for postoperative pancreatic fistula: Analysis of 539 successive cases of pancreaticoduodenectomy. *World J. Gastroenterol.* **2016**, *22*, 7797–7805. [[CrossRef](#)]
12. Müsle, B.; Hempel, S.; Kahlert, C.; Distler, M.; Weitz, J.; Welsch, T. Prognostic Impact of Bacterobilia on Morbidity and Postoperative Management After Pancreatoduodenectomy: A Systematic Review and Meta-analysis. *World J. Surg.* **2018**, *42*, 2951–2962. [[CrossRef](#)]
13. Ohgi, K.; Sugiura, T.; Yamamoto, Y.; Okamura, Y.; Ito, T.; Uesaka, K. Bacterobilia may trigger the development and severity of pancreatic fistula after pancreatoduodenectomy. *Surgery* **2016**, *160*, 725–730. [[CrossRef](#)]
14. Pretzsch, E.; Heim, A.; Heiliger, C.; Pretzsch, C.M.; Ilmer, M.; Weniger, M.; Renz, B.; Guba, M.; Angele, M.K.; D'Haese, J.G.; et al. Specific intraoperative antibiotic therapy abrogates the negative effect of biliary contamination on the Comprehensive Complication Index after pancreatic head resection. *Surgery* **2022**, *171*, 1642–1651. [[CrossRef](#)]
15. Panni, R.Z.; Panni, U.Y.; Liu, J.; Williams, G.A.; Fields, R.C.; Sanford, D.E.; Hawkins, W.G.; Hammill, C.W. Re-defining a high volume center for pancreaticoduodenectomy. *HPB* **2021**, *23*, 733–738. [[CrossRef](#)]
16. Hackert, T.; Strobel, O.; Michalski, C.W.; Mihaljevic, A.L.; Mehrabi, A.; Müller-Stich, B.; Berchtold, C.; Ulrich, A.; Büchler, M.W. The TRIANGLE operation—Radical surgery after neoadjuvant treatment for advanced pancreatic cancer: A single arm observational study. *HPB* **2017**, *19*, 1001–1007. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
17. Schneider, M.; Strobel, O.; Hackert, T.; Büchler, M.W. Pancreatic resection for cancer—the Heidelberg technique. *Langenbecks Arch. Surg.* **2019**, *404*, 1017–1022. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
18. Schneider, M.; Hackert, T.; Strobel, O.; Büchler, M.W. Technical advances in surgery for pancreatic cancer. *Br. J. Surg.* **2021**, *108*, 777–785. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
19. Isaji, S.; Mizuno, S.; Windsor, J.A.; Bassi, C.; Fernández-del Castillo, C.; Hackert, T.; Hayasaki, A.; Katz, M.H.; Kim, S.W.; Kishiwada, M.; et al. International consensus on definition and criteria of borderline resectable pancreatic ductal adenocarcinoma 2017. *Pancreatology* **2018**, *18*, 2–11. [[CrossRef](#)]
20. Bassi, C.; Marchegiani, G.; Dervenis, C.; Sarr, M.; Hilal, M.A.; Adham, M.; Allen, P.; Andersson, R.; Asbun, H.J.; Besselink, M.G.; et al. The 2016 update of the International Study Group (ISGPS) definition and grading of postoperative pancreatic fistula: 11 Years After. *Surgery* **2017**, *161*, 584–591. [[CrossRef](#)]
21. Pande, R.; Halle-Smith, J.M.; Phelan, L.; Thorne, T.; Panikkar, M.; Hodson, J.; Roberts, K.J.; Arshad, A.; Connor, S.; Conlon, K.C.; et al. External validation of postoperative pancreatic fistula prediction scores in pancreatoduodenectomy: A systematic review and meta-analysis. *HPB* **2022**, *24*, 287–298. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
22. Kamarajah, S.K.; Bundred, J.R.; Lin, A.; Halle-Smith, J.; Pande, R.; Sutcliffe, R.; Harrison, E.M.; Roberts, K.J. PARANOIA Study Group. Systematic review and meta-analysis of factors associated with post-operative pancreatic fistula following pancreatoduodenectomy. *ANZ J. Surg.* **2021**, *91*, 810–821. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

23. Schuh, F.; Mihaljevic, A.L.; Probst, P.; Trudeau, M.T.; Müller, P.C.; Marchegiani, G.; Besselink, M.G.; Uzunoglu, F.; Izbicki, J.R.; Falconi, M.; et al. A Simple Classification of Pancreatic Duct Size and Texture Predicts Postoperative Pancreatic Fistula: A classification of the International Study Group of Pancreatic Surgery. *Ann. Surg.* **2023**, *277*, e597–e608. [[CrossRef](#)]
24. Okano, K.; Suzuki, Y. Influence of bile contamination for patients who undergo pancreaticoduodenectomy after biliary drainage. *World J. Gastroenterol.* **2019**, *25*, 6847–6856. [[CrossRef](#)]
25. Filson, A.; Gaskins, J.T.; Martin, R.C.G. A meta-analysis and systematic review of intraoperative bile cultures association with postoperative complications in pancreaticoduodenectomy. *Surgery* **2023**, *173*, 1231–1239. [[CrossRef](#)]
26. Shrader, H.R.; Miller, A.M.; Tomanek-Chalkley, A.; McCarthy, A.; Coleman, K.L.; Ear, P.H.; Mangalam, A.K.; Salem, A.K.; Chan, C.H. Effect of bacterial contamination in bile on pancreatic cancer cell survival. *Surgery* **2021**, *169*, 617–622. [[CrossRef](#)]
27. Sethi, V.; Kurtom, S.; Tarique, M.; Lavania, S.; Malchiodi, Z.; Hellmund, L.; Zhang, L.; Sharma, U.; Giri, B.; Garg, B.; et al. Gut Microbiota Promotes Tumor Growth in Mice by Modulating Immune Response. *Gastroenterology* **2018**, *155*, 33–37.e6. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
28. Weniger, M.; Hank, T.; Qadan, M.; Ciprani, D.; Michelakos, T.; Niess, H.; Heiliger, C.; Ilmer, M.; D’Haese, J.G.; Ferrone, C.R.; et al. Influence of *Klebsiella pneumoniae* and quinolone treatment on prognosis in patients with pancreatic cancer. *Br. J. Surg.* **2021**, *108*, 709–716. [[CrossRef](#)]
29. Jiang, H.; Tian, Y.; Xu, L.; Chen, X.; Huang, Y.; Wu, J.; Wang, T.; Liu, T.; Wu, X.; Ye, C.; et al. Alterations of the bile microbiome is associated with progression-free survival in pancreatic ductal adenocarcinoma patients. *BMC Microbiol.* **2024**, *24*, 235. [[CrossRef](#)]
30. de Castilhos, J.; Tillmanns, K.; Blessing, J.; Laraño, A.; Borisov, V.; Stein-Thoeringer, C.K. Microbiome and pancreatic cancer: Time to think about chemotherapy. *Gut Microbes* **2024**, *16*, 2374596. [[CrossRef](#)]
31. Geller, L.T.; Barzily-Rokni, M.; Danino, T.; Jonas, O.H.; Shental, N.; Nejman, D.; Gavert, N.; Zwang, Y.; Cooper, Z.A.; Shee, K.; et al. Potential role of intratumor bacteria in mediating tumor resistance to the chemotherapeutic drug gemcitabine. *Science* **2017**, *357*, 1156–1160. [[CrossRef](#)]
32. Pushalkar, S.; Hundeyin, M.; Daley, D.; Zambirinis, C.P.; Kurz, E.; Mishra, A.; Mohan, N.; Aykut, B.; Usyk, M.; Torres, L.E.; et al. The Pancreatic Cancer Microbiome Promotes Oncogenesis by Induction of Innate and Adaptive Immune Suppression. *Cancer Discov.* **2018**, *8*, 403–416. [[CrossRef](#)]
33. Krüger, C.M.; Adam, U.; Adam, T.; Kramer, A.; Heidecke, C.D.; Makowiec, F.; Riediger, H. Bacterobilia in pancreatic surgery—conclusions for perioperative antibiotic prophylaxis. *World J. Gastroenterol.* **2019**, *25*, 6238–6247. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
34. Sourrouille, I.; Gaujoux, S.; Lacave, G.; Bert, F.; Dokmak, S.; Belghiti, J.; Paugam-Burtz, C.; Sauvanet, A. Five days of postoperative antimicrobial therapy decreases infectious complications following pancreaticoduodenectomy in patients at risk for bile contamination. *HPB* **2013**, *15*, 473–480. [[CrossRef](#)]
35. Stein-Thoeringer, C.K.; Renz, B.W.; De Castilhos, J.; von Ehrlich-Treuenstätt, V.; Wirth, U.; Tschaidse, T.; Hofmann, F.O.; Koch, D.T.; Beirith, I.; Ormanns, S.; et al. Microbiome Dysbiosis With Enterococcus Presence in the Upper Gastrointestinal Tract Is a Risk Factor for Mortality in Patients Undergoing Surgery for Pancreatic Cancer. *Ann. Surg.* **2025**, *281*, 615–623. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
36. Hoffmann, M.; Anthuber, L.; Anthuber, M.; Pinto, D.; Schrempf, M. Positive Intraoperative Bile Culture and Antibiotic Resistance Increase the Risk of Pancreatic Fistula in Patients After Pancreatoduodenectomy. *J. Clin. Med.* **2025**, *14*, 455. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
37. Olszewska, N.; Guzel, T.; Milner, A.; Paluszkiwicz, P.; Podsiadly, E.; Ślodkański, M. Should Preoperative Biliary Decontamination Be Considered to Minimize Morbidity and Mortality Following Pancreatoduodenectomy? *Antibiotics* **2026**, *15*, 134. [[CrossRef](#)]

**Disclaimer/Publisher’s Note:** The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

Article

# Should Preoperative Biliary Decontamination Be Considered to Minimize Morbidity and Mortality Following Pancreatoduodenectomy?

Natalia Olszewska <sup>1</sup>, Tomasz Guzel <sup>1,\*</sup>, Agnieszka Milner <sup>2</sup>, Piotr Paluszkiwicz <sup>1</sup>, Edyta Podsiadły <sup>3</sup> and Maciej Słodkowski <sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup> Department of General Gastroenterological and Oncological Surgery, Medical University of Warsaw, 02-097 Warsaw, Poland; nattia.olszewska@gmail.com (N.O.); piotr\_paluszkiwicz@o2.pl (P.P.)

<sup>2</sup> Microbiological Laboratory, University Center for Laboratory Medicine, Medical University of Warsaw, 02-097 Warsaw, Poland; agnieszka.milner@uckwum.pl

<sup>3</sup> Department of Dental Microbiology, Medical University of Warsaw, 02-097 Warsaw, Poland; edyta.podsiadly@uckwum.pl

\* Correspondence: tomasz.guzel@wum.edu.pl (T.G.); maciej.slodkowski@wum.edu.pl (M.S.); Tel.: +48-506-168-239 (T.G.); +48-601-286-211 (M.S.)

## Abstract

**Background:** Pancreatoduodenectomy (PD) remains the fundamental treatment for periampullary malignancies but is associated with considerable morbidity (20–50%) and mortality (2–7%). Bacteriobilia contributes to unfavourable postoperative outcomes. Current antibiotic prophylaxis recommendations endorse first-generation cephalosporins, which often fail to adequately target pathogens most frequently isolated from bile. To date, no specific guidelines for preoperative targeted antibiotic therapy have been established, although tailoring such strategies to the bile microbiome may improve surgical outcomes. This study aimed to characterize bile microbiology in patients undergoing PD for pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC), evaluating potential antibiotherapy regimens that provide effective coverage against the most frequently isolated pathogens. **Methods:** A retrospective cohort analysis of 725 patients surgically treated for pancreatic tumours at a high-volume pancreatic surgery center between 2017 and 2022 was performed. To minimize heterogeneity, study was restricted to 138 patients who underwent PD with histopathological confirmed PDAC. Intraoperative bile cultures were assessed. **Results:** Patients with bacteriobilia likewise experienced worse outcomes: higher 5-year mortality (OR 3.01,  $p = 0.007$ ), greater overall postoperative pancreatic fistula (POPF) occurrence (OR 2.54,  $p = 0.044$ ) and wound infections (OR 2.90,  $p = 0.038$ ). Among bile microbiome the highest susceptibility rates were observed for combination of amoxicillin/clavulanic acid with gentamicin, while the lowest were noted for cephalosporin–metronidazole regimen (93.6% vs. 30.2%, respectively). **Conclusions:** Bacteriobilia contributes to postoperative complications and serves as a predictor of poorer survival after PD. Standard perioperative antibiotic prophylaxis in PD is insufficient. Based on our findings, perioperative antibiotic therapy with amoxicillin/clavulanic acid and gentamicin combination appears to provide superior coverage and may improve postoperative morbidity and overall survival following PD.

**Keywords:** antibiotics; bacteriobilia; pancreatoduodenectomy; pancreatic cancer; antimicrobial stewardship; postoperative complications; postoperative pancreatic fistula



Academic Editor: Nuno Rocha-Pereira

Received: 9 December 2025

Revised: 20 January 2026

Accepted: 28 January 2026

Published: 29 January 2026

**Copyright:** © 2026 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license.

## 1. Introduction

Pancreatoduodenectomy (PD) remains one of the most technically demanding procedures in gastrointestinal surgery, requiring specialized expertise and multidisciplinary perioperative care. Despite advances in surgical technique and perioperative management, outcomes have remained poor over recent decades: perioperative mortality rates in high-volume centers are reported at 2–7%, and overall morbidity still ranges 20–50% [1–6]. Infectious complications dominate this burden. Surgical site infections (SSI) occur in up to one-third of patients, and clinically relevant postoperative pancreatic fistula (POPF) in 7–33%, with severe POPF as a leading cause of sepsis, prolonged hospitalization, and delay in adjuvant chemotherapy [3,5–10].

Most patients with periampullary malignancies present with obstructive jaundice. Preoperative biliary drainage (PBD), commonly achieved by endoscopic retrograde cholangiopancreatography (ERCP) with stent placement, is frequently required but comes at a cost: biliary colonization rates reach 90% after PBD compared with far lower rates in non-drained patients [5,7,11–13]. Typical pathogens isolated from intraoperative bile cultures include *Enterococcus* spp., *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, and *Escherichia coli*, with a substantial proportion displaying resistance to standard perioperative prophylactic regimens [3,6,14]. Colonized bile has been consistently linked to higher postoperative infectious morbidity, and emerging evidence suggests that pathogenic organisms may also worsen survival in patients with pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC) [3,5,6].

Yet, current international perioperative antibiotic prophylaxis guidelines are not tailored to the microbiological reality of PD. The World Health Organization's (WHO) recommendations for SSI prevention, as well as the American Society of Health-System Pharmacists/Infectious Diseases Society of America/Surgical Infection Society/Society for Healthcare Epidemiology of America (ASHP/IDSA/SIS/SHEA), and European societies guidelines still classify PD as "clean-contaminated" gastroduodenal surgery, recommending first-generation cephalosporins in prophylaxis, such as cefazolin [9–11]. Numerous studies demonstrate that this regimen does not match the microbiological profile of infected bile or postoperative SSI [3–5,7,14]. Hence, perioperative antibiotic treatment is not a standard procedure before PD. In an era of routine PBD and increasing antimicrobial resistance, the mismatch between recommended prophylaxis and actual pathogens is striking.

These observations underscore the need to re-evaluate antibiotic strategies in PD. Tailoring perioperative antibiotherapy to local bile microbiology may reduce postoperative infection, shorten hospital stay, and ultimately improve both short- and long-term outcomes.

The present study therefore aims to characterize the bacterial colonization patterns of bile in patients undergoing PD for PDAC at our institution and to identify antibiotic regimens that provide optimal coverage for the most frequently isolated organisms.

## 2. Material and Methods

### 2.1. Study Design and Patients Selection

A retrospective analysis was performed of 725 patients admitted for surgical treatment of pancreatic tumors at the Department of General, Gastroenterological, and Oncological Surgery between January 2017 and December 2022. The clinic is recognized as high volume pancreatic center [15]. To ensure a homogeneous and methodologically robust study population, inclusion was restricted to patients who underwent PD with a histopathological diagnosis of PDAC. Based on these criteria, 138 patients were eligible for inclusion.

## 2.2. Surgical Technique

Pancreatoduodenectomies were performed by three experienced pancreatic surgeons using the artery-first approach. Depending on tumor location and intraoperative assessment, either the classical Whipple procedure or the pylorus-preserving Traverso–Longmire technique was applied. Pancreatic reconstruction was achieved by pancreato-enteric anastomosis, using either duct-to-mucosa or invagination technique, while biliary continuity was restored with hepaticojejunostomy tailored to duct diameter and condition. Gastrointestinal continuity was re-established through gastrojejunostomy with Braun anastomosis or duodenojejunostomy, according to intraoperative findings.

Standard oncological lymphadenectomy was performed using the Heidelberg technique to ensure complete regional nodal clearance [16]. Perioperative antibiotic prophylaxis was initiated 30 min prior to skin incision and consisted of 2 g cefazolin combined with 500 mg metronidazole, with intraoperative re-dosing performed at 4 h intervals for cefazolin and 8 h intervals for metronidazole when indicated.

The study received approval from the Bioethics Committee of the Medical University of Warsaw. All procedures were conducted in accordance with the ethical standards and with the principles outlined in the Declaration of Helsinki. Each patient provided written informed consent for treatment, in accordance with institutional and ethical guidelines.

## 2.3. Microbiological Assessment

Intraoperative bile samples were collected immediately following transection of the common bile duct, using a sterile scalpel blade and swab under strictly aseptic conditions. Specimens were subsequently cultured on standard bacteriological media in accordance with laboratory protocols. Microbial identification was carried out by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight (MALDI-TOF) mass spectrometry using the Microflex LT system (Bruker, Germany) and MBT Compass IVD software (Bruker Daltonics, Bremen, Germany), following the manufacturer's instructions. Antimicrobial susceptibility testing was performed using the Kirby–Bauer disk diffusion method, with interpretation based on the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) recommendations. Bacterial strains harboring specific resistance mechanisms (BRM) were defined as drug-resistant organisms capable of surviving antimicrobial exposure through specialized enzymatic or structural adaptations. Carbapenemase production (including metallo- $\beta$ -lactamases (MBL), *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC), and OXA-48) was assessed using the double-disk synergy test with EDTA (DDST-EDTA) for MBL, the combined disk test (CDT) for KPC, and temocillin-containing disks for OXA-48 detection. In addition, Rapidec Carba NP and/or the GeneXpert real-time PCR assay (Cepheid, Sunnyvale, CA, USA) were employed for confirmation. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL) production was identified using phenotypic confirmatory testing with the double-disk synergy test (DDST). All microbiological data, including bile cultures, were retrieved from the institutional microbiology database. Due to technical limitations related to server migration and data loss, antibiogram results were unavailable for 14 patients. Consequently, the final analysis of antimicrobial resistance patterns was performed in 124 patients.

## 2.4. Statistical Analysis

All statistical analyses were conducted using Statistica 14.0.0. (TIBCO Software Inc., Palo Alto, CA, USA) and IBM SPSS Statistics version 27.0 (IBM Corp., Armonk, NY, USA). Categorical variables are expressed as frequencies and percentages. Comparisons between groups were performed using the chi-square or Fisher's exact test for categorical data. Odds ratios (ORs) with corresponding 95% confidence intervals (CIs) were calculated

to assess the strength of associations between risk factors and outcomes. A two-sided  $p$ -value  $< 0.05$  was considered statistically significant.

In this study, a retrospective analysis of bacterial susceptibility to antibiotics was performed using a custom-built database comprising three main groups of clinical isolates: Gram-positive cocci, Gram-negative rods, and anaerobic bacteria. Data were extracted from laboratory reports and manually compiled into structured Excel spreadsheets. For each bacterial strain, susceptibility to a panel of antibiotics was assessed and classified into one of the following categories: “S” (Susceptible), “SIE” (Susceptible, Increased Exposure), or “R” (Resistant). The analysis focused on calculating the proportion of susceptible isolates relative to the total number of strains evaluated for each antibiotic. Subsequently, combination therapies involving two antibiotics were virtually simulated to assess potential synergy—assuming that an isolate is treatable if it is susceptible to at least one of the agents in the pair. Top-performing combinations were selected based on the highest cumulative coverage across all isolates. All data processing, statistical summaries, and visualizations were performed using Python 3.13 (pandas was used for data processing and summarization, while matplotlib was applied to visualize antibiotic effectiveness and comparative plots) and Microsoft Excel.

### 3. Results

The distribution of postoperative complications after PD is presented in Table 1. In the subgroup analysis, prior ERCP was associated with a markedly higher risk of adverse outcomes, including increased 5-year mortality (OR 5.57, 95% CI 2.48–12.54;  $p = 0.001$ ) and a higher rate of SSI (OR 4.98, 95% CI 1.63–15.15;  $p = 0.002$ ), while correlating with a lower incidence of bile leak (OR 0.27, 95% CI 0.084–0.868;  $p = 0.021$ ). Patients with positive intraoperative bile cultures likewise experienced worse outcomes: higher 5-year mortality (OR 3.01, 95% CI 1.33–6.80;  $p = 0.007$ ), greater overall POPF and POPF grade B occurrence (OR 2.54, 95% CI 1.01–6.38;  $p = 0.044$ ; OR 5.11 (0.648–40.29),  $p = 0.046$ ), and more SSIs (OR 2.90, 95% CI 1.03–8.15;  $p = 0.038$ ), together with a lower risk of bile leak (OR 0.21, 95% CI 0.066–0.694;  $p = 0.006$ ). Isolation of bacteria with resistance mechanisms (BRM) identified a particularly high-risk subgroup, with excess in-hospital mortality (OR 4.83, 95% CI 1.55–45.84;  $p = 0.004$ ), an increased need for reoperation (OR 4.17, 95% CI 1.24–14.02;  $p = 0.014$ ), and a greater incidence of severe POPF (Grade C) (OR 4.97, 95% CI 1.07–23.07;  $p = 0.026$ ). No other comparisons in Table 1 reached statistical significance.

Subgroup analysis of microorganisms isolated from intraoperative bile samples show distinct and clinically relevant risk profiles (Table 2).

Isolation of Gram-positive cocci was associated with higher 5-year mortality (OR 2.92, 95% CI 1.396–6.10;  $p = 0.004$ ) and an increased rate of SSI (OR 2.36, 95% CI 1.109–5.038;  $p = 0.024$ ), and demonstrated a borderline association with POPF Grade B (OR 3.10, 95% CI 0.947–10.15;  $p = 0.052$ ). Presence of Gram-negative rods likewise correlated with excess 5-year mortality (OR 2.52, 95% CI 1.193–5.323;  $p = 0.014$ ) but, interestingly, with a lower risk of bile leak (OR 0.63, 95% CI 0.077–0.825;  $p = 0.016$ ). In contrast, anaerobic isolates were linked to POPF Grade B (OR 4.63, 95% CI 1.458–14.69;  $p = 0.005$ ), clinically relevant POPF (OR 2.99, 95% CI 1.050–8.523;  $p = 0.034$ ), and SSI (OR 2.69, 95% CI 1.023–7.061;  $p = 0.040$ ). No outcome reached statistical significance in the fungal subgroup. Collectively, these findings indicate that the biliary microbial signature is associated with distinct postoperative risk profiles: mortality correlates with Gram-positive and Gram-negative flora, whereas the risk of POPF and SSI increases significantly in the presence of anaerobes and Gram-positive cocci.

**Table 1.** Distribution of postoperative complications after pancreatoduodenectomy across subgroups—prior endoscopic retrograde cholangiopancreatography (ERCP), positive bile culture, and bacteria with resistance mechanisms (BRM).

Variable	Study Population n/N(%)	Prior ERCP n/N(%, OR (95% CI), <i>p</i>	Positive Bile Culture n/N(%, OR (95% CI), <i>p</i>	BRM n/N(%, OR (95% CI), <i>p</i>
Prevalence in study population	138/138 (100%)	101/138 (73.2%)	106/138 (76.8%) <sup>a</sup>	17/138 (12.3%)
Overall 5 years mortality	92/138 (66.7%)	78/101 (77.2%) <b>OR 5.57 (2.476–12.54), <i>p</i> = 0.001</b>	77/106 (72.6%) <b>OR 3.01 (1.332–6.799), <i>p</i> = 0.007</b>	14/17 (82.4%) OR 2.57 (0.700–9.452), <i>p</i> = 0.143
In-hospital mortality	6/138 (4.3%)	5/101 (5.0%) OR 1.89 (0.212–16.60), <i>p</i> = 0.566	5/106 (4.7%) OR 1.54 (0.173–13.64), <i>p</i> = 0.699	3/17 (17.6%) <b>OR 8.43 (1.550–45.84), <i>p</i> = 0.004</b>
Reoperation	16/138 (11.6%)	12/101 (11.9%) OR 1.11 (0.335–3.693), <i>p</i> = 0.862	12/106 (11.3%) OR 0.89 (0.267–2.990), <i>p</i> = 0.855	5/17 (29.4%) <b>OR 4.17 (1.238–14.02), <i>p</i> = 0.014</b>
POPF	51/138 (37%)	38/101 (37.6%) OR 1.11 (0.507–2.444), <i>p</i> = 0.788	44/106 (41.5%) <b>OR 2.54 (1.007–6.378), <i>p</i> = 0.044</b>	6/17 (35.3%) OR 0.92 (0.319–2.661), <i>p</i> = 0.879
POPF Grade B	16/138 (11.6%)	14/101 (13.9%) OR 2.82 (0.608–13.04), <i>p</i> = 0.169	15/106 (14.2%) <b>OR 5.11 (0.648–40.29), <i>p</i> = 0.046</b>	2/17 (11.8%) OR 1.02 (0.211–4.933), <i>p</i> = 0.981
POPF Grade C	8/138 (5.8%)	5/101 (5.0%) OR 0.59 (0.134–2.603), <i>p</i> = 0.482	5/106 (4.7%) OR 0.48 (0.108–2.123), <i>p</i> = 0.323	3/17 (17.6%) <b>OR 4.97 (1.071–23.07), <i>p</i> = 0.026</b>
Clinically relevant POPF	24/138 (17.4%)	20/101 (19.8%) OR 1.58 (0.546–4.570), <i>p</i> = 0.396	21/106 (19.8%) OR 1.73 (0.547–5.469), <i>p</i> = 0.347	5/17 (29.4%) OR 2.10 (0.667–6.634), <i>p</i> = 0.197
Bile leak	13/138 (9.4%)	6/101 (5.9%) <b>OR 0.27 (0.084–0.868), <i>p</i> = 0.021</b>	6/106 (5.7%) <b>OR 0.21 (0.066–0.694), <i>p</i> = 0.006</b>	2/17 (11.8%) OR 1.33 (0.269–6.606), <i>p</i> = 0.724
Bleeding	9/138 (6.5%)	6/101 (5.9%) OR 0.72 (0.170–3.022), <i>p</i> = 0.648	6/106 (5.7%) OR 0.58 (0.137–2.463), <i>p</i> = 0.456	0/17 (0.0%) OR 0.93 (0.889–0.974), <i>p</i> = 0.245
Wound infection (SSI)	42/138 (30.4%)	38/101 (37.6%) <b>OR 4.98 (1.635–15.15), <i>p</i> = 0.002</b>	37/106 (34.9%) <b>OR 2.90 (1.029–8.147), <i>p</i> = 0.038</b>	6/17 (35.3%) OR 1.29 (0.442–3.748), <i>p</i> = 0.642
Readmission	17/138 (12.3%)	12/101 (11.9%) OR 0.86 (0.282–2.641), <i>p</i> = 0.796	12/106 (11.3%) OR 0.69 (0.223–2.129), <i>p</i> = 0.516	2/17 (11.8%) OR 0.94 (0.196–4.535), <i>p</i> = 0.941
ICU admission	12/138 (8.7%)	9/101 (8.9%) OR 1.11 (0.283–4.339), <i>p</i> = 0.882	9/106 (8.5%) OR 0.90 (0.228–3.533), <i>p</i> = 0.876	3/17 (17.6%) OR 2.67 (0.645–11.03), <i>p</i> = 0.162
Wirsungostomy	4/138 (2.9%)	3/101 (3.0%) OR 1.10 (0.111–10.94), <i>p</i> = 0.934	3/106 (2.8%) OR 0.90 (0.091–8.992), <i>p</i> = 0.931	1/17 (5.9%) OR 2.46 (0.241–25.08), <i>p</i> = 0.434

<sup>a</sup> 94/101 (93.1%)—in prior ERCP group; 12/37 (32.4%)—in no prior ERCP group.

Kaplan–Meier survival analysis demonstrated consistently worse overall survival in patients with bacteriobilia compared with those without (log rank test, *p* = 0.038), and regardless of the occurrence or not of postoperative complications. In the subgroup without or with minor complications (Clavien–Dindo group 1–2), this difference did not reach statistical significance (log rank test, *p* = 0.566). However, among patients who developed severe postoperative complications (Clavien–Dindo 3–5), the presence of bacteriobilia was associated with a significantly poorer OS (log rank test, *p* = 0.007) (Figure 1).

Bile contamination was predominantly polymicrobial. Among the 124 patients analyzed, a total of 252 microbial isolates were identified, including 235 isolates of bacteria (144 Gram-negative rods, 72 Gram-positive cocci, 19 anaerobes (61.3%, 30.6%, 8.1%, respectively)), and 16 fungi. BRM was identified in 23 isolates of bacteria (9.8%) (Table 3).

The distribution of bacteria species is illustrated in Figure 2.

Bile colonized by microorganisms was subjected to antimicrobial susceptibility testing in order to characterize resistance patterns and to identify the most effective antibiotic agents providing the broadest spectrum of coverage against the isolated strains. The analysis revealed the highest susceptibility rates to piperacillin–tazobactam, followed by meropenem, gentamicin, amoxicillin–clavulanic acid, and amikacin. Conversely, cefuroxime, a second-generation cephalosporin, exhibited the lowest in vitro activity, even at elevated testing concentrations. Notably, susceptibility data for ceftazidime—a first-generation cephalosporin widely employed in perioperative prophylaxis—were unavailable, as this antibiotic is not routinely incorporated into standard susceptibility testing protocols, as it is used just for perioperative antibiotic prophylaxis to prevent surgical site infection caused by residual skin bacterial flora (Table 4).

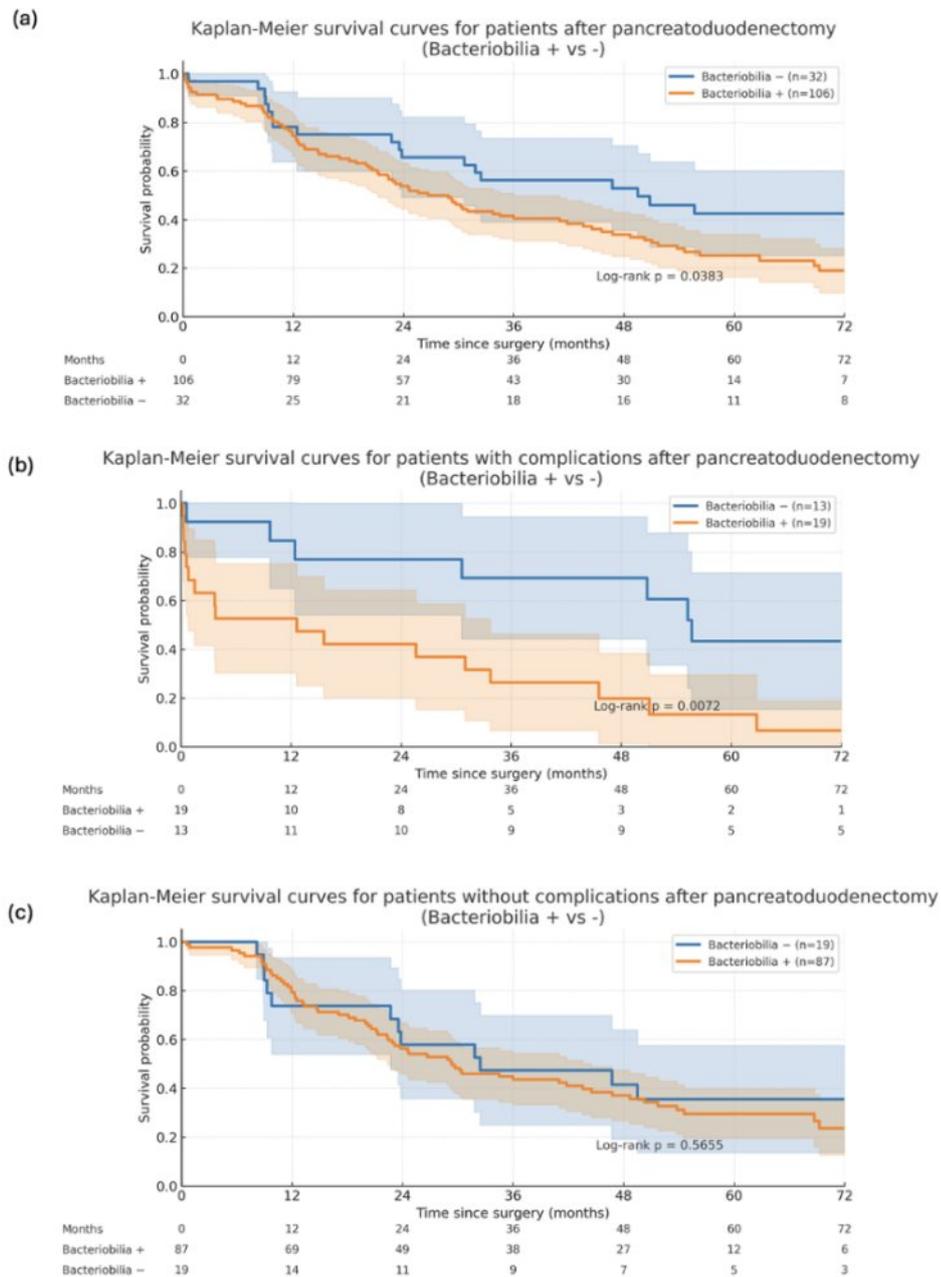
**Table 2.** Distribution of postoperative complications after pancreatoduodenectomy across subgroups of microorganisms—Gram-positive cocci, Gram-negative rods, anaerobes and fungi.

Variable	Gram-Positive Cocci n/N(%), OR (95% CI), p	Gram-Negative Rods n/N(%), OR (95% CI), p	Anaerobes n/N(%), OR (95% CI), p	Fungi n/N(%), OR (95% CI), p
Prevalence in study population	72/138 (52.2%)	94/138 (68.1%)	19/138 (13.8%)	16/138 (11.6%)
Overall 5 years mortality	56/72 (77.8%) <b>OR 2.92 (1.396–6.10), p = 0.004</b>	69/94 (73.4%) <b>OR 2.52 (1.193–5.323), p = 0.014</b>	17/19 (89.5%) OR 3.25 (0.900–11.72), p = 0.060	13/16 (81.2%) OR 2.36 (0.637–8.734), p = 0.188
In-hospital mortality	4/72 (5.6%) OR 1.88 (0.333–10.63), p = 0.467	5/94 (5.3%) OR 2.42 (0.274–21.32), p = 0.413	1/19 (5.3%) OR 1.19 (0.132–10.75), p = 0.877	0/16 (0.0%) OR 0.95 (0.913–0.990), p = 0.364
Reoperation	9/72 (12.5%) OR 1.20 (0.422–3.440), p = 0.728	10/94 (10.6%) OR 0.75 (0.255–2.225), p = 0.608	1/19 (5.3%) OR 0.36 (0.045–2.900), p = 0.319	0/16 (0.0%) OR 0.87 (0.811–0.931), p = 0.123
POPF	31/72 (43.1%) OR 1.74 (0.862–3.510), p = 0.121	37/94 (39.4%) OR 1.39 (0.652–2.967), p = 0.392	9/19 (47.4%) OR 1.48 (0.568–3.860), p = 0.420	4/16 (25.0%) OR 0.53 (0.162–1.746), p = 0.292
POPF Grade B	12/72 (16.7%) OR 3.10 (0.947–10.15), p = 0.052	12/94 (12.8%) OR 1.46 (0.444–4.825), p = 0.530	6/19 (31.6%) <b>OR 4.63 (1.458–14.69), p = 0.005</b>	1/16 (6.2%) OR 0.48 (0.059–3.865), p = 0.478
POPF Grade C	4/72 (5.6%) OR 0.91 (0.219–3.802), p = 0.899	4/94 (4.3%) OR 0.44 (0.106–1.867), p = 0.257	1/19 (5.3%) OR 0.84 (0.097–7.172), p = 0.869	0/16 (0.0%) OR 0.93 (0.892–0.978), p = 0.291
Clinically relevant POPF	16/72 (22.2%) OR 1.81 (0.739–4.433), p = 0.191	17/94 (18.1%) OR 0.99 (0.392–2.515), p = 0.989	7/19 (36.8%) <b>OR 2.99 (1.050–8.523), p = 0.034</b>	1/16 (6.2%) OR 0.27 (0.034–2.164), p = 0.190
Bile leak	5/72 (6.9%) OR 0.54 (0.168–1.746), p = 0.298	5/94 (5.3%) <b>OR 0.25 (0.077–0.825), p = 0.016</b>	0/19 (0.0%) OR 0.89 (0.835–0.948), p = 0.119	1/16 (6.2%) OR 0.61 (0.074–5.041), p = 0.644
Bleeding	5/72 (6.9%) OR 1.16 (0.297–4.504), p = 0.834	4/94 (4.3%) OR 0.35 (0.088–1.361), p = 0.115	1/19 (5.3%) OR 0.724 (0.086–6.121), p = 0.766	0/16 (0.0%) OR 0.93 (0.881–0.974), p = 0.261
Wound infection (SSI)	28/72 (38.9%) <b>OR 2.36 (1.109–5.038), p = 0.024</b>	31/94 (33.0%) OR 1.48 (0.659–3.307), p = 0.342	10/19 (52.6%) <b>OR 2.69 (1.023–7.061), p = 0.040</b>	6/16 (37.5%) OR 1.43 (0.485–4.239), p = 0.514
Readmission	10/72 (13.9%) OR 1.36 (0.486–3.806), p = 0.558	10/94 (10.6%) OR 0.63 (0.222–1.781), p = 0.380	1/19 (5.3%) OR 0.34 (0.042–2.682), p = 0.281	3/16 (18.8%) OR 1.78 (0.451–7.029), p = 0.405
ICU admission	7/72 (9.7%) OR 1.31 (0.396–4.361), p = 0.655	9/94 (9.6%) OR 1.45 (0.372–5.631), p = 0.592	3/19 (15.8%) OR 2.14 (0.525–8.693), p = 0.279	0/16 (0.0%) OR 0.90 (0.850–0.956), p = 0.189
Wirsungostomy	3/72 (4.2%) OR 2.83 (0.287–27.86), p = 0.354	2/94 (2.1%) OR 0.46 (0.062–3.352), p = 0.430	1/19 (5.3%) OR 2.02 (0.199–20.42), p = 0.545	0/16 (0.0%) OR 0.97 (0.936–0.999), p = 0.462

**Table 3.** Distribution of most commonly presented microbial isolates in bile samples.

Microorganism Group	Species (Examples)	Number of Isolates	% of Total Isolates in Groups
Anaerobes n = 19	<i>Prevotella buccae</i> <i>Clostridium perfringens</i> <i>Veillonella parvula</i> <i>Bacteroides</i> spp.	4 3 2 3	21.1% of Anaerobes 15.8% of Anaerobes 10.5% of Anaerobes 15.8% of Anaerobes
Gram-negative rods (GNR) n = 144	<i>Escherichia coli</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Enterobacter cloacae</i> <i>Klebsiella oxytoca</i> <i>Citrobacter freundii</i>	38 28 18 15 9	26.4% of GNR 19.4% of GNR 12.5% of GNR 10.4% of GNR 6.2% of GNR
Gram-positive cocci (GPC) n = 72	<i>Enterococcus faecalis</i> <i>Enterococcus faecium</i> <i>Streptococcus anginosus</i> <i>Enterococcus hirae</i>	45 6 4 4	62.5% of GPC 8.3% of GPC 5.6% of GPC 5.6% of GPC
Fungi n = 16	<i>Candida albicans</i>	13	81.2% of Fungi
Bacteria with resistance mechanisms (BRM) n = 23	<i>Klebsiella pneumoniae</i> ESBL <i>Escherichia coli</i> ESBL <i>Klebsiella pneumoniae</i> ESBL + NMD <i>Enterococcus casseliflavus</i> VRE <i>Enterococcus gallinarum</i> VRE <i>Klebsiella oxytoca</i> ESBL <i>Enterobacter aerogenes</i> ESBL <i>Enterobacter cloacae</i> ESBL	7 7 3 2 1 1 1 1	30.4% of BRM 30.4% of BRM 13.0% of BRM 8.7% of BRM 4.3% of BRM 4.3% of BRM 4.3% of BRM 4.3% of BRM

VRE—vancomycin-resistant *Enterococcus*; ESBL—extended-spectrum beta-lactamases; NDM—New Delhi metallo-β-lactamase.



**Figure 1.** Kaplan–Meier survival curves for patients with and without bacteriobilia (a) in subgroups with (b) and without (c) postoperative complications after pancreatoduodenectomy.

<https://doi.org/10.3390/antibiotics15020134>

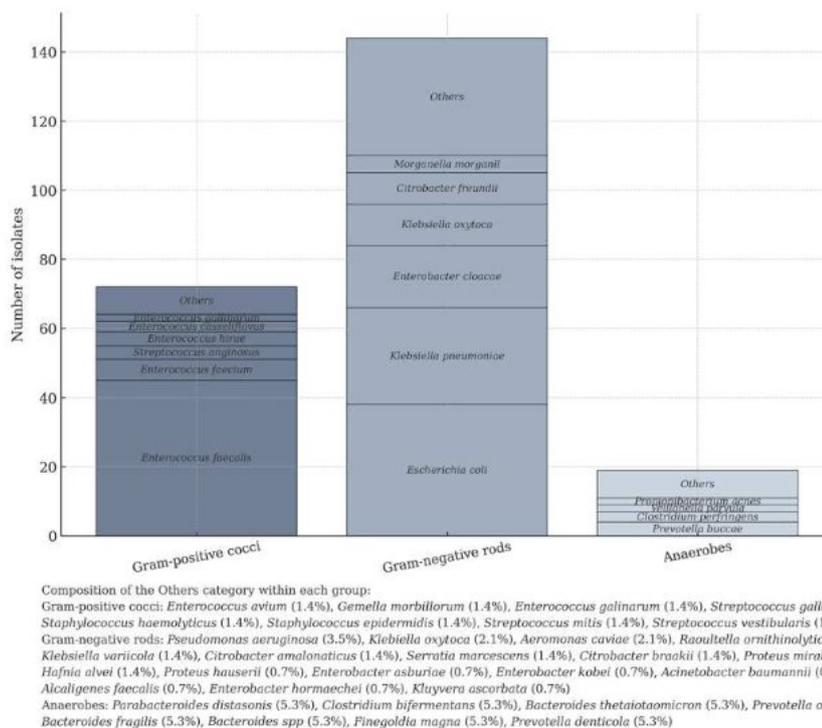


Figure 2. Characteristic of bacterial isolates in bile.

Table 4. Overall resistance (all bacteria combined).

Antibiotic	Sensitive Isolates (n = 235)	Sensitivity (%)	Resistant Isolates (n = 235)	Resistance (%)
Piperacillin/tazobactam	186	79.1	49	20.9
Meropenem	147	62.6	88	37.4
Gentamicin	141	60.0	94	40.0
Amoxicillin/Clavulanic acid	141	60.0	94	40.0
Amikacin	132	56.2	103	43.8
Imipenem	128	54.5	107	45.5
Cefepime	118	50.2	117	49.8
Ciprofloxacin	117	49.8	118	50.2
Trimethoprim/sulfamethoxazole	115	48.9	120	51.1
Aztreonam	105	44.7	130	55.3
Ceftazidime	78	33.2	157	66.8
Ceftriaxone	75	31.9	160	68.1
Tigecycline	69	29.4	166	70.6
Vancomycin	68	28.9	167	71.1
Linezolid	66	28.1	169	71.9
Teikoplanina	64	27.2	171	72.8
Clindamycin	21	8.9	214	91.1
Metronidazole	17	7.2	218	92.8
Cefuroxime <sup>a</sup>	54	23.0	181	77.0

<sup>a</sup> Susceptible, Increased Exposure.

To further optimize empirical antimicrobial coverage, we analyzed susceptibility profiles to identify combinations of two antibiotics that would provide the broadest spectrum of activity against the isolated strains obtained from intraoperatively collected bile. The most effective combinations were Amoxicillin–Clavulanic acid with Gentamicin, or with Meropenem, covering 93.6% and 92.8% of isolates, respectively. Interestingly, to approximate the effectiveness of commonly used perioperative prophylaxis—based on cefazolin and metronidazole—we performed an additional analysis using another cephalosporin, cefuroxime, in combination with metronidazole. This regimen demonstrated poor coverage, achieving activity against only 30.2% of isolates (Table 5).

**Table 5.** Antibiotic combinations providing the broadest coverage of bile isolates.

Antibiotic 1st	Antibiotic 2nd	Covered Isolates (n = 235)	Coverage (%)
Amoxicillin/Clavulanic acid	Gentamicin	220	93.6
Amoxicillin/Clavulanic acid	Meropenem	218	92.8
Meropenem	Tigecycline	215	91.5
Piperacillin/tazobactam	Gentamicin	215	91.5
Vancomycin	Meropenem	215	91.5
Amoxicillin/Clavulanic acid	Amikacin	214	91.1
Linezolid	Meropenem	213	90.6
Gentamicin	Meropenem	206	87.7
Cefuroxime <sup>a</sup>	Metronidazole	71	30.2

<sup>a</sup> Susceptible, Increased Exposure.

#### 4. Discussion

Our results suggest that standard perioperative antibiotic prophylaxis currently recommended for pancreatoduodenectomy provides insufficient coverage against the microorganisms most frequently isolated from bile. Using cefuroxime as a surrogate for guideline-recommended cephalosporins, we observed susceptibility in only 23% of isolates, even at escalated doses. By contrast, the combination of amoxicillin/clavulanic acid with gentamicin achieved susceptibility in over 93.6% of isolates, suggesting that broader perioperative antibiotic therapy is required in this setting.

The clinical relevance of biliary colonization is underscored by its high prevalence and impact on outcomes. In our cohort, positive intraoperative bile cultures were identified in 76.8% of patients, and 93.1% in prior ERCP group compared to 32.4% in no prior ERCP group. Those findings are in line with previous reports showing colonization rates exceeding 85–90% in patients with preoperative biliary drainage [14,17,18]. Furthermore, our results show that prior ERCP was associated with markedly worse outcomes, including increased long-term mortality and SSI, while positive bile cultures correlated with higher mortality, greater rates of POPF, and more frequent SSIs.

Microorganism-specific analyses provided further insights. Collectively, our data indicate that mortality is predominantly driven by Gram-positive and Gram-negative flora, whereas fistula formation and wound infections are more strongly associated with anaerobes and Gram-positive organisms. Patients with BRM represented an especially high-risk subgroup, with significantly greater in-hospital mortality, higher rates of reoperation, and severe POPF. Therefore, comprehensive perioperative antibiotic coverage addressing all major bacterial groups is essential to mitigate postoperative risk. Moreover, similar as in Tortajada et al. multicenter research [19], in our study fungal colonization shows no statistically significant association with adverse outcomes. Furthermore, our Kaplan–Meier survival analysis demonstrated that bacteriobilia is an independent risk factor for reduced overall survival after PD, regardless of the occurrence of postoperative complications.

<https://doi.org/10.3390/antibiotics15020134>

These findings suggest that the presence of bacteria in bile should therefore be recognized as an unfavorable prognostic factor associated with poorer survival outcomes after PD.

Notably, current international guidelines emphasize general principles of surgical antimicrobial prophylaxis. The WHO Global Guidelines for the Prevention of Surgical Site Infection (2016) recommend administration of a single dose of first generation cephalosporin within 60 min before skin incision and advise against prolongation beyond the immediate perioperative period in most procedures [9]. Similarly, the joint American guidelines from ASHP, IDSA, SIS, and SHEA stress timely administration, weight-based dosing, intraoperative redosing in long or complex surgeries [10]. Conventional perioperative prophylaxis is intended to prevent superficial SSIs in non-infected patients; it is not tailored to, nor effective for, preventing broader postoperative complications. However, neither WHO nor American surgical guidelines provide specific recommendations for pancreatic surgery, and they do not address the challenge of biliary colonization and resistant organisms. Our results therefore highlight a critical gap between current broad guidance and the specific microbiological realities of PD.

Although European recommendations are more precise. The ECDC technical report on perioperative antibiotic prophylaxis recommends cefazolin as first-line prophylaxis for the Whipple procedure; however, ceftriaxone 2 g or amoxicillin/clavulanic acid 1.2 g may be considered as alternatives. In patients with severe penicillin allergy, it recommends clindamycin 600–900 mg or vancomycin 15–20 mg/kg with gentamicin 5 mg/kg or aztreonam 2 g. The guidance also underscores correct timing, dosing, and discouraging postoperative continuation in most cases [20]. Consistent with our approach, the ERAS Society guidelines for PD acknowledge the high risk of contamination during biliary reconstruction and recommend tailoring antibiotic prophylaxis to the local microbial spectrum, particularly in patients with preoperative biliary drainage (PBD) [21]. A recent systematic review by Steccanella et al. highlighted the heterogeneity of European practice and concluded that cephalosporin-based prophylaxis is often inadequate in hepato-biliary-pancreatic surgeries [11]. Moreover, the ongoing European SPARROW trial is evaluating pre-emptive and extended antibiotic regimens in high-risk patients, and its central hypothesis mirrors ours—namely, that pre-emptive antibiotic therapy may reduce SSIs following PD [22]. Together, these studies reflect increasing recognition that PD patients represent a unique subgroup in which standard prophylaxis may be insufficient—supporting the rationale for broader, microbiology-driven perioperative antibiotic strategies such as the regimen we propose.

Our results align with the growing literature supporting the use of broader-spectrum agents for perioperative prophylaxis. In a multicenter randomized controlled trial, D'Angelica et al. demonstrated that piperacillin–tazobactam (3.375 or 4.5 g iv administered within 60 min before incision, with intraoperative redosing every 2–4 h until wound closure) was superior to ceftiofloxacin, yielding significant reductions in SSIs, postoperative sepsis, and clinically relevant POPF [23]. The meta-analysis by Kumar et al., along with additional independent trials, supports these observations [24–27]. These findings underscore the importance of appropriately selected perioperative antimicrobial prophylaxis in improving postoperative outcomes. In our cohort, the cumulative susceptibility of bile isolates to piperacillin–tazobactam was 79.1%, supporting its potential as an empiric prophylactic option in settings with a comparable biliary microbiological profile.

A critical issue related to the extended use of perioperative antibiotics is the risk of promoting antimicrobial resistance (AMR). Inappropriate and excessive antibiotic use has been identified as a major factor contributing to the global rise in AMR, thereby reducing the clinical effectiveness of these agents. However, it must be emphasized that a substantial proportion of PD patients require postoperative therapeutic antibiotics due

to infectious complications, with reported rates of postoperative infections ranging from 20% to 40% [2,17,23,25,28,29]. Many of these cases are treated with second- or third-line agents such as piperacillin–tazobactam or carbapenems. Studies have shown that use of extended or postoperative therapeutic antibiotics, particularly in high-risk patients with contaminated bile, reduce infectious complications [13,30,31]. Whereas, in accordance with WHO AWaRe principles, piperacillin–tazobactam is categorized by the WHO as a “Watch” agent, emphasizing the necessity of stewardship to prevent inappropriate utilization and to preserve its therapeutic efficacy. In contrast, both agents in our regimen fall within the “Access” category, justifying first-line selection in PD [32]. Thus, we believe that an effective perioperative regimen may decrease the need for escalation antibiotic therapy in postsurgical period, potentially reducing both morbidity and antimicrobial resistance pressures.

Our findings regarding the superior in vitro efficacy of amoxicillin/clavulanic acid combined with gentamicin are supported by clinical evidence. A recently published prospective study of 63 patients undergoing surgery for periampullary malignancies demonstrated that perioperative prophylaxis with amoxicillin/clavulanic acid (1 g/200 mg) and gentamicin (240 mg), tailored according to intraoperative previously obtained bile samples, significantly reduced infectious complications. The most commonly isolated organisms in that cohort were similar as ours—*Enterococcus* spp. and *Klebsiella* spp., both reliably covered by this regimen [33]. Multiple studies analyzing the bile microbiome have brought concordant results, consistently identifying *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, and *Klebsiella pneumoniae* as the predominant isolates [3,6,14,18,27,34,35]. This reproducibility across different cohorts and centers indicates that the bile microbiome demonstrates a relatively stable and predictable composition, irrespective of local variability. Such findings underscore the clinical relevance of considering the bile microbiome in perioperative management, as they provide a strong rationale for establishing standardized empiric antibiotic therapy protocols. Developing universal guidelines tailored to these commonly encountered pathogens may help to optimize perioperative antimicrobial strategies.

Our study has several limitations. As a retrospective analysis from a single center, the results of our study should be interpreted as hypothesis-generating. Retrospective studies play an important role in identifying clinically relevant patterns and potential risk factors, thereby providing a rationale for the design of prospective interventional trials. In this context, our analyses represent the first step in a structured research pathway aimed at addressing this clinically relevant question. The use of cefuroxime as a surrogate for cefazolin in our analysis may not fully reflect standard practice. Nevertheless, our data are consistent with growing evidence that standard cephalosporin-based prophylaxis is inadequate for PD. Given the polymicrobial nature of biliary colonization and the presence of resistant phenotypes, regimen choice should be based on stewardship-driven review and timely de-escalation as culture data become available. Perioperative antibiotic treatment with amoxicillin/clavulanic acid plus gentamicin demonstrated the highest in vitro susceptibility across biliary isolates (93.6%), supporting its candidacy as a regimen with the most favorable antimicrobial profile, with potential to reduce morbidity and improve both short- and long-term outcomes. A prospective randomized trial assessing the proposed antibiotic protocols is ongoing and will further clarify their clinical utility.

## 5. Conclusions

Our findings indicate that bacteriobilia contributes to early postoperative morbidity, including POPF and SSI, and represents a potential prognostic marker for reduced OS after PD. Standard perioperative antibiotic prophylaxis in PD seems to be insufficient and

should no longer be considered adequate. Based on our results, perioperative, targeted antibiotic therapy with the amoxicillin/clavulanic acid and gentamicin combination appears to provide superior coverage, low risk of developing antimicrobial resistance and may improve postoperative morbidity and mortality following PD.

**Author Contributions:** Conceptualization, N.O. and T.G.; methodology, N.O. and T.G.; software, N.O.; validation, N.O., T.G., M.S. and E.P.; formal analysis, N.O.; investigation, N.O. and A.M.; resources, N.O., T.G. and P.P.; data curation, N.O. and A.M.; writing—original draft preparation, N.O., T.G. and P.P.; writing—review and editing, N.O., T.G., M.S., P.P. and E.P.; visualization, N.O.; supervision, N.O., M.S. and T.G.; project administration, N.O.; funding acquisition, N.O. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

**Funding:** This research received no external funding.

**Institutional Review Board Statement:** The study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki, and approved by the Ethics Committee of Medical University of Warsaw (protocol code AKBE/268/2024; 14 October 2024).

**Informed Consent Statement:** Patient consent was waived due to the retrospective nature of the analysis of existing data. However, all patients had provided written informed consent for hospitalization, treatment, and data collection.

**Data Availability Statement:** Data is available on request.

**Conflicts of Interest:** The authors declare no conflicts of interest.

## Abbreviations

The following abbreviations are used in this manuscript:

AMR	Antimicrobial Resistance
BRM	Bacteria with Resistance Mechanisms
ERCP	Endoscopic Retrograde Cholangiopancreatography
PBD	Preoperative Biliary Drainage
PC	Pancreatic Cancer
PD	Pancreatoduodenectomy
PDAC	Pancreatic Ductal Adenocarcinoma
POPF	Postoperative Pancreatic Fistula

## References

1. Vincent, A.; Herman, J.; Schulick, R.; Hruban, R.H.; Goggins, M. Pancreatic cancer. *Lancet* **2011**, *378*, 607–620. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
2. Cameron, J.L.; He, J. Two thousand consecutive pancreaticoduodenectomies. *J. Am. Coll. Surg.* **2015**, *220*, 530–536. [[CrossRef](#)]
3. Fong, Z.V.; McMillan, M.T.; Marchegiani, G.; Sahora, K.; Malleo, G.; De Pastena, M.; Loehrer, A.P.; Lee, G.C.; Ferrone, C.R.; Chang, D.C.; et al. Discordance Between Perioperative Antibiotic Prophylaxis and Wound Infection Cultures in Patients Undergoing Pancreatoduodenectomy. *JAMA Surg.* **2016**, *151*, 432–439. [[CrossRef](#)]
4. Donald, G.W.; Sunjaya, D.; Lu, X.; Chen, F.; Clerkin, B.; Eibl, G.; Li, G.; Tomlinson, J.S.; Donahue, T.R.; Reber, H.A.; et al. Perioperative antibiotics for surgical site infection in pancreaticoduodenectomy: Does the SCIP-approved regimen provide adequate coverage? *Surgery* **2013**, *154*, 190–196. [[CrossRef](#)]
5. Okano, K.; Suzuki, Y. Influence of bile contamination for patients who undergo pancreaticoduodenectomy after biliary drainage. *World J. Gastroenterol.* **2019**, *25*, 6847–6856. [[CrossRef](#)]
6. Heckler, M.; Mihaljevic, A.L.; Winter, D.; Zhou, Z.; Liu, B.; Tanaka, M.; Heger, U.; Michalski, C.W.; Büchler, M.W.; Hackert, T. *Escherichia coli* Bacterobilia Is Associated with Severe Postoperative Pancreatic Fistula After Pancreatoduodenectomy. *J. Gastrointest. Surg.* **2020**, *24*, 1802–1808. [[CrossRef](#)]
7. Sandini, M.; Honselmann, K.C.; Birnbaum, D.J.; Gavazzi, F.; Chirica, M.; Wellner, U.; Moutardier, V.; Keck, T.; Zerbi, A.; Gianotti, L. Preoperative Biliary Stenting and Major Morbidity After Pancreatoduodenectomy: Does Elapsed Time Matter? The FRAGERITA Study Group. *Ann. Surg.* **2018**, *268*, 808–814. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
8. Klimczak, T.; Kaczka, K.; Klimczak, J.; Tyczkowska-Sieroń, E.; Tyczkowska, A. Primary bacterial culture of bile and pancreatic juice in tumor related jaundice (TROJ)—Is ascending cholangitis always our fault? *Scand. J. Gastroenterol.* **2018**, *53*, 1569–1574.

<https://doi.org/10.3390/antibiotics15020134>

9. Allegranzi, B.; Zayed, B.; Bischoff, P.; Kubilay, N.Z.; de Jonge, S.; de Vries, F.; Gomes, S.M.; Gans, S.; Wallert, E.D.; Wu, X.; et al. New WHO recommendations on intraoperative and postoperative measures for surgical site infection prevention: An evidence-based global perspective. *Lancet Infect. Dis.* **2016**, *16*, e288–e303. [[CrossRef](#)]
10. Bratzler, D.W.; Dellinger, E.P.; Olsen, K.M.; Perl, T.M.; Auwaerter, P.G.; Bolon, M.K.; Fish, D.N.; Napolitano, L.M.; Sawyer, R.G.; Slain, D.; et al. Clinical practice guidelines for antimicrobial prophylaxis in surgery. *Surg. Infect.* **2013**, *14*, 73–156. [[CrossRef](#)]
11. Steccanella, F.; Amoretti, P.; Barbieri, M.R.; Bellomo, F.; Puzziello, A. Antibiotic Prophylaxis for Hepato-Biliopancreatic Surgery-A Systematic Review. *Antibiotics* **2022**, *11*, 194. [[CrossRef](#)]
12. Imamura, H.; Kurokawa, Y.; Tsujinaka, T.; Inoue, K.; Kimura, Y.; Iijima, S.; Shimokawa, T.; Furukawa, H. Intraoperative versus extended antimicrobial prophylaxis after gastric cancer surgery: A phase 3, open-label, randomised controlled, non-inferiority trial. *Lancet Infect. Dis.* **2012**, *12*, 381–387. [[CrossRef](#)]
13. Sourrouille, I.; Gaujoux, S.; Lacave, G.; Bert, F.; Dokmak, S.; Belghiti, J.; Paugam-Burtz, C.; Sauvanet, A. Five days of postoperative antimicrobial therapy decreases infectious complications following pancreaticoduodenectomy in patients at risk for bile contamination. *HPB* **2013**, *15*, 473–480. [[CrossRef](#)]
14. Cioltean, C.L.; Iancu, D.; Iancu, C. Do positive bile cultures influence morbidity and mortality after duodenopancreatectomy? *Med. Pharm. Rep.* **2025**, *98*, 381–386. [[CrossRef](#)]
15. Panni, R.Z.; Panni, U.Y.; Liu, J.; Williams, G.A.; Fields, R.C.; Sanford, D.E.; Hawkins, W.G.; Hammill, C.W. Re-defining a high volume center for pancreaticoduodenectomy. *HPB* **2021**, *23*, 733–738. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
16. Schneider, M.; Strobel, O.; Hackert, T.; Büchler, M.W. Pancreatic resection for cancer—the Heidelberg technique. *Langenbecks Arch. Surg.* **2019**, *404*, 1017–1022. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
17. Yang, Y.; Duan, Y.; Su, C.; Sheng, J.; Zhu, L.; Xie, Y.; Liu, H.; Tang, N.; Qiu, Y.; Lu, C.; et al. The impact of pre-operative biliary drainage on bile colonization of patients undergoing pancreaticoduodenectomy. *Ann. Med.* **2025**, *57*, 2540024. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
18. Müsleler, B.; Hempel, S.; Kahlert, C.; Distler, M.; Weitz, J.; Welsch, T. Prognostic Impact of Bacterobilia on Morbidity and Postoperative Management After Pancreatoduodenectomy: A Systematic Review and Meta-analysis. *World J. Surg.* **2018**, *42*, 2951–2962. [[CrossRef](#)]
19. Tortajada, P.; Sauvanet, A.; Truant, S.; Regenet, N.; Souche, R.; Benoist, S.; Muscari, F.; Regimbeau, J.M.; Gaujoux, S.; Cunha, A.S.; et al. Does Fungal Biliary Contamination after Preoperative Biliary Drainage Increase Postoperative Complications after Pancreatoduodenectomy? *Cancers* **2020**, *12*, 2814. [[CrossRef](#)]
20. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). *Systematic Review and Evidence-Based Guidance on Perioperative Antibiotic Prophylaxis*; ECDC: Stockholm, Sweden, 2013.
21. Melloul, E.; Lassen, K.; Roulin, D.; Grass, F.; Perinel, J.; Adham, M.; Wellge, E.B.; Kunzler, F.; Besselink, M.G.; Asbun, H.; et al. Guidelines for Perioperative Care for Pancreatoduodenectomy: Enhanced Recovery After Surgery (ERAS) Recommendations 2019. *World J. Surg.* **2020**, *44*, 2056–2084. [[CrossRef](#)]
22. Droogh, D.H.M.; de Boer, M.G.J.; van Prehn, J.; Putter, H.; Bonsing, B.A.; Bosscha, K.; Bouwense, S.A.W.; Braak, J.P.B.M.; Hoogwater, F.J.H.; Lips, D.J.; et al. Standard versus Pre-emptive Antibiotic Treatment to Reduce the Rate of Infectious Outcomes after Whipple resection (SPARROW): A study protocol for a multicentre, open-label, randomised controlled trial. *Trials* **2025**, *26*, 88. [[CrossRef](#)]
23. D’Angelica, M.I.; Ellis, R.J.; Liu, J.B.; Brajczich, B.C.; Gönen, M.; Thompson, V.M.; Cohen, M.E.; Seo, S.K.; Zabor, E.C.; Babicky, M.L.; et al. Piperacillin-Tazobactam Compared with Cefoxitin as Antimicrobial Prophylaxis for Pancreatoduodenectomy: A Randomized Clinical Trial. *JAMA* **2023**, *329*, 1579–1588. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
24. Kumar, J.; Reccia, I.; Carneiro, A.; Podda, M.; Virdis, F.; Machairas, N.; Nasralla, D.; Arasaradnam, R.P.; Poon, K.; Gannon, C.J.; et al. Piperacillin/tazobactam for surgical prophylaxis during pancreaticoduodenectomy: Meta-analysis. *BJS Open* **2024**, *8*, zrae066. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
25. De Pastena, M.; Paiella, S.; Azzini, A.M.; Zaffagnini, A.; Scarlini, L.; Montagnini, G.; Maruccio, M.; Filippini, C.; Romeo, F.; Mazzariol, A.; et al. Antibiotic Prophylaxis with Piperacillin–Tazobactam Reduces Post-Operative Infectious Complication after Pancreatic Surgery: An Interventional, Non-Randomized Study. *Surg. Infect.* **2021**, *22*, 536–542. [[CrossRef](#)]
26. Yang, Y.; Sheng, J.; Cai, Z.; Zhu, L.; Lu, C.; Mao, L.; Qiu, Y.; Fu, X. Antibiotic prophylaxis with piperacillin-tazobactam reduces organ/space surgical site infection after pancreaticoduodenectomy: A retrospective and propensity score-matched analysis. *BMC Cancer* **2024**, *24*, 251. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
27. Stein-Thoeringer, C.K.; Renz, B.W.; De Castilhos, J.; von Ehrlich-Treuenstätt, V.; Wirth, U.; Tschaidse, T.; Hofmann, F.O.; Koch, D.T.; Beirith, I.; Ormanns, S.; et al. Microbiome Dysbiosis with *Enterococcus* Presence in the Upper Gastrointestinal Tract Is a Risk Factor for Mortality in Patients Undergoing Surgery for Pancreatic Cancer. *Ann. Surg.* **2025**, *281*, 615–623. [[CrossRef](#)]
28. De Pastena, M.; Paiella, S.; Secchettin, E.; Caputo, D.; Moraldi, L.; Azzolina, D.; Addari, L.; Carrara, E.; Azzini, A.M.; Tirloni, L.; et al. An Antibiotic Stewardship Program in Pancreatic Surgery. *JAMA Netw. Open* **2025**, *8*, e2520149. [[CrossRef](#)]

29. Groen, J.V.; Droogh, D.H.M.; de Boer, M.G.J.; van Asten, S.A.V.; van Prehn, J.; Inderson, A.; Vahrmeijer, A.L.; Bonsing, B.A.; Mieog, J.S.D. Clinical implications of bile cultures obtained during pancreatoduodenectomy: A cohort study and meta-analysis. *HPB* **2021**, *23*, 1123–1133. [[CrossRef](#)]
30. Fathi, A.H.; Jackson, T.; Barati, M.; Eghbalieh, B.; Siegel, K.A.; Siegel, C.T. Extended Perioperative Antibiotic Coverage in Conjunction with Intraoperative Bile Cultures Decreases Infectious Complications after Pancreaticoduodenectomy. *HPB Surg.* **2016**, *2016*, 3031749. [[CrossRef](#)]
31. Droogh, D.H.M.; Groen, J.V.; de Boer, M.G.J.; van Prehn, J.; Putter, H.; Bonsing, B.A.; van Eijck, C.H.J.; Vahrmeijer, A.L.; van Santvoort, H.C.; Koerkamp, B.G.; et al. Prolonged antibiotic prophylaxis after pancreatoduodenectomy: Systematic review and meta-analysis. *Br. J. Surg.* **2023**, *110*, 1458–1466. [[CrossRef](#)]
32. World Health Organization (WHO). *AWaRe (Access, Watch, Reserve) Classification of Antibiotics for Evaluation and Monitoring of Use: Executive Summary of the Report of the 24th WHO Expert Committee on the Selection and Use of Essential Medicines*; World Health Organization: Geneva, Switzerland, 2023.
33. Villach, L.G.; Catalan, A.G.; Sastre, J.M.L.; Herraiz, A.M. Antibiotic Prophylaxis and Intraoperative Gram Stain Analysis for Postoperative Antibiotic Treatment in Periapillary Pathology Surgery: Prospective Study. *Infect. Dis. Clin. Pract.* **2025**, *33*, e1481. [[CrossRef](#)]
34. Pretzsch, E.; Heim, A.; Heiliger, C.; Pretzsch, C.M.; Ilmer, M.; Weniger, M.; Renz, B.; Guba, M.; Angele, M.K.; D'hAese, J.G.; et al. Specific intraoperative antibiotic therapy abrogates the negative effect of biliary contamination on the Comprehensive Complication Index after pancreatic head resection. *Surgery* **2022**, *171*, 1642–1651. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
35. Filson, A.; Gaskins, J.T.; Martin, R.C.G. A meta-analysis and systematic review of intraoperative bile cultures association with postoperative complications in pancreatoduodenectomy. *Surgery* **2023**, *173*, 1231–1239. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

**Disclaimer/Publisher's Note:** The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

## **Podsumowanie i wnioski**

Na podstawie przeprowadzonych analiz oraz wyników zaprezentowanych w dwóch publikacjach wchodzących w skład niniejszej rozprawy doktorskiej można sformułować szereg wniosków, znajdujących bezpośrednie zastosowanie w praktyce klinicznej. Wskazują jednoznacznie, że kolonizacja bakteryjna żółci u chorych poddawanych pankreatoduodenektomii z powodu gruczolakoraka przewodowego głowy trzustki nie jest zjawiskiem incydentalnym, lecz częstym i klinicznie istotnym elementem wpływającym na przebieg leczenia operacyjnego oraz rokowanie odległe.

Punktem wyjścia do niniejszych badań była obserwacja bardzo wysokiej częstości dodatnich posiewów żółci pobieranych śródoperacyjnie podczas PD, szczególnie u chorych po ERCP. Podważa to jednoznacznie założenie, że pankreatoduodenektomia jest operacją „czystą-skażoną” i sugeruje, że powinna być kwalifikowana jako operacja „skażona”. Wykazano, że bakteriobilia jest czynnikiem ściśle związanym z nasileniem powikłań pooperacyjnych, w tym zakażeń miejsca operowanego oraz pooperacyjnej przetoki trzustkowej, a także skrócenia OS u chorych z PDAC głowy trzustki poddanych pankreatoduodenektomii.

Analiza wieloczynnikowa potwierdziła, że obecność bakterii w żółci stanowi niezależny czynnik ryzyka przetok klinicznie istotnych, co sugeruje, że kolonizacja mikrobiologiczna może zaburzać proces gojenia zespolenia trzustkowo-jelitowego i sprzyjać progresji powikłań do cięższych postaci.

Szczególnie niekorzystny przebieg pooperacyjny obserwowano u chorych z obecnością BRM, u których ryzyko ciężkiej POPF, reoperacji oraz zgonu szpitalnego było istotnie wyższe, co podkreśla znaczenie nie tylko samej obecności drobnoustrojów, lecz również ich profilu oporności. Równolegle wykazano, że dodatni posiew żółci wiąże się ze znamienne krótszym przeżyciem całkowitym, a różnica w medianie przeżycia pomiędzy chorymi z bakteriobią i bez niej miała znaczący wymiar kliniczny, wskazując na potencjalny wpływ mikrobiomu dróg żółciowych na przebieg choroby nowotworowej u tych pacjentów. Co istotne, zależność ta utrzymywała się niezależnie od stopnia zaawansowania nowotworu, co pozwala traktować bakteriobię jako niezależny czynnik prognostyczny skrócenia czasu przeżycia chorych z PDAC głowy trzustki po PD.

Profil mikrobiologiczny żółci miał najczęściej charakter polimikrobowy, a identyfikowane drobnoustroje wykazywały znaczną powtarzalność pomiędzy

poszczególnymi pacjentami, z wyraźną dominacją *Enterococcus* spp., *Escherichia coli* oraz *Klebsiella pneumoniae*. Obserwacje te pozostają spójne z doniesieniami z innych ośrodków i sugerują względną jednorodność mikrobiomu dróg żółciowych w populacji chorych poddawanych pankreatoduodenektomii. Powtarzalność ta ma istotne znaczenie praktyczne, ponieważ umożliwia projektowanie racjonalnych, empirycznych schematów antybiotykoterapii okołoperacyjnej opartych na rzeczywistym spektrum drobnoustrojów, a nie na ogólnych zasadach profilaktyki chirurgicznej. Szczególnie istotne jest wykazanie, że standardowa profilaktyka oparta na cefalosporynach zapewnia niewystarczające zabezpieczenie wobec bakterii najczęściej izolowanych z żółci, podczas gdy skojarzenie amoksycyliny z kwasem klawulanowym oraz gentamycyną charakteryzuje się istotnie wyższą skutecznością *in vitro* wobec analizowanych szczepów. Uzyskane wyniki sugerują, że obowiązujące dotychczas schematy profilaktyki antybiotykowej w PD mogą nie w pełni odpowiadać rzeczywistemu spektrum mikrobiologicznemu żółci, co wskazuje na zasadność rozważenia bardziej ukierunkowanego i opartego na danych mikrobiologicznych zastosowania empirycznej antybiotykoterapii okołoperacyjnej (celowanej przeciwko najczęściej występującym w żółci bakteriom).

W szerszej perspektywie przedstawione badania redefiniują bakteriobię jako potencjalnie modyfikowalny czynnik ryzyka, którego znaczenie wykracza poza bezpośrednie powikłania infekcyjne i sugeruje również wpływ na przeżycie odległe chorych z PDAC głowy trzustki poddanych PD. Zgromadzone dane tworzą logicznie powiązaną i metodologicznie uzasadnioną pracę badawczą, pozwalającą wysnuć wnioski, że kolonizacja bakteryjna żółci oddziałuje na proces gojenia zespolecia trzustkowego i wystąpienie powikłań pooperacyjnych po PD, a być może także wpływa na skuteczność leczenia systemowego. Chociaż przeprowadzone analizy mają charakter retrospektywny i jednośrodkowy, spójność zastosowanej metodologii oraz jednorodność badanej populacji zwiększają ich wiarygodność i nadają im istotne znaczenie poznawcze, stanowiąc podstawę do formułowania dalszych hipotez badawczych.

Całość przeprowadzonych analiz pozwala sformułować wniosek, że bakteriobilia stanowi potencjalnie modyfikowalny czynnik ryzyka powikłań oraz niekorzystnego rokowania po pankreatoduodenektomii, a jej uwzględnienie w strategii postępowania okołoperacyjnego może potencjalnie prowadzić do poprawy zarówno wczesnych, jak i

odległych wyników leczenia. Przedstawione dane stanowią podstawę dla zaprojektowania dalszych badań prospektywnych, których celem powinna być weryfikacja skuteczności antybiotykoterapii ukierunkowanej przeciw bakteriom najczęściej występującym w drogach żółciowych. Możliwe, że doprowadzi to do zredukowania ilości powikłań pooperacyjnych i poprawy wyników przeżycia odległego pacjentów leczonych operacyjnie z powodu gruczolakoraka przewodowego głowy trzustki.



**Komisja Bioetyczna  
przy Warszawskim Uniwersytecie Medycznym**

Tel.: 022/ 57 - 20 -303  
Fax: 022/ 57 - 20 -165

ul. Żwirki i Wigury nr 61  
02-091 Warszawa

e-mail: komisja.bioetyczna@wum.edu.pl  
www.komisja-bioetyczna.wum.edu.pl

AKBE/ 268 / 2024

Warszawa, dnia 14.10.2024

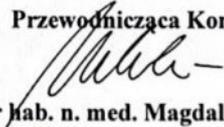
Lek. Natalia Olszewska  
Klinika Chirurgii Ogólnej,  
Gastroenterologicznej i Onkologicznej  
ul. Banacha 1a,02-097 Warszawa

**OŚWIADCZENIE**

Niniejszym oświadczam, że Komisja Bioetyczna przy Warszawskim Uniwersytecie Medycznym w dniu 14 października 2024 r. przyjęła do wiadomości informację na temat badania pt. "Wpływ kolonizacji bakteryjnej żółci na wystąpienie powikłań u chorych leczonych chirurgicznie z powodu nowotworów trzustki"

Przedstawione badanie nie stanowi eksperymentu medycznego w rozumieniu art. 21 ust.1 ustawy z dnia 5 grudnia 1996 r. o zawodach lekarza i lekarza dentysty (Dz.U. z 2018r poz.617) i nie wymaga uzyskania opinii Komisji Bioetycznej przy Warszawskim Uniwersytecie Medycznym, o której mowa w art. 29 ust.1 ww. ustawy.

Przewodnicząca Komisji Bioetycznej

  
Prof. dr hab. n. med. Magdalena Kuźma-Kozakiewicz

## **Oświadczenia wszystkich współautorów publikacji**

Warszawa, 16.02.2026r. (miejsowość, data)

prof. dr hab. n. med. Maciej Słodkowski

.....  
(imię i nazwisko)

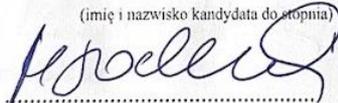
### OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „Bile bacterial colonization increases risk of postoperative pancreatic fistula and worsens overall survival following pancreatoduodenectomy” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi: 5%.

Wkład Natalii Olszewskiej w powstawanie publikacji wynosił 80% i obejmował: Opracowanie koncepcji pracy i jej założeń badawczych, zaprojektowanie metodologii, przeprowadzenie badań, implementację i wykorzystanie narzędzi analitycznych, wykonanie analiz statystycznych, walidację wyników oraz ich analizę formalną, gromadzenie danych, przygotowanie pierwotnej wersji manuskryptu, jego redakcję oraz opracowanie kolejnych wersji po uwzględnieniu uwag współautorów i recenzentów.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek...Natalii Olszewskiej...

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

  
.....

(podpis  
oświadczającego)

\*w szczególności udziału w przygotowaniu koncepcji, metodyki, wykonaniu badań, interpretacji wyników

Warszawa, 16.02.2026r. (miejsowość, data)

prof. dr hab. n. med. Maciej Słodkowski

.....  
(imię i nazwisko)

### OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „Should Preoperative Biliary Decontamination Be Considered to Minimize Morbidity and Mortality Following Pancreatoduodenectomy?” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi: 5%.

Wkład Natalii Olszewskiej w powstawanie publikacji wynosił 80% i obejmował: Opracowanie koncepcji pracy i jej założeń badawczych, zaprojektowanie metodologii, przeprowadzenie badań, implementację i wykorzystanie narzędzi analitycznych, wykonanie analiz statystycznych, walidację wyników oraz ich analizę formalną, gromadzenie danych, przygotowanie pierwotnej wersji manuskryptu, jego redakcję oraz opracowanie kolejnych wersji po uwzględnieniu uwag współautorów i recenzentów.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek...Natalii Olszewskiej...

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)



.....  
oświadczającego)

(podpis

\*w szczególności udziału w przygotowaniu koncepcji, metodyki, wykonaniu badań, interpretacji wyników

Warszawa, 16.02.2026r. (miejsowość, data)

dr n. med. Tomasz Guzel

.....  
(imię i nazwisko)

### OŚWIADCZENIE

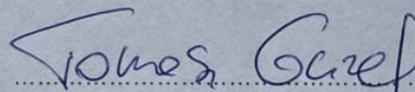
Jako współautor pracy pt. „Should Preoperative Biliary Decontamination Be Considered to Minimize Morbidity and Mortality Following Pancreatoduodenectomy?” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi: 5%.

Wkład Natalii Olszewskiej w powstawanie publikacji wynosił 80% i obejmował:

Opracowanie koncepcji pracy i jej założeń badawczych, zaprojektowanie metodologii, przeprowadzenie badań, implementację i wykorzystanie narzędzi analitycznych, wykonanie analiz statystycznych, walidację wyników oraz ich analizę formalną, gromadzenie danych, przygotowanie pierwotnej wersji manuskryptu, jego redakcję oraz opracowanie kolejnych wersji po uwzględnieniu uwag współautorów i recenzentów.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek... Natalii Olszewskiej...

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

  
.....  
(podpis oświadczającego)

\*w szczególności udziału w przygotowaniu koncepcji, metodyki, wykonaniu badań, interpretacji wyników

Warszawa, 16.02.2020r. (miejscowość, data)

dr n. med. Tomasz Guzel

.....  
(imię i nazwisko)

### OSWIADCZENIE

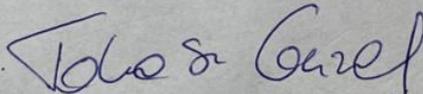
Jako współautor pracy pt. *Bile bacterial colonization increases risk of postoperative pancreatic fistula and worsens overall survival following pancreatoduodenectomy* oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi: 5%.

Wkład Natalii Olszewskiej w powstawanie publikacji wynosił 80% i obejmował:

Opracowanie koncepcji pracy i jej założeń badawczych, zaprojektowanie metodologii, przeprowadzenie badań, implementację i wykorzystanie narzędzi analitycznych, wykonanie analiz statystycznych, walidację wyników oraz ich analizę formalną, gromadzenie danych, przygotowanie pierwotnej wersji manuskryptu, jego redakcję oraz opracowanie kolejnych wersji po uwzględnieniu uwag współautorów i recenzentów.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek... Natalii Olszewskiej...

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

.....  (podpis  
oswiadczonego)

\*w szczególności udziału w przygotowaniu koncepcji, metodyki, wykonaniu badań, interpretacji wyników

Warszawa, 16.02.2026r. (miejsowość, data)

prof. dr hab. n. med. Piotr Paluszkiewicz  
.....  
(imię i nazwisko)

### OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „Should Preoperative Biliary Decontamination Be Considered to Minimize Morbidity and Mortality Following Pancreatoduodenectomy?” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi: 5%.

Wkład Natalii Olszewskiej w powstawanie publikacji wynosił 80% i obejmował: Opracowanie koncepcji pracy i jej założeń badawczych, zaprojektowanie metodologii, przeprowadzenie badań, implementację i wykorzystanie narzędzi analitycznych, wykonanie analiz statystycznych, walidację wyników oraz ich analizę formalną, gromadzenie danych, przygotowanie pierwotnej wersji manuskryptu, jego redakcję oraz opracowanie kolejnych wersji po uwzględnieniu uwag współautorów i recenzentów.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek...Natalii Olszewskiej...

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

*Mbs Kowalczyk*  
.....  
oświadczającego)

(podpis

\*w szczególności udziału w przygotowaniu koncepcji, metodyki, wykonaniu badań, interpretacji wyników

Warszawa, 16.02.2026r. (miejsowość, data)

prof. dr hab. n. med. Piotr Paluszkiwicz  
.....  
(imię i nazwisko)

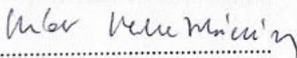
## OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „Bile bacterial colonization increases risk of postoperative pancreatic fistula and worsens overall survival following pancreatoduodenectomy” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi: 5%.

Wkład Natalii Olszewskiej w powstawanie publikacji wynosił 80% i obejmował: Opracowanie koncepcji pracy i jej założeń badawczych, zaprojektowanie metodologii, przeprowadzenie badań, implementację i wykorzystanie narzędzi analitycznych, wykonanie analiz statystycznych, walidację wyników oraz ich analizę formalną, gromadzenie danych, przygotowanie pierwotnej wersji manuskryptu, jego redakcję oraz opracowanie kolejnych wersji po uwzględnieniu uwag współautorów i recenzentów.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek...Natalii Olszewskiej...

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

  
.....

(podpis  
oświadczającego)

\*w szczególności udziału w przygotowaniu koncepcji, metodyki, wykonaniu badań, interpretacji wyników

Warszawa, 16.02.2026r. (miejsowość, data)

dr n. med. Agnieszka Milner

.....  
(imię i nazwisko)

## OŚWIADCZENIE

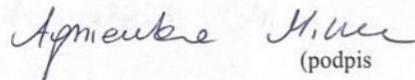
Jako współautor pracy pt. „Should Preoperative Biliary Decontamination Be Considered to Minimize Morbidity and Mortality Following Pancreatoduodenectomy?” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi: 3%.

Wkład Natalii Olszewskiej w powstawanie publikacji wynosił 80% i obejmował: Opracowanie koncepcji pracy i jej założeń badawczych, zaprojektowanie metodologii, przeprowadzenie badań, implementację i wykorzystanie narzędzi analitycznych, wykonanie analiz statystycznych, walidację wyników oraz ich analizę formalną, gromadzenie danych, przygotowanie pierwotnej wersji manuskryptu, jego redakcję oraz opracowanie kolejnych wersji po uwzględnieniu uwag współautorów i recenzentów.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek...Natalii Olszewskiej...

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

.....

  
(podpis)

oświadczającego)

\*w szczególności udziału w przygotowaniu koncepcji, metodyki, wykonaniu badań, interpretacji wyników

Warszawa, 16.02.2026r. (miejsowość, data)

dr n. med. Agnieszka Milner

.....  
(imię i nazwisko)

### OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „Bile bacterial colonization increases risk of postoperative pancreatic fistula and worsens overall survival following pancreatoduodenectomy” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi: 2%.

Wkład Natalii Olszewskiej w powstawanie publikacji wynosił 80% i obejmował: Opracowanie koncepcji pracy i jej założeń badawczych, zaprojektowanie metodologii, przeprowadzenie badań, implementację i wykorzystanie narzędzi analitycznych, wykonanie analiz statystycznych, walidację wyników oraz ich analizę formalną, gromadzenie danych, przygotowanie pierwotnej wersji manuskryptu, jego redakcję oraz opracowanie kolejnych wersji po uwzględnieniu uwag współautorów i recenzentów.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek...Natalii Olszewskiej...

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

.....



(podpis

oświadczającego)

\*w szczególności udziału w przygotowaniu koncepcji, metodyki, wykonaniu badań, interpretacji wyników

Warszawa, 16.02.2026r. (miejsowość, data)

dr hab. n. med. Edyta Podsiadły  
.....  
(imię i nazwisko)

## OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „Should Preoperative Biliary Decontamination Be Considered to Minimize Morbidity and Mortality Following Pancreatoduodenectomy?” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi: 2%.

Wkład Natalii Olszewskiej w powstanie publikacji wynosił 80% i obejmował: Opracowanie koncepcji pracy i jej założeń badawczych, zaprojektowanie metodologii, przeprowadzenie badań, implementację i wykorzystanie narzędzi analitycznych, wykonanie analiz statystycznych, walidację wyników oraz ich analizę formalną, gromadzenie danych, przygotowanie pierwotnej wersji manuskryptu, jego redakcję oraz opracowanie kolejnych wersji po uwzględnieniu uwag współautorów i recenzentów.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek...Natalii Olszewskiej...

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

.....

(podpis  
oświadczającego)

KIEROWNIK  
Laboratorium Mikrobiologii UCML  
Uniwersyteckiego Centrum Klinicznego WUM  
*Edyta Podsiadły*  
dr hab. n. med. Edyta Podsiadły

\*w szczególności udziału w przygotowaniu koncepcji, metodyki, wykonaniu badań, interpretacji wyników

Warszawa, 16.02.2026r. (miejsowość, data)

dr hab. n. med. Edyta Podsiadły

.....  
(imię i nazwisko)

## OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „Bile bacterial colonization increases risk of postoperative pancreatic fistula and worsens overall survival following pancreatoduodenectomy” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi: 2%.

Wkład Natalii Olszewskiej w powstawanie publikacji wynosił 80% i obejmował: Opracowanie koncepcji pracy i jej założeń badawczych, zaprojektowanie metodologii, przeprowadzenie badań, implementację i wykorzystanie narzędzi analitycznych, wykonanie analiz statystycznych, walidację wyników oraz ich analizę formalną, gromadzenie danych, przygotowanie pierwotnej wersji manuskryptu, jego redakcję oraz opracowanie kolejnych wersji po uwzględnieniu uwag współautorów i recenzentów.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek...Natalii Olszewskiej...

.....  
(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

(podpis  
oświadczającego)

KIEROWNIK  
Laboratorium Mikrobiologii UCML  
Uniwersyteckie Centrum Kliniczne WUM  
  
dr hab. n. med. Edyta Podsiadły

\*w szczególności udziału w przygotowaniu koncepcji, metodyki, wykonaniu badań, interpretacji wyników

Warszawa, 16.02.2026r.  
(miejsowość, data)

lek. Kaja Śmigielska - Skrzypek

.....  
(imię i nazwisko)

## OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „Bile bacterial colonization increases risk of postoperative pancreatic fistula and worsens overall survival following pancreatoduodenectomy” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi: 1%.

Wkład Natalii Olszewskiej w powstawanie publikacji wynosił 80% i obejmował:

Opracowanie koncepcji pracy i jej założeń badawczych, zaprojektowanie metodologii, przeprowadzenie badań, implementację i wykorzystanie narzędzi analitycznych, wykonanie analiz statystycznych, walidację wyników oraz ich analizę formalną, gromadzenie danych, przygotowanie pierwotnej wersji manuskryptu, jego redakcję oraz opracowanie kolejnych wersji po uwzględnieniu uwag współautorów i recenzentów.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek... Natalii Olszewskiej...

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

*Kaja Śmigielska - Skrzypek*  
.....  
(podpis oświadczającego)

\*w szczególności udziału w przygotowaniu koncepcji, metodyki, wykonaniu badań, interpretacji wyników