



Lublin, 27 września 2022

RECENZJA

rozprawy doktorskiej Pana mgr Adama Kaczmarka pt. "*Blastocystis* u ludzi i zwierząt stałocieplnych w Polsce: różnorodność genetyczna i potencjał zoonotyczny" wykonanej pod kierunkiem dr hab. n. med. i n. o zdr. Rusłana Sałamatina oraz Promotorki pomocniczej dr n. med. Aleksandry Sędzikowskiej z Katedry Biologii Ogólnej i Parazytologii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

1. Charakterystyka rozprawy

Blastocystis to kosmopolityczne pierwotniaki jelitowe, których występowanie odnotowano zarówno wśród zwierząt kręgowych jak i u bezkręgowców. Postacią dyspersyjną i inwazyjną tych pasożytów są cysty przenoszone drogą fekalno-oralną. Ze względu na fakt stwierdzania cyst zarówno w zbiornikach słodko- jak i w słonowodnych oraz ich oporność na działanie chloru oraz ozonu stosowanych w dezynfekcji wody, wysoce prawdopodobny jest wodnopochozny charakter inwazji. Hiperprewalencji *Blastocystis* w niektórych rejonach świata sprzyja także utrzymywanie się tych pierwotniaków u szerokiego spektrum żywicieli.

Rola organizmów z rodzaju *Blastocystis* w mikrobiocie człowieka pozostaje niewyjaśniona podobnie jak kwestia ich chorobotwórczości. O potencjalnej patogeniczności *Blastocystis* mogą świadczyć m.in. obserwacje dotyczące pozajelitowej lokalizacji tego pierwotniaka u ludzi, aczkolwiek zagadnienie to może mieć charakter



wieloczynnikowy. Pod uwagę należy brać ewentualne różnice w zjadliwości poszczególnych subtypów *Blastocystis* względem konkretnego gatunku żywiciela, intensywność inwazji, status immunologiczny żywiciela, w tym skład mikrobioty oraz współistniejące choroby przewodu pokarmowego.

Mimo znaczącego postępu nauk medycznych blastocystoza stanowi wciąż istotne, a zarazem niedostatecznie zbadane zagrożenie, co uzasadnia podjęcie przez Pana mgr Adama Kaczmarka zawartych w rozprawie badań.

Recenzowana rozprawa doktorska składa się z 9 części, z wyodrębnionymi podrozdziałami oraz załączników w postaci wykazu oryginalnych pełnotekstowych prac naukowych i streszczeń zjazdowych których Doktorant jest współautorem. Dzięki takiemu układowi praca zawierająca liczne dane jest bardzo przejrzysta i pozwala czytelnikowi na prześledzenie kolejnych etapów badań oraz ich efektów. Rozprawę wyróżnia bardzo dobry styl językowy oraz estetyczna forma. Rozprawa liczy ogółem 140 stron i zawiera 19 rycin (w tym 4 mapy), 36 zdjęć oraz 7 tabel.

W pierwszym rozdziale rozprawy zatytułowanym „Wstęp”, Autor skrupulatnie prześledził historię odkrycia i ustalenia pozycji taksonomicznej *Blastocystis*, dokonał przeglądu gatunków opisanych w obrębie tego rodzaju jak również scharakteryzował biologię i morfologię tego pasożyta. We wstępie poruszony został także wątek chorobotwórczości oraz leczenia blastocystozy. Rozdział ten jest fascynującą lekturą powstałą w oparciu o literaturę światową i polską poczynając od publikacji z 1911 r., skończywszy na najnowszych osiągnięciach z zakresu poruszanej problematyki.

Formułując „Założenia i cel pracy” Doktorant uzasadnił podjęcie badań i jasno sprecyzował ich cele tj. zbadanie różnorodności *Blastocystis* u ludzi i zwierząt stałocieplnych w Polsce jak również określenie potencjału zoonotycznego tego pasożyta w oparciu o analizy wariantów genetycznych występujących w badanej populacji ludzi i zwierząt.

W rozdziale trzecim „Materiał i metody” Autor wyczerpująco opisuje metodykę badań obejmującą szerokie spektrum bardzo pracochłonnych metod i procedur tj. zbiór i zabezpieczenie materiału do badań, badanie kału w kierunku *Blastocystis* metodą hodowli *in vitro*, badania molekularne obejmujące izolację DNA, reakcję łańcuchową polimerazy (PCR), sekwencjonowanie uzyskanych w reakcji PCR amplikonów oraz analizę uzyskanych wyników przy pomocy trafnie dobranej metodyki i adekwatnego oprogramowania. Uwagę zwraca kompleksowa analiza filogenetyczna, która jest

istotnym elementem pracy. Doktorant przeprowadził także badanie podobieństwa faunistycznego subtypów *Blastocystis* człowieka, innych badanych ssaków oraz ptaków z zastosowaniem wskaźników Czekanowskiego-Dice'a-Sørensen, Jaccarda i Kulczyńskiego. Na podkreślenie zasługuje fakt iż metoda pobierania i przechowywania próbek kału jak również walidacja okresu przydatności pobranego materiału do zaprojektowanych w pracy badań mają charakter autorski. Zarówno opis jak i dobór metodyki badań świadczą o umiejętności posługiwania się technikami umożliwiającymi realizację zaplanowanych celów.

Moim zdaniem sekcja związana z walidacją stosowanej metodyki powinna znaleźć się w rozdziale „Materiał i metody”, aktualnie rozpoczyna rozdział pt. „Wyniki i omówienie”

Rezultaty badań przedstawione w rozdziale „Wyniki i omówienie” można łatwo prześledzić dzięki klarownej i logicznej prezentacji w 4 podrozdziałach. Autor wnikliwie przeanalizował zebrany materiał, dokonał jego oceny. W tej części zwracają uwagę zwięzłe i logiczne opisy wyników opatrzone licznymi komentarzami. Syntetyczne podsumowanie wyników swoich badań Autor zawarł w sekcji „Podsumowanie”.

W rozdziale zatytułowanym „Dyskusja” Doktorant omawia badane zagadnienie na tle zebranego przez siebie bogatego piśmiennictwa, porównując wyniki własne z rezultatami uzyskanymi przez autorów polskich i zagranicznych. Rozdział ten jest bardzo kompleksową analizą odpowiadającą najnowszemu stanowi wiedzy przy czym Autor wykazuje się bardzo dobrą znajomością opisywanych zagadnień.

Wnioski wysnute przez Doktoranta są trafne i dobrze uzasadnione oraz dostarczają satysfakcjonującej odpowiedzi na cele pracy sformułowane przez Niego na początku rozprawy.

Spis literatury obejmuje 280 pozycji w tym szereg publikacji anglojęzycznych pochodzących z renomowanych czasopism. Cytowane piśmiennictwo uwzględnia najważniejsze publikacje dotyczące przedmiotu rozprawy i obejmuje szeroką perspektywę czasową tj. od 1911 r. do 2022 r.

Z obowiązku recenzentki wymienię niektóre z drobnych błędów, czy niefortunnie użytych sformułowań, które zauważyłam w trakcie czytania rozprawy, aczkolwiek nie mają one wpływu na jej merytoryczną wartość:

- str. 31 zamiast „różnorodnością genetyczną zwierząt” powinno być „różnorodnością genetyczną *Blastocystis* u zwierząt”
- str. 48 zamiast enerotyp powinno być enterotyp



- str. 60 w zastępstwie określenia rasa w odniesieniu do człowieka proponuję używanie terminu pochodzenie geograficzne
- str. 65 przy opisywaniu składu gatunkowego organizmów zasiedlających organizm człowieka pojęcie mikrobiom należy zastąpić pojęciem mikrobiota (mikrobiom określa zbiór genomów drobnoustrojów i chociaż oba pojęcia powszechnie używane są wymiennie mają nieco inne znaczenie)
- drobne niekonsekwencje w sposobie cytowania literatury np. str. 56: [172] [58], zamiast [58,172].

Sumaryczna ocena rozprawy

Pan mgr Adam Kaczmarek podjął w swojej rozprawie doktorskiej temat ambitny i istotny z epidemiologicznego punktu widzenia. Praca została starannie zaplanowana, wykonana w sposób rzetelny, na odpowiednio dużej próbie i przyniosła oryginalne wyniki, które Autor wnikliwie zinterpretował.

Do najważniejszych osiągnięć pracy stanowiących istotny wkład do nauki zaliczam:

1. Potwierdzenie występowania *Blastocystis* spp. u człowieka, 20 gatunków innych ssaków oraz u 13 gatunków ptaków na obszarze badań.
2. Po raz pierwszy w Polsce opisanie występowania określonych subtypów *Blastocystis* u 18 gatunków ssaków (subtypy ST1-ST5, ST7, ST8, ST24) i 12 gatunków ptaków (ST5-ST7, ST27).
3. Pierwszą w Polsce charakterystykę różnorodności alleli *Blastocystis* obejmującą identyfikację 17 alleli genu rRNA małej podjednostki rybosomu (18S rRNA, SSU-rRNA) w tym 7 nowych alleli.
4. Analizę podobieństwa struktury subtypów *Blastocystis* człowieka i innych ssaków oraz ptaków, która wskazała na wyższy potencjał zoonotyczny ssaków niż ptaków.
5. Zwrócenie uwagi na rolę zwierząt importowanych jako potencjalnego źródła nowych subtypów *Blastocystis* pojawiających się na terenie naszego kraju (odnotowanie po raz pierwszy w Polsce subtypu S-27 stwierdzonego u pawia indyjskiego, *Pavo cristatus*).
6. Wykrycie u ludzi i szczurów laboratoryjnych różnych alleli subtypu ST4 (*Blastocystis rattii*) zoonotycznego gatunku, charakterystycznego dla gryzoni, który dotychczas nie był rejestrowany u zwierząt na terenie Polski. Wskazuje to

na konieczność kontynuacji przedstawionych w pracy badań i ich duże znaczenie w kontekście zdrowia publicznego.

Podsumowując, rozprawa doktorska Pana mgr Adama Kaczmarka jest pozycją wartościową, rzetelnie wykonaną i stanowiącą oryginalny wkład do nauki. Świadczy ona o umiejętności samodzielnego prowadzenia pracy naukowej przez Doktoranta i Jego dużej wiedzy teoretycznej i praktycznej w zakresie podjętego tematu. Jakość wyników uzyskanych przez Kandydata i sposób wykorzystania narzędzi badawczych wskazuje także na merytoryczne wsparcie Opiekunów pracy doktorskiej, będących cenionymi specjalistami z zakresu parazytologii medycznej.

Należy nadmienić, że badania przedstawione w ramach ocenianej dysertacji zostały opublikowane w renomowanych, recenzowanych czasopismach naukowych w latach 2017-2021.

Wniosek końcowy

Przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska mgr Adama Kaczmarka spełnia wszelkie wymagania stawiane rozprawom doktorskim, określone w art. 13 ustęp 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65 poz. 595, z późn. zm.).

W związku z powyższym wnoszę do Rady Dyscypliny Nauk Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego o dopuszczenie Pana mgr Adama Kaczmarka do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Ze względu na wieloaspektowość i autorski charakter badań zawartych w rozprawie wnioskuję o przyjęcie jej z wyróżnieniem.

dr hab. n. med. Katarzyna Bartosiak