

**Katedra i Klinika Chorób Zakaźnych, Chorób Wątroby
i Nabytych Niedoborów Odpornościowych Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu
ul. Koszarowa 5, 51-149 Wrocław; tel. 71 395-75-49, tel./fax 71 325-52-4**

Kierownik: prof. dr hab. Brygida Knys

Wrocław, dnia 22

Recenzja rozprawy doktorskiej

mgr Adama Kaczmarka

pt. *Blastocystis* u ludzi i zwierząt stałocieplnych w Polsce:

różnorodność genetyczna i potencjał zoonotyczny

Doktorant w swojej pracy podjął niezwykle istotny problem występowania inwazji *Blastocystis* u ludzi i zwierząt w Polsce. Temat ważny, ponieważ jest słabo poznany, niedoceniany i w naszym kraju nadal nowy. Przedstawiona do oceny praca zawiera na 140 stronach wszystkie elementy rozprawy doktorskiej, które ułatwiają czytelnikowi śledzenie tekstu z dużą ilością wyników oraz odniesień do literatury związanej z przeprowadzonymi badaniami. Praca podzielona jest na rozdziały uzasadnione metodologicznie. Obszerne wiadomości związane z tematem rozprawy Doktorant opracował na podstawie 280 pozycji aktualnego piśmiennictwa. Istotne informacje ogólne oraz wyniki badań zostały przedstawione na 15 rycinach, 7 zdjęciach, 4 mapach oraz w 7 tabelach.

Wstęp liczy 44 strony. Doktorant szczegółowo omawia w nim różne aspekty związane z *Blastocystis*: przegląd historyczny, biologię, chorobotwórczość i laboratoryjne metody wykrywania *Blastocystis*. Z wielką przyjemnością przeczytałam historię badań nad *Blastocystis*, która pokazuje że dopiero pod koniec ubiegłego wieku i w XXI wieku określono przy pomocy badań molekularnych pozycję filogenetyczną tego pierwotniaka. Wiele

gatunków *Blastocystis* opisano w latach 90-tych ub. stulecia. Opisy związane są z określonym rejonem geograficznym, co może wynikać z zainteresowań naukowych na tamtym terenie, np. w obwodzie kaliningradzkim, w Singapurze.

Pierwsza praca na temat *B. hominis* w Polsce ukazała się dopiero w 1955 roku i następne od lat 90-tych ub. stulecia (przeglądowe i oryginalne). W wielu z nich, w późniejszym okresie, brał również udział Doktorant. W podrozdziale dotyczącym historii badań *Blastocystis* w Polsce Doktorant zwrócił uwagę na dużą aktywność w tym temacie zespołów badawczych pochodzących z różnych ośrodków w Polsce. W licznych doniesieniach przedstawiono dane epidemiologiczne dotyczące występowania blastocystozy u ludzi i zwierząt; powstały również publikacje na temat metodyki badań. Ważne są również opisy występowania subtypów *Blastocystis* u różnych gatunków zwierząt oraz u ludzi.

Jako lekarz -praktyk zwróciłam uwagę na rozdział poświęcony roli wody w przenoszeniu pasożytów i brak skuteczności aktualnych metod oczyszczania wody w stosunku do *Blastocystis*. To oznacza, że prawdopodobnie będziemy obserwować wzrost liczby zarażeń tym pierwotniakiem i konsekwencje zdrowotne, w grupach pacjentów szczególnie wrażliwych na zachorowanie. Za równie ciekawe Recenzentka uznała informacje zawarte w rozdziale dotyczącym ochronnej, przeciwzapalnej roli *Blastocystis* w mikrobiomie jelitowym. Zjawisko to oczywiście wymaga dalszych badań.

Doktorant zaprezentował informacje na temat prawdopodobnych mechanizmów odpowiedzialnych za wystąpienie objawów. Zwrócił także uwagę na możliwość udziału *Blastocystis* w prawidłowym mikrobiomie przewodu pokarmowego u ludzi. Mgr Adam Kaczmarek przedstawia również kontrowersje na temat chorobotwórczości *Blastocystis* i braku metod różnicujących kolonizację i zarażenie. Co istotne, *Blastocystis* często jest wykrywany jednocześnie z innymi patogenami przewodu pokarmowego. To oznacza, że ustalenie na ile stwierdzane objawy mają związek akurat z *Blastocystis* może być trudne. Nie

jest też znany szczegółowo problem inwazji *Blastocystis* u osób z zaburzeniami odporności, nie tylko zakażonych HIV.

Doktorant jasno sformułował cele pracy dotyczące badań w Polsce: różnorodności genetycznej pierwotniaka *Blastocystis* występującego u ludzi i zwierząt stałocieplnych, subtypów *Blastocystis*, potencjału zoonotycznego *Blastocystis* u ludzi i zwierząt oraz ustalenia, czy istnieją subtypy charakterystyczne dla określonej grupy nosicieli. Metody badawcze zostały zastosowane prawidłowo, zgodnie z celami rozprawy. Zwraca uwagę użycie nowoczesnych technik molekularnych, co umożliwiło badania dotyczące m.in. subtypów.

Badania przeprowadzono na dużej, reprezentatywnej liczbie prób kału wynoszącej 1413, w tym 784 od ludzi i 629 od różnych gatunków zwierząt dziko żyjących, z ogrodów zoologicznych, zwierząt hodowlanych oraz towarzyszących. Materiał ludzki pochodził od osób zlecających badania koprologiczne, po uprzednim wyrażeniu przez pacjentów zgody na udział w badaniu.

Wyniki badań: Doktorant przedstawił ogromną liczbę niezwykle ciekawych wyników badań dotyczących występowania i subtypów *Blastocystis* u ludzi oraz różnych gatunków zwierząt. Mgr Adam Kaczmarek szczegółowo opisuje występowanie poszczególnych subtypów u określonych żywicieli, rozwijając informacje zawarte w tabelach 5 i 6. Uzyskane wyniki dotyczące niektórych subtypów były pierwszymi takimi otrzymanymi w Polsce, co świadczy o oryginalności badań. Wyniki te wskazują na olbrzymią różnorodność zarażeń i możliwość krążenia subtypów pomiędzy ludźmi i zwierzętami. Recenzent zwrócił uwagę na informację dotyczącą występowania subtypu 9 w Polsce tylko u ludzi. W żadnym przypadku, pomimo dużej liczby prób, nie stwierdzono go u zwierząt.

Nasuwa się pytanie na ile przedstawione przez Doktoranta wyniki badań związane są z nowoczesną diagnostyką i celem nastawionym na wykrycie *Blastocystis*, a na ile z realnym

wzrostem liczby zarażeń tym patogenem wśród ludzi i w świecie zwierząt. Uzyskane wyniki stanowią cenny materiał porównawczy i mogą być podstawą dalszych obserwacji, z uwzględnieniem chorobotwórczości u ludzi. Z klinicznego i epidemiologicznego punktu widzenia, temat jest cały czas nowy i ważny, co stanowi o wartości prezentowanej rozprawy doktorskiej, tym bardziej że trudno jest aktualnie przewidzieć dalszy rozwój i przebieg zarażeń u ludzi i zwierząt,

Dyskusja jest prowadzona prawidłowo, choć powinna mieć więcej odniesień do danych epidemiologicznych z innych rejonów świata, nie tylko prezentowanych w formie tabeli.

Poniżej przedstawiam uwagi dotyczące treści rozprawy.

- Doktorant powinien podać informację, w jakich ramach czasowych prowadził badania u zwierząt i ludzi; ciekawe byłoby porównanie występowania zarażeń w poszczególnych latach obserwacji
- W pracy zwracają uwagę rozbieżności dotyczące liczby badań podane w różnych częściach rozprawy: 1400, czy 1413? U zwierząt 616 czy 629?;
- Recenzent nie rozumie informacji w podrozdziale „IV.4.2 SSAKI, Homo sapiens, człowiek rozumny, Obecność *Blastocystis sp* stwierdzono w 51 z 74 przebadanych prób (51/774) Uzyskane sekwencje odpowiadają następującym subtypom ST1, ST2, ST3, ST4, ST5, ST6, ST 7 i ST 9?- brak zgodności z informacjami zawartymi w Tabeli 5;
- W tabeli 5 podana łączna liczba prób wynosi 410, jednak powinna zostać doliczona również liczba badań u ludzi, albo należy pokazać osobno zarażenia u ludzi
- W tabeli 6 jest niezgodność w odniesieniu do informacji w tekście „Anser anser, gęgawa; W badanej populacji stwierdzono obecność *Blastocystis sp.* u 4 z 12 pulowanych prób. Uzyskana sekwencja odpowiada subtypowi ST7.” W tabeli 6 natomiast podano 0 dodatnich prób

- Podrozdział IV.1 WALIDACJA METODY POBIERANIA, PRZECHOWYWANIA I TRANSPORTOWANIA KAŁU ZA POMOCĄ WYMAZÓWEK NA PODŁOŻU

TRANSPORTOWYM umieszczony w rozdziale Wyniki i omówienie powinien znajdować się w rozdziale dotyczącym metodyki.

W rozdziale Wyniki i omówienie zawarto dużo informacji z doniesień literaturowych, które powinny być raczej elementami dyskusji.

Uwagi te nie umniejszają wartości rozprawy doktorskiej mgr Adama Kaczmarka, która uświadamia nam jak ważna, ale niedoceniana jest dobra diagnostyka parazytologiczna w codziennej pracy lekarskiej i jak jest jej brak.

Doktorant posiada dobrą znajomość tematu, zagadnień związanych z *Blastocystis* i porusza się swobodnie w opracowanym temacie.

Rozprawa mgr Adama Kaczmarka stanowi przykład wartościowej i krytycznej analizy dotyczącej epidemiologii *Blastocystis* u ludzi i zwierząt i spełnia wszystkie wymogi formalne i merytoryczne rozprawy doktorskiej.

Rozprawa doktorska mgr Adama Kaczmarka spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2018 poz. 1668)”

Zwracam się z uprzejmą prośbą do Rady Dyscypliny Nauk Medycznych WUM o jej przyjęcie i dopuszczenie mgr Adama Kaczmarka do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Prof. dr hab. n. med. Brygida Knysz