Gdański Uniwersytet Medyczny
Wydział Nauk o Zdrowiu z Oddziałem Pielęgniarstwa
i Instytutem Medycyny Morskiej i Tropikalnej

mgr inż. Monika Rudzińska

ROZPRAWA DOKTORSKA

Badania nad występowaniem i zróżnicowaniem genotypowym *Blastocystis* izolowanych od ludzi i wybranych grup zwierząt w województwie pomorskim

Studies on the occurrence and genotypic diversity of *Blastocystis* isolated from humans and selected groups of animals in the Pomeranian Voivodeship

Praca wykonana pod kierunkiem
dr hab. n. med. Beaty Szostakowskiej
w Zakładzie Parazytologii Tropikalnej GUMed

Gdańsk, grudzień 2021

Streszczenie

Blastocystis jest prawdopodobnie najbardziej rozpowszechnionym mikroeukariotycznym organizmem zasiedlającym jelito grube u wielu gatunków zwierząt i co najmniej miliarda ludzi świecie. Patogeniczność drobnoustroju jest dyskusyjna, wiele osób zarażonych nie ma żadnych objawów chorobowych, podczas gdy część skarży się na dolegliwości, głównie ze strony przewodu pokarmowego. *Blastocystis* izolowane od ludzi i zwierząt wykazują rozległą zmienność genetyczną – w oparciu o metody biologii molekularnej ustalono 25 podtypów (ST; ang. *subtype*) drobnoustroju, z których dwanaście (ST1–ST10, ST12, ST14) jest wspólnych dla ludzi oraz innych ssaków i ptaków. To wskazuje na możliwość transmisji odzwierzęcej i/lub antroponotycznej, a podobieństwa między izolatami pochodzącymi od niektórych zwierząt i ludzi potęgują to przypuszczenie. Transmisja *Blastocystis* zachodzi najprawdopodobniej drogą fekalno-oralną przez kontakt z zarażonym lub wodą, żywnością czy przedmiotami zanieczyszczonymi kałem zawierającym cysty *Blastocystis*.

Niniejsza rozprawa miała na celu uzupełnienie wiedzy dotyczącej epidemiologii *Blastocystis* na podstawie badań ludzi i wybranych grup zwierząt z województwa pomorskiego.

W pracy określono częstość zarażeń *Blastocystis* wśród pacjentów Przychodni Chorób Zakaźnych, Tropikalnych i Pasożytniczych IMMiT badanych w kierunku obecności pasożytów jelitowych. Stwierdzono, że na przestrzeni lat 1992-2010 nastąpił 14-krotny wzrost liczby osób zarażonych, oraz że począwszy od roku 1995 *Blastocystis* był najczęściej wykrywanym organizmem spośród pierwotniaków i helmintów bytujących w przewodzie pokarmowym badanych osób.

Następnie, w oparciu o badania molekularne, zidentyfikowano podtypy *Blastocystis* występujące u osób podróżujących do stref klimatu gorącego i nieopuszczających Polski. Stwierdzono, że ST2, a szczególnie ST1 mogły być nabywane przez ludzi podczas podróży. W kolejnych etapach pracy oceniano możliwość transmisji *Blastocystis* pomiędzy zwierzętami i ludźmi.

Określono częstość zarażenia (44,4% - 50%) i podtypy *Blastocystis* (głównie ST5) występujące u trzody chlewnej w województwie pomorskim. Dzięki temu, że badania wykonano dwiema metodami molekularnymi (najczęściej wykorzystywanymi przez badaczy do wykrywania i identyfikacji podtypów *Blastocystis* w próbkach kału) wykazano, że użycie każdej z metod

osobno powoduje, że część zarażeń *Blastocystis* pozostaje niewykryta (STS-PCR – 9,39%, barcoding – 8,72%).

W badaniu zwierząt z Gdańskiego Ogrodu Zoologicznego i ich opiekunów zaobserwowano, że jedynie dwa podtypy tj. ST1 i ST3 obecne były i u zwierząt (małp), i u ludzi. Występowanie identycznej sekwencji ST1 u trzech małp i osoby sprawującej nad nimi opiekę pokazało, że w sprzyjających okolicznościach możliwa jest transmisja ST1 pomiędzy małpami i ludźmi, chociaż kierunku transmisji ze 100% pewnością określić nie można.

W badaniu zwierząt towarzyszących (psy, koty, gryzonie i gady) i ich właścicieli obecność *Blastocystis* stwierdzono tylko u gadów (30% zbadanych), ale sekwencje tych izolatów były odmienne od sekwencji referencyjnych z GenBank pochodzących od ludzi. Ponadto drobnoustrój stwierdzono także u trzech osób będących właścicielami kotów, co oznacza, że zwierzęta te nie mogły być źródłem zarażenia *Blastocystis* dla swoich opiekunów.

Każdy z celów badawczych rozprawy poszerzył wiedzę na temat epidemiologii drobnoustroju, jednak do pełnego poznania kierunku transmisji drobnoustroju pomiędzy zwierzętami i ludźmi potrzebne są dalsze badania *Blastocystis* izolowanych od zwierząt i opiekujących się nimi osób.

słowa kluczowe: *Blastocystis*, ludzie, zwierzęta, transmisja, epidemiologia molekularna, Polska

Summary

Blastocystis is one the most widespread microeukaryote in the intestines of numerous animal species and at least a billion people in the world. The pathogenicity of the microorganism is debatable since lots of infected people do not have any symptoms of the disease, while some complaint about problems mainly from the gastrointestinal tract. *Blastocystis* isolated from humans and animals show extensive genetic variability. Based on molecular biology methods, 25 subtypes of *Blastocystis* have been established, twelve of which (ST1-ST10, ST12, ST14) are shared by humans and other mammals and birds. This indicates the possibility of zoonotic and/or anthroponotic transmission of *Blastocystis*, moreover, the high similarities between isolates from some animals and humans reinforce this assumption. Transmission of *Blastocystis* occurs via the fecal-oral route through contact with the infected individual or through water, food, or items contaminated with feces containing *Blastocystis* cysts.

The aim of this dissertation was to improve the knowledge on the epidemiology of *Blastocystis* based on studies of humans and selected groups of animals from the Pomeranian Voivodeship.

At the first stage, the frequency of *Blastocystis* infections among patients of Outpatient Clinic for Infectious, Tropical and Parasitic Diseases IMMiT undergoing parasitological coproscopic examinations was determined. It was observed a 14-fold increase in the number of people infected with *Blastocystis* in the years 1992-2010. Moreover, from 1995 *Blastocystis* was the most frequently detected organism among the protozoa and helminths inhabiting the gastrointestinal tract of the studied people.

Then, on the basis of molecular studies, the subtypes of *Blastocystis* occurring in people traveling to hot climate zones and not leaving Poland were identified. It was found that ST2, and especially ST1, could have been acquired by people during travel.

In the next stages of the work, the possibility of transmission of *Blastocystis* between animals and humans was assessed.

The frequency of infection (44.4% - 50%) and the subtypes of *Blastocystis* (mainly ST5) occurring in pigs in the Pomeranian Voivodeship were determined. The research was carried out using two molecular methods most often used by researchers to detect and identify *Blastocystis* subtypes in stool samples. This approach showed that when using each method

separately, some *Blastocystis* infections remain undetected (STS-PCR – 9.39%, barcoding – 8.72%).

In the study of animals from the Gdańsk Zoo and their keepers, it was observed that only two subtypes, i.e. ST1 and ST3, were present in both animals (monkeys) and humans. The presence of the identical ST1 sequence in the three monkeys and their caregiver showed that under favorable circumstances transmission of ST1 between monkeys and humans is possible, although the direction of transmission cannot be determined with 100% certainty.

In a study of companion animals (dogs, cats, rodents, reptiles) and their owners, the presence of *Blastocystis* was only found in reptiles (30% of tested), but the sequences of these isolates differed crucially from the human reference sequences from GenBank. *Blastocystis* was also found in three people who owned cats, which means that these animals could not be a source of *Blastocystis* infection for their owners.

Each of the research objectives of the dissertation has broadened knowledge of the epidemiology of *Blastocystis*, however, further studies of animals and their caregivers are needed to fully clarify the direction of *Blastocystis* transmission between humans and animal hosts.

keywords: *Blastocystis*, humans, animals, transmission, molecular epidemiology, Poland