

dr hab. n. med i n. o zdr. Ruslan Sałamatin
Katedra Biologii Ogólnej i Parazytologii
Warszawski Uniwersytet Medyczny
Chałubińskiego 5
02-004 Warszawa

Warszawa, 18.03.2022

**Recenzja rozprawy doktorskiej mgr inż. Moniki Rudzińskiej
pod tytułem „Badania nad występowaniem i zróżnicowaniem genotypowym *Blastocystis*
izolowanych od ludzi i wybranych grup zwierząt w województwie pomorskim”**

Recenzowana rozprawa dotyczy badań nad występowaniem i zróżnicowaniem genetycznym *Blastocystis* izolowanych od ludzi i wybranych grup zwierząt.

Blastocystis jest pasożytniczym pierwotniakiem występującym zarówno u ludzi jak i u zwierząt na całym świecie. Bytuje w świetle jelita grubego w formie wielopostaciowych trofozoitów. Formą dyspersyjną są cysty *Blastocystis*.

Badania molekularne wykazały, że pierwotniaki te wykazują znaczne zróżnicowanie genetyczne, między innymi w obrębie genu kodującego rRNA małej podjednostki rybosomu. W oparciu o te różnice, *Blastocystis* podzielono na grupy genetyczne nazywane subtypami (podtypami). Obecnie wyróżniono 28 subtypów (ST1–ST17, ST21, ST23–ST32), z czego co najmniej 12 subtypów stwierdzono u ludzi. *Blastocystis* wykazuje wysoki potencjał zoonotyczny, o czym świadczy obecność u ludzi subtypów ST1–ST10, ST12 oraz ST14 zarówno u ludzi jak i u zwierząt. Działanie patogenne pasożyta nie zostało do końca udokumentowane, choć jego obecność u ludzi wiąże się z objawami gastroenterologicznymi i skórными, a niektórzy autorzy wskazują na wyższą prewalencję tego pasożyta u osób z deficytami odporności. Dlatego poznanie źródeł zarażenia oraz rezerwuaru pasożyta wpisuje się w koncepcję *One Health* i uzasadnia, że zdrowia człowieka nie da się oddzielić od zdrowia zwierząt. Z perspektywy tej idei temat rozprawy doktorskiej jest aktualny i w pełni uzasadniony.

Rozprawa doktorska stanowi spójny tematycznie zbiór 5 artykułów opublikowanych w recenzowanych czasopismach naukowych oraz referat. Wartość punktowa opublikowanych prac wchodzących w skład rozprawy wynosi 323 punkty, a trzy z tych prac zostały opublikowane w czasopismach posiadających współczynnik oddziaływania IF (łączna wartość IF wynosi 11,344!). W czterech z pięciu ww. publikacji Pani **mgr inż. Monika Rudzińska** jest pierwszym autorem.

Recenzowana rozprawa ma właściwą strukturę: zawiera takie rozdziały jak „Wprowadzenie”, „Cel pracy”, „Materiały i metody”, „Omówienie prac oryginalnych będących przedmiotem rozprawy doktorskiej”, „Kopie prac naukowych będących przedmiotem rozprawy doktorskiej oraz oświadczenia współautorów”, „Podsumowanie i wnioski” oraz załącznik

wpiętno 23 03 2022 glu.

(manuskrypt w przygotowaniu). Przedstawiono też streszczenia w języku polskim i angielskim oraz wykaz piśmiennictwa.

Należy zwrócić uwagę na poprawność formalno-językową pracy oraz odpowiedni dobór literatury. Na podstawie oświadczeń autorów można ocenić, że Doktorantka odgrywała wiodącą rolę w powstawaniu ww. prac. Świadczy to o samodzielności Doktorantki w zakresie przeprowadzonych badań.

Podstawowym celem rozprawy było zbadanie występowania i zróżnicowania genetycznego *Blastocystis* izolowanych od ludzi i wybranych grup zwierząt. W celach szczegółowych Doktorantka skupiła się na wykazaniu prewalencji *Blastocystis* wśród pacjentów Przychodni Chorób Zakaźnych, Tropikalnych i Pasożytniczych, a także zbadaniu wpływu podróży do krajów tropikalnych na możliwość zawlekania tych pasożytów. Doktorantka zajęła się również problemem transmisji *Blastocystis* pomiędzy ludźmi i zwierzętami a także określeniem roli zwierząt jako rezerwuaru pasożytów. Materiałem do badań był kał pobierany od ludzi i zwierząt.

Pierwszy przedstawiony artykuł „Diagnostyka laboratoryjna zarażeń *Blastocystis* – wyzwania i kontrowersje” został opublikowany w czasopiśmie „Diagnostyka laboratoryjna” i jest pracą poglądową. Autorzy dokonali przeglądu piśmiennictwa dotyczącego problemów związanych z diagnostyką zarażeń *Blastocystis* oraz sformułowali wskazówki, które niewątpliwie przyczynią się do zwiększenia skuteczności wykrywania u ludzi zarażeń tym organizmem. Szczegółowe omówienie pracy nie zostało przedstawione w ramach rozprawy (omówione zostały tylko prace oryginalne).

Dруга przedstawiona praca „Ocena częstości zarażeń pasożytami jelitowymi wśród pacjentów przychodni Instytutu Medycyny Morskiej i Tropikalnej w Gdyni w okresie ostatnich 30 lat”, również została opublikowana w czasopiśmie „Diagnostyka laboratoryjna”. Przedstawiono wyniki retrospektywnej analizy dokumentacji parazytologicznej 52 118 pacjentów Wojewódzkiej Przychodni Chorób Tropikalnych i Pasożytniczych IMMiT. W pracy tej, Autorzy zwrócili uwagę na czternastokrotny wzrost częstości wykrywania pierwotniaka *Blastocystis* na tle innych wykrywanych pasożytów. Po raz pierwszy odnotowano *Blastocystis* w 1992 roku na poziomie 1,34%, a już w roku 2010 częstość zarażenia wynosiła 18,8%.

Doktorantka swoje obserwacje uzasadniła coraz wyższą możliwością nabywania tego pierwotniaka przez ludzi, jednak do interpretacji wyników należy podejść z dużą ostrożnością. Przez wiele lat *Blastocystis* nie był odnotowywany w badaniach parazytologicznych kału, ponieważ jego ewentualne wykrycie nie było traktowane jako warte szczególnej uwagi. Nie można wykluczać, że wzrost wykrywania *Blastocystis* był spowodowany przede wszystkim ulepszeniem diagnostyki i wzrostem zainteresowania tym pasożytem.

Autorka podaje, że „celem tej pracy była ocena częstości zarażenia *Blastocystis* na tle zarażeń innymi pasożytami przewodu pokarmowego”. Właściwszym sformułowaniem byłoby napisanie, że ocena częstości zarażenia *Blastocystis* była jednym z celów tej pracy. We wstępie artykułu (str. 9) wskazano, że „celem pracy była ocena częstości występowania [wszystkich – R.S.] pasożytów jelitowych”. Ta uwaga oczywiście nie dotyczy samego artykułu, którego wartość merytoryczną oceniam jako wysoką. Należy też podkreślić dużą liczbę przeanalizowanych

danych, które wnoszą nowe informacje epidemiologiczne dotyczące zarażeń pierwotniakami jelitowymi w Polsce.

W trzeciej publikacji cyklu doktorskiego „*Blastocystis* subtypes isolated from travelers and non-travelers from the north of Poland – a single center study”, o charakterze oryginalnym, opublikowanej w czasopiśmie „*Infection, Genetics and Evolution*”, Doktorantka i jej współautorzy skoncentrowali się na zbadaniu możliwości zarażenia się przez ludzi *Blastocystis* podczas podróży do krajów tropikalnych. Pod uwagę wzięto grupę 92 osób po powrocie z krajów klimatu gorącego oraz grupę 30 osób, które nigdy nie wyjeżdżały z kraju. Wyniki badania ujawniły pięć subtypów *Blastocystis* (ST1, ST2, ST3, ST6 i ST7) – jest to cenna informacja dla poznawania epidemiologii *Blastocystis* u ludzi w Polsce. Doktorantka zaobserwowała również, że pacjenci podróżujący do krajów tropikalnych częściej zarażali się subtypami ST1 oraz ST2, co jest zgodne z obserwacjami innych autorów o występowaniu różnych subtypów u ludzi w różnych rejonach geograficznych na świecie. To ważne z punktu widzenia możliwości zawlekania do kraju *Blastocystis* przez podróżujących i powinno być brane pod uwagę w aspekcie klinicznym u osób powracających z podróży. W mojej ocenie zaplanowanie badań oraz ich realizacja świadczą o dobrym przygotowaniu metodycznym Doktorantki i są niewątpliwym wynikiem dużego doświadczenia badawczego.

W ramach zaplanowanych celów Autorka zajęła się zbadaniem występowania *Blastocystis* u różnych grup zwierząt, a także określeniem transmisji tych pasożytów pomiędzy ludźmi i zwierzętami. Wyniki tych badań Doktorantka upubliczniła w kolejnych publikacjach.

W czwartej pracy opiniowanego cyklu doktorskiego „*First Report on the Occurrence and Subtypes of Blastocystis in Pigs in Poland Using Sequence-Tagged-Site PCR and Barcode Region Sequencing*” opublikowanej w czasopiśmie „*Pathogens*”, przedstawiono wyniki badań dotyczące występowania *Blastocystis* u trzody chlewnej. Po raz pierwszy w Polsce stwierdzono obecność u świń trzech subtypów (ST1, ST3, ST5), a dominacja ST5 wskazuje, że świnie są naturalnym żywicielem tego subtypu. Na uwagę zasługuje również wysoka prewalencja *Blastocystis* (prawie 50%) w badanej populacji świń. Doktorantka podkreśla, że ponieważ wszystkie wykryte subtypy *Blastocystis* występują również u ludzi, świnie mogą stanowić potencjalny rezerwuuar pasożyta.

W ostatniej publikacji cyklu doktorskiego „*Molecular Characterization of Blastocystis from Animals and Their Caregivers at the Gdańsk Zoo (Poland) and the Assessment of Zoonotic Transmission*”, opublikowanej w czasopiśmie „*Biology*”, doktorantka skupiła się na zbadaniu występowania *Blastocystis* u zwierząt hodowanych w ogrodzie zoologicznym oraz u opiekunów tych zwierząt. W wyniku tych badań zidentyfikowano osiem podtypów *Blastocystis* (ST1–ST3, ST5, ST8, ST10, ST13, ST14). Ważną obserwacją jest również wykazanie identycznych sekwencji ST1 u małp i ich opiekuna, co może wskazywać na możliwość transmisji pasożyta. Doktorantka wskazała również na niską specyficzność żywicielską subtypów ST1 i ST3, co w kontekście przeprowadzonego badania potwierdza rezerwuuarową rolę zwierząt w transmisji *Blastocystis*.

Zatem Autorka konsekwentnie realizuje postawione cele pracy, a uzyskane wyniki są ważnym uzupełnieniem wiedzy dotyczącej epidemiologii pasożyta. Dobór metod zastosowanych w badaniu jest odpowiedni i nie budzi zastrzeżeń.

W przedstawionej rozprawie doktorskiej Autorka załączyła również manuskrypt w przygotowaniu pt: „Występowanie *Blastocystis* u zwierząt towarzyszących i ich właścicieli”. Wyniki badań wpisują się w cele niniejszej rozprawy i są ważną obserwacją uzupełniającą wiedzę o zwierzętach towarzyszących w aspekcie epidemiologicznym. Na uwagę zasługuje wysoka liczba zbadanych zwierząt; choć nie wykazano obecności *Blastocystis* u psów i kotów, to warto podkreślić wykazanie po raz pierwszy w Polsce *Blastocystis* u agam brodatych i gekona lamparciego. Jednak genotypów zidentyfikowanych u tych gadów nie stwierdzono u ludzi, a zatem jest to cenna informacja, że nie stanowią one rezerwuaru tego pasożyta.

Uzyskane wyniki pozwalają wnioskować, że poznanie epidemiologii *Blastocystis* jest wartościowym uzupełnieniem wiedzy dotyczącej występowania pasożytów jelitowych w Polsce. Dobór piśmiennictwa jest właściwy. Opisy bibliograficzne cytowanych źródeł sporządzone na ogół poprawnie i zgodnie z przyjętymi zasadami.

Podczas czytania pracy stwierdziłem pewne nieścisłości, które wymagają komentarza:

- Trudno zgodzić się z określeniem „gen kodujący małą podjednostkę rRNA”, prawidłowym tłumaczeniem angielskiego „small subunit ribosomal RNA” jest „rRNA małej podjednostki rybosomu” – do tej pory opisano 32 subtypy *Blastocystis*, z których nie podważa się odrębności 28 (Autorka podaje 25, *vide*: str. 8).
- Str. 11. Sformułowanie „sekwencji w pełnym genie” jest nienajlepsze, właściwszym określeniem byłoby „pełna/cała sekwencja genu”.
- Str. 11. Właściwy zapis nazwy taksonu jest Sar, a nie SAR.
- Str. 12. Trudno zgodzić się ze sformułowaniem, że „przez prawie 100 lat klasyfikacja gatunkowa opierała się na gospodarzu”. Pomijam już kolokwialny charakter sformułowania „klasyfikacja ... opierała się na gospodarzu”, ale pozwolę sobie zwrócić uwagę na ten fakt, iż 12 z 18 opisanych gatunków *Blastocystis* zostały opisane dopiero pod koniec XX w., trudno więc mówić o „prawie 100 lat”.
- Str. 12. Autorzy nowych gatunków nigdy nie deklarowali, że gatunki te są morfologicznie identyczne; co najwyżej możemy powiedzieć, że gatunki te są trudne do różnicowania na podstawie cech morfologicznych.
- Str. 17. Sformułowanie „synergia podtypu z gospodarzem” jest dla mnie niezrozumiałe.
- Str. 23. Rycina 5 (z publikacji 2016 roku) jest niezgodna z nowszymi danymi przywołanymi przez autorkę (danymi z 2021 r.).
- Str. 10 i str. 24. Uważam za niestosowne zamieszczenie w rozprawie wklejonych zrzutów z ekranu cytowanych publikacji (mam tu na myśli nie ilustracje, a tekst). Wystarczyłoby samo odniesienie się do konkretnej publikacji. W szczególnych przypadkach cytowaną treść należało przepisać i przetłumaczyć.
- Str. 37. Informacja o wykryciu subtypu ST1 u świń wchodzi w pewną sprzeczność z wcześniejszą sugestią Autorki o importowanym charakterze ST1. Chciałbym poznać opinię Autorki na ten temat.
- Str. 112. Nieoczywisty jest dla mnie związek pomiędzy kwestią patogeniczności a metodyką diagnostyki laboratoryjnej.
- Str. 114. Autorka rozważa zagadnienie czy świny zarażają się od ludzi, czy ludzie od świń. Moim zdaniem, warto też wziąć pod uwagę możliwość równoległego zarażania się i ludzi i świń od trzeciego (nieznanego nam) źródła.

Pozwolę sobie zaznaczyć, że prawie wszystkie moje uwagi dotyczą wyłącznie tekstu Rozprawy, a nie samych artykułów. Opublikowane artykuły oceniam wysoko i nie mam do nich zastrzeżeń. Dlatego, wskazane uchybienia nie wpływają na ocenę wartości merytorycznej całej pracy, a wymagają jedynie wyjaśnienia.

Reasumując: przedstawiona przez mgr inż. Monikę Rudzińską rozprawa doktorska w formie spójnego cyklu pięciu artykułów dotyczy aktualnych problemów badawczych. Wskazane przez Doktorantkę cele szczegółowe zostały sformułowane prawidłowo i konsekwentnie realizowane a wnioski przedstawione jednoznacznie i rzeczowo. Doktorantka dobrze opanowała metodologię złożonych badań naukowych, potrafi poprawnie interpretować wyniki oraz wykorzystywać źródła literaturowe. Uzyskane wyniki stanowią istotne uzupełnienie stanu wiedzy.

W związku z powyższym stwierdzam, że recenzowana **rozprawa mgr inż. Moniki Rudzińskiej spełnia warunki** określone art. 190 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. „Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce” (Dz. U. 2018 poz. 1668). Zwracam się zatem do Rady Nauk o Zdrowiu Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego o dopuszczenie mgr inż. Moniki Rudzińskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Biorąc pod uwagę, że uzyskane wyniki wnoszą ważny wkład w rozwój wiedzy wnioskuję o wyróżnienie tej Rozprawy.


dr hab. n. med. i n. o zdr. Ruslan Saifamatin