

Recenzja
Wub selu o dyozure
Prodzikan
Wydziału Lekarskiego
ds. Nauki
Małgorzata Smogula

Zakład Laboratoryjnej Diagnostyki Klinicznej Pawłowska
Uniwersytet Medyczny w Białymstoku
15-274 Białystok, ul. J. Waszyngtona 15A

Prof. dr hab. n. med. Joanna Matowicka-Karna
Kierownik
Zakładu Laboratoryjnej Diagnostyki Klinicznej
Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku

**Recenzja doktoratu Małgorzaty Smoguly pt.: "Prewalencja chorób
wywoływanych przez pierwotniaki pasożytnicze oraz wpływ wybranych
czynników na ich przeżywalność i wykrywanie na przykładzie
Giardia intestinalis i *Toxoplasma gondii*"**

**Praca realizowana w Katedrze Biologii i Biochemii Medycznej
Collegium Medicum w Bydgoszczy
Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu**

Promotor – Dr hab. Celestyna Mila-Kierzenkowska, prof. UMK

Stały postęp w dziedzinie medycyny, w tym rozwój parazytologii medycznej i poprawa warunków życia ludności w Europie (w tym w Polsce) spowodowały, że wiele parazytoz zalicza się do chorób zanikających. Pomimo wszystko problem chorób pasożytniczych takich jak giardioza i toksoplazmoza wciąż istnieje. Do zarażenia *Giardia intestinalis* dochodzi głównie drogą pokarmową przez spożywanie żywności lub wody zanieczyszczonej cystami tego pasożyta. Dlatego też bardzo ważne jest bezpieczeństwo biologiczne żywności i kontrola procesów produkcyjnych w ograniczeniu rozprzestrzeniania się i eliminacji inwazji pasożyta.

Do zarażenia *Toxoplasma gondii* dochodzi po spożyciu niedogotowanego mięsa zwierząt z cystami tkankowymi (zawierającymi bradyzoity), po spożyciu pokarmu lub wody zanieczyszczonej odchodami kotów (oocysty ze sporozoitami), przez transfuzję krwi lub przeszczepy narządów czy też przez łożysko od matki do płodu (tachyzoity).

Celem badań w przedstawionej do recenzji rozprawie doktorskiej była ocena prewalencji chorób wywoływanych przez pierwotniaki pasożytnicze oraz wpływu wybranych czynników fizycznych, chemicznych i biologicznych na ich przeżywalność i wykrywanie na przykładzie *Giardia intestinalis* i *Toxoplasma gondii*. Z uwagi na powyższe, cel i założenia przedłożonej do recenzji rozprawy doktorskiej są niezwykle istotne i wpisują się w trendy naukowe i kliniczne.

Przedstawiona do oceny dysertacja jest opracowaniem na podstawie cyklu trzech publikacji oryginalnych i jednej pracy poglądowej. W mojej ocenie, układ pracy jest przejrzysty i zgodny z wymaganiami stawianymi rozprawom doktorskim.

Dysertację rozpoczyna spis treści, wykaz skrótów oraz wstęp pracy. Właściwą treść rozprawy rozpoczyna zwięzłe wprowadzenie, które w sposób syntetyczny i kompleksowy omawia zagadnienia związane z tematem rozprawy doktorskiej. Doktorantka omawia we wstępie epidemiologię, cykl rozwojowy oraz ogólną charakterystykę *Giardia intestinalis*. W kolejnym punkcie charakteryzuje postaci kliniczne giardiozy i wnikliwie analizuje metody diagnostyczne służące do identyfikacji pasożyta oraz opisuje skrótowo leczenie tej parazytozy. Potem doktorantka przechodzi do opisu kolejnego pierwotniaka chorobotwórczego czyli *Toxoplasma gondii*. W opisie znalazły się epidemiologia, ogólna charakterystyka pasożyta, jego formy rozwojowe łącznie z cyklem rozwojowym. W kolejnym punkcie następuje opis postaci klinicznych toksoplazmozy i diagnostyka laboratoryjna wykorzystywana do wykrywania zarażenia tym pierwotniakiem. Na zakończenie doktorantka opisuje metody leczenia tej parazytozy.

Część doświadczalną doktorantka podzieliła na pięć etapów. Pierwszy etap badań dotyczył oceny prewalencji *Giardia intestinalis* w wybranej populacji mieszkańców województwa kujawsko-pomorskiego. W drugim etapie doktorantka oceniała wpływ wybranych czynników na wykrywanie *Giardia intestinalis* metodą mikroskopową oraz immunoenzymatyczną w próbkach kału. Trzeci etap badań dotyczył oceny wpływu wybranych czynników fizycznych i chemicznych na wykrywanie *Giardia intestinalis* metodą mikroskopową oraz real-time PCR w hodowli aksenicznej. W czwartym etapie badań doktorantka oceniała seroprewalencję *Toxoplasma gondii* u osób o wysokim ryzyku zakażenia wirusem HIV wśród mieszkańców województwa kujawsko-pomorskiego. W piątym etapie badania doktorantka dokonała przeglądu literatury dotyczącej metod diagnostycznych (serologicznych i molekularnych)

wykorzystywanych do wykrywania zarażenia *Toxoplasma gondii* u osób immunoniekompetentnych (zakażonych wirusem HIV).

Efektem przeprowadzonych badań są trzy prace oryginalne stanowiące cykl publikacji tematycznych i jedna praca pogładowa. We wszystkich pracach oryginalnych Pani mgr Małgorzata Smoguła jest pierwszym autorem. Cykl trzech tematycznie powiązanych prac oryginalnych i pracy pogładowej został opublikowany w latach 2022 – 2023 o łącznej punktacji IF 10,279 i punktacji MEiN 310 pkt.

Głównym założeniem i celem naukowym rozprawy doktorskiej była ocena prewalencji chorób wywoływanych przez pierwotniaki pasożytnicze oraz wpływu wybranych czynników fizycznych, chemicznych i biologicznych na ich przeżywalność i wykrywanie na przykładzie *Giardia intestinalis* i *Toxoplasma gondii*.

W pierwszej publikacji doktorantka oceniała wpływ wybranych czynników biologicznych, takich jak szczepy bakteryjne, wirusy oraz czynników chemicznych – substancji dodawanych do żywności – na wykrywanie *Giardia intestinalis* metodami mikroskopowymi i immunoenzymatycznymi. W pracy wykazała, że cysty *Giardia intestinalis* wykrywane są obiema metodami z taką samą 100 % czułością. Na wykrywanie pasożyta nie wpływają mikroorganizmy (bakterie i wirusy). Doktorantka wykazała, że kwas cytrynowy dodawany do próbek kału zmniejsza wykrywalność pierwotniaka i tym samym jego przeżywalność. Taki wynik badania sugeruje, że kwas cytrynowy dodawany do żywności jako przeciwutleniacz może zwiększać bezpieczeństwo żywności.

Druga publikacja dotyczy wpływu wybranych czynników fizycznych i chemicznych na ocenę przeżywalności i wykrywanie DNA *Giardia intestinalis* w hodowli aksenicznej. Wykorzystane zostały w tej publikacji metody mikroskopowe i RT-PCR. W przeprowadzonych badaniach z użyciem metody mikroskopowej nie zaobserwowano wpływu 5 substancji: maltodekstryny, cytrynianu sodu, mleczanu wapnia, glikolu propylenowego i wodorowęglanu sodu na wykrywanie *G.intestinalis*. Natomiast oceniając wpływ wszystkich czynników na wykrywanie DNA *G.intestinalis* metodą RT-PCR aż 19 z nich nie wykazywało wpływu na przebieg reakcji. Doktorantka udowodniła, że metoda RT-PCR charakteryzuje się większą czułością diagnostyczną niż techniki mikroskopowe w wykrywaniu tego pasożyta.

W trzeciej publikacji doktorantka oceniała miano przeciwciał skierowanych przeciwko *Toxoplasma gondii* w surowicy osób o wysokim ryzyku zakażenia wirusem HIV. W badanej populacji stwierdzono występowanie przeciwciał IgG przeciwko *Toxoplasma gondii* w 23 próbach na 43 badane, natomiast obecności przeciwciał IgM nie stwierdzono. Wyniki badań dowodzą wysokiej prewalencji *T.gondii* wśród badanych osób z grupy wysokiego ryzyka zakażenia wirusem HIV.

Natomiast czwarta publikacja dotyczy przeglądu metod diagnostycznych, które mają zastosowanie w wykrywaniu zarażenia *T.gondii* u ludzi ale ze szczególnym uwzględnieniem pacjentów zakażonych wirusem HIV. „Złotym standardem” serologicznego wykrywania zarażenia *T.gondii* jest test barwnikowy Sabina-Feldmana. Test ten ocenia zmiany zachodzące w cytoplazmie żywych trofozoitów wywołane obecnością w surowicy krwi przeciwciał po zarażeniu. Innymi metodami opisywanymi w literaturze są metody biologii molekularnej, które wykrywają DNA pasożyta w krwi pełnej, płynie mózgowo-rdzeniowym, moczu, płynie oskrzelowo-pęcherzykowym, płynie owodniowym, krwi pępowinowej, tkankach łożyska, mózgu.

Szerokie zastosowanie w rutynowej diagnostyce mają metody serologiczne wykorzystywane do różnicowania ostrej i przewlekłej toksoplazmozy (badanie awidności).

Rozprawę kończy podsumowanie i cztery wnioski. Kolejną część rozprawy stanowi streszczenie w języku polskim i angielskim, w którym doktorantka w sposób klarowny i zrozumiały przedstawiła założenia, metodykę oraz uzyskane wyniki badań. Kolejny rozdział pracy stanowi spis literatury zawierający 66 pozycji wyłącznie anglojęzycznych z lat 2004 -2023. Dysertację zamykają oświadczenia autorki i współautorów publikacji będących podstawą rozprawy doktorskiej (I-IV).

W mojej ocenie przedstawione wyniki badań wnoszą bardzo wiele zupełnie nowych informacji na temat prewalencji chorób wywoływanych przez pierwotniaki pasożytnicze. Wyniki badań przeprowadzonych przez Doktorantkę są niezwykle interesujące, mają wysoki potencjał implikacyjny i mogą stanowić wstęp do dalszych badań wpływu różnych czynników fizycznych, chemicznych i biologicznych na przeżywalność i wykrywanie różnych pasożytów.

Podsumowując uważam, że przedłożona do recenzji dysertacja jest przemyślaną oraz dobrze zaprojektowaną pracą i zawiera wszystkie wymagane elementy rozprawy doktorskiej.

Wyniki badań przedstawiono w sposób logiczny, rzetelny, przejrzysty i konsekwentny, co potwierdza umiejętność Doktorantki do samodzielnego projektowania i prowadzenia prac badawczych. **W związku z powyższym wnioskuję o uznanie dysertacji za wyróżniającą się.**

Stwierdzam zatem, że rozprawa doktorska Pani mgr Małgorzaty Smoguły pt.: "Prewalencja chorób wywoływanych przez pierwotniaki pasożytnicze oraz wpływ wybranych czynników na ich przeżywalność i wykrywanie na przykładzie *Giardia intestinalis* i *Toxoplasma gondii*" stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego i spełnia wszystkie wymogi zwyczajowe i ustawowe, stawiane rozprawom doktorskim w postępowaniu o nadanie stopnia doktora nauk medycznych, określone w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2022 r., poz.574). W związku z powyższym wnioskuję do Rady Dyscypliny Nauki Medyczne Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy o dopuszczenie Pani Małgorzaty Smoguły do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora oraz o wyróżnienie rozprawy doktorskiej.

Kierownik

Zakładu Laboratoryjnej Diagnostyki Klinicznej



Prof. dr hab. n. med. Joanna Matowicka-Karna

