

Recenzja rozprawy doktorskiej magistra Adama Kaczmarka, na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu,

w dyscyplinie nauki medyczne, zatytułowanej:

„*Blastocystis* u ludzi i zwierząt stałocieplnych w Polsce: różnorodność genetyczna i potencjał zoonotyczny”

Rozprawa doktorska mgr. Adama Kaczmarka przyjmuje formę monografii. Układ tekstu jest przejrzysty, z podziałem na rozdziały i podrozdziały. Początkowo zastanawia rozbudowany, zajmujący ponad pięćdziesiąt stron pracy, wstęp stanowiący pierwszy rozdział rozprawy i obejmujący: historię badań nad *Blastocystis*, biologię, chorobotwórczość *Blastocystis*, leczenie blastocystozy, laboratoryjne metody wykrywania inwazji *Blastocystis*. Po lekturze całej rozprawy obszerność wstępu wydaje się uzasadniona. Właśnie we wspomnianym wyżej wstępie Doktorant zaznacza, że historia badań nad *Blastocystis* była burzliwa i obejmowała okresy zapomnienia tego organizmu. Lektura tegoż, pierwszego rozdziału nie pozostawiła u mnie najmniejszych wątpliwości odnośnie zasadności wyczerpującego omówienia zagadnienia klasyfikacji taksonomicznej obiektu badań. Biorąc pod uwagę liczne i znaczące zmiany pozycji taksonomicznej *Blastocystis*, w ponad stuletniej historii badań nad tym organizmem, obszerne ich opisanie jest niezbędne dla uniknięcia nieporozumień związanych ze zmieniającą się pozycją taksonomiczną tego mikroorganizmu oraz zmianami nazw gatunkowych w obrębie rodzaju *Blastocystis*. Z własnego doświadczenia wiem jak frustrujące potrafi być ustalanie, które nazwy, lub przynależność organizmów do konkretnych taksonów, są zgodne z aktualnym stanem wiedzy oraz, które z używanych w literaturze nazw gatunkowych, pochodzących z różnych okresów, odnoszą się do tego samego organizmu. Z powyższych względów uważam, że opisana historia zmian pozycji taksonomicznej *Blastocystis*, ułatwi czytelnikowi rozprawy poruszanie się w obrębie literatury dotyczącej *Blastocystis* i umiejscowienia dokonań mgr. Adama Kaczmarka w obrębie obecnie istniejącej wiedzy. Doktorant wyraźnie zaznacza wpływ stosowanych metod badawczych na klasyfikację taksonomiczną *Blastocystis*, wskazując jak zmieniające się techniki badań morfologii, biologii oraz badań molekularnych skutkowały zmianą poglądów odnośnie klasyfikacji i nazewnictwa taksonomicznego *Blastocystis*. Dzięki powyższym zabiegom, nawet osoba o nikłej znajomości systematyki nie powinna mieć wątpliwości odnośnie pozycji taksonomicznej *Blastocystis* oraz sposobu w jaki tę pozycję ustalono. Podrozdział I.1. wstępu, zatytułowany „Przegląd Historyczny”, kończy się krótką, jednozdaniową konkluzją odnośnie aktualnej pozycji taksonomicznej *Blastocystis*.

Terminy z zakresu nomenklatury taksonomicznej są wyjaśniane w tekście, niezwłocznie po ich użyciu np. na stronach 12. i 13 „... na podstawie Art. 12 Kodeksu Nomenklatury Zoologicznej nazwy te powinno się traktować jako nomen nudum (łac. „naga nazwa”)” czy stronie 16. „...zapropozowano dla

Blastocystis status incertae sedis (lat. „o niepewnej pozycji”).” Takie podejście jest uzasadnione, a wręcz wskazane, w pracy z dziedziny nauk medycznych i nauk o zdrowiu, której liczni odbiorcy nie będą ani zoologami ani specjalistami w dziedzinie taksonomii. We wstępie dokonano rzetelnego przeglądu literatury. Cytaty w postaci rycin, z trudno dostępnych prac, pochodzących z początku XX wieku, są z jednej strony ukłonem w stronę czytelnika, z drugiej prezentują tę część ówczesnego stanu wiedzy, która pozostaje aktualna do dziś. Obrazuje to przemyślane działanie doktoranta w kwestii odniesień do literatury tematu. Ponadto, Doktorant wykazał się dużą starannością w cytowaniu prac, przyjmując prawidłową konwencję cytowania pozycji oryginalnych, w których po raz pierwszy opisywano problem, do którego odnosi się cytowanie (co niestety, coraz częściej, przestaje być praktykowane).

Zamieszczenie listy gatunków w kolejnym podrozdziale: „1.1.2. Gatunki opisane w obrębie rodzaju *Blastocystis*” stanowi element przemyślanego układu tekstu, rozpoczynającego się od rysu historycznego i rozważań natury taksonomicznej, mającego kontynuację w opisie poszczególnych gatunków *Blastocystis*. Doktorant stwierdza, że dotychczas opisano co najmniej 22 odrębne gatunki w obrębie rodzaju *Blastocystis*, spośród nich 13 gatunków występowało u człowieka i zwierząt stałocieplnych, a dziewięć gatunków u zwierząt zmiennocieplnych. Doktorant konsekwentnie opisuje gatunki występujące u kręgowców stałocieplnych (ptaków i ssaków), następnie kręgowców zmiennocieplnych oraz jeden gatunek wykryty u bezkręgowców. Powyższy podział ma sens ze względów biologicznych i epidemiologicznych, gdyż prawdopodobieństwo, że zakres żywicieli pasożyta obejmuje różne organizmy stałocieplne lub zmiennocieplne jest większe niż, że przenosi się on pomiędzy organizmami zmiennocieplnymi i stałocieplnymi.

Kolejny podrozdział wstępu opisuje historię badań *Blastocystis* w Polsce. Jest to niezwykle intersujący opis tego, jak wiedza o pasożytach człowieka może pojawić się w środowisku medycznym a następnie zniknąć na dziesięciolecia. Pierwsza, polska praca na temat *Blastocystis*, jako pasożyte wykrywanym u dzieci, pojawiła się w 1955 roku, kolejna dopiero w 1972 roku. Następnie informacje o blastocystozie w Polsce nie ukazują się przez kolejnych 20 lat, co wskazuje Doktorant. W dalszej części podrozdziału Doktorant przedstawia przegląd prac i doniesień z konferencji naukowych dotyczących występowania, diagnostyki i leczenia zakażeń *Blastocystis* u ludzi zwierząt w Polsce, uwzględniając prace, których współautorem był on sam. Następująca dalej część rozprawy pokazuje wyraźny wzrost zainteresowania blastocystozą, jej aspektami biologicznymi oraz klinicznymi, poczynając od początku lat '90 ubiegłego wieku. Tytuł jednej z prac cytowanych w podrozdziale „1.1.3. Historia badań *Blastocystis* sp. w Polsce” (Prokopowicz D., Wierzbicka I., Kramarz P., Wiercińska-Drapała A. 1995. *Blastocystis hominis* - nowy patogen jelitowy? – pozycja 45. w spisie cytowanych prac), jest doskonałym przykładem na prawdziwość stwierdzenia zawartego we wstępie rozprawy doktorskiej mgr. Adama Kaczmarka, odnoszącego się do rodzaju *Blastocystis*: „Historia jego odkrycia i opisanie jest niezwykła i

obejmuje początkowy okres badań sprzed ponad 100 lat, lata zapomnienia oraz okres intensywnych badań w obecnych czasach”.

Kolejnym rozdział pracy nosi tytuł *Biologia*. Jest on wyczerpującym opisem organizmu, odnosi się do: żywicieli, biochemii i biologii komórki, czasu generacji, stadiów rozwojowych oraz wprowadzana jest koncepcja genotypów i ich specyficzności gatunkowej. Podrozdział morfologia opisuje formy: wakuolarną, granularną, ameboidalną oraz cysty. Należy podkreślić, że zdjęcia ilustrujące opis poszczególnych form, są starannie wykonane i dobrane. Powinny wzbudzić zainteresowanie zarówno zoologów jak i diagnostów laboratoryjnych wykorzystujących mikroskopię świetlną do swoich badań. Wspomniane zdjęcia stanowią przegląd graficzny, a właściwie fotograficzny, znanych form morfologicznych *Blastocystis* wraz z ich zwięzłym opisem.

Drogi szerzenia się blastocystozy zostały opisane ze szczególnym uwzględnieniem wody jako źródła zakażeń. Doktorant powołuje się na rekomendacje WHO i zwraca uwagę na odporność cyst *Blastocystis* na powszechnie używane metody uzdatniania wody pitnej.

Po krótkim opisie genomu następuje wprowadzenie do zagadnień związanych z mikrobiomem jelita, który to opis pozwala wprowadzić czytelnika rozprawy w zagadnienia interakcji *Blastocystis* z innymi organizmami, stanowiącymi składniki ludzkiego mikrobiomu. Doktorant przedstawia opisane w literaturze interakcje w układzie *Blastocystis*-mikrobiom-żywiciel i ich niejednoznaczny charakter. Z jednej strony Doktorant pokazuje, że istnieją przesłanki wskazujące, że *Blastocystis* może mieć korzystny wpływ na skład mikrobiomu i jego różnorodność gatunkową. Z drugiej strony cytuje wyniki badań wskazujących na negatywny wpływ *Blastocystis* na żywiciela. Przedstawione dane literaturowe wspierają wniosek Doktoranta braku możliwości ustalenia czy *Blastocystis* jest komensalem czy patogenem, na podstawie obecnego stanu wiedzy. W kolejnym podrozdziale wstępu, zatytułowanym „1.3. Chorobotwórczość *Blastocystis*, leczenie blastocystozy”, Doktorant wyraźnie zaznacza, że kwestia chorobotwórczości *Blastocystis* budzi kontrowersje. Pokazuje, że wyniki badań prowadzonych przez różne ośrodki są niejednoznaczne, a czasem wręcz sprzeczne. Na końcu podrozdziału, w pięciu punktach, Doktorant podsumowuje przyczyny, dla których trudno ustalić czy, lub w jakim stopniu, *Blastocystis* jest organizmem chorobotwórczym dla człowieka. Wszystkie z podniesionych wątpliwości są oparte o udokumentowaną w literaturze naukowej wiedzę i stanowią jej podsumowanie. W oddzielnym podrozdziale opisano hipotezy o kopatogenności *Blastocystis*, wraz z argumentami wspierającymi, jak i zaprzeczającymi tym hipotezom. Doktorant opisuje najczęściej stosowane terapie farmakologiczne i odsyła czytelnika do krajowych i zagranicznych wytycznych odnośnie leczenia farmakologicznego, lub odstąpienia od niego, oraz odnosi się do definicji skutecznej terapii przyjętej w literaturze naukowej: „W przypadku podjęcia terapii za skuteczną uważa się taką, po której pacjent nie

zgłasza już dolegliwości oraz nie stwierdza się obecności pierwotniaka w badaniach kału [93,164,165].”

Dla klinicystów przydatna może być Tabela 1. zatytułowana „Lista chemioterapeutyków stosowanych w zwalczaniu *Blastocystis sp.*”, która uwzględnia dawkowanie, efekty uboczne i skuteczność leczenia wyrażoną w procentach. Wstęp zakończony jest krótkim podsumowaniem metod diagnostyki laboratoryjnej stosowanych do wykrywania *Blastocystis*.

W rozdziale Założenia i cel pracy przedstawiono podstawowe założenia pracy:

- zbadanie różnorodności genetycznej pierwotniaka *Blastocystis* występującego u ludzi i zwierząt stałocieplnych na terenie Polski;

- zbadanie potencjału zoonotycznego *Blastocystis* na podstawie analizy wariantów genetycznych;

- sprawdzenie czy istnieją subtypy charakterystyczne dla zdefiniowanych grupy nosicieli.

W czterech punktach opisano drogę, którą założone cele miały zostać osiągnięte.

Rozdział III wstępu zatytułowany „Materiały i metody” przyjmuje formę typową dla takiej sekcji w artykułach z czasopism recenzowanych. Materiał biologiczny opisany jest precyzyjnie, określono miejsce pobrania oraz grupę ludzi i/lub zwierząt, od których pozyskano materiał. Podano również, kto uczestniczył w zbieraniu materiału biologicznego. Lokalizację geograficzną miejsc pochodzenia materiału biologicznego przedstawiono w formie map, jeśli było to możliwe i zasadne. Wszystkie etapy procesu badawczego można powtórzyć w oparciu o przedstawione informacje.

Wyniki i omówienie, podobnie do pozostałej części pracy zostały podzielone na podrozdziały co ułatwia analizę przedstawionych treści. Ta część pracy przedstawia wyniki pracy opatrzone komentarzami wyjaśniającymi ich znaczenie, to ostatnie, jak rozumiem, jest określone jako omówienie. Wspomniane omówienie stanowi wprowadzenie do dyskusji, a nie dyskusję, która zwarta jest w dalszej części tekstu.

Spektrum zgromadzonego materiału biologicznego, w odniesieniu do żywicieli było bardzo szerokie, obejmowało: człowieka i 73 gatunków zwierząt, w tym 33 gatunków ssaków należących do 7 rzędów i 41 gatunków ptaków należących do 6 rzędów co zaprezentowano w formie mapy i tabeli. Powyższe formy zestawienia wyników znacząco ułatwiają ich odbiór przez czytelnika. Wykaz stwierdzonych subtypów rozpoczyna się graficznym przedstawieniem wyników analizy filogenetycznej, po którym następuje opis o wystandardyzowanej strukturze, obejmujący trzy kategorie dla każdego subtypu *Blastocystis* cf. *Blastocystis hominis*: opis wykrytych alleli, żywicieli, oraz komentarz. Pole komentarz stanowi ekstrakt najistotniejszych informacji, w zwięzłej i syntetycznej formie, charakterystycznej dla stylu Doktoranta. Podobnie przedstawiono występowanie *Blastocystis* u różnych żywicieli. Intersujące są wyniki badań przeprowadzonych w Białowieży u zwierząt chronionych, choć przeprowadzone na ograniczonej próbie, jasno pokazują, że *Blastocystis* występuje

powszechnie, w naturalnym środowisku. Również opis przypadku układu pies-właściciel z psem jako potencjalnym rezerwuarem *Blastocystis* jest interesujący z punktu widzenia epidemiologicznego. W podrozdziale Podobieństwo struktury subtypów *Blastocystis* człowieka, innych ssaków i ptaków, w sposób ilościowy wykazano, że zoonotyczny potencjał ssaków jest większy niż zoonotyczny potencjał ptaków.

Wyniki uzyskane przez doktoranta mają dużą wartość poznawczą. Należy podkreślić, że Prace zespołu, do którego należy Doktorant, były, w gruncie rzeczy, pierwszymi pracami poświęconymi występowaniu i różnorodności *Blastocystis* u zwierząt w Polsce. Liczne spośród subtypów *Blastocystis* Doktorant odnotował jako pierwszy w Polsce. Przebadał ponad tysiąc próbek od ludzi i zwierząt.

Dyskusja to rozdział, w którym autor przedstawia swoje wyniki i wnioski w odniesieniu do obecnego stanu wiedzy, tak jak jest to przyjęte dla sekcji dyskusja. Doktorant zestawia wiedzę o występowaniu subtypów *Blastocystis* w Polsce in na świecie. Wskazuje, które subtypy występują w Polsce, które wykrył u ludzi w Polsce jako pierwszy (np.: ST4, ST5, ST6 i ST9). Wykazuje występowanie subtypu ST4, który uważany jest za odrębny gatunek *Blastocystis ratti*, zarówno u ludzi jak i szczurów laboratoryjnych. Zaznacza, że choć w obu wypadkach był to ten sam subtyp, jednak inne jego allele. Należy zgodzić się z Doktorantem, że kontynuacja badań, byłaby wskazana by sprawdzić czy człowiek i gryzonie są dla siebie nawzajem rezerwuarami tego subtypu. Z drugiej strony można by oczekiwać od Doktoranta opisanie przyczyn swoich wątpliwości. Ogromną zaletą omawianej dysertacji jest jej zwięzłość, precyzja formułowania myśli i unikanie zbędnych komentarzy. Jednak w dyskusji swoich wyników Doktorant mógłby być mniej lakoniczny i nawet, jeśli wniosek jest narzucający się, wyrazić go słowami zamiast zostawiać w domyśle. Po tej uwadze odnoszącej się do stylu powrócę do uwag merytorycznych.

Doktorant systematycznie badał występowanie *Blastocystis* u różnych zwierząt oraz człowieka starając się ustalić zakres specyficzności wobec żywicieli; które subtypy *Blastocystis* są zoonotyczne, a które mogłyby być uznane za antroponotyczne (specyficzne tylko dla człowieka) lub enzotyczne (występujące tylko u zwierząt).

Doktorant wykazuje, że większość subtypów wykrytych w Polsce można uznać za zoonotyczne. Jedynie subtyp ST9 był wykrywany wyłącznie u człowieka i formalnie można by uznać go za antroponotyczny w Polsce. Doktorant nie ryzykując nieuprawnionych wniosków stwierdza, że tę tezę pozwolą zweryfikować dalsze badania. Doktorant porównuje występowanie zoonotycznych i enzotycznych. Wskazuje, które z zoonotycznych subtypów występują u bydła oraz zwierząt dzikich (żubry, dziki, jelenie i wilki) w Polsce. Doktorant wykazał też obecność enzotycznego subtypu ST24 w Polsce, wyłącznie u kóz i owiec. Doktorant niezwykle syntetycznie ujmuje swoje wnioski i zachowuje w nich daleko idącą ostrożność, tu posłużę się przykładem: „Zatem wydaje się zasadnym stwierdzenie, że

zarówno zwierzęta jak i człowiek mogą stanowić rezerwuar tego pierwotniaka w obrębie subtypów ST1–ST8. Jednocześnie potwierdza to zoonotyczny potencjał *Blastocystis* i możliwość transmisji międzygatunkowej.

Powyższy cytat z rozprawy doktorskiej mgr Adama Kaczmarka jest uprawnioną konkluzją opartą na uzyskanych wynikach, świetnie je podsumowuje, jednak wydaje się nadmiernie oszczędną formą dyskusji. W żadnym stopniu nie umniejsza to wartości poznawczej rozprawy, najwyczejniej byłaby ona bardziej atrakcyjna gdyby Doktorant szerzej omówił swoje przemyślenia dotyczące krążenia *Blastocystis* pomiędzy różnymi żywicielami i ekosystemami.

Należy nadmienić, że Doktorant, wraz z zespołem, do którego należy, opracował metodykę pobierania i transportu próbek do badań w kierunku *Blastocystis*. Opracowany sposób transportu jest tani, transport może trwać kilka dni i zakończony jest hodowlą *Blastocystis*, która zwiększa szanse na wykrycie tego organizmu. Ponadto, hodowla pozwala na uzyskanie dużej ilości materiału do badań molekularnych. Zatem dokonania doktoranta mają też wymiar praktyczny, ponieważ, dostarczają stosunkowo taniej i przyjaznej dla pobierających materiał, metody medycznej diagnostyki laboratoryjnej zakażeń *Blastocystis*. Jednocześnie ta sama metodyka może być wykorzystywana do badań stricte naukowych.

Zanim przejdę do podsumowania przedstawiam listę uwag do tekstu i rysunków. W przeważającej większości dotyczą one błędów edytorskich lub nieprecyzyjnych sformułowań.

Uwagi:

1. Na stronie 3. rozprawy, poprzedzającej wstęp, znajdują się następujące słowa kluczowe: „*Blastocystis*, człowiek, ssaki, ptaki, pasożyt, różnorodność genetyczna, Polska”. Warto byłoby uzupełnić wykaz słów kluczowych o terminy: diagnostyka, diagnostyka laboratoryjna i leczenie, biorąc pod uwagę, że te zagadnienia są omawiane w treści rozprawy (leczenie jedynie we wstępie),
2. W zdaniu „Podsumowując, położenie *Blastocystis* wśród żywych organizmów na dzień dzisiejszy jest następujące: Eukaryota / Domena Diaphoretickes / Sar / Typ Stramenopiles / Gromada Bigyra / Opalozoa / Rząd Opalinata / Rodzina Blastocystidae / Rodzaj *Blastocystis*” użyto niepoprawnego zwrotu „na dzień dzisiejszy”, w przyszłych tekstach należy zastąpić go zwrotem „na dzisiaj” lub najwyczejniej słowem „dzisiaj”.
3. Błąd edytorski, na stronie 20 w jednym ze zdań użyto słowa „trakcje” zamiast „trakcie: „Pod koniec XX wieku, w trakcje przeglądu”
4. Opis wariantów molekularnych – subtypów, pojawia się w pracy dopiero w rozdziale „Biologia”, dla zachowania pełnej konsekwencji opis subtypów powinien pojawić się w

zoonotycznego. Skala przeprowadzonych badań, zarówno pod względem liczby zbadanych gatunków, ekosystemów, regionów geograficznych, podobnie jak i spektrum użytych technik oraz poruszanych zagadnień (systematyka, nomenklatura, biologia, diagnostyka laboratoryjna) są imponujące. Dużą zaletą rozprawy jest jej zwięzłość i syntetyczne przedstawienie omawianych zagadnień poparte solidnym i rzetelnym przeglądem dostępnych informacji – spis piśmiennictwa obejmuje 208 pozycji. Pracę czyta się dobrze, kolejne rozdziały i podrozdziały są logiczną kontynuacją poprzednich. Czytelnik w trakcie lektury stopniowo pozyskuje informacje niezbędne do zrozumienia zagadnień przedstawianych w następujących po sobie częściach rozprawy. W rezultacie powstała praca interesująca zarówno dla zaawansowanych badaczy *Blastocystis* oraz osób, które potrzebują wprowadzenia w problematykę *Blastocystis* i blastocystozy.

Wkład doktoranta w zdobywanie nowej wiedzy o *Blastocystis* jest znaczący i obejmuje: wykrycie *Blastocystis* u nowych żywicieli, potwierdzenie występowania licznych subtypów *Blastocystis* w Polsce, wskazanie subtypów występujących u ludzi i zwierząt w różnych ekosystemach, opracowanie i walidację metody transportu i hodowli *Blastocystis*. Spektrum przeprowadzonych badań rozciąga się od badań taksonomicznych, poprzez faunistyczne i molekularne do badań z zakresu laboratoryjnej diagnostyki medycznej. Potwierdzają to cztery prace opublikowane w czasopismach recenzowanych, wymienione w załączniku 1. do rozprawy doktorskiej, 16 doniesień z konferencji naukowych (załącznik 2. Do rozprawy doktorskiej) oraz sekwencje zgłoszone do banku genów (GenBank). Imponująca jest różnorodność zebranego materiału biologicznego, pochodzącego od: ludzi, zwierząt domowych, zwierząt dzikich w tym z terenów Białowieskiego Parku Narodowego. Doktorant przedstawia wyniki badań zarówno czysto naukowych, z zakresu zoologii, jaki i zakresu nauk stosowanych, z uwzględnieniem laboratoryjnej diagnostyki medycznej. Wszechstronność Doktoranta budzi szacunek i świadczy o dużym nakładzie czasu i pracy poświęconym na badania. Doktorant zrealizował wszystkie z założeń pracy.

Uważam, że rozprawa doktorska mgr. Adama Kaczmarka powinna zostać wydana w formie angielskojęzycznej monografii, po wprowadzeniu zmian związanych z konwersją z formy rozprawy Doktorskiej do formy zwykłej monografii i rozwinięciu dyskusji. Rozprawa doktorska mgr. Adama Kaczmarka jest to najbardziej kompletnym i aktualnym, znanym mi, źródłem wiedzy o *Blastocystis* w Polsce, z doskonałym, ogólnym przeglądem obecnie zgromadzonej wiedzy o tym organizmie. Pomimo, że pisałem to już kilkakrotnie, jeszcze raz to podkreślę, jedną z zalet stylu Doktoranta jest zdolność do syntetycznego, oszczędnego w słowach, przedstawiania opisywanych zagadnień. Wspomniana wyżej, angielskojęzyczna monografia, oparta na recenzowanej tutaj pracy doktorskiej, powinna spotkać się z zainteresowaniem szerokiego grona specjalistów z międzynarodowego środowiska naukowego, jednocześnie mogąc służyć jako podręcznik i kompendium wiedzy o *Blastocystis* dla: lekarzy, biologów oraz diagnostów laboratoryjnych.

podrozdziale I.1.1.6. WSPÓŁCZESNE POGLĄDY MA MIEJSCE *BLASTOCYSTIS* WŚRÓD ORGANIZMÓW ŻYWYCH lub I.1.2. GATUNKI OPISANE W OBRĘBIE RODZAJU *BLASTOCYSTIS*.

5. Zdjęcie 4. Jest w gruncie rzeczy serią zdjęć, które umieszczone są na trzech oddzielnych stronach (37-39). Nie widzę uzasadnienia dla nazywania trzech oddzielnych grafik zdjęciem o jednym numerze, to utrudnia czytanie opisów. Ponadto już pierwsza tablica czy grafika, umieszczona na stronie 37, składa się z serii zdjęć więc nazywanie jej pojedynczym zdjęciem wydaje się nieuzasadnione. W poziomej osi centralnej fotografii nr. 6 znajdują litery a i b, wydaje się to niefortunną lokalizacją odnośników do opisu zdjęcia.
6. Rysunek 6, w dostarczonym mi do recenzji pliku, zawierającym rozprawę doktorską, jest niskiej rozdzielczości i niewyraźny, zdecydowanie odstaje od pozostałych rysunków, pod względem jakości grafiki.
7. Strona 43; błąd edytorski jest „Powadzone...” powinno być „Prowadzone...”.
8. W następującym zdaniu: „Na podstawie dotychczasowych danych nie jest możliwe jednoznaczne ustalenie czy *Blastocystis* jest komensalem czy patogenem i jaki jest jego faktyczny wpływ na mikrobiom i metabolizm stolca.”, Autor dokonał skrótu myślowego pisząc „metabolizm” stolca zamiast „metabolizm mikrobiomu stolca”. Stolec nie jest organizmem ani zbiorem organizmów, obejmuje też nieożywioną materię organiczną i nieorganiczną.
9. Zdanie „Allele: stwierdzono allel, który dotychczas nie był zarejestrowany w serwisie Pub-MLST, maksymalnie podobny allel to allel 115.” Powinno być zmodyfikowane, zamiast sformułowania „maksymalnie podobny allel” sugerowałbym sformułowanie „allel o najwyższym podobieństwie”.

Podsumowanie:

Praca ma starannie przemyślaną strukturę. Doktorant w sposób spójny i konsekwentny opisuje gatunki z rodzaju *Blastocystis* u ludzi i zwierząt stałocieplnych w Polsce. Wstęp stanowi bardzo skrupulatny i szczegółowy przegląd obecnego stanu wiedzy o *Blastocystis* i blastocystozie z odwołaniami do licznych pozycji piśmiennictwa. Praca ma charakter monografii zaś jej odbiorcami mogą być: biolodzy, lekarze, diagnosty laboratoryjni i szeroko pojęci specjaliści z dziedziny nauk o zdrowiu. Każda z wymienionych grup znajdzie zarówno informacje ogólne jak i znajdujące się w centrum jej zainteresowań. Podział na podrozdziały pozwala sprawnie odnaleźć części rozprawy skupiające się na konkretnych zagadnieniach np.: taksonomicznych, leczeniu, diagnostyce laboratoryjnej. W efekcie, przedstawiona praca jest monografią stanowiącą kompendium wiedzy o *Blastocystis* i blastocystozie, jednocześnie będąc opisem ekstensywnych badań różnorodności genetycznej *Blastocystis* spp. występujących w Polsce, z uwzględnieniem ich potencjału

Uważam, że praca doktorska Adama Kaczmarka powinna być wyróżniona ze względu na: oryginalność, znaczący wkład nowej wiedzy do obecnego stanu wiedzy oraz wartość praktyczną, związaną z zastosowaniem w laboratoryjnej diagnostyce medycznej, opracowanych i walidowanych przez Doktoranta metod,.

Zdecydowanie rekomenduję przyznanie Panu magistrowi Adamowi Kaczmarkowi tytułu doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne.

dr hab. Aleksander Masny



