



Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach
Wydział Farmaceutyczny
z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej w Sosnowcu
Zakład Parazytologii
ul. Jedności 8
41-200 Sosnowiec
tel. +48 (32) 364 11 90 | fax.+48 (32) 364 11 96
solarzk@sum.edu.pl | <http://zaklad-parazytologii.sum.edu.pl>

Prof. dr hab. Krzysztof Solarz

Sosnowiec, 24.08.2016

Zakład Parazytologii

Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

41-218 Sosnowiec, ul. Jedności 8

Ocena

pracy doktorskiej Pani Mgr Zofii Czubasiewicz

pt. „Użyteczność diagnostyczna niektórych testów komercyjnych stosowanych do wykrywania zakażenia *Borrelia burgdorferi*”

Praca na stopień doktora nauk medycznych wykonana w Katedrze i Zakładzie

Mikrobiologii i Immunologii, Wydziału Lekarskiego z Oddziałem Lekarsko-Dentystycznym w Zabrze, Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach

Promotorem rozprawy doktorskiej jest Pan Prof. dr hab. n. med. Bogdan Mazur

Obserwowane w ostatnich dziesięcioleciach znaczne zwiększenie zapadalności na choroby odkleszczowe miało duży wpływ na wzrost zainteresowania lekarzy, epidemiologów, akarologów, jak też uczonych innych specjalności kleszczami i ich rolą w transmisji chorób. Rezultatem prowadzonych na całym niemal świecie badań są liczne publikacje, w tym niektóre o szczególnej wartości naukowej i poznawczej, przyczyniające się w istotny sposób



Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach
Wydział Farmaceutyczny
z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej w Sosnowcu
Zakład Parazytologii
ul. Jedności 8
41-200 Sosnowiec
tel. +48 (32) 364 11 90 | fax.+48 (32) 364 11 96
solarzk@sum.edu.pl | <http://zaklad-parazytologii.sum.edu.pl>

do uzupełnienia naszej wiedzy na temat chorób przenoszonych przez te niebezpieczne pasożyty człowieka i zwierząt, między innymi na temat boreliozy kleszczowej z Lyme. Takie też walory ma przedłożona mi do oceny rozprawa doktorska Pani Mgr Zofii Czubasiewicz pt. „Użyteczność diagnostyczna niektórych testów komercyjnych stosowanych do wykrywania zakażenia *Borrelia burgdorferi*.”

Oceniana praca doktorska została przedstawiona w postaci oprawionego wydruku komputerowego. Wyróżnia się ona estetyczną formą, starannym opracowaniem graficznym i logicznym, przejrzystym układem, spełniającym we wszystkich szczegółach wymagania stawiane pracom doktorskim. Napisana jest bardzo dobrym stylem, nienaganną polszczyzną. Praca obejmuje ogółem 67 stron i zawiera 22 tabele oraz 7 rycin, odznaczających się dobrą jakością. Podzielona została na 9 rozdziałów, w kolejności – Wstęp, Cel pracy, Materiał i metody, Wyniki, Dyskusja, Wnioski, Piśmiennictwo, Streszczenie i Abstract.

W pierwszym rozdziale rozprawy zatytułowanym „Wstęp” Autorka przedstawia, w miarę możliwości, współczesny stan wiedzy na temat krętka *Borrelia burgdorferi* sensu lato, jego struktury, genogatunków, na temat boreliozy kleszczowej z Lyme oraz diagnostyki tej choroby.

W kolejnym rozdziale precyzyjnie i szczegółowo określono cel pracy. Obejmował on zbadanie użyteczności diagnostycznej zestawów Western Blot oferowanych do badań diagnostycznych w kierunku boreliozy (krętkowicy) kleszczowej z Lyme, a ponadto określenie przydatności diagnostycznej poszczególnych antygenów obecnych w używanych zestawach testowych.

W rozdziale trzecim “Materiał i metody” Autorka przedstawia wyczerpująco charakterystykę badanego materiału, oraz wykonane oznaczenia testami ELISA i Western



Blot. W badaniach wykorzystano surowice 1819 osób mieszkających na terenie Górnego Śląska. Wykonano oznaczenia miana przeciwciał w klasie IgM i IgG skierowanych przeciwko antygenom *Borrelia burgdorferi* testami Anty-Borrelia ELISA (IgM) i Anty-Borrelia plus V1sE ELISA (IgG) Euroimmun. Test potwierdzający metodą Western Blot dwoma komercyjnymi testami na 96 surowicach w klasie IgM oraz 194 surowicach w klasie IgG badanych wcześniej odpowiednimi testami ELISA. Badania, w tym wszystkie przeprowadzone analizy zostały bardzo szczegółowo opisane łącznie ze sposobami oceny testów. Szkoda, że liczby badanych surowic nie były jednakowe, albo zbliżone w obu klasach.

W rozdziale „Wyniki” Pani Mgr Zofia Czubasiewicz przedstawia w sposób wyczerpujący, a zarazem przejrzysty uzyskane rezultaty przeprowadzonych badań. W postaci dobrze skonstruowanych tabel i wykresów Autorka prezentuje bogaty zestaw cennych danych, w tym:

1. Wyniki badań testami ELISA w klasach IgG oraz IgM.
2. Wyniki badań przeprowadzonych za pomocą testów Western Blot firm Mikrogen i Viramed w klasie IgM.
3. Porównanie liczb wyników pozytywnych w teście Western Blot w klasie IgM uzyskanych za pomocą testów Viramed i Mikrogen.
4. Wyniki badań przeprowadzonych za pomocą testów Western Blot firm Mikrogen i Viramed w klasie IgG.
5. Porównanie liczb wyników pozytywnych w teście Western Blot w klasie IgG uzyskanych za pomocą testów Viramed i Mikrogen.
6. Porównanie składu antygenowego testów Western Blot Viramed i Mikrogen IgM.
7. Porównanie składu antygenowego testów Western Blot Viramed i Mikrogen IgG.



8. Porównawcze zestawienia liczb dodatnich poszczególnych antygenów w testach IgM Mikrogen i IgM Viramed oraz IgG Mikrogen i IgG Viramed.
9. Częstość występowania poszczególnych antygenów w pozytywnych i wątpliwych wynikach uzyskanych za pomocą testów Mikrogen IgM i Viramed IgM oraz Mikrogen IgG i Viramed IgG.
10. Porównanie wyników otrzymanych testami ELISA z wynikami testów Western Blot Viramed i Western Blot Mikrogen.

Kolejne tabele prezentują wyniki analizy statystycznej z zastosowaniem testu χ^2 i testu korelacji Spearmana, dokonanych w celu porównania uzyskanych wyników testów jak też ustalenia korelacji pomiędzy wynikami uzyskanymi w testach ELISA a wynikami testów Western Blot Mikrogen i Viramed. W rozdziale Materiał i metody nie zauważyłem jednak informacji dotyczącej analizy statystycznej. Przeprowadzone nieparametryczne analizy statystyczne wskazują na rozkład danych niezgodny z rozkładem normalnym. Ta informacja powinna być podana w rozdziale „Wyniki”, natomiast w rozdziale „Materiał i metody” należało podać czy i w jaki sposób sprawdzano zgodność uzyskanych danych z rozkładem normalnym. Być może wyniki tych analiz, w moim odczuciu, zostały zbyt lakonicznie opisane w tekście rozdziału „Wyniki”. Z drugiej strony jednak szczegółowe ich omówienie mamy w kolejnym rozdziale pt. „Dyskusja”. W rozdziale tym Autorka bardzo wnikliwie analizuje otrzymane wyniki na tle piśmiennictwa polskiego i światowego, dając dowód Swej dużej wiedzy na temat pracy, jak też talentu przedstawiania skomplikowanych zależności w sposób wyczerpujący, a zarazem przejrzysty i zrozumiały dla czytelnika. Rozdział ten podzielono na 4 punkty, w kolejności:

1. Porównanie testów ELISA i Western Blot.



2. Porównanie testów Western Blot.
3. Częstość występowania przeciwciał przeciwko antygenom użytym w testach Western Blot.
4. Sugerowany skład antygenowy testu Western Blot stosowanego na terenie Górnego Śląska.

Tytuły tych punktów w mojej opinii niezbyt precyzyjnie informują o ich treści. Ponadto Autorka bardziej skupiła się na omawianiu wyników własnych, natomiast jest tu trochę zbyt mało odniesień do odpowiednich danych literaturowych. Zacytowane piśmiennictwo obejmujące 60 pozycji literatury polskiej i światowej zostało trafnie wykorzystane głównie w części wstępnej pracy.

Wykonane przez Panią Mgr Zofię Czubasiewicz badania, jak też statystyczna analiza wyników pozwoliły na sformułowanie 3 wniosków, które można uznać za ważne osiągnięcia Doktorantki, stanowiące Jej oryginalny wkład w naszą wiedzę na temat skuteczności metod diagnostycznych w kierunku boreliozy z Lyme, szczególnie testów Western Blot. Jednak wniosek 1-szy, a po części także 3-ci nie są zbyt odkrywcze.

Pragnę podkreślić te najważniejsze osiągnięcia Doktorantki:

1. Potwierdzenie konieczności stosowania dwuetapowej diagnostyki boreliozy, zakładającej potwierdzenie tylko dodatnich lub wątpliwych wyników w testach ELISA.
2. Wykazanie zbyt małej czułości testu ELISA w przesiewowej diagnostyce boreliozy.
3. Sugestia, iż rozbieżności w wynikach testów Western Blot mogą być efektem różnic w składach antygenowych stosowanych testów oraz sposobie pozyskania antygenów.



W mojej ocenie praca nie zawiera istotnych błędów rzeczowych, błędów metodycznych czy kontrowersyjnych sformułowań. W trakcie uważnej lektury znalazłem trochę błędów interpunkcyjnych, jak też niejednolite nazewnictwo stosowanych testów. Na przykład w wielu miejscach Autorka pisze Elisa, natomiast innych razem ELISA, często Western Blot, ale w pewnych miejscach (w streszczeniu) Western blot. Oczywiście wszystkie wersje są prawidłowe i stosowane w literaturze, ale powinno być jednolicie w całej pracy. Ponadto zauważyłem niewielką liczbę innych drobnych usterek, które przytoczę (w miarę możliwości) w kolejności tekstu:

- 1) Tabela 1.2. Brak kropki po tytule tabeli, brak odstępów między cytatami.
- 2) Inne błędy interpunkcji w wielu tabelach; np. po skrócie „wsp.” często brakuje kropki, albo zamiast kropek są przecinki.
- 3) Tabela 1.2. Nie wskazane są zbyt ogólne określenia typu „kleszcz”, „kleszcza”, „kleszczy”, bez podania gatunku; w faunie Polski mamy 16 gatunków kleszczy właściwych, w tym niektóre pozagniazdowe, dlatego należy podawać gatunek kleszcza, o którego chodzi, czyli (w tym przypadku) *Ixodes ricinus* (albo polską nazwę - kleszcz pospolity, kleszcz pastwiskowy).
- 4) Każda tabela i rycina powinna być zrozumiała bez konieczności czytania pracy, dlatego w tytułach tabel i rycin wskazane są pełne nazwy gatunków, rodzajowa i gatunkowa, np. *Borrelia burgdorferi* s. l. (dotyczy np. ryciny 1.1).
- 5) Ryc. 1.2. Brak kropki po tytule. Dotyczy to także rycin 1.3, 1.5, 4.2, oraz tabel 1.3, 4.12 – 4.19.
- 6) Ryc. 1.3. Słowo „Mieszkańców” powinno być z małej litery.



- 7) Często brak odstępów między numerami cytowanych prac, ujętych w nawiasach kwadratowych.
- 8) Strona 28. Dwukrotnie użyto terminu *Borrelia* zamiast *Borrelii*; nie odmieniamy nazw łacińskich zgodnie z zasadami polskiej gramatyki; poza tym należy używać pełnej nazwy *Borrelia burgdorferi* (do tego rodzaju należą inne gatunki przenoszone przez stawonogi, poza genogatunkami *Borrelia burgdorferi* s. l.).
- 9) Tab. 4.11. Pracę napisano w języku polskim, dlatego w procentowych danych, setne powinny być po przecinku, nie zaś po kropce.
- 10) Tabele 4.1–4.19. Zbędne myślniki po numerze tabeli, przed jej tytułem (tytuły wcześniejszych tabel nie były poprzedzone myślnikami).
- 11) Tytuły wielu z tych tabel (4.1 -4.19) nie określają precyzyjnie ich zawartości;
- 12) Strona 9. Łacińską nazwę gatunkową (tu prawidłowo powinno być *hermsii*) piszemy z małej litery.
- 13) Błędy w łacińskich nazwach gatunkowych; np. strona 9 – powinno być „*burgdorferi*” zamiast „*burgdorferii*”, „*lusitaniae*” zamiast „*lusianiae*”, „*hermsi*” zamiast „*Hermii*”.
Poza tym *Borrelia hermsii* należy do krętków powodujących dury powrotne, podobnie jak *Borrelia recurrentis*. Brak kursywy w nazwie *Borrelia burgdorferi* w tytule punktu 1.2.
- 14) Strona 54. Pierwszy wiersz od dołu: powinno być „*afzelii*” zamiast „*afzeli*”
- 15) Strona 55. Nie powinno się podawać samych nazw gatunkowych, bez nazwy rodzajowej (choćby w wersji skróconej, w postaci pierwszej litery tej nazwy).

Ponadto zaobserwowałem jeszcze inne drobne usterki tekstu dotyczące odstępów, czy interpunkcji. Pragnę w tym miejscu podkreślić jednak z całą mocą, że powyższe uwagi



Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach
Wydział Farmaceutyczny
z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej w Sosnowcu
Zakład Parazytologii
ul. Jedności 8
41-200 Sosnowiec
tel. +48 (32) 364 11 90 | fax.+48 (32) 364 11 96
solarzk@sum.edu.pl | <http://zaklad-parazytologii.sum.edu.pl>

dotyczą drugoplanowych szczegółów, które mogą mieć znaczenie przy późniejszym przygotowaniu pracy do druku i nie obniżają mojej oceny tej dobrej pracy doktorskiej.

Podsumowując, rozprawa doktorska Pani Mgr Zofii Czubasiewicz to praca wartościowa, prawidłowo wykonana, stanowiąca oryginalny wkład do nauki. Świadczy ona o umiejętności samodzielnego prowadzenia badań naukowych przez Doktorantkę i o Jej dużej wiedzy teoretycznej i praktycznej w zakresie diagnostyki chorób odkleszczowych, głównie boreliozy z Lyme. Wnikliwe i stojące na dobrym poziomie naukowym opracowanie wielu zagadnień związanych z diagnostyką boreliozy może stanowić podstawę do co najmniej jednej publikacji w renomowanym czasopiśmie o zasięgu międzynarodowym lub w innych wydawnictwach naukowych stojących na odpowiednim poziomie.

Wniosek końcowy. Rozprawa doktorska Pani Mgr Zofii Czubasiewicz pt. „Użyteczność diagnostyczna niektórych testów komercyjnych stosowanych do wykrywania zakażenia *Borrelia burgdorferi*” spełnia wszelkie wymagania stawiane pracom doktorskim, określone w art. 13 ustęp 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz. 595, z późn. zm.).

W związku z tym, stawiam pod adresem Wysokiej Rady Wydziału Lekarskiego z Oddziałem Lekarsko-Dentystycznym w Zabrze, Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach, wniosek o dopuszczenie Pani Mgr Zofii Czubasiewicz do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

z Wyrazami Głębokiego Szacunku

KIEROWNIK

Zakładu Parazytologii
Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach

..prof. dr hab. n. med. Krzysztof Solarz