

Warszawa, 5.05.2019r.

Prof. dr hab. n. med. Jerzy Szaflik  
Centrum Mikrochirurgii Oka Laser  
ul. Włodzimierza Dolańskiego 2,  
00-215 Warszawa

**Recenzja  
rozprawy na stopień doktora nauk o zdrowiu**

**Wandy Baltaza**

**„Ocena przeciw-amebowego działania *in vitro* wybranych czynników fizykochemicznych na wykryte w Polsce szczepy *Acanthamoeba*, stanowiące narastające zagrożenie zdrowia publicznego.”**

Podstawę rozprawy doktorskiej mgr Wandy Baltaza stanowi cykl 7 oryginalnych prac naukowych, które zostały opublikowane w czasopismach anglojęzycznych o zasięgu międzynarodowym (IF 2,232, 115 pkt MNiSW).

Interdyscyplinarny, wieloaspektowy charakter badań uzasadniał konieczność wykonania ich w zespołach badawczych, z ważnym, istotnym wkładem mgr Wandy Baltaza.

Tematyka badań, podjętych przez autorkę, dotyczy narastających w ciągu ostatniego dwudziestolecia w całym Świecie, także w Polsce, zagrożeń ludzkiego zdrowia, które powodują pełzaki z rodzaju *Acanthamoeba*.

We Wstępie uzasadnione zostało włączenie się w prace nad tym ważnym problemem zdrowia publicznego, nadal słabo rozpoznanym w Polsce,

Przypadkowa transmisja tych wolnożyjących ameb do wnętrza ludzkiego organizmu drogą: inhalacyjną, pokarmową, przez krew, jamę ustną, nos, czy gardło, może ujawnić ich potencjalną zdolność do bytowania jako fakultatywne pasożyty o różnej patogeniczności.

W określonych warunkach pewne szczepy tych ameb mogą stanowić etiologiczny czynnik pełzakowego zapalenia rogówki ludzkiego oka *Acanthamoeba keratitis*, powodującego nieodwracalne zmiany w narządzie wzroku, a nawet utratę widzenia..

Głównym czynnikiem ryzyka rozwoju zapalenia rogówki o tej etiologii u osób dorosłych jest noszenie soczewek kontaktowych, w szczególności nieprzestrzeganie higienicznych zaleceń podczas ich stosowania. Wraz ze wzrostem liczby użytkujących szkła kontaktowe wzrosła częstość występowania stanów zapalnych rogówki (powyżej 85%). Rzadsze czynniki ryzyka wystąpienia *Acanthamoeba keratitis* dotyczące osób, które nie używały

soczewek kontaktowych to urazy nabłonka rogówki, zabiegi chirurgiczne, a także inwazje wodno-pochodne – kontakt oka z wodą, zawierającą głównie cysty tych ameb. Autorka omawia wybrane aspekty problemu, zwracając uwagę na zagadnienia metodyczne, z uwzględnieniem badań *in vitro* nad zróżnicowaniem podatności /oporności różnych genoszczepów *Acanthamoeba* na chemioterapeutyki.

W poszczególnych publikacjach przytacza są dane piśmiennictwa oraz własne, uzasadniające potrzebę poszerzenia wiedzy na temat wpływu różnych czynników, warunkujących dyspersję zagrożenia, generowanego przez te pełzaki w środowisku człowieka.

Jak pisze doktorantka: „Ciężkie, zagrażające utratą widzenia, zapalenie rogówki powodowane przez ameby jest często nieprawidłowo rozpoznawane, mylone z zakażeniami, powodowanymi przez inne mikroorganizmy. Niedokładne/błędne początkowe i opóźnione właściwe rozpoznanie wpływa na nieskuteczność wcześniejszej, częściowo empirycznej farmakoterapii; wynika to z faktu, iż obraz kliniczny choroby jest złożony, w zasadzie niespecyficzny, częste są infekcje mieszane. Pomimo postępów w chemioterapii, leczenie wciąż jest trudne, a jego rezultaty niezadowalające; bardzo często rozwija się lekooporność, a skuteczne dawki leków są zbyt toksyczne dla oka. Łatwość rozprzestrzeniania się amfizoicznych ameb w środowisku człowieka, oporność cyst na środki dezynfekcyjne i leki wpływają nie tylko na trudności terapeutyczne, ale znacznie ograniczają możliwości prewencji”

Projektowane badania zakładały aspekty poznawcze, naukowe i praktyczne, takie jak:

- poznanie i ocenę zróżnicowania oporności/podatności szczepów ameb amfizoicznych powodujących *Acanthamoeba* keratitis – na różne czynniki chemiczne i fizyczne;
- możliwość zastosowania uzyskanej wiedzy do poprawy efektu terapeutycznego oraz zwiększenia skuteczności zapobiegania dyspersji w środowisku człowieka potencjalnie patogenicznych szczepów *Acanthamoeba*

Do realizacji założonego celu -

zbadania i oceny przeciw-amebowego działania wybranych czynników fizyko-chemicznych na wykrywane w środowisku człowieka w Polsce szczepy *Acanthamoeba*, pozyskiwane we współpracy z klinicystami, w szczególności powodujące *Acanthamoeba* keratitis, zagrażające ślepotą rogówkową -

zastosowane zostały nowoczesne metody i techniki badawcze.

Przebadano szczepy ameb amfizoicznych: środowiskowy pasażowany w na podłożu BSC (bacteria-free) *Acanthamoeba castellanii* Neff stosowany jako kontrolny oraz pozyskane ze

źródeł klinicznych rogówkowe patogeniczne szczepy *Acanthamoeba*, niebadane wcześniej pod kątem uwarunkowań ich dyspersji i patogeniczności.

Oceniono wpływ

- związków chemicznych o potwierdzonych właściwościach amebo-statycznych,
- substancji używanych do dezynfekcji, szczególnie w placówkach opieki zdrowotnej i laboratoriach,
- substancji przeciw-pierwotniaczych niestosowane wcześniej przeciw amebom (toyokamycyna).

Sukcesywnie monitorowano dynamikę kultur *in vitro*, liczebność populacji ameb, proporcję stadiów troficznych do cyst, charakterystykę morfo- fizjologiczną oraz genotypową dyspersyjnych stadiów z zastosowaniem metod/technik mikroskopowych oraz biologii molekularnej (PCR).

Należy podkreślić jako dodatkowy walor rozprawy, że podsumowując uzyskane wyniki szczegółowe, w tym nowe dla Polski oraz wiedzy ogólnej dane o fizyko-chemicznych uwarunkowaniach inhibicji procesu encystacji, w każdej z publikacji Autorka dokonała krytycznej oceny wartości wyników, w tym ograniczonej możliwości uogólnienia wniosków ze względu na zróżnicowanie materiału badań oraz wskazując kierunek dalszych prac. Zwraca uwagę na zróżnicowaną intensywność początkową zakażeń, różną wirulencję/ patogeniczność badanych izolatów i szczepów, prowadzenie badań w innych fazach rozwoju populacji pełzaków, a także osobnicze różnice reakcji ludzkiego organizmu;

Ważny wniosek oceny stanowi aspekt edukacyjny - wskazanie konieczności zwiększenia wiedzy i świadomości zagrożeń, generowanych przez ameby potencjalnie patogeniczne, zarówno wśród personelu medycznego jak poza nim.

Wobec wysokiego poziomu wiedzy, dotyczącej przedmiotowej tematyki, wykazanej przez doktorantkę, interesujące byłoby poznanie jej opinii odnośnie perspektyw prewencji zagrożeń indukowanych przez fakultatywnie pasożytnicze szczepy *Acanthamoeba*.

Publikacje oryginalne, stanowiące rozprawę doktorską Pani mgr Wandy Baltaza prezentują wysoką wartość naukową w aspekcie poznawczym i trafnie wpisują się w zapotrzebowanie na prace, dotyczące tak ważnego problemu zdrowia publicznego o implikacjach praktycznych.

Rozprawę przedstawioną mi do recenzji oceniam wysoce pozytywnie.

Uważam, że praca mgr Wandy Baltaza p. t. Ocena przeciw-amebowego działania *in vitro* wybranych czynników fizyko-chemicznych na wykryte w Polsce szczepy *Acanthamoeba*,

stanowiące narastające zagrożenie zdrowia publicznego - spełnia wymagania stawiane pracom doktorskim, przewidziane w art. 13 ust. 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, ze zm. w Dz. U. z 2005 r. Nr 164, poz. 1365 oraz w Dz. U. z 2011 r. Nr 84, poz. 455).

W związku z tym z pełnym przekonaniem przedkładam Wysokiej Radzie Wydziału Nauki o Zdrowiu Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego wniosek o dopuszczenie Pani mgr Wandy Baltaza do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Wnioskuje o wyróżnienie pracy.

Prof. dr hab. n. med. Jerzy Szaflik

