



UNIWERSYTET MEDYCZNY IM. KAROLA MARCINKOWSKIEGO W POZNANIU

KATEDRA I ZAKŁAD MIKROBIOLOGII LEKARSKIEJ

Kierownik: prof. dr hab. Andrzej Szkaradkiewicz

ul. Wieniawskiego 3
61-712 Poznań

tel. 61 8546 138

fax 61 8546 140

e-mail: szkaradkiewicza@poczta.onet.pl

Ocena

**pracy doktorskiej lek. Michaliny Nowak-Gabryel
pt.: „Ocena udziału roztoczy *Demodex* spp. w etiopatogenezie
wybranych chorób narządu wzroku”**

wykonanej pod kierunkiem prof. Jarosława Kocięckiego

Oceniana praca dotyczy udziału roztocza *Demodex* spp. w patogenezie wybranych chorób odcinka przedniego oka u człowieka. Z dotychczas opisanych ponad 140 gatunków lub podgatunków roztoczy z rodzaju *Demodex*, dwa z nich – *Demodex folliculorum* i *Demodex brevis* znane są jako najczęstsze pasożyty zewnętrzne (ektopasożyty), występujące tylko u ludzi. *Demodex folliculorum* wykryty w 1841 roku (*Demodex brevis* został zidentyfikowany jako odrębny gatunek w 1963 roku) oraz stwierdzony w gruczołach łojowych, głównie skóry twarzy i w gruczołach tarczkowych powiek początkowo był uznawany za mikroorganizm saprofityczny. Jednak, od wielu lat prezentowane są liczne dane wskazujące na udział roztoczy *Demodex* w chorobach skóry oraz w niektórych chorobach oka. Aktualnie uważa się, że roztocza *Demodex* stanowią jeden z czynników etiologicznych chorób o złożonej etiologii, takich jak trądzik różowaty, w tym także jego postać oczna. W ostatnich latach opisuje

się wprawdzie zespoły kliniczne jako nużycowe zapalenie skóry, czy też łysienie nużycowe, jednak rozpoznanie nużycy ludzkiej wywoływanej przez *Demodex* spp. jako odrębnej jednostki chorobowej jest nadal kontrowersyjne, szczególnie w kontekście postulatów Roberta Kocha. Znaczenie kliniczne roztoczy *Demodex* spp. jako patogenu człowieka, zatem nadal nie jest w pełni jasne. W kontekście powyższych danych, temat pracy jest więc całkowicie uzasadniony, podejmuje bowiem aktualne i oryginalne zagadnienie.

Praca ma układ typowy dla rozprawy doktorskiej. Liczy 124 strony wydruku komputerowego, jest podzielona na część teoretyczną stanowiącą wstęp, z wydzielonym celem pracy, część metodyczną, prezentację wyników i dyskusję z wnioskami. Ponadto, praca obejmuje załączniki zawierające wykaz tabel i rycin oraz wzór protokołu badania i oświadczeń pacjenta. Autorka cytuje 98 pozycji piśmiennictwa, z czego około 48 % stanowią pozycje z okresu ostatniej dekady. Praca jest ilustrowana 34 rycinami i 39 tabelami.

We wstępie pracy przedstawiono aktualne dane dotyczące budowy i cyklu rozwojowego nużeńca *Demodex* spp., diagnostyki laboratoryjnej tego mikroorganizmu, a także jego patogenności, szczególnie w kontekście chorób narządu wzroku: przewlekłego zapalenia brzegów powiek, nieprawidłowego wzrostu rzęs, madarozy, zespołu suchego oka oraz jęczmienia i gradówki wraz z leczeniem powyższych chorób. Jednocześnie zamieszczone, pochodzące z badań własnych Autorki zdjęcia mikroskopowe postaci rozwojowych *Demodex folliculorum* stanowią znakomite uzupełnienie prezentowanego tekstu. Część wstępna stanowi szerokie studium wiedzy o roztoczach *Demodex* i ich związku z wybranymi chorobami odcinka przedniego oka. Jednak szkoda, że charakteryzując patogenność roztoczy *Demodex*, jedynie wspomniano o ich roli jako wektora w rozprzestrzenianiu się drobnoustrojów (str. 15). Aktualnie, istotnie identyfikuje się techniką molekularną wiele rodzajów bakterii u roztoczy *Demodex*, a zwłaszcza *Staphylococcus* (głównie *Staphylococcus epidermidis*). Jednak w ostatnich latach dokumentuje się, że *Bacillus oleronius*



stanowiąc gatunek endosymbiotyczny roztoczy *Demodex folliculorum* i *Demodex brevis*, pozostający w relacji z żywicielem, wykazuje istotne znaczenie w etiopatogenezie trądzika różowatego i zapaleniach brzegów powiek. Z kolei, opisując diagnostykę nużeńca w obrębie narządu wzroku (str. 16), celowym byłoby jej uzupełnienie o pomiar gęstości roztoczy na epilowanych rzęsach dla określenia średniej liczby pasożytów na 1 rzęsie i jego zastosowaniu w pracy (str. 39-40).

Cel pracy i zadania badawcze zostały jasno przedstawione, a następnie konsekwentnie realizowane. Jednak zadania badawcze 1 i 2 są ściśle powiązane, dlatego ich wyodrębnianie nie wydaje się uzasadnione. Dla realizacji zadań, Autorka przeprowadziła u 109 dorosłych pacjentów zgłaszających się do Poradni Ogólnej lub Oddziału Okulistycznego Kliniki Okulistycznej UM w Poznaniu pełne badania okulistyczne z uwzględnieniem oceny odcinka przedniego oka, przy użyciu biomikroskopu z lampą szczelinową, a także analizowała jakościowo (test TBUT) i ilościowo (test Schirmera) film łzowy. Ponadto, szczegółowy wywiad z pacjentem był uzupełniony o ankietę, opracowaną na podstawie kwestionariusza OSDI, co pozwoliło na ocenę nasilenia objawów zespołu suchego oka. Badania dodatkowe obejmowały bezpośrednią diagnostykę mikroskopową nużeńca w obrębie narządu wzroku (zarówno na epilowanych rzęsach, jak i naskórku powiek i okolicy oczu), wykrywanie flory bakteryjnej worka spojówkowego, przy użyciu rutynowej techniki bakteriologicznej oraz oznaczanie z użyciem cytometrii przepływownej stężeń cytokin prozapalnych – IL-12 oraz IL-17A w filmie łzowym.

W pracy przeprowadzono kompleksowe okulistyczne badania kliniczne, co jest niewątpliwie zasługą Prof. Jarosława Kocięckiego – Kierownika Katedry Okulistyki i Kliniki Okulistycznej UM w Poznaniu oraz promotora tej pracy. Z kolei badania bakteriologiczne były przeprowadzone w laboratorium mikrobiologicznym Szpitala Klinicznego Przemienienia Pańskiego UM w Poznaniu, natomiast oznaczenia w/w cytokin w Zakładzie Immunologii Katedry



Immunologii Klinicznej UM w Poznaniu, co świadczy o umiejętności Autorki do twórczego nawiązywania współpracy.

Uzyskane rezultaty zostały rzeczowo opisane, jak też przedstawione w tabelach i na rycinach. Autorka wykazała statystycznie częstsze występowanie roztoczy *Demodex* spp. w zapaleniu brzegów powiek oraz w zespole suchego oka, jak również związek tych pasożytów z objawami okulistycznymi, takimi jak: teleangiektazje brzegów powiek, przekrwienie brzegów powiek, mankiety keratynowe na rzęsach, zaczopowanie ujść gruczołów tarczowych. Z kolei, w badaniach bakteriologicznych stwierdzono, że najczęściej w worku spojówkowym występują wprawdzie bakterie z rodzaju *Staphylococcus*, jednak uzyskane wyniki były statystycznie niezależne od występowania nużeńca. Analizując poziomy IL-12 i IL-17A, Autorka prezentowała uzyskane wyniki w fg/ml (str. 71-72), podczas gdy podanie rezultatów w pg/ml byłoby bardziej przejrzyste (przecież czułość zestawów podano w jednostkach pg/ml; str. 43). Jednocześnie, analizując statystycznie poziomy IL-17A we łzach, wykazano istotne zwiększenie tej cytokiny u pacjentów z nużeńcem w porównaniu do badanych, u których nie wykazano obecności tego pasożyta. Jednak, te dane trudno interpretować i odnosić do badań innych autorów z powodu małej liczebności grup pacjentów, jeśli nawet w analizie zastosowano test Fishera (przecież grupa z nużeńcem liczyła 11 osób, a grupa bez nużeńca tylko 4 pacjentów).

W dyskusji omówiono otrzymane wyniki własne i w odniesieniu do aktualnego piśmiennictwa. Dyskusja jest szczegółowa, dobrze przeprowadzona, podejmuje szereg aspektów zagadnienia. Świadczy to o dobrym teoretycznym przygotowaniu doktorantki, o jej dojrzałości naukowej.

Wnioski pracy wynikają z rezultatów przeprowadzonych badań i są merytorycznie uzasadnione. Jednak wniosek 4, zwłaszcza dotyczący IL-17A powinien być ostrożniejszy ze względu na przedstawiony powyżej komentarz.



W podsumowaniu pragnę podkreślić, że wymienione uwagi krytyczne nie obniżają wartości merytorycznej pracy, a mogą być przydatne Autorce w dalszych badaniach i przygotowaniu publikacji.

Oceniana rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz. 595, z późn. zm).

Dlatego mam zaszczyt wnieść do Wysokiej Rady Wydziału Lekarskiego I Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu o przyjęcie tej rozprawy doktorskiej i dopuszczenie jej do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie, w moim przekonaniu praca zasługuje na wyróżnienie i nagrodę.

Poznań, dnia 19.01.2018r.

KIEROWNIK
Katedry i Zakładu Mikrobiologii Lekarskiej


Prof. dr hab. Andrzej Szkaradkiewicz