

**KLINIKA CHORÓB ZAKAŻNYCH DZIECI**  
**UNIwersYTETU MEDYCZNEGO w ŁODZI**  
*Kierownik: dr hab. n. med. Ewa Majda-Stanisławska*  
**Wojewódzki Specjalistyczny Szpital im. dr Wł. Biegańskiego**  
91-347 Łódź, ul. Kniaziewiczza 1/5 pawilon E  
tel. (0-42) 251-60-18 fax. (0-42) 251-60-18 e-mail sekretariatcp@bieganski.com.pl

Łódź dnia 14 maja 2024

### Recenzja

Rozprawy doktorskiej lek med. Marty Wozińskiej

pt. Borelioza u dzieci: wieloaspektowe badanie dotyczące zapobiegania i nowych metod diagnostycznych.

#### **PROMOTOR:**

Dr hab. n. med. Artur Sulik

Klinika Obserwacyjno-Zakaźna Dzieci, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

#### **PROMOTOR POMOCNICZY:**

Dr n. med. Kacper Toczyłowski

Klinika Obserwacyjno-Zakaźna Dzieci, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

Borelioza z Lyme, po raz pierwszy opisana pod tą nazwą w 1975 roku w miejscowości Lyme w Connecticut w USA, obejmuje wiele zespołów chorobowych, dotyczących różnych układów i narządów. Z różną częstością u pacjentów zakażonych krętkami borrelia wystąpić mogą: zmiany skórne (wczesne - rumień wędrujący, późne - zanikowe zapalenie skóry), kardiologiczne (zaburzenia rytmu serca, blok przewodzenia), neurologiczne (zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych, zapalenie mózgu, radikulopatie, porażenie nerwu twarzewego), zapalenie stawów, objawy uszkodzenia narządu słuchu i równowagi, pogorszenie widzenia. Na każdy z podanych wyżej zespołów chorobowych składa się szereg objawów i dolegliwości podawanych przez chorego, często niecharakterystycznych. Nic zatem dziwnego, że potrzeba weryfikacji stanu zakażenia krętkami borrelia u pacjentów z różnymi niejasnymi objawami chorobowymi jest bardzo częsta w praktyce klinicznej. Tymczasem klasyczne działanie lekarskie: stwierdzenie objawów choroby – potwierdzenie zakażenia - leczenie zakażenia – ustąpienie objawów choroby, w przypadku boreliozy napotyka na wiele trudności. W rutynowej diagnostyce nie jest możliwe potwierdzenie obecności samych krętków w materiale klinicznym pochodzącym od chorego. Rozpoznanie boreliozy opiera się na metodzie pośredniej – stwierdzeniu obecności swoistych przeciwciał. Do ich oznaczania

wykorzystuje się testy immunoenzymatyczne (enzymy immunoassays; EIA). Każdy wynik dodatni w teście EIA powinien być potwierdzony testem jakościowym Western – Blot (WB). Ta klasyczna, dwuetapowa metoda ma wiele ograniczeń jak np. reakcje krzyżowe, niska czułość testu EIA we wczesnej fazie choroby. Leczenie boreliozy nie ma wpływu na wyniki powyższych testów, a zatem nie mogą być one stosowane do oceny jego skuteczności.

Trudności w prawidłowej diagnostyce i ocenie skuteczności leczenia boreliozy stały się przyczyną „szumu informacyjnego”, który narósł wokół tej choroby. W internecie znaleźć można wiele przerażających i nieprawdziwych informacji; chorzy, szukając pomocy w opanowaniu swoich dolegliwości domagają się od lekarzy stosowania schematów leczenia niezgodnych z rekomendacjami.

Jak wynika z powyższych informacji borelioza to wyjątkowo wielobjawowa, często przewlekła choroba, a jej potwierdzenie i leczenie wymaga doświadczenia w stosowaniu i interpretacji niedoskonałych metod diagnostycznych. Z tych powodów podjęcie tematu pracy doktorskiej jest z pewnością uzasadnione.

W rozprawie doktorantka w szczególności skupiła się na następujących problemach:

1. Ocena wiedzy, postaw i działań profilaktycznych dotyczących boreliozy oraz zidentyfikowanie czynników wpływających na te postawy i zachowania
2. Porównanie powszechnie zaakceptowanego dwuetapowego algorytmu diagnostycznego boreliozy wykorzystującego testy EIA i WB z proponowanym, alternatywnym algorytmem z użyciem testów EIA wykrywających antygeny rekombinowane (VlsE i C6).
3. Ocena użyteczności testów EIA wykrywających antygeny rekombinowane w monitorowaniu skuteczności leczenia boreliozy.
4. Znakomitym uzupełnieniem powyższych badań własnych jest praca pogładowa, przedstawiająca komercyjne i naukowe metody diagnostyczne pozwalające na potwierdzenie boreliozy u pacjentów z objawami różnych jej postaci klinicznych.

#### **Ocena metodologiczna i merytoryczna pracy**

Rozprawa doktorska obejmuje cykl dwóch publikacji oryginalnych oraz jednej pracy przeglądowej, które zostały opublikowane w latach 2020 - 2023. Prace zostały opublikowane

**KLINIKA CHORÓB ZAKAŻNYCH DZIECI**  
**UNIwersYTETU MEDYCZNEGO w ŁODZI**  
*Kierownik: dr hab. n. med. Ewa Majda-Stanisławska*  
**Wojewódzki Specjalistyczny Szpital im. dr Wł. Biegańskiego**  
91-347 Łódź, ul. Kniaziewiczza 1/5 pawilon E

tel. (0-42) 251-60-18 fax. (0-42) 251-60-18 e-mail sekretariatcp@bieganski.com.pl

w czasopismach posiadających Impact Factor. Łączny wskaźnik wpływu prac włączonych do rozprawy doktorskiej wynosi 11,400, a punktacja MNiSW wynosi 250 punktów. Dodatkowo doktorantka podaje pierwsze autorstwo 2 prac o sumarycznym IF = 7,865 oraz łącznej liczbie punktów MNiSW/MEiN = 240, a także 7 wystąpień zjazdowych.

**Prace, które wchodzą w skład pracy doktorskiej.**

**Prace oryginalne**

Wozińska M., Toczyłowski K., Lewandowski D., Bojkiewicz E., Sulik A. „Knowledge, Attitudes, and Behaviors Regarding Lyme Borreliosis Prevention in the Endemic Area of Northeastern Poland” ;Vaccines MDPI 2023 ; 10, 12, 12 pp, ID 2163

IF – 7.8 , MEiN – 140 pkt

Wozińska M., Toczyłowski K. Lewandowski D. Bojkiweicz E., Milewki R., Sulik A. „ Diagnostic Precision in Lyme Borreliosis: Assessing VlsE and C6 Antigens in a Pediatric Cohort”; Diagnostics MDPI 2023

IF –3.6 , MEiN – 70 pkt

**Praca przeglądowa**

Wozińska M, Toczyłowski K., Sulik A. „ Wyzwania i nowe możliwości w diagnostyce boreliozy u dzieci”; Przegląd Epidemiologiczny 2020; 74, 4, s. 652-661

MEiN – 40 pkt

Załączone prace poprzedzone są wprowadzeniem, w którym doktorantka przedstawiła uzasadnienie podjęcia tematu pracy, jej założenia i cele, przebieg, a także wyniki i wnioski. W końcowej części dysertacji doktorantka zamieściła streszczenia w języku polskim i angielskim oraz oświadczenia współautorów o uznaniu, że przedłożone prace stanowią indywidualny wkład doktorantki w rozwój nauk medycznych oraz zgody na użycie tych publikacji do grupy stanowiących jej osiągnięcie neukowe. Doktorantka jest pierwszym autorem wszystkich trzech publikacji.

**KLINIKA CHORÓB ZAKAŻNYCH DZIECI  
UNIwersYTETU MEDYCZNEGO w ŁODZI**  
*Kierownik: dr hab. n. med. Ewa Majda-Stanisławska*  
**Wojewódzki Specjalistyczny Szpital im. dr Wł. Biegańskiego**  
91-347 Łódź, ul. Kniaziewiczza 1/5 pawilon E  
tel. (0-42) 251-60-18 fax. (0-42) 251-60-18 e-mail sekretariatcp@bieganski.com.pl

Ocena szczegółowa poszczególnych publikacji wchodzących w skład pracy doktorskiej

**Praca oryginalna I**

Wozińska M., Toczyłowski K., Lewandowski D., Bojkiewicz E., Sulik A.  
„Knowledge, Attitudes, and Behaviors Regarding Lyme Borreliosis Prevention in the Endemic Area of Northeastern Poland” .

Celem badania była ocena wiedzy, postaw i praktyk profilaktycznych związanych z chorobami odkleszczowymi u 406 uczestników (82% kobiet, 18% mężczyzn) z północno-wschodniej Polski, rodziców dzieci hospitalizowanych w Klinice Chorób Zakaźnych Dzieci Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku. Uczestnicy wypełniali anonimową ankietę złożoną z 37 pytań wielokrotnego wyboru na temat wiedzy o chorobach odkleszczowych, postępowania w przypadku ukłuć przez kleszcza i objawów boreliozy. Najpopularniejszymi źródłami wiedzy okazał się Internet i bezpośredni kontakt z lekarzem, (odpowiednio przez 77,8% i 53,4% ankietowanych). Choć respondenci oceniali swoją wiedzę o chorobach odkleszczowych jako umiarkowaną (5/10 i 6/10), to uznali boreliozę za chorobę będącą przyczyną poważnego zagrożenia zdrowia (8/10), w szczególności groźne dla zdrowia wydało się ankietowanym nieusunięcie aparatu gębowego kleszcza ze skóry po ukłuciu (10/10). Szczepienia przeciwko chorobom odkleszczowym nie cieszyły się wśród ankietowanych popularnością – zaledwie 48% miało do nich pozytywny stosunek, przy czym wobec braku dostępnej na rynku szczepionki przeciwko boreliozie autorka zadawała pytanie o postawę ankietowanych wobec szczepionki przeciwko kleszczowemu zapaleniu mózgu.

Temat pracy jest bardzo interesujący, bowiem lekarze mają na co dzień do czynienia z pacjentami, którzy opierają swoją wiedzę o wiadomości wyczytane z internetu, często chaotyczne, mające na celu wywołanie u czytelnika strachu przed chorobami odkleszczowymi. Wielka szkoda, że omawianych 37 pytań ankietowych nie zostało zacytowanych w rozprawie doktorskiej. Czytelnik nie dowiaduje się z wyników pracy, czy i jak wielu z 77% ankietowanych czerpiących wiedzę z Internetu pozyskało wiedzę obiektywną i rzetelną, a ilu dało się przekonać nierzetelnym i niezgodnym z rekomendacjami medycznymi zaleceniom. Rozszerzenie tego punktu pracy dałoby podstawę do podjęcia działań naprawczych (np. wskazanie respondentom właściwych źródeł informacji w internecie).

**KLINIKA CHORÓB ZAKAŻNYCH DZIECI  
UNIwersYTETU MEDYCZNEGO w ŁODZI  
Kierownik: dr hab. n. med. Ewa Majda-Stanisławska  
Wojewódzki Specjalistyczny Szpital im. dr Wł. Biegańskiego**

91-347 Łódź, ul. Kniaziewiczza 1/5 pawilon E  
tel. (0-42) 251-60-18 fax. (0-42) 251-60-18 e-mail sekretariatcp@bieganski.com.pl

## **Praca oryginalna II**

Wosińska M., Toczyłowski K. Lewandowski D. Bojkiweicz E., Milewki R., Sulik A.

„Diagnostic Precision in Lyme Borreliosis: Assessing VlsE and C6 Antigens in a Pediatric Cohort”

W badaniu porównano wyniki badania specyficznych przeciwciał przeciwko *Borrelia* spp. oznaczonych standardowymi testami EIA oraz specyficznych przeciwciał C6 i anti-VLsE oznaczonych odpowiednio testami Immunetics C6 Lyme ELISA oraz anti- *B. burgdorferi* VlsE ELISA .

Próbki surowicy krwi do powyższych oznaczeń pochodziły od 70 dzieci (49 z rumieniem wędrującym i 21 z neuroboreliozą). Próbki były pobierane od każdego pacjenta kilkakrotnie przed leczeniem oraz po 3, 6 i 12 miesiącach od rozpoczęcia leczenia.

Przeciwciała anti-C6 wykryto w podgrupie 48 dzieci, w tym u 33 z rumieniem wędrującym i 15 z neuroboreliozą. Analiza wyników testu z antygenem C6 wykazała brak korelacji pomiędzy przeciwciałami w klasie IgG EIA i C6 oraz pomiędzy C6 i IgM EIA. Przeciwciała anti - C6 dobrze korelowały z IgG anti-VLsE. U wszystkich 33 pacjentów z rumieniem wędrującym stwierdzono dodatnią odpowiedź przeciwciał na antygen C6.

Poziomy IgG anti-VLsE dobrze korelowały ze standardowymi przeciwciałami w klasie IgG EIA. Dodatkowo wyniki badania przeciwciał dla antygeny VlsE zaobserwowano zarówno u pacjentów z rumieniem wędrującym jak i chorych na neuroboreliozę. W grupie rumieniem wędrującym po leczeniu antybiotykami zaobserwowano istotny spadek poziomu przeciwciał anti-VlsE. Natomiast w grupie pacjentów z neuroboreliozą także obserwowano obniżenie wartości tych przeciwciał, ale nie miało ono cech istotności statystycznej.

Wnioski o możliwości monitorowania terapii boreliozy przy użyciu tego testu wydają mi się nieco pochopne. Rumień wędrujący jest najwcześniejszą postacią boreliozy, równie dobrze obniżanie stężenia przeciwciał może być związane z samą ewolucją choroby, a nie z zastosowanym leczeniem. Z oczywistych przyczyn nie można jednak porównać dynamiki tych przeciwciał u chorych leczonych i nieleczonych. Dodatkowo zaniechanie produkcji testu wykrywającego przeciwciała anti-C6 uniemożliwiło szersze badania tego parametru. Czy doktorantka mogłaby skomentować decyzję producenta? Czy może poznała przyczynę tej decyzji?

**KLINIKA CHORÓB ZAKAŻNYCH DZIECI  
UNIwersytetu Medycznego w Łodzi**

*Kierownik: dr hab. n. med. Ewa Majda-Stanisławska*

**Wojewódzki Specjalistyczny Szpital im. dr Wł. Biegańskiego**

91-347 Łódź, ul. Kniaziewiczza 1/5 pawilon E

tel. (0-42) 251-60-18 fax. (0-42) 251-60-18 e-mail sekretariatcp@bieganski.com.pl

**Praca przeglądowa**

Trzecia z prezentowanych jako część rozprawy doktorskiej prac - przeglądowa

Wozińska M, Toczyłowski K., Sulik A. „Wyzwania i nowe możliwości w diagnostyce boreliozy u dzieci” przedstawia obecne możliwości diagnostycznych choroby z Lyme oraz perspektywy na nadchodzącą przyszłość. Pierwszy etap standardowej diagnostyki pacjenta, u którego podejrzewamy boreliozę stanowi diagnostyka serologiczna - dwuetapowa, z wykorzystaniem testu ELISA i potwierdzeniem uzyskanych dodatnich wyników testem Western Blot. W ostatnim czasie pojawiły się testy immunoenzymatyczne nowej generacji, które wykorzystują jako antygeny rekombinowane białka lub syntetyczne peptydy. Postuluje się, iż testy te mogą zastąpić klasyczny immunoblot, jako drugi etap protokołu diagnostycznego boreliozy. Diagnostyka bezpośrednia oparta na technikach hodowli bakterii lub wykorzystująca reakcję łańcuchową polimerazy (PCR) przy wykorzystaniu krwi jako materiału badanego jest mało czuła (bakteriemia w boreliozie nie jest wystarczająca do badania obecności krętków we krwi), a materiał tkankowy jest technicznie trudny do uzyskania od pacjenta. Doktorantka przedstawia szereg innych metod diagnostycznych, w tym pomiar stężenia chemokiny CXCL13 w płynie mózgowo-rdzeniowym.

Praca porządkuje informacje na temat diagnostyki boreliozy i przedstawia możliwe zastosowanie nowych, bardziej czułych i swoistych metod w przyszłości.

**Podsumowanie.**

Przedstawiona mi do recenzji na podstawie cyklu publikacji praca doktorska lek med. Marty Wozińskiej pt. Borelioza u dzieci: wieloaspektowe badanie dotyczące zapobiegania i nowych metod diagnostycznych stanowi logicznie uporządkowany zbiór badań na wybrany temat. Dają one wiedzę o diagnostyce boreliozy, perspektywach rozwoju tej diagnostyki na przyszłość oraz o nastawieniu rodziców chorych dzieci do samej choroby i jej zapobiegania. Publikacje, które doprowadziły do w/w wniosków są napisane w oparciu o rzetelne badania, przeprowadzone na umiarkowanie dużych grupach pacjentów, przy zastosowaniu jednorodnych kryteriów włączenia i wyłączenia. Opublikowano je w czasopiśmie o wysokim wskaźniku wpływu.

**KLINIKA CHORÓB ZAKAŻNYCH DZIECI**  
**UNIWERSYTETU MEDYCZNEGO W ŁODZI**  
*Kierownik: dr hab. n. med. Ewa Majda-Stanisławska*  
**Wojewódzki Specjalistyczny Szpital im. dr Wł. Biegańskiego**  
91-347 Łódź, ul. Kniaziewiczza 1/5 pawilon E  
tel. (0-42) 251-60-18 fax. (0-42) 251-60-18 e-mail sekretariatcp@bieganski.com.pl

W mojej ocenie przedstawiony cykl prac spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce.

Zwracam się z prośbą do Senatu Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku o dopuszczenie pracy do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

**KIEROWNIK**  
**Kliniki Chorób Zakaźnych Dzieci**  
**Uniwersytetu Medycznego w Łodzi**  
  
**dr hab. n. med. Ewa Majda-Stanisławska**

