

**Recenzja rozprawy doktorskiej pani mgr Justyny Liberskiej  
pt. "Współwystępowanie *Babesia* spp. (Apicomplexa: Piroplasmida) i *Borrelia* spp. (Bacteria: Spirochaetes w kleszczach pospolitych, *Ixodes ricinus*, na terenach zubranizowanych na przykładzie Poznania"**

Niniejszą recenzję przygotowano na podstawie Uchwały Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Biologiczne Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza z dnia 23 września 2022 roku. Podstawę prawną dla procedowania nadania stopnia naukowego doktora stanowi Ustawa z dnia 20 lipca 2018 roku Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2018 poz. 1668, tekst ujednolicony), zwana dalej Ustawą oraz Uchwała nr 133/2020/2021 Senatu Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu z dnia 28 czerwca 2021 roku, dotycząca określenia sposobu postępowania w sprawie nadania stopnia doktora.

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska pani mgr Justyny Liberskiej pt. "Współwystępowanie *Babesia* spp. (Apicomplexa: Piroplasmida) i *Borrelia* spp. (Bacteria: Spirochaetes) w kleszczach pospolitych, *Ixodes ricinus*, na terenach zubranizowanych na przykładzie Poznania" zrealizowana została pod kierunkiem pani prof. UAM dr hab. Mirosławy Dabert z Laboratorium Techniki Biologii Molekularnej i pana prof. UAM dr hab. Jerzego Michalika z Zakładu Morfologii Zwierząt, na Wydziale Biologii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu. Stanowi zatem przykład przemyślanej współpracy między specjalistami i jednostkami o różnych profilach badawczych i możliwościach technicznych. Doświadczenie i dorobek naukowy promotorów stanowi przy tym doskonałą rekomendację dla pomyślanej finalizacji i wysokiego poziomu naukowego.

Rozprawa doktorska stanowi spójną tematycznie i formalnie całość obejmującą 113 stron, w tym wymagane streszczenia w języku polskim i angielskim, wprowadzenie ze wskazaniem głównych celów rozprawy, syntetyczne omówienie rezultatów i wniosków, wykaz literatury, trzy współautorskie, oryginalne artykuły naukowe (2 publikacje i manuskrypt, ze wskazaniem planowanego miejsca złożenia do druku) zawierające meritum osiągnięcia naukowego, wymagane oświadczenia dotyczące wkładu poszczególnych współautorów w jego uzyskanie oraz materiały dodatkowe. Taka forma jest zgodna z wytycznymi art. 187 ust. 1-4 Ustawy, według której rozprawę

może stanowić praca pisemna, w tym zbiór opublikowanych i powiązanych tematycznie artykułów naukowych, a także samodzielna i wyodrębniona część pracy zbiorowej; przy czym w świetle interpretacji Rady Doskonałości Naukowej zawartej w Komunikacie nr 19/2020 a dnia 09.11.2020 rozprawa doktorska może się składać z prac zarówno opublikowanych, jak i takich, których wyniki jeszcze nie zostały opublikowane. Chociaż w tym miejscu należy dodać, że ostatnia z prac została już opublikowana w czasopiśmie *Pathogens*, z datą 10 kwietnia 2024 (czyli wkrótce po złożeniu rozprawy).

Publikacje, wchodzące w skład rozprawy, stanowią dzieła wieloautorskie (odpowiednio: dziewięć, trój-, czteroautorskie), przy czym pani Justyna Liberska jest we wszystkich autorką pierwszą, a w dwóch - korespondencyjną, co jednoznacznie wskazuje na jej wiodącą rolę w ich powstaniu, potwierdzoną też stosownymi oświadczeniami współautorów, tak w formie opisowej, jak i procentowo. Artykuły zostały opublikowane w anglojęzycznych periodykach specjalistycznych o zasięgu międzynarodowym, indeksowanych w WoS i Scopus, naturalnych dla tej tematyki badawczej, co zapewni im stosowny odbiór. Dwie prace ukazały się w czasopiśmie *Ticks and Tick-borne Diseases* (100 pkt. ministerialnych, wskaźniki WoS - Q2 wg JCI i Q3 wg IF; IF wg roku opublikowania odpowiednio 3,817 i 3,2; wskaźniki Scopus – Q1 wg SJR, perc. 91%), a ostatnia (j/w) w bieżącym roku w *Pathogens* (100 pkt. ministerialnych, aktualne wskaźniki WoS - Q2 wg JCI i Q2 wg IF, IF 3,7; wskaźniki Scopus – Q2 wg SJR, perc. 74%). Jakkolwiek w ocenie osiągnięcia niewątpliwie najważniejsza jest wartość merytoryczna, a nie wskaźniki bibliometryczne czasopism stanowiących miejsce opublikowania, to jednak publikacje w periodykach indeksowanych o dobrych wskaźnikach wskazują, że prace poddane zostały ocenie oraz weryfikacji przez recenzentów i profesjonalne redakcje.

W warstwie merytorycznej badania pani mgr Justyny Liberskiej wiążą się z interesującą naukowo, a jednocześnie istotną w kontekście znaczenia medycznego i weterynaryjnego problematyką patogenów przenoszonych przez kleszcze. Niewątpliwie słusznie wybrano tu jako obiekt analiz *Ixodes ricinus*, najważniejszy i najpospolitszy gatunek z tej grupy roztoczy pasożytniczych w Polsce i Europie. Kleszcze to wektory idealne, ze względu na hematofagiczne odżywianie, mechanizm żerowania, wielokrotne zmiany żywicieli w cyklu życiowym, relatywną długowieczność, czy możliwość rozprzestrzeniania geograficznego za pośrednictwem często szerokiego kręgu żywicieli. Szereg różnych czynników będących skutkiem antropopresji, od globalnych zmian klimatycznych, po zmiany struktury przestrzennej ekosystemów i postępujące w związku z tym zjawisko synurbizacji zwierząt, przyczynia się do rozszerzania zasięgów związanych z nimi kleszczy i coraz intensywniejszego zasiedlania terenów miejskich, gdzie znajdują żywicieli w postaci ludzi oraz zwierząt domowych – psów i kotów. Zwiększa to rezerwuar żywicieli jednocześnie stwarzając zagrożenia epidemiologiczne. Szczególnie istotnymi w kontekście tych grup żywicielskich patogenami są krętki *Borrelia* spp., związane m.in. z wielonarządową chorobą zakaźną – boreliozą, problematyczną w różnych wariantach i postaciach nie tylko dla ludzi, ale i dla psów. Z kolei protisty *Babesia* spp. to pasożyty kręgowców, powodujące babeszjozę, m.in. psów, kotów, ale także ludzi. Uwzględniając te trzy elementy – wektory patogenów (kleszcze) i dwie istotne grupy patogenów, głównym celem badań stała się analiza poziomu zakażeń *Borrelia* (*B. miyamotoi* i *B. burgdorferi* s.l.) i zarażeń *Babesia* oraz ich współwystępowania u *I. ricinus*. Badaniami objęto populacje tych kleszczy

z rejonu Poznania, jako reprezentatywne dla podobnych ekosystemów miejskich. W analizach uwzględniono łącznie 2327 kleszczy, w tym zarówno kleszcze w fazie niepasżytniczej (zebrane z roślin – 1059 okazów, co stanowi 45,5% próby badawczej), jak i w fazie pasżytniczej (żerujące na żywicielach – psach, kotach - 1268 okazów, czyli 54,5% próby). Tu jednak ze względu na źródło materiału jakim były lecznice weterynaryjne w Poznaniu, część materiału zidentyfikowano jednoznacznie jako pochodzący od psów, czy kotów, a część tylko jako pochodzący od tzw. czworonogów (psy i koty potraktowane łącznie). I tu nasuwa się pytanie – czy kleszcze te zbierała sama Doktorantka, jak napisano, czy zostały przekazane do badań (skąd ta łączna kategoria żywicieli?). Kolejne pytanie - czy weryfikowano (np. na podstawie wywiadu z właścicielami zwierząt), czy w/w psy i koty pochodziły z rejonu Poznaniu (tzn. czy na tym obszarze pozyskały kleszcze, czy mogły przetransportować je z innych rejonów – nie ma to zapewne kluczowego znaczenia dla wyników badań i mogłoby zaburzyć statystyki pewnie w minimalnym stopniu, ale wymaga to doprecyzowania). Obie próby pochodziły z podobnego okresu, tj. kleszcze zbierano z roślinności w latach 2017 i 2018, a z żywicieli – w zakresie lat 2015-2017. Generalnie materiał wydaje się reprezentatywny dla tego typu analiz uwzględniając, że częstość patogenów w populacjach kleszczy osiąga wartość przynajmniej kilku procent. Identyfikację gatunkową kleszczy oparto na cechach morfologicznych, z potwierdzeniem jej w przypadku stadiów młodocianych metodami molekularnymi. Było to przydatne, bo chociaż kryteria morfologiczne w przypadku identyfikacji *I. ricinus* nie budzą wątpliwości, jednak gatunek ten wykazuje bardzo duży zakres zmienności, a identyfikację utrudniają jeszcze deformacje związane z różnym stopniem nassania kleszczy, więc identyfikacja, szczególnie stadiów juwenilnych, może nastroczać problemy mniej doświadczonym w tym zakresie badaczom zwłaszcza, że konieczność wykorzystania materiału do dalszych analiz stwarza pewne ograniczenia dla ewentualnej preparatyki mikroskopowej. Z kolei wykrywanie i identyfikacja patogenów przeprowadzona została według właściwych do tego celu i odpowiednio przedstawionych przez Doktorantkę metod molekularnych. Uzyskane wyniki przedstawiono w kolejnych publikacjach, w układzie i sekwencji adekwatnej dla celów badań.

Zatem pierwsza publikacja (Liberska i wsp. 2021) prezentuje badania *Babesia canis* u kleszczy pospolitych z różnych środowiska - miejskiego i leśnego. Ten gatunek pasożyta jest szeroko rozpowszechniony i powodujący babeszjozę psów, najgroźniejszą u tych zwierząt chorobę odkleszczową, a wiązany głównie z kleszczem łąkowym *Dermacentor reticulatus*. Natomiast w przeprowadzonych badaniach uwzględniono możliwość transmisji tych protistów przez *I. ricinus*, jako powszechnego pasożyta psów. W łącznej próbie 1598 kleszczy odsetek zarażonych wynosił 5,1%, przy zróżnicowanym poziomie zarażenia na terenach leśnych (10,2% - najwyższy poziom zarażenia w Europie; zarażone były tu larwy i nimfy) i miejskich (2,1% – zarażenie stwierdzono u nimf i adulti). Potwierdzono w ten sposób możliwość wykorzystania przez tego pasożyta w charakterze wektora *I. ricinus*, co ma niewątpliwie znaczenie w kontekście możliwości zarażenia *Babesia canis* w rejonach, gdzie nie notowany lub rzadki jest typowy wektor. Uzupełnienie tych danych, dotyczących innych *Babesia* znalazło się też w trzeciej publikacji (Liberska i wsp. 2024).

W drugiej w kolejności opublikowania pracy (Liberska i wsp. 2023) przedstawione zostały wyniki o poziomie zakażeń *I. ricinus* przez *Borrelia miyamotoi*, tj. bakterie powodujące tzw. gorączki powrotne. Tu w badaniach wykorzystano 1059 *I. ricinus* w fazie niepasżytniczej i 837 zebranych z

żywicieli. Ponadto z żywicieli zebrano 1 okaz *D. reticulatus* i 33 okazy rzadszego kleszcza jeżowego *I. hexagonus*, gatunku o odmiennej ekologii i węższym kręgu żywicielskim, znacznie rzadziej badanego na obecność patogenów, stąd istotne było wykazanie u 3 okazów bakterii *B. miyamotoi*. Głównym efektem badań było m.in. wykrycie *B. miyamotoi* u kleszczy pospolitych na wszystkich badanych stanowiskach w Poznaniu, przy zbliżonym poziomie zakażenia u kleszczy z roślin (2,1%) i z żywicieli (1,8%), co koresponduje z wynikami z innych ekosystemów miejskich Europy.

Trzecia publikacja (Liberska i wsp. 2024) stanowi element podsumowujący i łączący podjęte wcześniej tematyki. Przeanalizowano i przedstawiono tu dane o współwystępowaniu *Borrelia burgdorferi* s.l. i *Babesia* spp. wśród kleszczy pospolitych z obszarów miejskich Poznania. Uwzględniono 1029 kleszczy w fazie niepasżytniczej i 1268 pochodzących z żywicieli – wykazano, że w obu grupach wśród *Borrelia* dominowały *B. afzelii* i *B. garinii*, a wśród *Babesia* – *Ba. canis* i *Ba. microti*. Około 1,0% badanych kleszczy wykazywało współwystępowania patogenów z tych grup, przy czym u kleszczy z roślin dominował związek *Ba. canis* z *B. afzelii* i *B. garinii*, natomiast u kleszczy z żywicieli – *Ba. microti* i *B. afzelii*. Takie współwystępowanie tych patogenów może mieć znaczenie w kontekście diagnostyki, która bywa problematyczna szczególnie w przypadku chorób powodowanych przez *Borrelia*.

Podsumowując, wyniki i analizy przedstawione w trzech publikacjach, uzupełnione syntetycznym wprowadzeniem i materiałami dodatkowymi, są spójne, realizują postawione cele badań w oparciu o reprezentatywny materiał, właściwie dobrane i zastosowane metody. Badania przyczyniają się do pogłębienia wiedzy o dynamice występowania pasożytów i patogenów przenoszonych przez jedne z najważniejszych wektorów, jakimi są kleszcze. Wnoszą nowe dane o ich okrażeniu w różnych typach środowisk, czy rezerwuarach żywicielskich. Ma to znaczenie nie tylko poznawcze, w kontekście analiz skomplikowanych układów żywiciel-pasożyt(wektor)-patogen, ale też praktyczne, dla diagnostyki medycznej i weterynaryjnej, czy profilaktyki chorób odkleszczowych. Szczególnie ważne są badania dotyczące monitoringu występowania Ixodidae i transmitowanych patogenów na terenach miejskich, ze względu obserwowaną od pewnego czasu tendencję opanowywania tych terenów przez kleszcze. Zatem jakkolwiek wartość badań i poprawność ich realizacji nie budzi wątpliwości, nasuwają się pewne pytania, czy drobne uwagi, np. dotyczące stosowania nieprecyzyjnego, czasami potocznego języka, niespójnego z polską terminologią naukową. I tak wielokrotnie używane „zakażenie” (infekcja) stosowane jest w tekście tak dla określenia występowania *Borrelia* (bakterii), co jest poprawne, jak i *Babesia*, która należąc do tzw. protistów/pierwotniaków z Apicomplexa ma w parazytologii status pasożyta, zatem stosuje się tu termin „zarażenie” (inaczej niż w języku angielskim, gdzie zarówno zakażenie, jak i zarażenie to infection). Potocznie stosowane jest też określenie „wektorowanie” dla przenoszenia patogenów przez kleszcze, zamiast np. transmisja. Uwagi dotyczące poprawności terminologii odnoszą się do polskojęzycznej części tekstu, jednak są istotne w kontekście opanowania przez Doktorantkę także polskiej terminologii naukowej. Natomiast w kontekście badań i ich wyników nasuwają się pytania – (1) czy w ostatnich latach obserwuje się w Poznaniu (podobnie jak w innych aglomeracjach miejskich) znaczący wzrost populacji *Dermacentor reticulatus* (czy prowadzony jest tu monitoring występowania tych kleszczy?); (2) wg jednej z konkluzji pracy *I. ricinus* w pewnym sensie przejmuje rolę wektora w transmisji *Ba. canis*, przy braku w środowisku *D. reticulatus*. Zatem czy zwiększenie

w danym środowisku liczebności *D. reticulatus* powinno skutkować obniżeniem poziom zarażenia *Ba. canis* u *I. ricinus*, czy może podwyższeniem?

Zaprezentowane w pracy doktorskiej wyniki i ostateczne konkluzje wskazują, że postawione cele zostały w pełni zrealizowane. A fakt przedstawienia rozprawy w postaci cyklu prac opublikowanych w międzynarodowych, indeksowanych czasopismach sankcjonuje jej wartość i wskazuje, że p. mgr Justyna Liberska nie tylko potrafi odpowiednio zaplanować oraz skutecznie przeprowadzić badania, ale właściwie i pogłębienie opracować wyniki analiz przygotowując do druku i procedując w skomplikowanym procesie publikacyjnym.

Uważam, że praca doktorska „Współwystępowanie *Babesia* spp. (Apicomplexa: Piroplasmida) i *Borrelia* spp. (Bacteria: Spirochaetes w kleszczach pospolitych, *Ixodes ricinus*, na terenach zurbanizowanych na przykładzie Poznania” prezentuje wysoki poziom merytoryczny stanowiąc oryginalne rozwiązanie problemu naukowego w zakresie nauk biologicznych i niewątpliwie spełnia wszystkie wymagania do uzyskania stopnia naukowego doktora określone w artykule 187 ust. 1-2 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. W związku z tym, zwracam się do Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Biologiczne Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza z wnioskiem o dopuszczenie pani Justyny Liberskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

