



Uniwersytet Komisji
Edukacji Narodowej
w Krakowie

Dr hab. Magdalena Nowak-Chmura, prof. UKEN
Katedra Zoologii, Instytut Biologii i Nauk o Ziemi
Wydział Nauk Ścisłych i Przyrodniczych
Uniwersytet Komisji Edukacji Narodowej w Krakowie
magdalena.nowak-chmura@uken.krakow.pl

Kraków, 03.06. 2024 r.

Recenzja rozprawy doktorskiej

Pani mgr Justyny Liberskiej

pt. „Współwystępowanie *Babesia* spp. (Apicomplexa: Piropiasmida) i *Borrelia* spp. (Bacteria: Spirochaetes) w kleszczach pospolitych, *Ixodes ricinus*, na terenach zurbanizowanych na przykładzie Poznania”

Co-occurrence of *Babesia* spp. (Apicomplexa: Piropiasmida) and *Borrelia* spp. (Bacteria: Spirochaetes) in common ticks, *Ixodes ricinus*, in urban areas on the example of Poznań.

Rozprawa doktorska Pani mgr Justyny Liberskiej pt. „Współwystępowanie *Babesia* spp. (Apicomplexa: Piropiasmida) i *Borrelia* spp. (Bacteria: Spirochaetes) w kleszczach pospolitych, *Ixodes ricinus*, na terenach zurbanizowanych na przykładzie Poznania” powstała w Laboratorium Techniki Biologii Molekularnej oraz w Zakładzie Morfologii Zwierząt na Wydziale Biologii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, pod kierunkiem Pani Prof. Dr hab. Mirosławy Dabert oraz promotora pomocniczego Pana Prof. UAM dr hab. Jerzego Michalika, zatem w znanym i cenionym ośrodku naukowym pod opieką merytoryczną Promotorów dysponujących doświadczeniem i wybitnym dorobkiem naukowym w zakresie dysertacji.

Wiedza na temat enzootycznych cykli krążenia patogenów chorób odkleszczowych z udziałem wektora *Ixodes ricinus* w ekosystemach miejskich nie jest do końca poznana, a miejskie tereny nieustannie stwarzają potencjalne ryzyko zachorowania osób i zwierząt korzystających z obszarów zieleni na choroby odkleszczowe, w szczególności boreliozę z Lyme i babeszjozę. Wybrane przez Doktorantkę do badań kleszcze *Ixodes ricinus* nieustannie budzą wśród badaczy kleszczy w Polsce i Europie ogromne zainteresowanie, a licznie rejestrowane w Polsce zachorowania na choroby odkleszczowe jedynie potwierdzają konieczność rozszerzonych badań nad występowaniem naturalnych siedlisk kleszczy, a tym samym ognisk chorób odkleszczowych. Ponieważ współwystępowanie potencjalnie chorobotwórczych gatunków z rodzaju *Borrelia* i *Babesia* w miejskich kleszczach może się również przyczynić do utrudnienia diagnostyki jednostek chorobowych oraz nasilenia przebiegu choroby, uważam za bardzo słuszne

i potrzebne podjęcie przez Doktorantkę cyklu badań, które przyczyniły się do poszerzenia kompleksowej wiedzy w tym temacie. *Ixodes ricinus*, ten najważniejszy epidemiologicznie wektor patogenów odkleszczowych w Europie wart jest dokładnego monitorowania, dlatego w pełni popieram wybór tematu badań naukowych, które zaowocowały rozprawą doktorską.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska mgr Justyny Liberskiej jest zgodna w ocenie formalnej z wytycznymi Ustawy z dnia 14 marca 2003 roku, według której rozprawę doktorską może stanowić spójny tematycznie zbiór artykułów opublikowanych w czasopismach naukowych. W przypadku niniejszej rozprawy są to dwie oryginalne publikacje naukowe oraz jeden manuskrypt przygotowany do wysłania do czasopisma.

Przedłożone osiągnięcie stanowi konsekwentną formalnie i merytorycznie całość obejmującą 113 stron, w skład której wchodzi: streszczenie w języku polskim (1,5 strony) i angielskim (abstract) (1,5 strony); wykaz publikacji składających się na rozprawę doktorską (1 strona); wprowadzenie i główne cele rozprawy doktorskiej (6 stron); rezultaty i wnioski rozprawy doktorskiej (7 stron); literatura (8 i pół strony); kopie dwóch publikacji naukowych oraz manuskrypt publikacji przygotowany do wysłania do czasopisma (58 stron); oświadczenia o wkładzie w powstawanie artykułów (15 stron); materiały dodatkowe (8 stron).

Treść streszczenia rozprawy doktorskiej wraz z wprowadzeniem, rezultatami i wnioskami jest wartościowym uzupełnieniem rozprawy. Opracowanie jest bardzo staranne i czytelne oraz poprawne językowo. Wprowadzenie zakończono wykazem cytowanej literatury (81 pozycji).

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska Pani mgr Justyny Liberskiej została przygotowana w oparciu o dwie publikacje, które ukazały się w latach 2021 i 2023 w czasopiśmie z listy JCR:

Ticks and Ticks-borne Disease [100/3.2 MNiSW/IF]. Trzecią pozycją, składającą się na rozprawę był manuskrypt przygotowany do wysłania do czasopisma. Praca ta została już ostatecznie opublikowana dnia 10 kwietnia 2024 roku w czasopiśmie z listy JCR: **Pathogens** [100/3.7 MNiSW/IF], akurat na etapie przygotowywania niniejszej recenzji.

Wybór Doktorantki dotyczący publikacji swoich wyników badań w czasopiśmie naukowym „Ticks and Ticks-borne Disease” był bardzo dobry i trafny. Jest to międzynarodowe, recenzowane czasopismo z najwyższej półki, publikujące oryginalne wyniki badań wybitnych specjalistów badających kleszcze i ich szerokie znaczenie dla zdrowia ludzi i zwierząt. Sam fakt możliwości opublikowania przez Doktorantkę swoich wyników badań właśnie w tym czasopiśmie zasługuje na ogromne uznanie.

Doktorantka jest pierwszą autorką we wszystkich pracach stanowiących cykl rozprawy doktorskiej, a także w dwóch jest autorką korespondencyjną. Wszystkie pozycje są pracami wieloautorskimi (od trzech

do dziewięciu autorów). Jak wynika z oświadczeń Doktorantki i współautorów o udziale w pracach stanowiących cykl publikacji w przewodzie doktorskim, udział Doktorantki w powstawaniu każdej publikacji jest znaczący i wyróżniający się, określony na 60-70% udziału i wkładu w powstanie publikacji. Doktorantka uczestniczyła między innymi w formułowaniu hipotez badawczych, zbiorze materiału, prowadzeniu bazy danych, w badaniach morfologicznych i molekularnych kleszczy, dokonywała interpretacji wyników, przygotowywała manuskrypty oraz pozyskiwała fundusze na badania.

Tematyka artykułów składających się na rozprawę doktorską jest spójna i koncentruje się wokół populacji kleszczy *Ixodes ricinus* występujących w ekosystemach miejskich miasta Poznania, roli żywicieli - zwierząt towarzyszących człowiekowi w transmisji chorobotwórczych patogenów a szczególnie i przede wszystkim koncentruje się na analizie poziomu zakażeń kleszczy bakteriami z rodzaju *Borrelia* i zarażeń gatunkami z rodzaju *Babesia*. Przeprowadzenie takich badań wymagało od Doktorantki znakomitej znajomości taksonomii kleszczy, wypracowanego warsztatu badawczego do przeprowadzenia prac w terenie i badań w laboratorium, w tym molekularnych, znajomości czynników wpływających na układ pasożyt-żywiciel, takich jak specyficzność żywicielska oraz płynnego poruszania się w literaturze światowej.

Prezentowane wyniki badań dowodzą o wysokim poziomie prowadzonych badań naukowych, zostały również docenione przez niezależnych recenzentów w czasopiśmie „Ticks and Ticks-borne Disease”, w którym zostały opublikowane. Moją uwagę zwracają szczególne dokonania Doktorantki, które zauważam i wyszczególniam w poniższym krótkim podsumowaniu badań wykonanych w ramach rozprawy doktorskiej:

- **praca badawcza w terenie i różnorodność siedlisk zbiorów kleszczy**

Doceniam wkład Doktorantki w badania faunistyczne i prace w terenie na dużym obszarze, kilkusezonowe obserwacje i zbiory kleszczy z roślinności, trafny wybór stanowisk badań, zróżnicowanych siedliskowo i podzielonych na siedliska leśne (zbiór z ludzi w ramach eksperymentu) i miejskie (obszary rekreacji ludzi), które w konsekwencji starannie i rzetelnie wykonanych prac zaowocowały odpowiednią ilością wyników prowadzonych badań. Wnioskuje, że Doktorantka ma cechy predysponujące ją zarówno do samodzielnej pracy w terenie jak i do współpracy grupowej oraz dobrze opanowany warsztat badawczy (znajomość technik i metod terenowych), ponieważ badania terenowe i zbiory kleszczy takich właśnie umiejętności wymagają.

- **włączenie do badań kleszczy zebranych w fazie pasożytniczej z żywicieli – psów i kotów domowych**

Dociekliwość naukowa zapewne doprowadziła Doktorantkę do trafnie zaplanowanej, trzyletniej współpracy z 17 lecznicami weterynaryjnymi w Poznaniu, dzięki której pozyskano do badań kleszcze żerujące na zwierzętach towarzyszących człowiekowi czyli na psach i kotach domowych. To był bardzo dobry krok, rozszerzył metodologię całej pracy, podkreślam ogrom materiału do badań niełatwego w kontekście taksonomii osobników najedzonych (1268 kleszczy), ale przyczynił się do wyjątkowych w skali światowej wyników badań np. udziale bakterii *Borrelia miyamotoi* w żerujących na psach i kotach kleszczach jako oceny ryzyka nabycia tych krętków przez człowieka.

- **wykazanie w kleszczach z siedlisk leśnych w Wielkopolsce najwyższego w Europie poziomu zarażeń *Babesia canis* u *Ixodes ricinus* (od 9,9% do 12,5%)**

Badania Doktorantki potwierdzają *Babesia canis* u larw *I. ricinus* z siedlisk leśnych co wskazuje na znaczenie transmisji transowarialnej tego gatunku, natomiast wykrycie wyższego odsetka zarażeń u osobników dorosłych kleszczy z siedlisk miejskich wskazuje na transstadialny transfer *Babesia canis*.

Ostateczne potwierdzenie statusu kleszcza pospolitego *I. ricinus* jako pełnowartościowego wektora *Babesia canis* wymaga dalszych badań, ale z całą pewnością Doktorantka dowiodła o możliwości funkcjonowania *I. ricinus* jako wektora *Babesia canis* na obszarach gdzie *Dermacentor reticulatus* nie występuje, badania mają ogromne znaczenie epidemiologiczne i weterynaryjne w odniesieniu do występowania i uwarunkowań choroby babeszjozy zarówno u ludzi i zwierząt.

- **potwierdzenie występowania gatunków z rodzaju *Babesia* u kleszczy z roślinności i zwierząt domowych z obszarów Poznania**

Badania Doktorantki dowiodły o występowaniu w kleszczach ze zwierząt domowych gatunków chorobotwórczych dla człowieka: *Babesia microti* i *Babesia venatorum*, ponadto *Babesia canis*, ze szczególną dominacją *Babesia canis* (typ A o mniejszej chorobotwórczości) i *Babesia microti* zarówno w kleszczach z roślinności jak i ze zwierząt domowych. Badania są wiarygodnym wskazaniem, że na terenach rekreacyjnych Poznania istnieje potencjalne ryzyko nabycia babeszjozy.

- **wykrycie aktywnych enzootycznych cykli *Borrelia miyamotoi* w populacjach miejskich kleszczy *I. ricinus* w Poznaniu**

Doktorantka potwierdziła zakażenie *Borrelia miyamotoi* w kleszczach ze wszystkich pięciu stanowisk w Poznaniu (zakres 1,4%-2,4% tj. 22 kleszcze) oraz we wszystkich stadiach rozwojowych, najczęstsze u larw (6,7%) co potwierdza transowarialny transfer tego patogenu. Potwierdzono również zakażenie *Borrelia miyamotoi* u kleszczy *I. ricinus* żerujących na zwierzętach domowych (1,8% tj. 13 psów i 2 koty). W badaniach uwzględniono również żerujące na psach i kotach: 33 okazy kleszcza jeżowego *Ixodes*

hexagonus (9,1%, 3 okazy kleszcza) i 1 okaz samicy kleszcza łąkowego *Dermacentor reticulatus*, u której nie potwierdzono obecności patogenu. Badania Doktorantki udowadniają, że *Borrelia miyamotoi* może stanowić potencjalne zagrożenie dla człowieka i zwierząt towarzyszących na obszarach rekreacyjnych w Poznaniu. Jest to kolejny wynik prezentowany w rozprawie doktorskiej, który ma ogromne znaczenie dla zdrowia publicznego.

- **wykrycie krętków *Borrelia burgdorferii* s.l z grupy boreliozy z Lyme w populacjach miejskich kleszczy *I. ricinus* w Poznaniu**

Doktorantka potwierdziła również występowanie DNA *Borrelia burgdorferii* s.l u 8,7% kleszczy z roślinności (zakres 3%-40,3%), jak również u zwierząt towarzyszących, ale zarejestrowano niższy procent infekcji (zakres 4,7%-8,7%). Doktorantka określiła gatunki należące do krętków, powodujących boreliozę, były to w kleszczach z roślinności i ze zwierząt: *Borrelia afzelii*, *Borrelia garinii*, *Borrelia lusitaniae*, *Borrelia valaisiana* i dodatkowo z kleszczy żerujących na zwierzętach *Borrelia spielmanii*. Dominowały gatunki *Borrelia afzelii* i *Borrelia garinii*. Badania dowodzą o utrzymywaniu się ognisk boreliozy w środowisku miejskim Poznania.

- **wykazanie współwystępowania gatunków z rodzaju *Babesia* oraz *Borrelia* z grupy LB, i wykrycie w kleszczach z roślinności dominujących koinfekcji: *Babesia canis* – *Borrelia afzelii* i *Babesia canis* – *Borrelia garinii*, w kleszczach ze zwierząt dominowała koinfekcja: *Babesia microti* – *Borrelia afzelii***

Wykrycie podwójnych infekcji lub inwazji występujących w kleszczach na terenie Poznania jest dowodem na możliwe modyfikowanie przebiegu choroby, ta wiedza powinna być rozpowszechniona, aby koinfekcje były brane pod uwagę przez lekarzy medycyny i weterynarii oraz diagnostów podczas pogłębionego wywiadu a następnie diagnozowania ludzi i ich zwierząt towarzyszących po kontakcie z kleszczami.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska oraz wyniki badań prowokują i zachęcają do dyskusji, stąd moje pytania do Doktorantki. Bardzo proszę o odniesienie się do następujących zagadnień podczas publicznej obrony rozprawy doktorskiej.

1. Tytuł rozprawy doktorskiej moim zdaniem jest nieadekwatny do tego co jest jej zawartością, w mojej ocenie jest mocno okrojony, skupia uwagę jedynie na współwystępowaniu *Babesia* spp. i *Borrelia* spp. i nie eksponuje zupełnie innych badań, które były przeprowadzone. Dlaczego zastosowała Pani takie „skrótowe” podejście do tytułu rozprawy?

2. Cele rozprawy, które zaprezentowała Pani we wprowadzeniu są skupione wyłącznie na analizie poziomu zakażeń bakteriami *Borrelia* i zarażeń gatunkami pasożytniczymi z rodzaju *Babesia*. Nie wspomina Pani ani w jednym punkcie o zwierzętach żywicielskich, które odegrały znaczącą rolę w Pani pracy, którym są poświęcone dwie publikacje, składające się na cykl prac rozprawy. Brakuje mi tu konsekwencji i korelacji w całości opracowania stanowiącego cykl publikacji rozprawy doktorskiej. Wprowadzenie temu ma służyć, scaleniu i zebraniu wszystkich przeprowadzonych badań, jest ono czytelne i staranne jak napisałam wyżej, ale w celach szczegółowych zabrakło mi bliższego określenia do czego zmierza badacz w całym cyklu publikacji stanowiących rozprawę?

3. Bakterie, krętki *Borrelia miyamotoi* z grupy gorączek powrotnych wykryła Pani wśród miejskich, poznańskich populacji kleszczy *Ixodes ricinus* oraz także w kleszczach *I. ricinus* i *I. hexagonus* żerujących na pasach i kotach, pozyskanych z lecznic weterynaryjnych w Poznaniu. Potwierdziła Pani tym samym występowanie aktywnych enzootycznych cykli *B. miyamotoi* w Poznaniu. Sugeruje Pani w swojej pracy systematyczny monitoring miejskich psów i kotów pod tym kątem, co może być wykorzystane dla oceny ryzyka nabycia tych krętków przez człowieka. Czy mogłaby Pani podsumować co wiemy do tej pory o chorobie, którą powoduje ta bakteria u ludzi i u zwierząt towarzyszących człowiekowi (psy, koty), czyli boreliozie miyamotoi w Europie i Polsce? I czy Pani zdaniem jest się czego bać w kontekście rekreacji na świeżym powietrzu w Poznaniu?

4. Dzięki Pani badaniom poznaliśmy niezwykle istotne dane na temat zagrożeń chorobami odkleszczowymi na terenach rekreacyjnych Poznania. Są to informacje ogromnie cenne z punktu widzenia zdrowia publicznego i epidemiologii tych chorób, szkoda gdyby nie znalazły praktycznego wykorzystania w Poznaniu. Czy ma Pani jakiś pomysł na popularyzowanie informacji o zagrożeniach chorobami odkleszczowymi i zabezpieczeniu się przed kleszczami wśród lokalnych mieszkańców miasta?

5. Czy ma Pani plany na kontynuację badań?

Podsumowując, uważam, że każda z publikacji mgr Justyny Liberskiej stanowiących cykl rozprawy doktorskiej ma ogromne znaczenie dla zdrowia publicznego, a szczególnie dla parazytologii i bez wątpienia prezentuje bardzo ciekawe wyniki w skali europejskiej, które z pewnością zostaną docenione przez specjalistów. Wkład Doktorantki w naukę i wiedzę na temat kleszczy uważam za znaczący. Ponieważ obserwujemy w Polsce wzrost zachorowań ludzi na choroby odkleszczowe, każde badania populacji kleszczy *Ixodes ricinus* występujących w ekosystemach miejskich mają ogromne znaczenie dla określenia ryzyka ekspozycji ludzi na kleszcze. Doktorantka podjęła się badań, które znacząco przyczyniły się do

poszerzenia wiedzy o patogenach chorób odkleszczowych w Polsce. Jej dokonania mają użyteczne znaczenie dla epidemiologii chorób odkleszczowych, a wyniki mogą być wykorzystane w praktyce przez instytucje zdrowia publicznego nie tylko w Poznaniu.

Wniosek końcowy

Stwierdzam, że 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 zurbanizowanych na przykładzie Poznania” stanowi rozwiązanie oryginalnego problemu naukowego w zakresie nauk biologicznych i zarówno pod względem merytorycznym i formalnym spełnia wszystkie 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, z późn. zm.). W związku z tym stawiam wniosek do Wysokiej Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Biologiczne Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu o dopuszczenie Pani mgr Justyny Liberskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

A handwritten signature in blue ink, reading "Magdalena Nowak-Chmura". The signature is fluid and cursive, with the first letters of the first and last names being capitalized and prominent.

Dr hab. Magdalena Nowak-Chmura, prof. UKEN