

Wrocław, 10 stycznia 2020

prof. dr hab. Krzysztof Rypuła
Zakład Chorób Zakaźnych Zwierząt i Administracji Weterynaryjnej
Wydział Medycyny Weterynaryjnej
Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr Agaty Mitury
pt.: „Ptaki i gady jako rezerwuuar nowych gatunków chlamydii” wykonanej
w Zakładzie Chorób Bydła i Owiec Państwowego Instytutu Weterynaryjnego-Pań-
stwowego Instytutu Badawczego w Puławach
pod kierunkiem dr hab. Moniki Szymańskiej-Czerwińskiej, prof. instytutu.

Podstawą wykonania recenzji jest uchwała Rady Naukowej Państwowego Instytutu Weterynaryjnego-Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach z dnia 13 grudnia 2019, dotycząca recenzji rozprawy doktorskiej mgr Agaty Mitury pt.: „Ptaki i gady jako rezerwuuar nowych gatunków chlamydii”.

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska jest zbiorem opublikowanych w czasopismach weterynaryjnych publikacji stanowiących cykl monotematyczny, który może być zgodnie z Ustawą z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytułach naukowych oraz stopniach i tytułach w zakresie sztuki, art. 13 ust 2 i 4 (Dz. U. Nr 65, poz. 595 z późniejszymi zmianami) podstawą do ubiegania się o nadanie stopnia naukowego doktora.

Publikacje stanowiące podstawę rozprawy doktorskiej są cyklem monotematycznym w kontekście podejmowanej problematyki i dotyczą częstości występowania, różnorodności genetycznej chlamydii u ptaków wolno żyjących i hodowlanych oraz gadów na terenie Polski oraz rezerwuuaru nowych gatunków chlamydii. Uzyskane wyniki to realizacja dwóch projektów badawczych: programu MNiSW „Juventus Plus” pt.: „Analiza molekularna i ocena potencjału zoonotycznego *Chlamydia* spp. występujących u ptaków ze szczególnym uwzględnieniem nowych niesklasyfikowanych gatunków tego patogenu” (IP2014 047273) realizowanego w latach 2015-2016 oraz projektu badawczego finansowanego ze środków NCN (2013/11/B/NZ7/01690) pt.: „Inwazyjne gatunki żółwi jako źródło i wektor mikroflory patogennej dla zwierząt i ludzi”.

W przedstawionej do recenzji rozprawie doktorskiej w formie cyklu publikacji, Doktorantka zachowała podstawowe elementy dysertacji, jak: wykaz użytych skrótów, wstęp (12 stron), cel pracy, metody wykorzystane w realizacji badań, omówienie wy-

ników (5 stron), wnioski, streszczenie w języku polskim i angielskim oraz piśmiennictwo liczące 150 pozycji. Ponadto rozprawa doktorska zawiera: oświadczenia promotora i autora rozprawy doktorskiej, wykaz publikacji stanowiących podstawę rozprawy doktorskiej oraz ich kopie, a także dołączone oświadczenia współautorów.

We wstępie Doktorantka przedstawiła problematykę badań nad drobnoustrojami z rodziny *Chlamydiaceae*, które są prowadzone od wielu lat i dotyczą występowania, patogenyzy oraz zakaźności opisywanych gatunków. Od pierwszego opisu zakażenia chlamydiami minęło ponad 100 lat i dopiero w ostatnich 20-stu latach obserwowany jest postęp wiedzy o tych drobnoustrojach. Pokrywa się on z rozwojem technik biologii molekularnej, dzięki czemu możliwe było poznanie cyklu rozwojowego chlamydii i funkcji poszczególnych genów, a także struktury genomu. Nowe dane uzyskane z czasochłonnych badań nad fenotypem i genotypem bakterii, ze względu na brak możliwości namnażania ich na podłożach sztucznych i wzrost jedynie na zarodkach kurzych lub hodowlach komórkowych są wydłużone w czasie, a powiązanie z dyskusją dotyczącą systematyki tych drobnoustrojów oraz schematów wiarygodnej klasyfikacji nowych szczepów na poziomie rodziny, rodzaju i gatunku przekazywane są do powszechnej wiadomości z opóźnieniem. Ponadto duże trudności w identyfikacji i klasyfikacji szczepów związane z dużym podobieństwem genomu, bo przekraczającym 90%, co sprawia, że diagnostyka tych zakażeń jest trudna i opiera się na diagnostyce krótkich fragmentów sekwencji genów.

W rozdziale cel i zakres pracy Autorka przedstawia cel pracy, którym była ocena częstości występowania i różnorodności genetycznej drobnoustrojów *Chlamydia* spp. u ptaków i gadów wraz z charakterystyką nowych gatunków. Opisane cele zostały zrealizowane w badaniach opublikowanych w czterech artykułach wskazanych przez Kandydatkę jako podstawa do ubiegania się o nadanie stopnia naukowego doktora, które ukazały się drukiem w latach 2014 – 2017 w czasopismach anglojęzycznych, zgodnie z poniższym zestawieniem:

1. **Mitura A**, Szymańska-Czerwińska M, Niemczuk K, Jelesizowa A. Chlamydia in birds - occurrence, new species and zoonotic potential – a review. Bull Inst Vet Pulawy 2014, 58:503-506. doi.org: 10.2478/bvip-2014-0076.
2. Szymańska-Czerwińska M, **Mitura A**, Niemczuk K, Zaręba K, Jodełko A, Pluta A, Scharf S, Vitek B, Aaziz R, Vorimore F, Laroucau K, Schnee C. Dissemination and genetic diversity of chlamydial agents in Polish wildfowl: Isolation and molecular characterisation of avian *Chlamydia abortus* strains. PLoS One. 2017, 12:e0174599. doi: 10.1371/journal.pone.0174599.
3. Szymańska-Czerwińska M, **Mitura A**, Zaręba K, Schnee C, Koncicki A, Niemczuk K. Poultry in Poland as *Chlamydiaceae* Carrier. J Vet Res. 2017, 61:411-419. doi: 10.1515/jvetres-2017-0072.

4. **Mitura A**, Niemczuk K, Zaręba K, Zając M, Laroucau K, Szymańska-Czerwińska M. Free-living and captive turtles and tortoises as carriers of new *Chlamydia* spp. PLoS One. 2017, 12:e0185407. doi: 10.1371/journal.pone.0185407.

Sumaryczny współczynnik wpływu (IF) wyliczony dla wszystkich prac wynosi 6,7, a liczba punktów MNiSW 100. Podane wartości są zgodne z rokiem publikacji prac.

Z przeprowadzonych badań Doktorantka wyciągnęła siedem wniosków, będących odpowiedzią na założone cele badawcze. Określiła częstość występowania *Chlamydia* spp. u ptaków wolno żyjących - 14,8%, wskazując, że nosicielstwo najwyższe było u ptaków z rodziny kaczkowatych - 19,7%, krukowatych - 13,4% i gołębiowatych - 4,7%. U badanych ptaków wykazała obecność nowych genotypów (G1, G2 i IV), które opisała jako avian *C. abortus* w oparciu o analizę sekwencji 16sRNA-IGS-23S rRNA. U ptaków hodowlanych obecność *Chlamydia* spp. wykazała u 15,9% ptaków pochodzących z 182 stad drobiu, z czego u kur odsetek ten wynosił 23%, u gęsi - 5,6% oraz u kaczek i indyków odpowiednio 4,3% i 3,6%. Dominującym gatunkiem była *C. gallinacea* (72,1%), a *C. abortus* i *C. psittaci* identyfikowała odpowiednio u 15,4 i 3,8% badanych ptaków. Po raz pierwszy Doktorantka opisała obecność *C. abortus* u ptaków, co jest istotnym osiągnięciem pracy. Również ważnym z epidemiologicznego punktu widzenia jest informacja dotycząca ludzi i braku obecności przeciwciał p/ko *Chlamydia* spp. u osób mających kontakt z ptakami w gospodarstwach gdzie stwierdzono obecność *C. gallinacea*.

Drugi obszar badań Doktorantki dotyczył gadów - żółwi, jako potencjalnego źródła i nowych gatunków *Chlamydia* spp. W badaniach materiału pochodzącego o tego gatunku wykazała obecność materiału genetycznego chlamydii u zwierząt bytujących w środowisku naturalnym - 18,3%, a u żółwi żyjących w niewoli 28,6%. Ponadto Doktorantka wykorzystując sekwencjonowanie 16S rRNA, domeny 1 23S rRNA wykazała obecność u żółwi wodno-lądowych szczepy, których sekwencje wykazywały największe podobieństwo do Card. *C. sanzinia* i *C. pecorum* (E58 i P787).

Z uwagi na charakter rozprawy doktorskiej, która część stanowi podstawę ubiegania się mgr Agaty Mitury o nadanie stopnia naukowego doktora, integralną część stanowią oświadczenia współautorów określające indywidualny wkład każdego z nich w powstanie poszczególnych prac. Z załączonych oświadczeń wynika, że w przypadku każdej z publikacji współautorski udział Doktorantki był większościowy (53-60%), polegający na przygotowaniu projektu i koncepcji badań, zbieraniu materiału, wykonaniu badań laboratoryjnych oraz interpretacji uzyskanych wyników wraz z redakcją manuskryptu i jego korektą przed publikacją.

Z obowiązku Recenzenta muszą wskazać istotniejsze błędy, których nie uniknęła Doktorantka pisząc dysertację, a których powinna unikać pisząc kolejne manuskrypty:

str. 11 - ... „siewstwo *C. avium* raportowano” ... siewstwo można stwierdzić, wykazać,

a nie raportować, jest to bezpośrednie tłumaczenie z języka angielskiego;

str. 15 - opisując zadania całkowicie zbędne są nawiasy w których podane są publikacje, w których opisano realizowane zadania. Takie wskazówki można umieścić w rozdziale wyniki,

str 25 - wniosek 1 z ostrożnością należałoby wyrażać pogląd o powszechności występowania, jeśli odsetek nosicieli wśród ptaków wynosi ok. 15%,

str 25 - wniosek 2 nie powinien zawierać informacji ...”także IV opisany wcześniej w Rosji” ... to jest ważna informacja ale do dyskusji,

str 25 - wniosek 3, który w prezentowanej formie jest raczej stwierdzeniem, a jeśli miałyby być wnioski to należałoby go sformułować inaczej

str. 27 ...”wszystkie sekwencje pochodzące od żółwi”..., powinno się napisać np.: ...”wszystkie sekwencje *Chlamydia* spp. pochodzące od żółwi”...

Podsumowując, uważam, że przedstawiona do recenzji praca doktorska pt. „Ptaki i gady jako rezerwuariusze nowych gatunków chlamydii” dotyczy interesującego z punktu poznawczego i praktycznego problemu, który poszerza naszą wiedzę o *Chlamydia* spp. u ptaków i gadów, a także daje podstawy do wdrażania procedur postępowania w ochronie zdrowia ludzi mających kontakt z omawianymi gatunkami.

Stwierdzam zatem, iż rozprawa doktorska mgr Agaty Mitury pt.: „Ptaki i gady jako rezerwuariusze nowych gatunków chlamydii” odpowiada warunkom określonym 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. z 2017 r. poz. 1789), dlatego przedkładam wniosek Radzie Naukowej Państwowego Instytutu Weterynaryjnego-Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach o dopuszczenie mgr Agaty Mitury dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Wrocław, 10 stycznia 2020

prof. dr hab. Krzysztof Rypuła