

dr hab. Dorota Kiewra, prof. UWr

Wrocław, 18.09.2023 r.

RECENZJA

**rozprawy doktorskiej Pani mgr Anny Kocoń
pt. „Rola kleszczy (Acari: Ixodida) atakujących psy i koty domowe na
terenie południowej Polski jako wektora i rezerwuaru wybranych
patogenów chorób odkleszczowych”**

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska Pani mgr Anny Kocoń została wykonana pod kierunkiem Pani Promotor dr hab. Magdaleny Nowak-Chmury, prof. UP w Katedrze Zoologii Instytutu Biologii i Nauk o Ziemi Wydziału Nauk Ścisłych i Przyrodniczych Uniwersytetu Pedagogicznego im. Komisji Edukacji Narodowej w Krakowie. Promotorem pomocniczym recenzowanej rozprawy jest Pan dr hab. n. med. Marek Asman ze Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach. Podjęta przez Doktorantkę tematyka jest niezmiernie ważna na w aspekcie notowanego (szczególnie w ostatnich dekadach) wzrostu przypadków zachorowań na choroby odkleszczowe. Za główną przyczynę obserwowanego trendu uznawane są nie tylko zmiany środowiskowe, w tym zmiany klimatyczne, czy zmiany w pokryciu i użytkowaniu terenu wpływające na zasięg i rozprzestrzenienie wektorów i ich żywicieli, ale także zmiany socjoekonomiczne, dążenie ludzi do kontaktu z naturą, czy skuteczniejsze metody detekcji patogenów i lepsza diagnostyka chorób transmisyjnych. Biorąc pod uwagę szczególną rolę zwierząt towarzyszących człowiekowi, w tym psów i kotów jako żywicieli kleszczy, podjęte przez Doktorantkę badania są niezwykle istotne nie tylko ze względów poznawczych, ale też z uwagi na ich praktyczny charakter. Należy jednocześnie podkreślić, że podjęta w pracy tematyka dotycząca biologii i ekologii kleszczy, jak i transmitowanych przez nie patogenów, wpisuje się w kierunek badań i zainteresowanie naukowe zespołu badawczego Katedry Zoologii Uniwersytetu Pedagogicznego im. Komisji Edukacji Narodowej w Krakowie, gdzie Doktorantka wykonała swoją pracę doktorską,

a zarówno promotor rozprawy, jak i promotor pomocniczy są uznanymi ekspertami w zakresie akaroentomologii, szczególnie badań nad kleszczami i przenoszonymi przez nie patogenami.

Praca doktorska Pani mgr Anny Kocoń została przygotowana w oparciu o cztery spójne tematycznie artykuły naukowe, w tym trzy prace oryginalne i jedną pracę przeglądową. Wszystkie wchodzące w skład cyklu prace zostały opublikowane w latach 2020-2023 w cenionych, indeksowanych, anglojęzycznych czasopismach naukowych z tzw. listy filadelfijskiej, w tym w *Scientific Reports* (dwa artykuły), *Systematic and Applied Acarology* (jedna praca) oraz *Annals of Agricultural and Environmental Medicine* (jedna praca). *Impact Factor* (IF) poszczególnych prac waha się od 1,421 do 4,996, natomiast łączny IF prac wchodzących w skład rozprawy wynosi 12,018, a liczba punktów MEiN 450. Można więc bez wątplenia stwierdzić, że Doktorantka może się poszczycić już znaczącym dorobkiem naukowym. Biorąc pod uwagę, że wszystkie artykuły wchodzące w skład ocenianej rozprawy doktorskiej były przed opublikowaniem poddane recenzji przez ekspertów, czuję się zwolniona z obowiązku ich ponownej oceny merytorycznej.

Na szczególną uwagę zasługuje fakt, że we wszystkich pracach Pani mgr A. Kocoń jest pierwszym i jednocześnie korespondencyjnym autorem, a jej udział w przygotowanie prac szacowany jest na 70% - 80%, co jest potwierdzone w złożonych przez współautorów oświadczeniach załączonych do przedstawionej do recenzji pracy. Wiodący udział doktorantki w przygotowaniu prac eksperymentalnych obejmował zarówno zaplanowanie badań, zbieranie materiału, jego identyfikację, jak również opracowanie i analizę danych oraz przygotowanie manuskryptu. W pracy przeglądowej udział doktorantki polegał na zgromadzeniu i przeglądzie literatury, a także analizie zebranych danych oraz przygotowaniu ostatecznej wersji manuskryptu.

Oceniana praca doktorska została przedstawiona w postaci oprawionego, estetycznie przygotowanego maszynopisu. Została napisana starannie, poprawnym językiem, cechuje się przejrzystym układem. Rozprawa liczy 81 stron i zawiera czytelny spis treści, streszczenie w języku polskim i angielskim, wykaz publikacji wchodzących w skład rozprawy, następnie wprowadzenie, opis badań zrealizowanych w ramach poszczególnych publikacji będących podstawą rozprawy doktorskiej, podsumowanie i wnioski, spis cytowanej literatury i tabel. Rozprawa zawiera także pełny tekst publikacji wchodzących w skład przedstawionego cyklu oraz oświadczenia współautorów. Załączone do opracowania publikacje byłyby moim zdaniem nieco czytelniejsze i przez to łatwiejsze do śledzenia, gdyby wielkość załączonych kopii była nieco większa.

Celem przedstawionej przez Panią mgr Annę Kocoń rozprawy była kompleksowa faunistyczna identyfikacja kleszczy (Acari: Ixodida) pasożytujących na psach i kotach w południowej Polsce na obszarze województwa śląskiego i małopolskiego, a także molekularna detekcja wybranych patogenów chorób odkleszczowych w pozyskanych ze zwierząt kleszczach.

W rozdziale zatytułowanym „**Wprowadzenie**” Autorka w sposób syntetyczny i wyczerpujący opisała znaczenie kleszczy jako ektopasożytów zwracając szczególną uwagę na ich znaczenie weterynaryjne. Uwzględniła także wektorową rolę kleszczy oraz wzrastające znaczenie epidemiologiczne tej grupy stawonogów. Scharakteryzowała czynniki wpływające na wzrost zachorowań na choroby odkleszczowe. Podkreśliła rolę zwierząt towarzyszących człowiekowi jako żywicieli kleszczy zwracając jednocześnie uwagę na jedynie fragmentarycznie poznany problem występowania chorób odkleszczowych wśród psów i kotów. W sposób czytelny i rzeczowy przedstawiła gatunki kleszczy, których pasożytowanie na psach i kotach notowane jest w Polsce. Szczególną uwagę zwróciła na badania dotyczące zróżnicowania gatunkowego kleszczy notowanych na psach i kotach w województwach, które były objęte badaniami Doktorantki, uzupełniając dotychczasowe dane o wyniki badań własnych zawartych w publikacjach będących podstawą cyklu. Układ taki, moim zdaniem, niewystarczająco wyraźnie podkreśla duży wkład Doktorantki w wypełnieniu luki w dotychczasowym stanie wiedzy w zakresie znajomości roli psów i kotów jako żywicieli kleszczy w południowej Polsce. Warto równocześnie podkreślić, że Doktorantka odnosi się nie tylko do prac innych autorów i prac ujętych w cyklu rozprawy, ale też innych własnych, współautorskich prac spoza cyklu (prace Kocoń i wsp. 2017, 2019a i b), co podkreśla jej znaczący dorobek naukowy.

Wartościowym jest uwzględnienie we „Wprowadzeniu” przy opisie gatunków kleszczy pasożytujących na psach i kotach wykrywanych w nich patogenów, w tym podkreślenie możliwości występowania koinfekcji. Istotne jest zwrócenie uwagi na fakt, że nie tylko kleszcz pospolity *Ixodes ricinus* i kleszcz łąkowy *Dermacentor reticulatus*, ale także stosunkowo często zbierany z psów i kotów kleszcz jeżowy *Ixodes hexagonus* mogą być zaangażowane w zoonotyczne cykle krążenia patogenów. Bardzo cenne jest także uwzględnienie przy opisie kleszczy mogących pasożytować na zwierzętach towarzyszących (co Doktorantka wykazała w badaniach własnych) *Ixodes crenulatus* i *Ixodes apronophorus* - gatunków kleszczy rzadko notowanych z uwagi na trudny dostęp do miejsc ich występowania i przez to stosunkowo słabo poznanych. Podobnie jak przy opisie gatunków kleszczy pasożytujących na psach i kotach

w Polsce, również w tej części „Wprowadzenia” Autorka odniosła się do wyników badań własnych.

Cennym uzupełnieniem treści zawartych we „Wprowadzeniu” jest przedstawienie wyników w tabelach (tabela 1 i 2), co w sposób bardzo czytelny i syntetyczny obrazuje zróżnicowanie gatunkowe kleszczy pasożytujących na psach i kotach w woj. śląskim i małopolskim, pasożytujące stadia rozwojowe oraz obrazuje spektrum patogenów wykrytych w poszczególnych gatunkach kleszczy. Moim zdaniem warto byłoby uzupełnić o informację, które publikacje były podstawą dokonanego zestawienia.

W końcowej części „Wprowadzenia” Autorka w sposób jasny przedstawiła główne i szczegółowe cele realizowanych badań. Opisała też pochodzenie materiału wykorzystanego do badań, badania molekularne i analizę statystyczną. Pewien niedosyt może budzić zawarty we „Wprowadzeniu” opis przeprowadzonych metod, w którym jedynie wymieniane są kolejne, oczywiste moim zdaniem, etapy badań molekularnych, takie jak izolacja DNA, PCR czy wizualizacja, przy braku informacji jakie patogeny i w jaki sposób były wykrywane. Informacje te można znaleźć dopiero w załączonych publikacjach. Na podkreślenie zasługuje jednak fakt, że Doktorantka pokusiła się o detekcję patogenów z różnych grup systematycznych, tj. zarówno bakterii, jak i pierwotniaków.

W następnym rozdziale rozprawy w kolejnych podrozdziałach Doktorantka omówiła osiągnięcia zawarte w poszczególnych publikacjach wchodzących w skład cyklu.

Pierwszą omawianą publikacją jest artykuł przeglądowy opublikowany w 2023 r. w *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*. Uważam, że włączenie artykułu przeglądowego w prezentowany cykl jest bardzo cenne i wartościowe. W pracy tej Autorka w sposób kompleksowy i szczegółowy dokonała przeglądu dostępnej literatury dotyczącej kleszczy pasożytujących na psach i kotach w Polsce oraz przedstawiła znaczenie epidemiologiczne kleszczy w rozprzestrzenieniu chorób odkleszczowych ludzi i zwierząt. Zwróciła uwagę na rolę zwierząt towarzyszących w utrzymywaniu populacji kleszczy i ich znaczenie w krążeniu odkleszczowych patogenów. Omówiła nie tylko gatunki kleszczy najczęściej zbierane z psów i kotów, tj. *I. ricinus*, *I. hexagonus* i *D. reticulatus*, ale też zwróciła uwagę na gatunki notowane rzadziej takie jak *I. crenulatus* i *I. rugicollis*, czy wykrywane sporadycznie, do których należą *Haemaphysalis concinna* i *I. apronophorus* oraz obcy dla krajowej fauny *R. sanguineus*. Warto jednocześnie podkreślić, że Doktorantka po raz pierwszy wykryła obecność *I. apronophorus* na kocie pochodzącym z województwa śląskiego (publikacja 2 wchodząca w skład cyklu, na którą Autorka powołuje się w artykule przeglądowym) oraz potwierdziła obecność *I. crenulatus* na psach i kotach w południowej

Polsce. Znaczną uwagę poświęciła także patogenom wykrywanym w kleszczach pasożytujących na psach i kotach, szczególnie tym, którym przypisuje się najważniejsze znaczenie medyczne i weterynaryjne. Scharakteryzowała m.in. bakterie *Anaplasma phagocytophilum*, które są czynnikiem etiologicznym anaplazmozy granulocytarnej, krętki boreliozy *Borrelia burgdorferi* s.l., a także pierwotniaki z rodzaju *Babesia* i *Toxoplasma*. W pracy zwróciła też uwagę na czynniki wpływające na ekspansję kleszczy, w tym zmiany klimatyczne i wpływ antropopresji, podkreślając jednocześnie znaczenie znajomości ekologii kleszczy jako wektorów patogenów w możliwości opracowania strategii ograniczających liczbę odkleszczowych zoonoz. Tak kompleksowe potraktowanie tematu świadczy o dojrzałości Doktorantki.

Druga praca wchodząca w skład cyklu została opublikowana w 2022 r. w *Systematic and Applied Acarology*. W tej oryginalnej pracy Autorka prezentuje wyniki szeroko zakrojonych badań faunistycznych przeprowadzonych w latach 2017-2018 i obejmujących zbiór imponującej liczby ponad 2770 kleszczy z 1209 psów i 399 kotów z licznych lokalizacji położonych w dwóch województwach (woj. śląskie i małopolskie) w południowej Polsce, a więc na terenach, gdzie wcześniejsze dane dotyczące roli psów i kotów jako żywicieli kleszczy były jedynie fragmentaryczne. Objęcie badaniami tak dużego terenu wymagało bardzo dużego nakładu pracy, a także nawiązania współpracy z licznymi lecznicami weterynaryjnymi i schroniskiem dla zwierząt. Świadczy to o bardzo dużym zaangażowaniu Doktorantki i wyjątkową umiejętnością nawiązywania kontaktów. W trakcie tych kompleksowych badań Autorka przyporządkowała zebrany materiał do 5 gatunków kleszczy. Zdecydowanie wymaga podkreślenia odnotowanie obecności *I. apronophorus* - gatunku, który po raz pierwszy został zidentyfikowany wśród kleszczy zebranych z psów i kotów w woj. śląskim (o czym już wspomniałam), a także potwierdzenie obecności *I. crenulatus* zarówno na terenie woj. małopolskiego, jak i śląskiego. Dodatkowo Doktorantka oszacowała termin największego narażenia zwierząt towarzyszących na ataki kleszczy oraz wytypowała części ciała zwierząt najczęściej infestowane przez kleszcze.

Trzecia praca z cyklu, opublikowana w *Scientific Reports* w 2022 r., poświęcona jest zróżnicowaniu w częstości pasożytowania kleszczy na psach i kotach w zależności od rejonu, a także potencjalnej wektorowej roli *I. ricinus* i *I. hexagonus*. Autorka zebrane na terenach miejskich i rekreacyjnych z psów i kotów kleszcze poddała badaniom molekularnym w kierunku obecności *Anaplasma phagocytophilum*, *Babesia microti*, *Borrelia burgdorferi* s.l. i *Toxoplasma gondii*. Wykazała w kleszczach pospolitych obecność trzech patogenów, w tym co istotne, możliwość występowania koinfekcji *Anaplasma phagocytophilum* i *Babesia microti*

oraz *Anaplasma phagocytophilum* i *Borrelia burgdorferi* s.l., Natomiast w kleszczach jeżowych zidentyfikowała obecność DNA *Babesia microti*. Zwróciła również uwagę na zróżnicowany poziom zakażenia kleszczy *Babesia microti* w zależności od rejonu i pory roku.

Czwartą pracę z cyklu, opublikowaną w *Scientific Reports* w 2020 r., Autorka poświęciła oszacowaniu obecności wybranych patogenów w kleszczach zebranych z psów i kotów z terenu Zakopanego i okolic, czyli na obszarach górskich woj. małopolskiego. W przebadanych kleszczach *I. ricinus* i *I. hexagonus* zebranych z psów i kotów w latach 2017-2018 wykryła obecność DNA *Anaplasma phagocytophilum* jedynie u *I. ricinus* oraz obecność, *Babesia microti*, i *Toxoplasma gondii* w obydwóch gatunkach kleszczy. Wykazała przy tym częstszą obecność patogenów u *I. hexagonus* niż *I. ricinus*. Co istotne wykazała też wysoki odsetek zakażonych larw *I. hexagonus* pierwotniakami *B. microti*.

W rozdziale „**Podsumowanie i wnioski**” Autorka w sposób zwięzły przedstawiła najważniejsze osiągnięcia wynikające z pracy. Do istotniejszych, moim zdaniem, osiągnięć należy:

- poszerzenie wiedzy na temat gatunków kleszczy atakujących psy i koty w Polsce, w tym potwierdzenie dominacji kleszcza pospolitego *Ixodes ricinus* wśród gatunków kleszczy pasożytujących na zwierzętach towarzyszących;
- wykazanie po raz pierwszy obecności *I. apronophorus* wśród kleszczy zebranych z kotów na terenie woj. śląskiego – gatunku kleszcza rzadko notowanego w Polsce, co stanowi cenne uzupełnienie nie tylko danych o kleszczach pasożytujących na zwierzętach towarzyszących, ale też danych dotyczących rozprzestrzenienia poszczególnych gatunków kleszczy w kraju;
- stwierdzenie na psach, jak i kotach po raz pierwszy zarówno w woj. śląskim, jak i małopolskim *I. crenulatus*, co powiększa wiedzę na temat biologii i ekologii tego gatunku;
- oszacowanie terminu największego narażenia zwierząt towarzyszących na ataki kleszczy oraz wytypowanie części ciała psów i kotów najczęściej infestowanych przez kleszcze;
- wykazanie na terenach gdzie do tej pory badania takie nie były prowadzone obecności zakażonych patogenami nie tylko kleszczy pospolitych *I. ricinus*, ale też jeżowych *I. hexagonus* pasożytujących na zwierzętach towarzyszących;

- wykrycie i zwrócenie uwagi na występowanie u kleszczy konfekcji, w tym możliwość jednoczesnego występowanie patogenów z różnych grup systematycznych;
- wykazanie narażenia zwierząt towarzyszących na patogeny odkleszczowe, jak i na ich potencjalną rolę w utrzymywaniu zoonotycznych cykli krążenia patogenów.

W opracowaniu w spisie cytowanej literatury zawartych jest 29 pozycji, w tym artykuły anglojęzyczne z ostatnich lat. Znajomość przez Doktorantkę literatury dotyczącej tematyki rozprawy jest jednak znacznie większa, bowiem np. jedynie w pracy przeglądowej powołuje się ona na znacznie większą liczbę prac.

W mojej ocenie praca nie zawiera istotnych błędów rzeczowych. Poza pewnymi uwagami, o których pisałam wcześniej, zauważyłam drobne nieścisłości i błędy edytorskie, które podaję poniżej. Do drobnych błędów interpunkcyjnych należą m.in. zbędne/nadmierne przecinki (np. brak przecinka przed spójnikiem „jak i”, zbędny przecinek przed „oraz”, zbędny przecinek po „również” – str. 14), kropki (np. konsekwentny brak lub stosowanie kropek przy pierwszych literach imion w spisie bibliografii – kropki są np. w cytowanej publikacji oznaczonej numerem 2, 10, 14, 18, 28, 29), czy spacje (np. konsekwentne oddzielenie spacją lub nie „s.l.” przy skrócie *B. burgdorferi* sensu lato – np. brak spacji str. 5, 6, 13, 24).

Sądzę, że w akapicie dotyczącym opisu *I. hexagonus* (str. 11) przy opisie możliwości zawlekania na tereny osiedli omyłkowo podano nazwę *I. ricinus*. Omyłkowym jest też chyba wymienienie wiewiórkowatych, jeżowatych, czy kretowatych wśród ssaków drapieżnych - str. 12: „Stwierdzono pasożytowanie tego kleszcza na ssakach drapieżnych m. in.: wiewiórkowatych (Sciuridae), jeżowatych (Erinaceidae), ..., kretowatych (Talpidae)..”. Na str. 13 przytaczana jest praca ”Kiewra i in. 2013” – pracy takiej nie ma w spisie cytowanej literatury - domyślam się, że powinno być „Kiewra i Czułowska 2013”. Podobnie na str. 12 jest odniesienie do pracy Estrada-Peña 1995, a w spisie literatury jest jedynie współautorska praca tego autora z 1995. Przy omawianiu trzeciej pracy z cyklu (rozdział 3.3, str. 24) dokonano skrótu myślowego „podjęto się badań molekularnych pod kątem występowania *A. phagocytophilum* i *B. burgdorferi* s. l. i *T. gondii* ... u psów i kotów domowych”, co mylnie sugeruje, że zwierzęta towarzyszące, a nie kleszcze z nich zebrane były poddane badaniom molekularnym. W rozdziale 4. „Podsumowanie i wnioski” przy opisie wykrywanych patogenów jest odniesienie do bakterii z rodzaju *Rickettsia* (str. 28 i 29), myślę, że dotyczyć to miało riketsji *Anaplasma phagocytophilum*, a więc riketsji z innego rodzaju. Pewnym uproszczeniem językowym jest też sformułowanie „W artykule stwierdzono ...” (str. 27),

powinno być raczej „W artykule opisano stwierdzenie ...”, czy skrótem myślowym „... nowych jednostek chorobowych trudnych do zdiagnozowania i nie w pełni odkrytych w roli wektora ...” (str. 19), raczej „nowych jednostek chorobowych, dla których wektor nie jest w pełni poznany”

Podsumowując chciałabym podkreślić, że wymienione powyżej uwagi mają charakter drugoplanowy i nie wpływają na zasadniczą treść pracy. Rozprawa doktorska Pani mgr Anny Kocoń wpisuje się w kierunek badań prowadzonych w Katedrze Zoologii Wydziału Nauk Ścisłych i Przyrodniczych Uniwersytetu Pedagogicznego im. Komisji Edukacji Narodowej w Krakowie i dostarcza nie tylko nowych danych o rozprzestrzenieniu kleszczy w południowej Polsce, ale także roli psów i kotów jako żywicieli kleszczy oraz występowaniu patogenów w kleszczach zebranych ze zwierząt towarzyszących oraz potencjalnym zagrożeniu zwierząt towarzyszących patogenami odkleszczowymi

Wniosek końcowy. Przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska Pani mgr Anny Kocoń pt. **„Rola kleszczy (Acari: Ixodida) atakujących psy i koty domowe na terenie południowej Polski jako wektora i rezerwuaru wybranych patogenów chorób odkleszczowych”** spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim, w związku z tym wnioskuję do Rady Dyscypliny Nauki Biologiczne Uniwersytetu Pedagogicznego im. Komisji Edukacji Narodowej w Krakowie o dopuszczenie Pani mgr Anny Kocoń do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie, biorąc pod uwagę wartość merytoryczną pracy doktorskiej, aktualność podjętej tematyki badawczej, a także duże znaczenie poznawcze i praktyczne uzyskanych wyników proponuję wyróżnienie rozprawy doktorskiej Pani mgr Anny Kocoń.

