



Wrocław, 26.05.2025

Dr hab. Jolanta Piekarska, prof. uczelni
Zakład Parazytologii i Chorób Inwazyjnych
Katedra Chorób Wewnętrznych
z Kliniką Koni, Psów i Kotów
Wydział Medycyny Weterynaryjnej
Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

RECENZJA

pracy doktorskiej lek. wet. Marty Gałązki

pt. „Skład gatunkowy nicieni trawieńca żubrów (*Bison bonasus*) wraz z oceną skuteczności działania antyhelmintyków stosowanych w hodowlach zamkniętych w Polsce na podstawie badań koproskopowych, morfologicznych i molekularnych”

wykonanej w Katedrze Higieny Żywności i Ochrony Zdrowia Publicznego SGGW w Warszawie pod kierunkiem promotora dr hab. Anny M. Pyziel, prof. SGGW oraz promotora pomocniczego dr Katarzyny Filip-Hutsch

Podstawą do wykonania recenzji jest uchwała Rady Dyscypliny Weterynaria, Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie z dnia 19 marca 2025 r. i pismo Przewodniczącego Rady Dyscypliny Weterynaria, SGGW w Warszawie prof. dr hab. Marcina Bańbury z dnia 20 marca 2025r.

Podstawa prawna: Ustawa z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U z 2024, poz. 1571) (zgodność z elementami uwzględnionymi w art. 187 ustawy)

Przedłożona do recenzji rozprawa doktorska lek. wet. Marty Gałązki stanowi zbiór trzech powiązanych tematycznie artykułów naukowych opublikowane w latach 2022 - 2024 w recenzowanych czasopismach z bazy JCR (Journal Citation Report):

1. Gałązka M., Klich D., Anusz K., Pyziel-Serafin A.M. 2022. Veterinary monitoring of gastrointestinal parasites in European bison, *Bison bonasus* designated for translocation: Comparison of two coprological methods. **International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife**, Volume 17, 2022, Pages 166-173.
2. Gałązka M., Klich D., Filip-Hutsch K., Olech W., Anusz K., Pyziel A.M. 2023. Endoparasite loads and the efficacy of conventional anthelmintics against gastrointestinal nematodes in captive European bison. **International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife**, Volume 21, 2023, Pages 224-231.
3. Gałązka M., Filip-Hutsch K., Klich D., Olech W., Anusz K., Pyziel A.M. 2024. The variety of abomasal nematode communities of captive and free-roaming populations of European bison, *Bison bonasus* (L.): a morphometric and molecular approach. **Parasitology**, 2024, Pages: 1-10.

Współczynnik wpływu (IF) prac wchodzących w skład cyklu wynosi 5,9 natomiast suma punktów zgodnie z wykazem MNiSW z 2024r. wynosi 300. Wszystkie publikacje wchodzące w skład dysertacji są pracami wieloautorskimi, w których Doktorantka jest pierwszym autorem i autorem korespondencyjnym. Kandydatka określiła procentowy udział w każdej z prac na 70%, a polegał on na opracowaniu koncepcji

i planu badań, zbieraniu materiału oraz wykonaniu badań parazytologicznych, opracowaniu wyników, sformułowaniu wniosków oraz przygotowaniu i redakcji manuskryptu.

Charakterystyka pracy doktorskiej

Przedstawione do recenzji 68 stronicowe opracowanie zostało przygotowane zgodnie z zasadami przyjętymi dla dysertacji doktorskiej i obejmuje osiem rozdziałów poprzedzonych spisem treści. Praca rozpoczyna się streszczeniem w języku polskim i angielskim, w którym krótko scharakteryzowano przeprowadzone badania oraz uzyskane wyniki. W dalszej części Autorka zamieściła wprowadzenie, informacje o źródle finansowania, wykaz zastosowanych skrótów oraz listę publikacji wchodzących w skład rozprawy. Do pracy dołączono również kserokopie opublikowanych artykułów będących częścią cyklu, a także oświadczenia współautorów dotyczące ich wkładu w powstanie poszczególnych publikacji.

Tematyka pracy doktorskiej dotyczy pasożytów przewodu pokarmowego, ze szczególnym uwzględnieniem nicieni trawieńca żubrów (*Bison bonasus*) - największych ssaków lądowych Europy, wymagających szczególnej troski oraz działań ochronnych.

Nicienie trawieńca należą do najważniejszych pasożytów występujących żubrów oraz innych przeżuwaczy. Mogą one powodować poważne zaburzenia w funkcjonowaniu układu pokarmowego oraz wpływać negatywnie na ogólny stan zdrowia zwierząt. W hodowli bydła i owiec, z którymi żubry dzielą wspólną niszę ekologiczną, obecność tych pasożytów prowadzi do istotnych strat ekonomicznych. Szczególnie niebezpieczne są gatunki krwio pijne, które u zwierząt młodych, u których nie wykształciła się jeszcze odporność na inwazję mogą powodować masowe upadki.

Żubr (*Bison bonasus*) znajduje się na Czerwonej Liście Międzynarodowej Unii Ochrony Przyrody (IUCN) jako gatunek bliski zagrożenia. Dzięki wieloletnim wysiłkom naukowców, leśników oraz organizacji zajmujących się ochroną przyrody, populacja żubrów w Europie systematycznie wzrasta, w czym Polska odgrywa istotną rolę. Mimo tego, gatunek ten pozostaje w dużym stopniu zależny od ciągłych działań ochronnych. Żubr pełni szczególną funkcję ekologiczną w kształtowaniu środowiska, w którym występuje. Uznawany jest za gatunek parasolowy – jego obecność oraz ochrona sprzyja zachowaniu różnorodności biologicznej innych organizmów, zarówno zwierząt, jak i roślin. Wciąż jednak istnieją liczne zagrożenia dla jego przetrwania, takie jak degradacja siedlisk, zmiany klimatu czy nadmierna eksploatacja. Polska populacja żubra stanowi obecnie około 25% populacji światowej, z czego 0,1% osobników żyjących w niewoli jest rezerwuarem genetycznym gatunku. Żubry pochodzące z Polski są eksportowane do ponad 25 krajów, a ich translokacja jest niezbędna do utrzymania wymiany osobników, co ma kluczowe znaczenie dla zachowania zmienności genetycznej. Drastyczna redukcja puli genowej, będąca wynikiem

historycznego spadku liczebności populacji, spowodowała zwiększoną podatność żubrów na choroby, w tym również na inwazje pasożytnicze. Dotychczas większość badań nad parazytofauną tego gatunku koncentrowała się na osobnikach żyjących na wolności. Znacznie mniej wiadomo natomiast o pasożytach występujących u żubrów przebywających w niewoli, które stanowią istotny element programów reintrodukcji.

W uzasadnieniu podjętej tematyki badawczej Autorka słusznie wskazała na potrzebę systematycznego monitoringu parazytologicznego żubrów. Regularna kontrola pozwala na wczesne wykrywanie nowych zagrożeń pasożytniczych oraz ograniczenie ich rozprzestrzeniania się zarówno w obrębie populacji żubrów, jak i na inne gatunki zwierząt. Z punktu widzenia ochrony gatunkowej szczególnie istotne jest opracowanie skutecznych, przyżyciowych i nieinwazyjnych metod diagnostyki parazytologicznej, które umożliwią ocenę stanu zdrowia zwierząt bez konieczności ich eliminacji czy narażania na stres.

We rozdziale *Wstęp* Doktorantka przedstawiła zarys historii populacji żubra oraz omówiła prowadzone działania związane z monitoringiem zdrowia tych zwierząt, ze szczególnym uwzględnieniem aspektów parazytologicznych. Wśród najpoważniejszych zagrożeń pasożytniczych Autorka wskazała pasożyty układu pokarmowego i oddechowego żubrów, które zostały szczegółowo scharakteryzowane w kolejnych podrozdziałach.

Rozdział drugi *Wstępu* Autorka poświęciła zagadnieniu lekooporności nicieni, omawiając zarówno skalę zjawiska, jaki i czynniki sprzyjające jego rozwojowi, w tym uwarunkowania genetyczne. Zwrócono uwagę, że długotrwałe stosowanie tej samej substancji czynnej, podawanie zbyt niskich dawek leków oraz brak monitoringu skuteczności terapii sprzyjają stopniowemu wykształcaniu oporności pasożytów na stosowane środki farmakologiczne. Przemieszczanie zarażonych zwierząt dodatkowo zwiększa ryzyko rozprzestrzeniania się lekoopornych szczepów pasożytów, co może mieć istotny wpływ na populacje dzikich przeżuwaczy, stanowiąc potencjalne zagrożenie również dla żubrów. Doktorantka słusznie zauważyła, że brakuje danych dotyczących skuteczności odrobaczania oraz skali występowania lekooporności u dzikich przeżuwaczy. Na zakończenie rozdziału omówiła metody służące do oceny stopnia lekooporności, w tym powszechnie stosowany *in vivo* test redukcji liczby jaj wydalanych z kałem (FECRT), a także testy *in vitro*: test wykluwania jaj (*Egg Hatch Test*) oraz test rozwoju larw (*Larval Development Test*).

Wstęp stanowi zwięzłą i poprawnie skonstruowaną część pracy, która wprowadza czytelnika w tematykę badań. W mojej ocenie podrozdziały zawierające szczegółową charakterystykę nicieni płucnych, przywr, tasiemców oraz pierwotniaków z rodzaju *Eimeria*, choć zawierają wiele interesujących informacji, wydają się zbędne i niezwiązane bezpośrednio z głównym tematem pracy.

Autorka sformułowała trzy główne cele pracy, które obejmowały:

1. ocenę przydatności metod koproskopowych w kontroli zarażenia żubrów pasożytami wewnętrznymi,
2. ocenę skuteczności odrobaczania w kierunku nicieni żołądkowo-jelitowych żubrów, utrzymywanych w zagrodach zamkniętych w Polsce,
3. określenie składu gatunkowego nicieni występujących w trawieńcu żubrów przebywających w zagrodach na terenie Polski.

Na podstawie powyższych celów głównych Autorka wyznaczyła również sześć celów szczegółowych.

W rozdziale *Materiały i Metody* Doktorantka szczegółowo scharakteryzowała materiał badawczy oraz zastosowane metody badawcze. Na szczególne podkreślenie zasługuje doskonała organizacja procesu pobierania próbek od żubrów. Wszystkie procedury zostały przeprowadzone zgodnie z obowiązującymi wytycznymi i przepisami dotyczącymi zwierząt objętych ścisłą ochroną gatunkową. Warto również docenić ogromne zaangażowanie i pracowitość Doktorantki w przygotowaniu próbek do analizy. W celu rozpoznania inwazji pasożytniczych u żubrów Autorka zastosowała podstawowe metody koproskopowe: metodę McMastera, Willisa, Baermanna, metodę dekantacji oraz sekcję parazytologiczną. Skuteczność odrobaczania przy użyciu leków przeciwpasożytniczych z grupy benzimidazoli, makrocyclicznych laktonów oraz imidazotiazoli została oceniona za pomocą testu redukcji liczby jaj w kale (FECRT – *Fecal Egg Count Reduction Test*), przeprowadzanego na podstawie metody McMastera. Identyfikacja jaj, oocyst i larw do poziomu rodziny, rodzaju lub gatunku została przeprowadzona na podstawie cech morfometrycznych. Nicienie wyizolowane z trawieńców żubrów rozpoznawano na podstawie cech morfologicznych przy użyciu mikroskopii świetlnej oraz technik biologii molekularnej umożliwiających jednoznaczną identyfikację gatunkową. Na szczególną uwagę zasługuje również fakt samodzielnego zaprojektowania przez Doktorantkę sześciu nowych par starterów dla genu małej podjednostki rybosomu (18S rRNA), które dotychczas nie były dostępne w literaturze.

Rozdział *Wyniki* zawiera syntetyczny opis rezultatów badań przedstawionych w trzech publikacjach stanowiących podstawę rozprawy doktorskiej. Autorka zaprezentowała uzyskane wyniki w odniesieniu do wyznaczonych celów pracy.

Wyniki badań koproskopowych, których celem było porównanie skuteczności wykrywania jaj i oocyst pasożytów przy użyciu różnych metod, zostały przedstawione w publikacji nr 1. Badania wykazały wyższą czułość metody Willisa w porównaniu z metodą McMastera, szczególnie w przypadku inwazji o niskiej prevalencji.

Na potrzeby interpretacji uzyskanych wyników Doktorantka opracowała wzory matematyczne umożliwiające przeliczenie wartości prevalencji zarażenia pasożytami otrzymanych metodą Willisa na wartości odpowiadające metodzie McMastera – i odwrotnie. Może to stanowić cenne narzędzie w analizie oraz porównywaniu wyników badań koproskopowych, niezależnie od zastosowanej metody.

Wyniki dotyczące różnorodności gatunkowej, prevalencji oraz intensywności zarażenia żubrów pasożytami, przedstawione w publikacji nr 2, okazały się zbieżne z danymi dostępnymi dla populacji żubrów żyjących w Europie Środkowej. Wszystkie zidentyfikowane gatunki pasożytów były wcześniej wykazywane u żubrów w Polsce.

Najwyższą prevalencję ogólną stwierdzono dla oocyst *Eimeria* (61%), jaj nicieni z rodziny Trichostrongylidae (51%), jaj *Fasciola hepatica* (13%), larw *Dictiocaulus viviparus* (12%) oraz jaj *Trichuris* spp. (10%). Spośród wykrytych 11 gatunków kokcydiów, najwyższą prevalencję stwierdzono dla *Eimeria bovis* (ok.50%). Liczebność poszczególnych gatunków pasożytów różniła się pomiędzy badanymi zagrodami żubrów, co może wskazywać na zróżnicowane warunki środowiskowe oraz zarządzanie populacją. Dodatkowo, obecność innych gatunków kopytnych w sąsiednich zagrodach wpływała na różnorodność gatunkową pasożytów stwierdzanych u żubrów. Wyniki testu redukcji liczby jaj w kale (FECRT) wykazały brak skuteczności terapii przeciwpasożytniczej wobec nicieni żołądkowo-jelitowych żubrów przebywających w zagrodach zamkniętych w Polsce.

Uzyskane dane wskazują na możliwość występowania oporności nicieni z rodziny Trichostrongylidae na leki przeciwpasożytnicze z grupy benzimidazoli (albendazol i fenbendazol) oraz makrocyclicznych laktonów (iwermektyna), a także oporności nicieni z rodzaju *Trichuris* na albendazol.

Warto podkreślić, że Autorka zabezpieczyła materiał genetyczny nicieni pozyskanych z trawieńców żubrów pochodzących z różnych zagród, co umożliwi kontynuację badań genetycznych mających na celu identyfikację potencjalnych genów lekooporności.

Wyniki badań dotyczących składu gatunkowego oraz intensywność inwazji nicieni trawieńca żubrów, w zależności od typu utrzymania zwierząt, zostały przedstawione w publikacji nr 3. Na podstawie cech morfologicznych zidentyfikowano łącznie 11 gatunków nicieni trawieńca. Zarówno żubry utrzymywane w niewoli, jak i osobniki żyjące na wolności wykazywały podobny skład gatunkowy nicieni. Wśród wykrytych pasożytów zidentyfikowano dwa gatunki nicieni krwio pijnych: *Ashworthius sidemi* oraz *Haemonchus*

contortus. Interesującym wynikiem było potwierdzenie obecności *A. sidemi* u większości żubrów żyjących na wolności, podczas gdy u zwierząt utrzymywanych w zagrodzie wykryto go jedynie u jednego osobnika. Z kolei *H. contortus* okazał się gatunkiem dominującym wśród żubrów przebywających w niewoli.

Identyfikację morfologiczną potwierdzono za pomocą badań molekularnych dla pięciu gatunków nicieni: *A. sidemi*, *H. contortus*, *Ostertagia kolchida*, *O. ostertagi* oraz *Spiculopteria boehmi*. Dodatkowo, w ramach tych badań uzyskano pierwszą sekwencję nukleotydową dla *O. kolchida* oraz nową sekwencję nukleotydową dla *S. boehmi* pochodzących od żubra.

Uzyskane wyniki, będące efektem najszerzych i najbardziej kompleksowych badań parazytologicznych przeprowadzonych w populacji żubrów utrzymywanych w zagrodach w Polsce, zostały opracowane z wykorzystaniem odpowiednio dobranych metod statystycznych. Wyniki te zostały czytelnie i przejrzysto zaprezentowane za pomocą tabel oraz rycin, a następnie szczegółowo przedyskutowane i odniesione do dostępnych danych literaturowych oraz wyników badań innych autorów.

Na podstawie przeprowadzonych analiz Autorka sformułowała dziewięć wniosków, które odnoszą się bezpośrednio do wyznaczonych celów badawczych. W mojej ocenie wnioski nr 3, 7 oraz 9 są w dużej mierze powtórzeniem uzyskanych wyników i wymagają doprecyzowania ich znaczenia w kontekście postawionych celów badawczych.

Bibliografia, licząca 134 pozycje, obejmuje najważniejsze pozycje z zakresu literatury tematu.

Z obowiązku recenzenta pragnę zwrócić uwagę na kilka drobnych niedociągnięć redakcyjnych:

- W Wykazie skrótów (str.13), rozdziale Wyniki (str. 43) oraz w Wnioskach (str.6) rekomenduję zastąpienie zwrotu „jaja siane w kale” bardziej precyzyjnym określeniem „jaja wydalone z kałem”.
- W rozdziale Analiza statystyczna (str. 39) - termin „prewencja” powinien zostać poprawiony na „prewalencja”.
- w rozdziale Piśmiennictwo znajdują się pozycje literatury (nr: 47, 74, 75, 76, 77, 78, 93), które nie zostały cytowane w tekście pracy.

Podsumowując, wskazane powyżej uwagi mają charakter porządkowy i nie wpływają na wartość poznawczą recenzowanej rozprawy. Doktorantka wykazała się dobrą orientacją w analizowanych zagadnieniach, w pełni zrealizowała postawione w założeniach cele oraz wyciągnęła trafne wnioski. Rozprawa wnosi nowe, oryginalne wartości poznawcze, poszerza wiedzę na temat parazytofauny żubrów oraz stanowi pierwszą próbę oceny skuteczności działania antyhelmintyków u żubrów żyjących w niewoli. Opracowane wzory matematyczne oraz klucz morfometryczny stanowią cenną pomoc diagnostyczną.



Wniosek końcowy

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska lek. wet. Marty Gałązki zatytułowana „Skład gatunkowy nicieni trawieńca żubrów (*Bison bonasus*) wraz z oceną skuteczności działania antyhelmintyków stosowanych w hodowlach zamkniętych w Polsce na podstawie badań koproskopowych, morfologicznych i molekularnych” spełnia wymagania stawiane dysertacjom doktorskim określone w art. 187. Ust.1-4 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U z 2024, poz. 1571). W związku z tym przedkładam Radzie Dyscypliny Weterynarii SGGW w Warszawie wniosek o dopuszczenie lek. wet. Marty Gałązki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Ponadto, biorąc pod uwagę wysoką wartość poznawczą recenzowanej rozprawy doktorskiej oraz jej istotne znaczenie dla zwiększenia skuteczności działań na rzecz ochrony gatunków zagrożonych, w szczególności poprzez poprawę stanu zdrowotnego żubrów utrzymywanych w hodowlach zamkniętych w Polsce, wnoszę do Wysokiej Rady Naukowej o wyróżnienie ocenianej dysertacji.

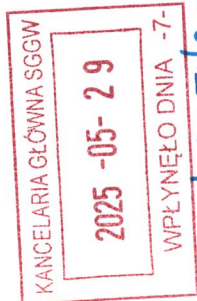
Yolante Pichard

UNIWERSYTET PRZYRODNICZY
WE WROCŁAWIU
Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniki, Koni, Psów i Kotów
ZAKŁAD PARAZYTOLOGII I CHOROBY INWAZYJNYCH
50-375 Wrocław, ul. Cyprjana Kamila Norwida 31
tel. 71 3205-245 NIP 896-000-53-54 (2)



ZWROTNE POTWIERDZENIE ODBIORU

OPŁATA POBRANA
TAXE PERÇUE - POLOGNE
Umowa z Poczta Polska S.A.
ID nr 558561/D



2025-05-29
WPLYNĘŁO DNIA -7-
2025-05-29

P/1702/2025

PRIORYTET

Instytut Medycyny Weterynaryjnej
SGGW w Warszawie

M. Nowoursynowska 159B
02-776 Warszawa

(00)85900773403354140



(00)85900773403354140

Poczta Polska

Opłata pobrana zł gr