

Prof. dr hab. Krzysztof Tomczuk
 Zakład Parazytologii i Chorób Inwazyjnych
 Katedra Parazytologii i Chorób Ryb
 Wydział Medycyny Weterynaryjnej
 Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Lublin 04.06.2025

RECENZJA

dysertacji doktorskiej Pani lek. wet. Marty Alicji Gałązka
 pt. „Skład gatunkowy nicieni trawieńca zubrów (*Bison bonasus*) wraz z oceną skuteczności
 działania antyhelmintyków stosowanych w hodowlach zamkniętych w Polsce na
 podstawie badań koproskopowych, morfologicznych i molekularnych
 Species composition of abomasal nematodes of captive European bison (*Bison bonasus*) in
 Poland, and the assessment of the anthelmintic efficacy based on coproscopic,
 morphological and molecular examination wykonanej pod kierunkiem naukowym

Pani dr hab. Anny M. Pyziel, prof. SGGW
 oraz promotora pomocniczego Pani dr Katarzyny Filip-Hutsch
 Katedra Higieny Żywności i Ochrony Zdrowia Publicznego
 Instytut Medycyny Weterynaryjnej
 Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

Żubr (*Bison bonasus*) jest największym ssakiem parzystokopytnym żyjącym w środowisku naturalnym w Europie. Jest gatunkiem podlegającym ścisłej ochronie, którego uratowanie przed wyginięciem zawdzięczmy wielu pokoleniom lekarzy weterynarii, biologów i hodowców. Olbrzymi wysiłek i zaangażowanie tych osób zapoczątkowane w okresie międzywojennym, po całkowitym wyginięciu gatunku na wolności, spowodował odbudowę gatunku na bazie kilkunastu sztuk zwierząt znalezionych w ogrodach zoologicznych. Dziś populacja zubrów liczy kilkanaście tysięcy sztuk i jest względnie stabilną w aspekcie zachowania gatunku. Wiele zwierząt zgrupowano w rezerwatach lub zamkniętych hodowlach. Część populacji stanowi grupa zwierząt wolnożyjących. Niestety pochodzenie całej populacji od tak nielicznej grupy zwierząt powoduje zawężenie puli genetycznej i związane z tym

problemy zdrowotne. Dlatego mimo wysokiej liczby zwierząt muszą być one stale monitorowane w aspekcie różnych zagrożeń w tym pasożytniczych. Analizowane badania będące podstawą dysertacji doktorskiej doskonale wpisują się w te działania i przyczyniają się do szerokorozumianej ochrony tych zwierząt. Dlatego wybór tematu pracy badawczej będącej podstawą dysertacji doktorskiej jest w mojej opinii szczególnie trafny i zasługuje na uznanie.

Recenzowana rozprawa doktorska została zredagowana na podstawie jednotematycznego zbioru oryginalnych prac naukowych opublikowanych w renomowanych czasopismach naukowych. W ramach cyklu publikacji ujęto trzy artykuły opublikowane w latach 2022-2024 o danych bibliograficznych:

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. DOI:10.1016/j.ijppaw.2022.01.008

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. DOI: 10.1016/j.ijppaw.2023.06.005

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. DOI: oi.org/10.1017/S003118202400088X

Publikacje ujęte w dysertacji doktorskiej są opracowaniami wieloautorskimi, w których Doktorantka jest pierwszym autorem z zadeklarowanym swoim udziałem na poziomie 70 %. Wszystkie prace zostały opublikowane w czasopismach z listy *Journal Citation Report* (JCR). Ich sumaryczny współczynnik wpływu (IF) wynosi IF=5,9 a łączna liczba punktów dla czasopism z bazy MEiN wynosi 300.

Wszystkie publikacje mają charakter prac doświadczalnych. Pierwsza z nich dotyczy porównania badań koproskopowych w zakresie skuteczności metod Willis'a i McMaster'a w diagnostyce parazytologicznej żubrów. Badania przeprowadzono na unikatowym materiale

badawczym pozyskanym od czterech populacji żubrów wolnożyjących oraz zwierząt z pięciu hodowli zamkniętych. W próbkach kału badanych żubrów stwierdzono liczne oocysty wielu gatunków kokcydiów z rodzaju *Eimeria* oraz jaja nicieni przewodu pokarmowego z rodziny Trichostrongylidae i Molineidae. Na podstawie analizy morfologicznej form dyspersyjnych określono liczne gatunki nicieni oraz pierwotniaków. Wykazano wyższość metody Willis'a. w zakresie czułości, co ma istotne znaczenie szczególnie przy inwazjach o niskiej intensywności. W mojej opinii zabrakło jednak stwierdzenia że metoda Willis'a. jest metodą zagęszczającą, w której analizowane liczone są wszystkie wypływające formy dyspersyjne. Metoda McMaster'a mimo, że jest także metodą bezpośrednią, ale ma charakter kalkulacyjny. Analizie podlega tylko część próbki a wynik uzyskiwany jest na zasadzie kalkulacji. W związku z czym bardziej precyzyjnie i wiarygodnie określa OPG lub EPG, lecz cechuje się mniejszą czułością w inwazjach o małej liczbie jaj lub oocyst.

Druga publikacja omawia stan zarażenia pasożytami wewnętrznymi i skuteczność środków przeciworobaczych przeciwko nicieniom żołądkowo-jelitowym u żubrów europejskich utrzymywanych w niewoli. W ramach tego projektu przebadano wyjątkowo dużą liczbę próbek (285), reprezentację pochodzącą od zwierząt z 15 zagród zlokalizowanych licznych ośrodków hodowli żubra. Jednocześnie wykorzystując ogólnie przyjęte metody bezpośrednie (test redukcji liczby jaj w kale – FECRT) dokonano oceny skuteczności antyhelmintyków z grupy benzimidazoli, makrocyklicznych laktonów oraz imidazotiazoli, stosowanych u żubrów w ramach rutynowych akcji profilaktycznych. Na podstawie analizy statystycznej określono także ocenę wpływu bliskiego sąsiedztwa innych gatunków zwierząt kopytnych na zróżnicowanie parazytofauny żubrów. Przeprowadzone badania wykazały niewielki odsetek skuteczności stosowanych antyhelmintyków. Uzyskane wyniki wskazują jednoznacznie na możliwość występowania lekooporności nicieni (u zwierząt utrzymywanych w zamknięciu) na benzimidazole i makrocykliczne laktony. Taki stan może także dotyczyć zwierząt wolnożyjących. Wśród przyczyn zwiększających ryzyko zarażenia zarówno nicieniami jak i pierwotniakami wykazano zagęszczenie zwierząt na ograniczonej przestrzeni a także bliskość wybiegów innych gatunków zwierząt kopytnych jako potencjalnego rezerwuaru inwazji.

Publikacja nr 3 dotyczy różnorodności społeczności nicieni żołądkowo-jelitowych u żubrów utrzymywanych w niewoli i na wolności z zastosowaniem bezpośrednich metod morfometrycznych i molekularnych. W tym celu nicienie wyizolowane w badaniach sekcyjnych trawieńców zostały poddane różnicowaniu klasycznemu –morfometrycznemu, jak i analizie genetycznej. Badanie to pozwoliło na określenie złożoności populacji nicieni

wykazując liczne, często rzadko stwierdzone gatunki jak i precyzyjne określenie przewalencji i intensywności inwazji tych pasożytów.

Dysertacja doktorska liczy 68 stron maszynopisu oraz załączniki w postaci kopii artykułów oraz oświadczenia współautorów o zakresie ich udziału w pracach.

Na pierwszej stronie znajdujemy tytuł w języku polskim i angielskim oraz dane autorki i promotorów. Na kolejnej trzeciej stronie, Pani lek. wet. Marta Alicja Gałązka przedstawiła oświadczenia promotora o spełnianiu warunków pracy doktorskiej oraz oświadczenie Doktorantki potwierdzające jej samodzielne autorstwo oraz, że praca nie była wcześniej przedmiotem innej dysertacji doktorskiej. Strona nr 5 zawiera podziękowania składane na ręce promotorów a także innych osób które wspierały Doktorantkę w badaniach związanych z pracą doktorską, w tym szczególne podziękowania najbliższej rodzinie. Strony 7 i 9 zawierają obszerny spis treści a kolejne (9 i 10) streszczenia w języku polskim i angielskim oraz słowa kluczowe. Na str. 11 przedstawiono krótkie wprowadzenie oraz informację o źródle finansowania badań. Na stronie 13 Autorka przedstawiła wykaz skrótów używanych w tekście pracy. Strona 15 zawiera dane bibliograficzne publikacji naukowych wchodzących w skład rozprawy doktorskiej. Na stronach od 17 do 28 Doktorantka zawarła obszerny wstęp w którym uzasadnia celowość podjęcia badań stanowiących podstawę dysertacji. Na stronie 29 zredagowano główne i szczegółowe cele badań. Kolejne strony 30-40 zawierają rozdział nr 3 zatytułowany „Materiał i metody” przedstawiający materiał badawczy i metodykę używaną w kolejnych etapach badań wraz z statystyką. Następny rozdział nr 4 zatytułowany „Wyniki” mieści się na stronach 41-48 i został podzielony na podrozdziały korespondujące z etapami badań. Następne strony (49 -54) zawierają rozdział nr 5 – „Dyskusja”. Rozdział nr 6 to wnioski str. 55 a kolejny zawiera piśmiennictwo (str. 56-68).

Wstęp jest wyjątkowo obszerny i przedstawia zarys historii restytucji i ochrony populacji żubra w Polsce i na świecie, wraz z czynnikami wpływającymi na stan zdrowia tych zwierząt. Przedstawiła także cele monitoringu zdrowia żubrów w tym monitoringu parazytologicznego ze szczegółowym przedstawieniem wszystkich kategorii pasożytów potencjalnie zagrażających temu ściśle chronionemu gatunkowi zwierząt. Następnie Doktorantka zaakcentowała możliwości terapii przeciwpasożytniczej oraz zagrożenia w postaci występującej lekooporności. Nawiązała także do sposobów badania tego zjawiska co było podstawą założenia planu pracy doktorskiej. Ta część pracy jest bardzo obszerna. Jej

poziom świadczy o dużej wiedzy i dobrym przygotowaniu merytorycznym Doktorantki do przeprowadzenia badań będących podstawą dysertacji doktorskiej. Z drobnych uwag dedykowanych tej części pracy mogę zasugerować aby bardziej zaakcentować podział występowania tasiemców na dwie kategorie: Inwazje form dojrzałych, gdzie żubry są żywicielami ostatecznymi i inwazje larwalne gdzie są żywicielami pośrednimi. Inna uwaga dotycząca podpunktu 1.3.5 *Eimeria* należą do podtypu *Apicomplexa*. W myśl nowej systematyki dedykowany typ to *Alveolata*. Dodatkowo zauważyłem używanie pewnych potocznych określeń np. „silna lub słaba inwazja”. Raczej należy zamienić to określenie na inwazja o małej lub dużej intensywności. Również w tym miejscu należy dodać że końcowym efektem sporulacji jest obecność 2 sporozoitów w każdej sporocystie. Mam też uwagę dotyczącą patogeny kokcydiozy. Najbardziej patogenną fazą jest faza II schizogonii a nie gamogonia. Uwaga dotycząca wszystkich rozdziałów - to mało czytelna ich numeracja np. Skoro „Wstęp” jest I rozdziałem to podrozdział „uzasadnienie” powinien mieć nr 1.1 a zarys historii 1.1.2. Taki system numeracji zastosowany w kolejnych rozdziałach da większą ich przejrzystość. Mimo małych uwag doktorantka wykazała dobre przygotowanie i znajomość tematyki związanej z parazytologią żubra oraz włożyła wiele pracy w przygotowanie dysertacji

W kolejnym, drugim rozdziale doktorantka przedstawiła trzy główne cele pracy które następnie rozwinęła i zaprezentowała w postaci 6 celów szczegółowych. Taka prezentacja założeń merytorycznych pracy doktorskiej jest w mojej opinii bardzo ciekawa i pozwala na przejrzyste pokazanie problematyki badań.

Rozdział 3 poświęcony jest materiałom i metodom użytym w badaniach własnych. Autorka prezentuje dane dotyczące kolejnych wykonywanych badań, nawiązując do artykułów włączonych w cykl publikacji. W pierwszej kolejności dokonała analizy pochodzenia materiału badawczego w postaci próbek kału oraz trawieńców żubrów. Następnie opisała metody badań koproskopowych, larwoskopowych i metod oceny skuteczności odrobaczania. W dalszej kolejności dokonała szczegółowej analizy procedur sekcyjnych oraz zasad morfologicznego i molekularnego różnicowania nicieni trawieńca. Ostatnią częścią tego rozdziału jest opis porównania metod McMaster’a i Willis’a oraz oceny wpływu bliskiego sąsiedztwa innych gatunków zwierząt kopytnych na zróżnicowanie parazytofauny żubrów. Wykorzystując metody statystyczne porównano także skład gatunkowy, prewalencję i intensywności inwazji nicieni trawieńca w aspekcie typu utrzymania żubrów.

Podsumowując tę część pracy, należy podkreślić bardzo szeroki zakres badań obejmujący badania przyżyciowe oraz sekcyjne a także szeroki zakres lokalizacji zwierząt zgrupowanych w kilkunastu ośrodkach występowania żubrów. Daje to wyobrażenie o wyjątkowej pracowitości badań a także wielkim zaangażowaniu Doktorantki. Również w tym rozdziale sugeruję aktualizację numeracji poszczególnych podrozdziałów .

W kolejnym rozdziale - wyniki - Doktorantka prezentuje dane dotyczące kolejno wykonywanych, publikowanych już badań. Stanowią one przegląd wyników uzyskanych na przestrzeni kilkunastu lat. Dotyczą dwu populacji żubrów: wolnożyjących oraz utrzymywanych w hodowli zamkniętej. Mają one szczególną wagę gdyż dotyczą gatunku objętego ścisłą ochroną. Wyniki wskazują na wysoką prevalencję inwazji wielu gatunków pasożytów największego ssaka kopytnego naszego kontynentu. Szczególnie ciekawe są wyniki badań genetycznych, w tym uzyskanie sekwencji nukleotydowych 5 gatunków nicieni. Na szczególną uwagę zasługuje fakt, że sekwencja nukleotydowa otrzymana dla *Ostertagia kolchida* jest pierwszą dostępną sekwencją tego gatunku, a sekwencja nukleotydowa *Spiculopteragia boehmi* jest pierwszą dostępną sekwencją tego gatunku izolowana od żubra. Wykazano także ważne zagrożenie w postaci utrzymywania się szczepów nicieni lekoopornych. Fakt ten jest argumentem przemawiającym za stałym monitoringiem parazytologicznym żubrów utrzymywanych na wolności jak i w hodowli zamkniętej.

W rozdziale „Dyskusja” Doktorantka porównuje wyniki własnych badań z wynikami innych autorów, cytowanymi w bogatym piśmiennictwie. Należy podkreślić trafność porównań co dowodzi dobrej znajomości analizowanej problematyki parazytofauny żubrów. Doktoranta udowodniła dobrą znajomość literatury naukowej dotyczącej omawianej tematyki. Analizowana dyskusja istotnie wzbogaca wartość pracy i jest potwierdzeniem bardzo dobrego przygotowania merytorycznego Autorki dysertacji. .

Na podstawie przeprowadzonych badań Autorka pracy wysunęła 9 wniosków związanych z kolejnymi etapami badań. Wszystkie są odpowiedzią na zagadnienia zawarte w celach pracy i znajdują swe uzasadnienie w uzyskanych wynikach doświadczenia.

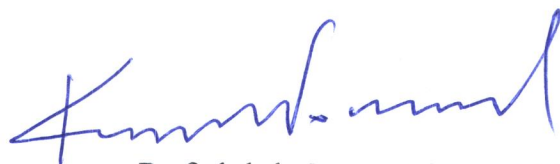
Nie wnoszę jakichkolwiek uwag co do części merytorycznej pracy, a nieliczne wykazane wcześniej uwagi nie umniejszają jej wyjątkowej wartości. Pracę oceniam bardzo wysoko. Jest ważną pozycją naukową przyczyniającą się do poszerzenia wiedzy dotyczącej parazytofauny rzadkiego gatunku ssaka kopytnego. Dysertacja doktorska Pani lek. wet. Marty Alicji Gałązka pt. „Skład gatunkowy nicieni trawieńca żubrów (*Bison bonasus*) wraz z oceną skuteczności działania antyhelmintryków stosowanych w hodowlach zamkniętych w

Polsce na podstawie badań koproskopowych, morfologicznych i molekularnych” jest wyjątkowo wartościowym osiągnięciem naukowym. Doktorantka wykonała olbrzymią pracę zarówno w zakresie pozyskania materiału jak i wykonania analiz a redagując oceniane opracowanie wykazała swoje doskonałe przygotowanie do pracy naukowej.

Przedstawiona do oceny praca, w mojej ocenie odpowiada w pełni warunkom stawianym dysertacjom doktorskim, określonym w art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (dz. U. 2018 poz.1669 z późniejszymi zmianami).

W związku z tym przedstawiam Wysokiej Radzie Dyscypliny Weterynarii, Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, wniosek o dopuszczenie Pani lek. wet. Marty Alicji Gałązka do dalszych etapów postępowania w przewodzie doktorskim.

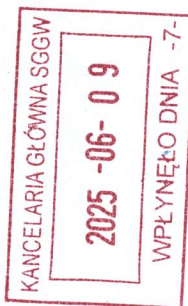
Dodatkowo z uwagi na wysoką wartość naukową dysertacji doktorskiej składam wniosek do Wysokiej Rady Dyscypliny Weterynarii, SGGW w Warszawie o wyróżnienie jej Autorki stosowną nagrodą.



Prof. dr hab. Krzysztof Tomczuk

UNIWERSYTET MEDYCYNSKI W LUBLINIE
Wydział Medycyny Weterynaryjnej
KATEDRA I KLINIKA CHOROBY
Zakład Parazytologii i Chorób inwazyjnych
20-033 Lublin, ul. Akademicka 12
tel. 81 445-69-27

PRIORYTET



DZIEKANAG Wydz. Med. Wet
SGGW
ul. Nowoursynowska 159
02-776 WARSZAWA