

Olsztyn, dnia 07.02.2022r.

Prof. dr hab. Rajmund Sokół

*Katedra Parazytologii i Chorób Inwazyjnych  
Wydział Medycyny Weterynaryjnej  
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski  
w Olsztynie*

## RECENZJA

rozprawy doktorskiej lek. wet. Agnieszki Piekary-Stępińskiej zatytułowanej  
*„Występowanie pierwotniaków z rodzaju *Cryptosporidium* i *Giardia* u psów i kotów  
w Polsce”.*

Podstawę formalną do wykonania recenzji stanowiła uchwała Rady Dyscypliny Weterynarii Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu z dnia 21 grudnia 2021 roku sygnowana przez Przewodniczącą Rady - prof. dr hab. Wojciecha Niżańskiego, zawarta w piśmie z prośbą o jej sporządzenie.

Rozprawa doktorska została zrealizowana w Zakładzie Parazytologii Katedry Chorób Wewnętrznych z Kliniką Koni, Psów i Kotów. Promotorem rozprawy jest dr hab. Jolanta Piekarska, prof. uczelni.

Po zapoznaniu się z manuskryptem rozprawy stwierdzam, że ma ona formułę kompilacji wyników badań opublikowanych w czasopismach naukowych, co jest zgodnie z ustawą z 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki, art. 13 ust. 2 i 4 (Dz. U. Nr 65, poz. 595, z późn. zm.) i może stanowić podstawę do uzyskania stopnia doktora przez lek. wet. Agnieszkę Piekara-Stępińską.

Biorąc pod uwagę tematykę poszczególnych publikacji należy przyjąć, że niniejsza rozprawa jest spójnym tematycznie cyklem dwóch publikacji oryginalnych, opublikowanych w 2021 roku w recenzowanych czasopismach z bazy JCR (*Journal Citation Report*). Współczynnik wpływu (IF) prac wchodzących w skład cyklu wynosi 2.89, natomiast suma punktów zgodnie z wykazem MNiSW z 2020r. 140 pkt. W obu publikacjach Doktorantka jest pierwszym autorem i autorem korespondencyjnym. W skład rozprawy wchodzi dwie prace oryginalne:

pierwsza autorstwa: Piekara-Stępińska Agnieszka, Piekarska Jolanta, Gorczykowski Michał. *Cryptosporidium* spp. in dogs and cats in Poland. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 2021;28(2):345-347, doi: 10.26444/aaem/120467 100 pkt. MNiSW; IF 1.45,

druga autorstwa: Piekara-Stępińska Agnieszka, Piekarska Jolanta, Gorczykowski Michał, Bania Jacek. Genotypes of *Giardia duodenalis* in household dogs and cats from Poland.



### **Charakterystyka przedstawionej do recenzji pracy doktorskiej**

Doktorantka do recenzji przygotowała 67 stronicowy manuskrypt, który częściowo odtwarza tradycyjny układ pracy doktorskiej. Wyeksponowane zatem zostały następujące rozdziały: *wykaz publikacji* składających się na rozprawę doktorską, *streszczenie* w języku polskim i angielskim, obszerny *wstęp* obejmujący systematykę, chorobotwórczość i sposoby diagnozowania badanych pierwotniaków, *bibliografia* licząca 112 pozycji aktualnego piśmiennictwa ułożonego w porządku alfabetycznym oraz *cele pracy*, *omówienie badań*, *kserokopie* obu prac, *wnioski*, *podsumowanie*, *oświadczenia* współautorów manuskryptów i krótki *autoreferat*, z którego wynika, że lek. wet. Agnieszka Piekara-Stępińska uzyskała tytuł lekarza weterynarii na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu w 2016 roku. Jako osiągnięcie naukowe wskazuje jednotematyczny cykl publikacji - *Występowanie pierwotniaków z rodzaju Cryptosporidium i Giardia u psów i kotów w Polsce*. Ponadto Doktorantka jest autorem i współautorem 12 publikacji w tym 4 z list JCR, w których jest pierwszym autorem oraz 8 artykułów popularno-naukowych, w tym w 5 jest również pierwszym autorem. Na konferencjach i kongresach naukowych zaprezentowała 6 referatów. W 2017 roku odbyła staż naukowy w Biology Centre, Academy of Sciences of the Czech Republic, Institute of Parasitology; Laboratory of Veterinary and Medical Protistology. Jej dorobek naukowy zgodnie z przyjętymi wskaźnikami jest następujący: sumaryczny IF wynosi 3.71, liczba cytowań wg. WoS 2, wg Scopus 3, a indeks h 1.

### **Ocena przedstawionego do recenzji manuskryptu**

Wstęp został napisany bardzo logicznie i w przystępny sposób wprowadza czytającego w problematykę związaną z wpływem pasożytniczych pierwotniaków z rodzaju *Cryptosporidium* spp. oraz *Giardia duodenalis* na zdrowie zwierząt towarzyszących. Doktorantka przedstawiła w nim również ich znaczenie w weterynarii i medycynie człowieka. Wskazała, że są to patogeny oportunistyczne i zarażenia nimi przebiegają najczęściej bezobjawowo, nie mniej jednak mogą przebiegać z ciężkimi objawami klinicznymi. Szczególnie giardioza u młodych psów i kotów jest przyczyną uporczywych biegunek. Wyraźnie zaakcentowała, że dostępna literatura naukowa wskazuje na znaczne różnice w prewalencji tych pierwotniaków, która zależy m.in. od liczby zbadanych próbek, wielkości obszaru z którego pochodzą, czy okresu prowadzonych badań. Zebrane we wstępie informacje Doktorantka podzieliła zgodnie z tematyką opublikowanych artykułów stanowiących rozprawę doktorską. Pierwsza część dotyczy



*Cryptosporidium* spp. i na podkreślenie zasługuje przedstawienie przez Doktorantkę zebranych w przejrzystą tabelę informacji o wykryciu ponad 40 gatunków tego pierwotniaka z opisem ich żywicieli. Wskazuje także na gatunki o niskiej i wysokiej specyficzności żywicielskiej i przypisywanemu np. *C. parvum* wysokiemu potencjałowi zoonotycznemu. Szczegółowo przedstawia również budowę, cykl życiowy, sposoby i czynniki wpływające na zarażenie, patogenezę choroby zarówno u ludzi jak i u zwierząt. Dokładnie opisuje gatunki występujące u psów i kotów, które stanowiły medium jej rozprawy doktorskiej. Szczególnie istotny podrozdział wstępu dotyczy wykrywania tego pierwotniaka począwszy od najprostszych metod po metody biologii molekularnej jednoznacznie weryfikujące gatunek. Z dużą dozą wiedzy diagnostycznej konkluduje ich przydatność w rozpoznaniu czynnika wywołującego chorobę. Na uwagę zasługuje wyraźne rysujące się podejście Doktorantki do rozpatrywanego problemu, jako lekarza weterynarii klinicysty. W drugiej części identyczne postępowanie dotyczy drugiego z pierwotniaków objętych badaniami przeprowadzonymi przez Doktorantkę, a mianowicie *Giardia duodenalis*. Wszystkie istotne informacje naukowe z tego zakresu również zostały przedstawione w sposób rzeczowy i przystępny.

W rozdziale epidemiologia *Cryptosporidium* spp. i *Giardia duodenalis* u psów i kotów Doktorantka wskazuje na uwarunkowania w jakich dochodzi do zarażenia, systematyzuje dane badaczy z Europy zajmujących się tą problematyką. W tym celu dostępne dane naukowe zebrała w tabelach z podziałem na gatunek badanych zwierząt tj. psy i koty, z uwzględnieniem kraju w którym wykonano badania, zastosowanych metod wykrywania, miejsca lub rodzaju pobranych próbek, liczby próbek zbadanych, odsetka wyników pozytywnych, a także wykrytego gatunku lub genotypu. Podobne tabelaryczne zestawienie przedstawiła w odniesieniu do danych z badań przeprowadzonych w Polsce. Konkluduje, że w Europie prewalencja *Cryptosporidium* spp. wynosiła u psów od 0 do 11,9% i od 1,6 do 8,8% u kotów. W przypadku *G. duodenalis* odsetek wyników dodatnich mieścił się w granicach od 4,8 do 35,4% u psów i od 0,7 do 36% u kotów. Natomiast w Polsce, podaje, że prewalencja obu pierwotniaków na podstawie danych naukowych jest nie pełna, mocno zróżnicowana i trudno jest ocenić stopień zagrożenia dla zwierząt i ludzi. Przy tym, jednoznacznie wskazuje przede wszystkim na niską ich wykrywalność. Moim zdaniem podkreśla to duże predyspozycje analityczne Doktorantki, a przez to dążenie do przeprowadzenia swoich, szeroko zakrojonych badań aktualizujących stan wiedzy z tego zakresu.

W związku z tym Doktorantka planując swoje badania sprecyzowała następujące cele:

1. Identyfikacja pierwotniaków z rodzaju *Cryptosporidium* i *Giardia* w próbkach kału pochodzących od psów i kotów z terenu Polski oraz określenie częstości ich



występowania w badanej grupie w celu oszacowania ryzyka wystąpienia inwazji w populacji tych zwierząt w kraju.

2. Określenie roli czynników predysponujących do wystąpienia wyżej wymienionych inwazji takich jak wiek i rasa.
3. Identyfikacja gatunkowa *Cryptosporidium* oraz określenie genotypów *Giardia duodenalis* występujących u psów i kotów w Polsce, co pozwoli ułatwić określenie ryzyka zoonotycznego ze strony tych zwierząt.

W rozdziale *Omówienie wyników* Doktorantka opisuje, że weryfikacji postawionych celów dokonała przez pozyskanie do badań materiału od 332 zwierząt w tym od 231 psów i 101 kotów. Istotnym jest to, że materiał ten został zebrany na znacznym obszarze kraju tj. w 9 z 16 województw. Ponadto uzyskała również możliwość utworzenia stosownych grup badawczych, co jest niezbędne do wykonania analizy statystycznej potwierdzającej badane zależności. Opisała także szczegółowo metodykę badań z uwzględnieniem użytych metod diagnostycznych oraz morfologiczną i molekularną identyfikację gatunku i genotypu wykrywanych pasożytów zgodnie z tematyką swoich publikacji. Zastosowała przy tym nowoczesne i uznane metody oraz techniki laboratoryjne. Recenzenci recenzując obie publikacje z cyklu potwierdzili słuszność wyboru metod przez Doktorantkę, co tylko podkreśla jej naukową dojrzałość.

### **Charakterystyka cyklu prac**

Odnosząc się do cyklu prac należy zaznaczyć, że przedstawione dane bibliometryczne świadczą o ich dobrym poziomie naukowym. Dowodem jest fakt, że Doktorantka opublikowała wyniki swoich badań w czasopismach o znacznej randze. Każda z tych prac przed opublikowaniem przeszła proces weryfikacji pod kątem wymagań jakie stawiane są pracom oryginalnym przez redakcje poszczególnych czasopism. Dlatego też zbędnym w mojej opinii jest dokonywanie odrębnej oceny przedstawionego przez Doktorantkę cyklu publikacji. Cykl ten w 100% spełnia przyjęte w tym zakresie kryteria oceny. Publikacje te poddane były również niezależnej ocenie merytorycznej Recenzentów będących autorytetami w dziedzinie wiedzy, w której mieszczą się publikowane badania. Przy takiej formule rozprawy doktorskiej zadaniem Recenzenta jest, aby zgodnie z zapisami odnośnego Rozporządzenia, ocenić indywidualny wkład kandydata do stopnia naukowego w powstanie pracy zbiorowej.

Zatem zdecydowanie stwierdzam, że oceniany cykl publikacji dowodzi kompetencji Doktorantki, jej dojrzałości do formułowania hipotez, koncepcji badań, umiejętności ich planowania, wyboru modelu doświadczalnego, przeprowadzenia badań, a następnie analizy wyników i wyprowadzenia właściwych wniosków. Kryteria te po ich spełnieniu stanowią dowód dojrzałości naukowej jako badacza (pracownika naukowego) i jest to



jednym z warunków ubiegania się o stopień naukowy doktora w danej dyscyplinie. Z uwagi na zbiorowe autorstwo cyklu prac, które stanowią podstawę ubiegania się Doktorantki o nadanie stopnia naukowego doktora, integralną część rozprawy doktorskiej stanowią oświadczenia współautorów, określające indywidualny wkład każdego z nich w powstanie poszczególnych prac eksperymentalnych. Z załączonych oświadczeń wynika, że w przypadku obu publikacji współautorski udział Doktorantki był większościowy i wiodący, wynosił po 70%. Doktorantka brała udział w planowaniu badań, pozyskała materiał badawczy, samodzielnie wykonała prace laboratoryjne od preparatów barwionych po zastosowanie metod biologii molekularnej. Opracowała i poddała analizie wyniki badań oraz pełniła wiodącą rolę w przygotowaniu manuskryptów. Zadeklarowany w oświadczeniach udział pozostałych współautorów potwierdza opisane zaangażowanie Doktorantki. Analiza i ocena przytoczonych oświadczeń współautorów w powstawanie poszczególnych prac eksperymentalnych upoważniają Recenzenta do stwierdzenia, że Doktorantka jest w pełni uprawniona do uznania prezentowanego cyklu publikacji jako podstawy ubiegania się o nadanie stopnia naukowego doktora na podstawie rozprawy naukowej stanowiącej część pracy zbiorowej.

Z obowiązku Recenzenta zwracam uwagę na zauważone nieścisłości podczas analizy manuskryptu, m.in. na brak jednoznaczności co do liczby badanych próbek. Występują różnice pomiędzy artykułami i manuskrytem rozprawy doktorskiej, co niewątpliwie ma wpływ na końcowe wyniki badań. Nie ma również jasności co do tego, czy w obu pracach były to próbki od tych samych zwierząt, czy od innych oraz z jakiego obszaru były pobrane próbki do badań w kierunku *G. duodenalis*.

Czytając manuskrypt wyraźnie można zauważyć podejście Doktorantki do zaprezentowanego tematu jako lekarza klinicysty z nutą epidemiologa. Stąd prawdopodobnie użycie w artykułach w języku angielskim określeń prewalencja, frekwencja, a następnie w recenzowanym manuskrypcie tłumaczenia wprost na język polski np. częstość występowania, czy określenie - udział poszczególnych gatunków. Moim zdaniem z punktu widzenia parazytologa bardziej właściwe i znacznie lepiej obrazujące zarażenie badanych zwierząt tymi pasożytami byłoby użycie określeń ekstensywność i intensywność inwazji. Z tego też powodu mam uwagi co do słuszności sformułowanych celów. Cel nr 1 i 2 według mnie nie zostały w pełni osiągnięte, w pierwszym nie było, cytuję „szacowania ryzyka” nie doszukałem się w manuskrypcie jakiegokolwiek modelu matematycznego stosowanego w epidemiologii. Podana została moim zdaniem natomiast ekstensywność inwazji, czyli prewalencja lub inaczej chorobotwórczość oraz intensywność czyli frekwencja lub tak jak podaje Doktorantka częstość występowania. W drugim nie była badana cytuję „rola” czynników predysponujących, a jedynie czynniki (wiek i rasa). Przytoczone zastrzeżenia przekładają się na zaprezentowane wnioski. Moim zdaniem wnioski poza nr 4 należy uszczegółowić, np. w nr 1 podać stwierdzoną prewalencję/ekstensywność inwazji *Cryptosporidium*, w nr 2, jaka była



intensywność/częstość występowania *Giardia duodenalis*, a w nr 3, które gatunki i genotypy konkretnie Doktorantka stwierdziła.

Nie mniej jednak za najważniejsze uznaję, że przedstawiony do recenzji manuskrypt został napisany bardzo poprawnym i przystępnym dla czytającego językiem. Uważam, że recenzowana praca doktorska dotyczy interesującego z poznawczego i praktycznego punktu widzenia problemu, a mianowicie oceny występowania i stopnia zarażenia wykrytymi pierwotniakami dość licznej grupy zwierząt w Polsce - psów i kotów, które z kolei mogą być źródłem zarażenia dla człowieka. Należy również docenić, że ważnym osiągnięciem Doktorantki jest to, że jako pierwsza w kraju zastosowała metodę nested PCR do oznaczenia gatunków *Cryptosporidium* u psów i wykazała, którymi gatunkami są one zarażone i pośrednio, które z nich mają potencjał zoonotyczny.

Przedstawione powyżej informacje świadczą o dobrym opanowaniu przez Doktorantkę „warsztatu” naukowego, zwłaszcza w odniesieniu do badań parazytologicznych, co stanowi jeden z atrybutów umiejętności samodzielnego prowadzenia pracy naukowej w dziedzinie tej wiedzy, którą lek. wet. Agnieszka Piekary-Stępińska reprezentuje. Potwierdza to również jej dotychczasowy dorobek naukowy w tym chęć konfrontowania swoich dokonań na różnych konferencjach. Nadmienię, że artykuły z cyklu są już cytowane, co wskazuje, że wybrany przez Doktorantkę temat rozprawy był trafny i aktualny oraz przydatny z klinicznego punktu widzenia.

Reasumując, stwierdzam, że rozprawa doktorska lek. wet. Agnieszki Piekary-Stępińskiej zatytułowana „Występowanie pierwotniaków z rodzaju *Cryptosporidium* i *Giardia* u psów i kotów w Polsce” odpowiada warunkom określonym w artykule 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki. W związku z tym, z satysfakcją rekomenduję i przedkładam Radzie Naukowej Dyscypliny Weterynaria Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu wniosek o dopuszczenie lek. wet. Agnieszki Piekary-Stępińskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Z wyrazami szacunku  
prof. dr hab. Rajmund Sokół

