

dr hab. Jacek Karamon, prof. instyt.

Zakład Parazytologii i Chorób Inwazyjnych

Państwowy Instytut Weterynaryjny

– Państwowy Instytut Badawczy w Puławach

## RECENZJA

**Rozprawy doktorskiej lek. wet. Łukasza Mazurka**

**pt.: „Badania nad epidemiologią bartonelozy kotów w aspekcie zdrowia publicznego”  
(„Research of cats bartonella epidemiology in public health aspect”)**

**wykonanej pod kierunkiem Promotora rozprawy prof. dr hab. Łukasza Adaszka  
z Katedry Epizootologii i Kliniki Chorób Zakaźnych Wydziału Medycyny  
Weterynaryjnej Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie.**

Obiektem badań Pana lek. wet. Łukasza Mazurka była bartoneloza, jednostka chorobowa wywoływana przez lokalizujące się wewnątrzkomórkowo gram-ujemne bakterie, należące do rodzaju *Bartonella*. Opisano ponad dwadzieścia gatunków należących do tego rodzaju. Rola poszczególnych gatunków *Bartonella* jako patogenów ludzi i zwierząt jest przedmiotem wielu badań, które wciąż uzupełniają dane dotyczące rozpowszechnienia tej infekcji oraz pomagają zrozumieć patogenezę i drogi zakażenia *Bartonella* spp. Bartonelloza jest choroba odzwierzęcą, znana pod nazwą „choroby kociego pazura” (CSD - cat scratch disease), a głównym pierwotnym rezerwuarem odpowiedzialnego za nią patogenu są koty. Pozostaje wiele białych plam dotyczących tej jednostki chorobowej w zakresie jej występowania, dróg transmisji oraz identyfikacji i rozprzestrzenienia poszczególnych gatunków z rodzaju *Bartonella*. Wychodząc naprzeciw potrzebom Pan lek. wet. Łukasz Mazurek podjął się badań nad tą jednostką chorobową skupiając się właśnie na epidemiologii, identyfikacji molekularnej oraz poszukiwaniu odpowiedzi na temat alternatywnych dróg transmisji między żywicielami, także na człowieka.

Rozprawę doktorską lek. wet. Łukasza Mazurka stanowi spójny tematycznie cykl

pięciu publikacji opatrzony wspólnym tytułem „**Badania nad epidemiologią bartonelozy kotów w aspekcie zdrowia publicznego**”. W skład cyklu wchodzi następujące publikacje:

1. Mazurek Ł., Winiarczyk S., Adaszek Ł.: Choroba kociego pazura jako zoonoza: patogeneza, objawy kliniczne, rozpoznawanie. *Med. Weter.* 2018, 74 (11), 693-696
2. Mazurek Ł., Winiarczyk S., Adaszek Ł.: Feline bartonellosis key issues and possible vectors. *Ann Parasitol.* 2018;64(4):309-315.
3. Mazurek Ł., Winiarczyk S., Skrzypczak M., Adaszek Ł.: Cats as a reservoir of *Bartonella henselae* for dogs. *Ann Agric Environ Med.* 2019, Vol 26, No 4, 669–671
4. Mazurek Ł., Carbonero A., Skrzypczak M., Winiarczyk S., Adaszek Ł.: Epizootic Situation of Feline *Bartonella* Infection in Eastern Poland. *J Vet Res.* 2020 Mar 8;64(1):79-83.
5. Mazurek Ł., Teodorowski O., Dębiak P., Szczepaniak K., Wilczyńska A., Winiarczyk S., Adaszek Ł.: The clinical course of bartonellosis in 24 cats. *Med. Weter.* 77 (04), 206-210, 2021

We wszystkich pracach doktorant jest pierwszym autorem, a procentowy wkład w autorstwo artykułów wynosił 50-60% i polegał na zaplanowaniu doświadczeń, przeprowadzeniu części badań oraz przygotowaniu części manuskryptu.

Sumaryczna punktacja prac wchodzących w skład cyklu według MNiSW wynosi 165 a współczynnik wpływu (Impact Factor) – 3,49

Przedłożona do recenzji dokumentacja liczy 83 strony. Zawiera w kolejności: oświadczenia promotora oraz autora pracy, streszczenie w języku polskim i angielskim, spis treści, kopię dyplomu ukończenia studiów na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie, oraz autoreferat podzielony na 11 rozdziałów (I - XI).

W pierwszym (I) rozdziale Doktorant umieścił wykaz 5-ciu publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej wraz z opisem wkładu w autorstwo poszczególnych artykułów.

Następnie pojawia się rozdział pt. „Wstęp” (także oznaczony jako I), w którym Doktorant zawarł ogólne informacje w przystępny sposób wprowadzające czytelnika w problematykę bartonelozy: występowanie tego patogenu u różnych gatunków zwierząt, patogenezę, oraz metody diagnostyczne, i zapobieganie. Poruszony został tutaj także aspekt zoonotycznego charakteru tej choroby.

Drugi rozdział (II) Doktorant omówił, w skompensowanej formie, kierunki i etapy badań przedstawionych w cyklu artykułów stanowiących podstawę dysertacji. Omówione zostały tutaj także uzyskane wyniki badań oraz kierunki ich ewentualnego wykorzystania.

Trzeci rozdział (III) zatytułowany „Cel pracy” zawiera listę głównych celów prowadzonych badań. Doktorant postawił sobie 3 główne cele badań:

1. Przeprowadzenie charakterystyki molekularnej szczepów *Bartonella* występujących u kotów na terenie Polski wschodniej i określenie gatunku riketsji będących przyczyną choroby u rodzimych kotów.
2. Identyfikacja czynników predysponujących do rozwoju choroby u kotów
3. Określenie przebiegu klinicznego bartonelozy u kotów.

Rozdziały od IV do VII (wg. spisu treści od III do VII) stanowią omówienie kolejnych artykułów wchodzących w skład spójnego cyklu pt. „Badania nad epidemiologią bartonelozy kotów w aspekcie zdrowia publicznego”.

W rozdziale pod tytułem „Choroba kociego pazura jako zoonoza” Doktorant przedstawia najważniejsze zagadnienia zawarte w pierwszym artykule z cyklu (artykule przeglądowym o podobnym tytule). Mianowicie, opis patogenezы bartonelozy u ludzi, od wniknięcia drobnoustrojów do organizmu, adhezji do komórek śródbłonkowych naczyń, namnażania się w fagosomach i wniknięcia do komórek szpiku kostnego gdzie formowany jest inwazjom i ostatecznie guzowate zmiany w śródbłonku. Opisane zostały także objawy chorobowe u ludzi i przebieg choroby. Podsumowując, autor stwierdza, że z uwagi na to, że bartoneloza jest zoonozą lekarze weterynarii powinni posiadać aktualną wiedzę na temat potencjalnych źródeł zakażeń *Bartonella* spp., sposobu szerzenia się choroby, jej przebiegu klinicznego oraz jej rozpoznawania u ludzi.

W rozdziale pt. „Istota bartonelozy kotów z uwzględnieniem możliwych wektorów choroby” Doktorant w klarowny sposób przybliżył nam drugi artykuł przeglądowy, którego celem było przedstawienie bartonelozy ze szczególnym uwzględnieniem sposobu transmisji u kotów. W artykule omówiono dostępne światowe dane literaturowe dotyczące stwierdzenia *Bartonella* u różnych gatunków pcheł (*Ctenocephalides canis*, *C. felis*, *Pulex irritans*) w odsetku od kilku do ponad dwudziestu procent w zależności od kraju. Infekcje *Bartonella* stwierdzano także u kleszczy (*Ixodes ricinus*) w Austrii, a także w Polsce u kilku procent badanych stawonogów. Przegląd literatury przedstawiony w tym artykule wskazuje na dużą rolę pcheł jako wektorów bartonelozy. Zwraca jednak uwagę nie do końca poznana rola potencjalnego wektora jakim są kleszcze.

W następnym rozdziale (V) Doktorant przedstawia wyniki swoich badań opisane w oryginalnej pracy doświadczalnej (trzeciej w cyklu prac). Celem badań było określenie możliwości i skali zakażenia się *Bartonella* spp. psów utrzymywanych razem z kotami cierpiącymi na bartonelozę. Badaniami objęto 40 zdrowych psów (o potwierdzonej standardowej profilaktyce przeciw chorobom zakaźnym i przeciw pasożytniczym) mających kontakt z zakażonymi kotami. Krew od psów badano metodą PCR i stwierdzono specyficzne dla *Bartonella* spp. produkty u 10% z nich. Analiza sekwencji uzyskanych produktów wykazała że mamy do czynienia z gatunkiem *B. henselae*. Wyniki badań wskazują, że bartoneloza psów w Polsce może stanowić większy problem niż dotychczas sądzono, natomiast koty mogą stanowić źródło tego patogenu dla psów. Moim zdaniem wyniki uzyskane w tej pracy stanowią niezwykle ważny element w rozwoju wiedzy dotyczącej transmisji bartonelozy. Jedyne znany wcześniej przypadek infekcji *Bartonella* spp. wykryty metodami molekularnymi u psów w Polsce opisano 10 lat temu u 1% psów z podejrzeniem boreliozy (Romaszewska i Adamska, 2011), a biorąc pod uwagę wszystkie psy badane przez tych autorów (czyli także zdrowe) odsetek wynosił 0,3%. W Czechach opisano natomiast 0,7% pozytywnych psów (spośród 286 badanych). Dlatego też 10% *Bartonella*-pozytywnych psów opisanych przez Doktoranta jest stosunkowo wysokim odsetkiem w porównaniu do poprzednich badań (szczególnie, że badania prowadzone przez Doktoranta obejmowały tylko zdrowe klinicznie psy). Wszystko to sugeruje związek infekcji psów z obecnością w ich otoczeniu kotów zakażonych *Bartonella* spp. i transmisją między gatunkami. Daje to podstawy do dalszych badań nad występowaniem *Bartonella* spp. u psów, także jako potencjalnego rezerwuaru tego patogenu dla ludzi.

W następnym rozdziale (VI) Doktorant przedstawia swoje badania opublikowane w czwartym artykule cyklu i dotyczące sytuacji epizootycznej bartonelozy kotów na terenie wschodniej Polski. Badania prowadzono na licznej grupie zwierząt – próbki krwi pobrano od 672 kotów. Celem badań opisanym w artykule była ocena sytuacji epizootycznej dotyczącej infekcji *Bartonella* u kotów na wybranym obszarze Polaki, identyfikacja czynników mogących mieć wpływ na występowanie bartonelozy, a także identyfikacja molekularna *Bartonella* u pozytywnych kotów. Badania (DNA izolowanego z krwi) prowadzono z użyciem metody PCR. Materiał genetyczny *Bartonella* spp. stwierdzono ogółem u ok. 40% kotów. Spośród czterech województw wschodniej Polski najwyższą prevalencję stwierdzono w województwie podkarpackim (53% kotów). Doktorant sugeruje związek wysokiej prevalencji z najwyższą w tym województwie (spośród badanych) wilgotnością i średnią temperaturą otoczenia. Ponadto analiza wyników wykazała, że sprzyjające występowaniu infekcji *Bartonella* u kotów są: rasa

(częściej koty europejskie), styl życia (koty wolno wychodzące), obszar występowania, a także brak profilaktyki przeciw pasożytom zewnętrznym.

W rozdziale siódmym (VII) zostały przedstawione wyniki badań zawarte w ostatnim artykule cyklu „The clinical course of bartonellosis in 24 cats”. Jak wskazuje tytuł pracy celem badań było określenie przebiegu bartonelozy u kotów z potwierdzoną infekcją *Bartonella henselae*. Wszystkie badane zwierzęta były zgłoszone do Kliniki weterynaryjnej z różnymi objawami chorobowymi. U wszystkich uwzględnionych w badaniach zwierząt stwierdzono obecność pcheł lub kleszczy. Każde zwierzę zostało poddane kompleksowym badaniom: pobrano krew do badań biochemicznych, hematologicznych i molekularnych w kierunkach anaplazmozy i erlichiozy; pobrano zeszkrobiny i kał do badań parazytologicznych; wykonano badanie RTG, USG, EKG. Na podstawie dostępnych danych klinicznych zwierzęta podzielono je na 6 grup: I - koty z gorączką, II - koty z biegunką, III – koty z APZS, IV – koty z objawami duszności, V- koty z niedoborem immunologicznym lub białaczką, VI – kot u właściciela którego stwierdzono chorobę kociego pazura. W badaniu hematologicznym wyodrębniono koty z leukocytozą, z niedokrwistością oraz z trombocytopenią. Badanie RTG w grupie zwierząt z problemami oddechowymi wykazało umiarkowane, nieregularne obszary zagęszczeń tkanki okołoskrzelowej i płucnej. USG brzucha u kotów z biegunkami wykazało pogrubienie ściany jelita cienkiego, podwyższona echogenność błony śluzowej i hiperechogenne pasma w błonie śluzowej. Nie stwierdzono natomiast inwazji pasożytów jelitowych u kotów z biegunką. U wszystkich zwierząt wykluczono także inne niż bartoneloza choroby przenoszone przez stawonogi. Na uwagę zasługuje tutaj wielokierunkowość prowadzonych badań wymagająca współpracy i koordynacji wielu ośrodków i specjalistów. Podsumowując, wyniki przedstawione w tej pracy wskazują na bardzo zróżnicowany przebieg bartonelozy u kotów. Dlatego też choroba ta powinna być brana pod uwagę w diagnostyce różnicowej u kotów w Polsce, szczególnie u zwierząt ze stwierdzoną trombocytopenią występującą łącznie z inwazją pcheł.

W rozdziale VIII autoreferatu przedstawiono wnioski. Doktorant prawidłowo sformułował pięć wniosków obejmujących całość opisywanych badań. Wymienione wnioski udowadniają celowość badań i stanowią ważne wskazówki dla dalszych badań oraz praktyczne wskazania dla lekarzy weterynarii.

Rozdział IX autoreferatu stanowi 16 pozycji piśmiennictwa.

W rozdziale X zawarto kopie 5-ciu artykułów wchodzących w skład rozprawy doktorskiej.

Dokumentację kończy 17 oświadczeń współautorów określających indywidualny wkład każdego z nich w powstanie pracy.

Podsumowując uważam, że przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska stanowi bardzo wartościowy materiał będący cennym uzupełnieniem wiedzy z zakresu występowania *Bartonella* spp. (wraz z identyfikacją gatunkową), przebiegu bartonelozy u kotów, dróg szerzenia się tej infekcji, oraz czynników ryzyka rozwoju choroby. Doktorant wykazał znakomite przygotowanie i profesjonalizm w prowadzeniu badań zarówno *stricto* klinicznych jak i laboratoryjnych, w tym molekularnych. Całokształt przedstawionej do recenzji pracy dowodzi gotowości Doktoranta do samodzielnego prowadzenia badań naukowych i bardzo dobrze wróży dalszej karierze naukowej.

Szczegółowa analiza dokumentacji ujawniła jednak, że autor nie ustrzegł się kilku nieścisłości, które z obowiązku recenzenta zmuszony jestem przedstawić w formie uwag krytycznych.

- Szkoda, że wśród celów wymienionych w rozdziale III zabrakło punktu bezpośrednio odnoszącego się do oceny częstości występowania zakażeń *Bartonella*, ponieważ takie badania zostały przez Doktoranta wykonane - wyniki dotyczące prevalencji tego patogenu u kotów w wybranych obszarach Polski są zawarte w 4-tym artykule cyklu prac. Ponadto pojawia się także wniosek na ten temat. Jest to przeoczenie formalne w opracowaniu wprowadzającym w przedłożony do recenzji cykl artykułów i w żaden sposób nie wpływa na zawartość prezentowanych wyników. Tym bardziej, że w treści artykułu 4-tego cyklu taki cel badań został zawarty.
- Wkradł się nieporządek w numeracji rozdziałów autoreferatu. Mianowicie, w spisie treści brak jest rozdział „Wstęp”, który w tekście występuje pod zdublowanym numerem I. Ponadto w treści wyodrębniono „Cel pracy” jako oddzielny rozdział oznaczony numerem III - w spisie treści nie ma rozdziału o tym tytule, a pod numerem III kryje się omówienie pierwszej pracy z cyklu. Skutkuje to z kolei zdublowaniem w treści rozdziałów oznaczonych jako IV.
- Wystąpiła formalna nieścisłość dotycząca opisu wkładu autorskiego w przygotowanie dwóch pierwszych artykułów. Doktorant opisał swój wkład w ich powstaniu m.in. jako udział w zaplanowaniu doświadczenia i przeprowadzeniu badań, co wydaje się nie korespondować z typowo przeglądowym charakterem tych dwóch prac.
- Na końcu rozdziału „Wstęp” zabrakło spisu literatury, z której korzystał, i którą cytował Doktorant w tej części opracowania. Brakuje także cytacji do wyników opisywanych w

ostatnim akapicie. Z kolei nie jest jasne czego dotyczy spis literatury (16 pozycji) przedstawiony w rozdziale IX.

Uwagi dotyczące drobnych błędów w tekście:

Str. 26 dokumentacji: „przebadano 1603 kleszczy” – powinno być „...kleszcze”

Str. 33 dokumentacji: „Bartnella” – powinno być „Bartonella” ; „...ze na powłokach” – „ że na powłokach...”

Wszystkie uwagi są to w rzeczywistości edycyjne nieścisłości nie wpływające na treść zasadniczej części pracy.

Reasumując przedstawioną ocenę, uważam, że recenzowana rozprawa doktorska Pana lek. wet. Łukasza Mazurka pt. „Badania nad epidemiologią bartonelozy kotów w aspekcie zdrowia publicznego” odpowiada w pełni warunkom określonym w Ustawie z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. z 2003 r. Nr 65, poz. 595 z późn. zm.) w zw. z art. 179 ust. 3 ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 30 sierpnia 2018 r. poz. 1669). Wobec wymienionego faktu, przedkładam Wysokiej Radzie Dyscypliny Weterynarii Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie (zgodnie z Uchwałą Rady Dyscypliny z dnia 23 września 2021 r.) wniosek o przyjęcie rozprawy i dopuszczenie Pana lek. wet. Łukasza Mazurka do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie mając na uwadze znaczące osiągnięcie naukowe i aplikacyjne, chciałbym złożyć wniosek o wyróżnienie ocenianej rozprawy doktorskiej.

Handwritten signature in blue ink, reading "Jacek Karamon".