

prof. dr hab. Krzysztof Rypuła
Katedra Epizootologii z Kliniką Ptaków i Zwierząt Egzotycznych
Wydział Medycyny Weterynaryjnej
Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

Wrocław, 17 listopada 2023

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr inż. Kingi Zaręba-Marchewka
pt.: „**Analiza struktury genomów bakterii z rodzaju Chlamydia**”
wykonanej w Zakładzie Chorób Bydła i Owiec/Laboratorium Diagnostyki Serologicznej
Państwowego Instytutu Weterynaryjnego –
Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach
pod kierunkiem
prof. dr hab. Krzysztofa Niemczuka i
dr Małgorzaty Mazur - promotora pomocniczego.

Podstawą wykonania recenzji jest Uchwała Rady Naukowej Państwowego Instytutu Weterynaryjnego – Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach z dnia 17 grudnia 2018, dotycząca wykonania recenzji rozprawy doktorskiej mgr inż. Kingi Zaręba-Marchewka pt. „Analiza struktury genomów bakterii z rodzaju Chlamydia”.

Badania zostały zrealizowane w ramach środków Funduszu Badań Własnych (projekt nr F/112 pt. „Badanie zmienności genomów *Chlamydia gallinacea* występujących u drobiu”) oraz KNOW (Krajowy Naukowy Ośrodek Wiodący) Konsorcjum Naukowe „Zdrowe Zwierzę – Bezpieczna Żywność” (decyzja MNiSW numer 05-1/KNOW2/2015). Publikacje stanowiące podstawę rozprawy doktorskiej są cyklem monotematycznym w aspekcie podejmowanej problematyki i dotyczą charakterystyki izolowanych od ptaków drobnoustrojów z rodzaju Chlamydia.

Tematyka badań podjętych przez Doktorantkę jest od wielu lat prowadzona w Laboratorium Diagnostyki Serologicznej PIW – PIB w Puławach i aktualna m.in.: z powodu powszechności występowania wielu gatunków tej bakterii, objawów klinicznych oraz bezpieczeństwa zdrowia ludzi, a także wdrażanej koncepcji „ONE HEALTH”, co przedstawiała doktorantka w rozdziale wstęp. Mimo wielu lat jakie minęły od opisanie obrazu chorobowego u ludzi i zwierząt (owce, bydło, konie, koty) nadal opisywane są nowe gatunki chlamydii, których potencjał zoonotyczny na chwilę obecną nie jest znany, jednakże bazując na dotychczasowej wiedzy nie możemy go wykluczyć. Szczególnie z powodu braku skutecznej immunoprofilaktyki, jak wskazują Doktorantka, dostępność szczepionek jest ograniczona, gdyż opracowano i wprowadzono na rynek jedynie szczepionki p/ko *Chlamydia (C.) felis* oraz *Chlamydia (C.) abortus*. Nie opracowano także jednej uniwersalnej i skutecznej szczepionki przeciwko gatunkom bakterii należących do rodzaju Chlamydia.

Pani mgr inż. Kinga Zaręba-Marchewka w przedstawionej do oceny rozprawie doktorskiej podjęła się opisu i określenia przynależności taksonomicznej izolowanych od ptaków szczepów avian *C. abortus* oraz *C. gallinacea*. Wykorzystując sekwencjonowanie nowej generacji i

analizę porównawczą sekwencji genomowych na poziomie gatunku i rodzaju, Doktorantka podjęła się wyjaśnienia wątpliwości dotyczących przynależności nowych szczepów do określonego gatunku oraz wykluczenia hipotezy o dominacji u ptaków hodowlanych znanego od wielu lat gatunku *C. psittaci* na korzyść nowego gatunku *C. gallinacea*.

Przygotowując niniejszą dysertację Doktorantka zachowała układ przyjęty dla tego typu opracowań tj.: oświadczenie promotora i autora pracy, wykaz użytych skrótów, wstęp, cel i zakres pracy, materiał i metody, wnioski, streszczenie w języku polskim i angielskim oraz piśmiennictwo liczące 318 pozycji i kopie publikacji, stanowiących podstawę rozprawy doktorskiej oraz dołączone oddzielnie oświadczenia autora i współautorów.

We wstępie, Doktorantka przedstawiła aktualną systematykę bakterii z rodzaju Chlamydia, ich klasyfikację, opis genomu i złożony, dwufazowy cykl rozwojowy. W oparciu o dostępne dane bibliograficzne przedstawiła epidemiologię zakażeń i częstotliwość występowania poszczególnych gatunków chlamydii u ludzi, zwierząt hodowlanych i gospodarskich oraz wolno żyjących. W kolejnych akapitach opisuje przebieg zakażeń u ptaków, ssaków i gadów oraz dostępne możliwości stosowania immunoprofilaktyki u gatunków docelowych. Część danych została zebrana w formie tabel, co przy dużej ilości zaprezentowanych, szczegółowych informacji ułatwia zrozumienie zagadnienia.

Cele pracy określone zostały w sześciu punktach, wymienionych na stronie 43 niniejszej dysertacji, które zostały zrealizowane, a wyniki opublikowane w pięciu artykułach, z czego jeden to artykuł przeglądowy i cztery to artykuły oryginalne, wskazane przez Kandydatkę jako podstawę do ubiegania się o nadanie stopnia naukowego doktora. Prace te ukazały się drukiem w latach 2019 – 2023 w czasopismach anglojęzycznych, zgodnie z poniższym zestawieniem:

Zaręba-Marchewka K., Szymańska-Czerwińska M., Niemczuk K. Chlamydiae – What's New? J Vet Res. 2020 Dec 10;64(4):461-467.

(punkty MEN: 40; IF: 1,039)

Zaręba-Marchewka K., Szymańska-Czerwińska M., Mitura A., Niemczuk K. Draft Genome Sequence of Avian Chlamydia abortus Genotype G1 Strain 15-70d24, Isolated from Eurasian Teal in Poland. Microbiol Resour Announc. 2019 Aug 15;8(33):e00658-19.

(punkty MEN: 20)

Zaręba-Marchewka K., Szymańska-Czerwińska M., Niemczuk K. Draft Genome Sequences of Avian Chlamydia abortus Genotype G2 Strain 15-49d3, Isolated from Mallard, and Genotype 1V Strain 15-58d44, Isolated from Magpie in Poland. Microbiol Resour Announc. 2021 Apr 8;10(14):e01203-20.

(punkty MEN: 20)

Zaręba-Marchewka K., Szymańska-Czerwińska M., Livingstone M., Longbottom D., Niemczuk K. Whole Genome Sequencing and Comparative Genome Analyses of Chlamydia abortus Strains of Avian Origin Suggests That Chlamydia abortus Species Should Be Expanded to Include Avian and Mammalian Subgroups. Pathogens. 2021 Oct 29;10(11):1405.

(punkty MEN: 100; IF: 3,492)

Zaręba-Marchewka K., Bomba A., Scharf S., Niemczuk K., Schnee C., Szymańska-Czerwińska M. Whole Genome Sequencing and Comparative Genomic Analysis of Chlamydia gallinacea Field Strains Isolated from Poultry in Poland. Pathogens. 2023 Jun 29;12(7):891.

(punkty MEN: 100; IF: 3,7)

Sumaryczny współczynnik wpływu (IF) wyliczony dla wszystkich prac wynosi 8,231, a łączna liczba punktów dla czasopism wyliczona w oparciu o wykazy MEN to 280. Wkład Doktorantki w powstanie niniejszych prac to 67% (od 55 do 80%).

Wyniki z przeprowadzonych badań Doktorantka przedstawiła w formie dziewięciu wniosków, będących odpowiedzią na założone cele badawcze. W ocenie recenzenta wartością przeprowadzonych badań jest:

- uzyskanie pełnych sekwencji genomowych dla trzech szczepów avian *C. abortus*, wykazanie bliskiego pokrewieństwa (97,23% średniego podobieństwa nukleotydów) i włączenie ich do bakterii należących do *C. abortus*. ~~oraz, że~~ Dodatkowo wykazanie, że definicja gatunku *C. abortus*, powinna zostać rozszerzona o szczepy *C. abortus* izolowane od ptaków;
- wykazanie obecności cytotoksyny uważanej za czynnik wirulencji, która nie występuje w klasycznych szczepach *C. abortus*;
- analiza sekwencji genomowych szczepów *C. gallinacea* wykazuje pokrewieństwo na poziomie co najmniej 99,46% średniego podobieństwa nukleotydów i mimo wysokiego podobieństwa szczepy te wykazują duże zróżnicowanie genetyczne, co umożliwia genotypowanie i prowadzenie monitoringu epidemiologicznego.

Mimo, iż prace wskazane przez Doktorantkę jako podstawa do ubiegania się o nadanie stopnia naukowego doktora zostały poddane wcześniejszej recenzji, to podczas przygotowywania manuskryptu do druku Doktorantka nie uniknęła błędów, także tych o charakterze edytorskim:

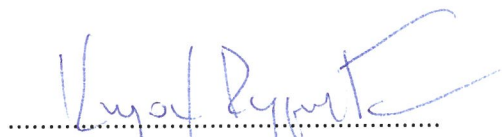
- str. 7 – skrót MEiN, nie jest właściwy, ponieważ Ministerstwo Edukacji Narodowej – przywrócono 5 maja 2006 po wcześniejszym podziale na Ministerstwo Edukacji i Nauki na MEN i Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego.
- str. 43 – punkty 2 i 6 trudno uznać bezpośrednio za cel badań, ponieważ są to typowe procedury i postępowania mające na celu osiągnięcie zamierzonego celu badawczego;
- str. 32 – określenie: ...”*Chlamydia abortus* jest ważnym” ..., bardziej właściwe jest określenie – ważnym z punktu patogenezy lub objawów klinicznych, bądź strat ekonomicznych;
- str. 55 – istotnym osiągnięciem, co nie zostało ujęte we wnioskach, jest opis ośmiu nowych typów sekwencyjnych ST321–ST328 i utworzenie przez te szczepy nowego kładu ze szczepami europejskimi i izolowanymi w Azji;

Uzupełnienie niniejszej dysertacji o rozdział omówienie wyników byłby zamknięciem przeprowadzonych badań i podsumowaniem uzyskanych wyników zestawionych z danymi z bogatego piśmiennictwa wykorzystanego przez Doktorantkę.

W rozdziale Wstęp wielokrotnie wykorzystywana jest pozycja M. Pawlikowska i W. Deptuła pt.: „Chlamydie i chlamydofile u ludzi i zwierząt” (Wydawnictwo Naukowe Uniwersytetu Szczecińskiego, 2012). W tym rozdziale Doktorantka w opisach etiologii, objawów klinicznych powołuje się na powyższą pozycję piśmiennictwa, a przecież są dokładniejsze i nowsze dane, bądź opisy zawarte w wielu publikacjach cytowanych w dysertacji przez Doktorantkę, np.: Li Z (publikacje z lat 2015-2020), K. Sachse (publikacje z lat 2015-2020), Gitsels (2020), Knittler (publikacje z lat 2014, 2015), Schautteet i Vanrompay, czy współautor jednej z prac D. Longbottom.

Podsumowując, uważam, że przedstawiona do recenzji praca doktorska pt. "Analiza struktury genomów bakterii z rodzaju Chlamydia" dotyczy ważnego i stale aktualnego tematu z punktu zdrowia ludzi i zwierząt, jakim są zakażenia powodowane przez bakterie z rodzaju Chlamydia i spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim odpowiada warunkom określonym w artykule 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. 2003 Nr 65 poz. 595 z późn. zm.) w zw. z art. 179 ust. 1 ustawy z dnia 3 lipca 2018 z późn. zm. przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 30 sierpnia 2018 poz. 1669), tym samym wnioskuję do Rady Naukowej PIWet-PIB o dopuszczenie Pani mgr inż. Kingi Zaręby-Marchewka do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Wrocław, 17 listopada 2023


.....
prof. dr hab. K. Rypuła