

Dr hab. Grażyna Wójcicka
Katedra i Zakład Patofizjologii
Uniwersytetu Medycznego w Lublinie
Ul. Jaczewskiego 8b, 20-090 Lublin
Tel. 81 448 65 00
e-mail. grazyna.wojcicka@umlub.pl

26.03.2020

OCENA

rozprawy doktorskiej Pani mgr Anny Sawczyn-Domańskiej pt. „Ocena występowania bakterii z rodzaju *Borrelia*, *Candidatus Neoehrlichia* oraz pierwotniaków z rodzaju *Babesia* w kleszczach *Ixodes ricinus* oraz *Dermacentor reticulatus* w aspekcie narażenia na choroby odkleszczowe”

Na przestrzeni ostatnich lat równoległe z rozszerzaniem się geograficznego zasięgu występowania kleszczy oraz wydłużeniem okresu ich aktywności obserwuje się wzrost zachorowalności na choroby odkleszczowe. Do wzrostu ryzyka zachorowania przyczynia się również rosnący poziom zainfekowania kleszczy, często równocześnie kilkoma różnymi patogenami, co dodatkowo stwarza zagrożenie infekcji mieszanych i koinfekcji o niespecyficznym obrazie klinicznym. W Polsce najczęściej rozpoznawaną chorobą odkleszczową jest borelioza z Lyme wywołwana przez krętki *Borrelia burgdorferi* sensu lato przenoszone głównie przez kleszcze pospolite (*Ixodes ricinus*). Obecnie, dzięki coraz większej dostępności metod molekularnych identyfikuje się także nowe dotychczas nieznanne mikroorganizmy chorobotwórcze przenoszone przez kleszcze, do których należą między innymi *Borrelia miyamotoi* i *Candidatus Neoehrlichia mikurensis*. Wywołwane przez nie choroby, borelioza Miyamotoi czy neoerlichioza są nowymi jednostkami chorobowymi, których rozpoznanie jest wciąż niedoszacowane. Na Lubelszczyźnie, liczba zachorowań na boreliozę z Lyme jest jedną z najwyższych w Polsce i w 2018 roku wynosiła blisko 2000 przypadków. Jak dotąd na naszym terenie nie stwierdzono obecności nowo odkrytych gatunków bakterii *Borrelia miyamotoi* i *Candidatus Neoehrlichia mikurensis*

Biorąc pod uwagę dynamikę zmian w dystrybucji kleszczy oraz transmitowanych przez nie chorobotwórczych mikroorganizmów wskazane jest prowadzenie ścisłego nadzoru nad rozprzestrzenianiem się tych patogenów zarówno w kleszczach jak i zwierzęcych rezerwuarach

w celu wykrywania aktywnych ognisk zakażeń. Najważniejszym sposobem oceny zagrożenia jest wykrywanie naturalnych miejsc bytowania kleszczy, ocena stopnia ich zarażenia i zakażenia oraz identyfikacja przenoszonych przez nie mikroorganizmów chorobotwórczych, często nowych nie występujących na danym obszarze. Temu zagadnieniu została poświęcona praca doktorska Pani mgr Anny Sawczyn-Domańskiej wykonana w zakładzie Biologicznych Szkodliwości Zdrowotnych i Parazytologii Instytutu Medycyny wsi im. W. Chodźki w Lublinie pod kierunkiem Pani dr hab. n. o zdr. Angeliny Wójcik-Fatli oraz przy współpracy Pana dr n. med. Jacka Zwolińskiego, jako promotora pomocniczego. Tematyka pracy doktorskiej jest ważna nie tylko pod względem poznawczym, ale także epidemiologicznym i klinicznym. Ma także charakter pionierski, dotyczy bowiem identyfikacji patogenów, których występowanie nie wykazano dotychczas na objętym badaniem terenie.

Ogólna ocena pracy

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska ma klasyczny układ, liczy łącznie 130 stron i zawiera 17 tabel, 12 rycin oraz 253 pozycje piśmiennictwa, obejmującego zarówno prace oryginalne jak i przeglądowe oraz monografie. Szeroki zakres wykorzystanego piśmiennictwa oraz przeważający wybór najnowszych pozycji świadczy o znaczeniu i aktualności podjętego przez Doktorantkę tematu. Wszystkie wymagane rozdziały napisane zostały w odpowiedniej proporcji, a szata graficzna pracy opracowana bardzo starannie i przejrzysto. Cała praca napisana jest bardzo dobrym językiem naukowym wzbogaconym w fachową terminologię właściwą dla prezentowanej dyscypliny naukowej, wskazując na rzetelne zapoznanie się Doktorantki z podjętą problematyką.

We **wstępie** liczącym 28 stron, Doktorantka bardzo szczegółowo przedstawia systematykę, morfologię i fizjologię kleszczy, mechanizmy przekazywania chorobotwórczych mikroorganizmów oraz diagnostykę i leczenie chorób odkleszczowych. Szczególną uwagę poświęca charakterystyce kleszczy *Ixodes ricinus* i *Dermacentor reticulatus* oraz przenoszonym przez nie bakteriom i pierwotniakom. Tę część pracy uzupełniają fotografie autorstwa doktorantki przedstawiające stadia rozwojowe kleszczy oraz obraz mikroskopowy bakterii z rodzaju *Borrelia* i *Candidatus*.

Cel pracy został jasno sformułowany i obejmuje ocenę stopnia zakażenia kleszczy pospolitych i łąkowych odłowionych na terenie województwa lubelskiego różnymi genotypami krętków *Borrelia burgdorferi* sensu lato, zarażenia ich pierwotniakami z rodzaju *Babesia*, a

także identyfikacja w tych kleszczach niedawno odkrytych patogenów jak *Candidatus Neoehrlichia mikurensis* oraz *Borrelia miyamotoi*. Autorka podejmuje się również wykazania zależności pomiędzy stopniem zarażenia kleszczy wybranymi patogenami a stadium rozwojowym, płcią i stanowiskiem zbioru, a także oceny częstości występowania w kleszczach infekcji mieszanych i koinfekcji.

Metodyka badań została starannie zaplanowana i przedstawiona. Badania przeprowadzono na 855 osobnikach kleszcza pospolitego i 587 osobnikach kleszcza łąkowego zebranych z roślinności na 5 różnych stanowiskach na terenie województwa lubelskiego. Lokalizację objętych badaniem stanowisk przedstawiono na załączonej mapce. Zwraca uwagę ogromna liczba przeprowadzonych badań analitycznych. Materiał badany stanowiło w sumie 1442 kleszczy, u których identyfikowano 11 różnych patogenów w oparciu o 30 różnych markerów genetycznych. Precyzyjny opis zastosowanych metod molekularnych, w tym izolacji i detekcji kwasów nukleinowych kleszczy i przenoszonych patogenów, identyfikacji genogatunków bakterii i reakcji sekwencjonowania oraz odważne zastosowanie modyfikacji własnych zastosowanych procedur wskazuje na dogłębne zapoznanie się i opanowanie przez Doktorantkę technik biologii molekularnej oraz umiejętne ich zastosowanie w zaplanowanych badaniach.

Uwagi

Czym kierowano się przy wyborze stanowisk zbioru kleszczy? Czy na różnych stanowiskach odławiano kleszcze w podobnym okresie? Czy proces flagowania na różnych stanowiskach przebiegał według określonego schematu (tj. czas nałożenia płachty, ilość omiatań). Czym można wyjaśnić brak młodszych form rozwojowych (nimf) w populacji odłowionego kleszcza łąkowego. Dlaczego nimfy badano w pulach a nie pojedynczo jak pozostałe osobniki?

Wyniki uzyskane w ramach niniejszej dysertacji są zgodne z wytyczonymi celami i posłużyły do porównania w badanej populacji kleszczy poziomu zakażenia i/lub zarażenia jednym lub wieloma patogenami w zależności od miejsc bytowania, postaci rozwojowej oraz płci. Liczne uzyskane dane zaprezentowano w starannie przygotowanych i czytelnych tabelach i rycinach. W swoich badaniach Autorka między innymi wykazała wysoką prevalencję krętków *Borrelia burgdoferi* sensu lato (przede wszystkim *Borrelia burgdoferi* sensu stricto) w kleszczach pospolitych oraz częste współwystępowanie w nich 2 lub 3 genogatunków tej bakterii. Ponadto po raz pierwszy na Lubelszczyźnie wykazała obecność w kleszczach

pospolitych *Borrelia miyamotoi* i *Candidatus Neoehrlichia mikurensis*. Bakterii tych nie wykryto w kleszczach łąkowych. Natomiast obydwie badane gatunki kleszczy (pospolity i łąkowy) na wszystkich stanowiskach były zakażone pierwotniakami z rodzaju *Babesia*, najczęściej *B. microti*. Uzyskane wyniki wskazują na duże ryzyko narażenia osób przebywających na badanych terenach na pogryzienie przez kleszcze (głównie formy dojrzałe) zainfekowane krętkami *Borrelia burgdoferi* sensu lato oraz wywołania infekcji mieszanych oraz koinfekcji w wyniku pojedynczego ugryzienia. U pogryzionych na tych terenach osób nie można również wykluczyć wystąpienia boreliozy Miyamotoi oraz neerlichiozy.

25-cio stronicowa **dyskusja** została napisana w bardzo dojrzały sposób i zawiera dokładną, wielopoziomą interpretację uzyskanych wyników, opartą zarówno o dane eksperymentalne jak i kliniczne. W dyskusji Doktorantka wykazała się umiejętnością wyciągania prawidłowych wniosków oraz krytycznego konfrontowania wyników własnych z osiągnięciami innych autorów.

Rozprawę wieńczą jasno sformułowane **wnioski** ściśle odpowiadające wyznaczonym celom i wynikające z przeprowadzonych badań.

Uwagi:

W punkcie 8 wdarła się pewna nieścisłość – nie jest jasne czy stwierdzenie dotyczy stadium rozwojowego czy płci kleszcza.

Podsumowanie

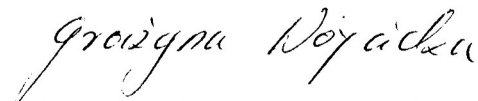
Pracę oceniam bardzo wysoko. Doktorantka wybrała ważny i interesujący temat, zastosowała właściwe i nowoczesne metody oraz wysnuła odpowiednie wnioski. Poczynione w recenzji drobne uwagi nie umniejszają wysokiej jakości i wartości niniejszej dysertacji.

Podsumowując, przedstawiona do oceny rozprawa doktorska mgr Anny Sawczyn-Domańskiej zatytułowana „Ocena występowania bakterii z rodzaju *Borrelia*, *Candidatus Neoehrlichia* oraz pierwotniaków z rodzaju *Babesia* w kleszczach *Ixodes ricinus* oraz *Dermacentor reticulatus* w aspekcie narażenia na choroby odkleszczowe” została poprawnie zaplanowana i zrealizowana, a sformułowane wnioski są adekwatne do uzyskanych wyników i przyczyniają się do poszerzenia wiedzy na temat rozprzestrzeniania się czynników etiologicznych chorób odkleszczowych w Polsce. Z pełnym przekonaniem stwierdzam, że oceniana praca spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim określone z ustawą z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym, oraz o stopniach i tytule w zakresie

sztuki. Zwracam się zatem do Rady Naukowej Instytutu Medycyny Wsi im. Witolda Chodźki w Lublinie o dopuszczenie Pani mgr Anny Sawczyn-Domańskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Ponadto, biorąc pod uwagę imponujący warsztat naukowy, nowatorski charakter przeprowadzonych badań oraz istotne znaczenie praktyczne uzyskanych wyników stawiam wniosek o wyróżnienie powyższej pracy.

Z poważaniem



Dr hab. n. med. Grażyna Wójcicka

Lublin, 26.03.2020