

Prof. dr hab. Krzysztof Solarz

Sosnowiec, 24.08.2022

Zakład Parazytologii

Wydział Nauk Farmaceutycznych w Sosnowcu

Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

41-218 Sosnowiec, ul. Jedności 8

Ocena pracy doktorskiej

Pani mgr inż. Anny Kloc pt. „Transmisja transowarialna wybranych patogenów u kleszczy z gatunku *Ixodes ricinus* i *Dermacentor reticulatus*, żerujących na zwierzętach dzikich i domowych.”

Praca wykonana w Zakładzie Biologicznych Szkodliwości Zdrowotnych i Parazytologii

Instytutu Medycyny Wsi im. Witolda Chodźki w Lublinie

pod kierunkiem Pani prof. IMW dr hab. n. o zdr. Angeliny Wójcik-Fatla.

Promotorem pomocniczym jest Pani dr n. med. Violetta Zając.

W ostatnich dziesięcioleciach obserwujemy znaczne zwiększenie zapadalności na choroby odkleszczowe. Ma to duży wpływ na wzrost zainteresowania lekarzy, epidemiologów, biologów, weterynarzy, jak też uczonych innych specjalności kleszczami i ich rolą w transmisji chorób. Rezultatem tego zainteresowania oraz badań prowadzonych na całym niemal świecie są liczne publikacje, przyczyniające się w istotny sposób do uzupełnienia naszej wiedzy na temat chorób przenoszonych przez te niebezpieczne ektopasożyty człowieka i zwierząt. Wiele z tych prac to opracowania o szczególnej wartości naukowej, poznawczej i aplikacyjnej. Takie też walory w mojej opinii ma rozprawa doktorska Pani mgr inż. Anny Kloc pt. „Transmisja transowarialna wybranych patogenów u kleszczy z

gatunku *Ixodes ricinus* i *Dermacentor reticulatus*, żerujących na zwierzętach dzikich i domowych.”

Oceniana praca doktorska została przedstawiona w postaci oprawionego wydruku komputerowego. Wyróżnia się estetyczną formą oraz starannym opracowaniem graficznym oraz logicznym, przejrzystym układem, spełniającym we wszystkich szczegółach wymagania stawiane pracom doktorskim. Napisana jest dobrym stylem, z uwzględnieniem fachowej nomenklatury. Praca obejmuje ogółem 118 stron tekstu i zawiera 17 tabel oraz 3 ryciny, odznaczające się bardzo dobrą jakością i wysokimi walorami naukowymi. Praca została podzielona na 7 rozdziałów, w kolejności – Wstęp (z licznymi podpunktami), Cel pracy, Materiały i metody, Wyniki, Dyskusja, Wnioski i Literatura. Ponadto obejmuje dodatkowe punkty: Spis tabel, Spis rycin, Streszczenie i *Summary*. Praca poprzedzona jest Spisem treści. Dyskusja zakończona jest punktem „Podsumowanie,” nie ujętym w spisie treści.

W pierwszym rozdziale rozprawy zatytułowanym „Wstęp” Autorka przedstawia dane dotyczące charakterystyki kleszczy, w tym systematyki i klasyfikacji tej grupy roztoczy, ich morfologii, cyklu życiowego, oraz przeglądu gatunków fauny Polski z uwzględnieniem dwóch gatunków będących przedmiotem badań – kleszcza pospolitego (*Ixodes ricinus*) oraz kleszcza łąkowego (*Dermacentor reticulatus*). W dalszej kolejności Doktorantka przedstawiła współczesny stan wiedzy na temat badanych patogenów przenoszonych przez kleszcze, ze szczególnym uwzględnieniem ich charakterystyki, występowania oraz wywoływanych przez nie chorób lub ich udziału w patogenezie u ludzi. Rozdział ten świadczy o dobrej znajomości fachowego piśmiennictwa oraz odpowiedniej wiedzy Doktorantki na temat opisywanych zagadnień. Prezentowane fakty poddano odpowiedniej selekcji i opracowano w sposób oryginalny, uwzględniający często przemyślenia, syntezy i opinie Autorki na temat opisywanych danych z piśmiennictwa.

W kolejnym rozdziale precyzyjnie i szczegółowo określono główny cel pracy oraz cele szczegółowe, podane w 5 punktach. Głównym celem pracy było zbadanie możliwości transowarialnego przenoszenia wybranych patogenów przez kleszcze pospolite i łąkowe. Badanymi patogenami były krętki boreliozy z Lyme (*Borrelia burgdorferi* sensu lato), riketsje *Anaplasma phagocytophilum* i *Rickettsia* spp. oraz endosymbionty *Francisella*-podobne i *Spiroplasma* spp. Cele szczegółowe obejmowały analizę procesu składania jaj przez napite samice kleszczy pospolitych i łąkowych oraz wylęgania larw w warunkach laboratoryjnych, a także ocenę roli transmisji transowarialnej w krążeniu w przyrodzie krętków *B. burgdorferi* s.l., riketsji *Anaplasma phagocytophilum* i *Rickettsia* spp. oraz

utrzymywaniu w/w endosymbiontów w populacjach obu gatunków kleszczy, a ponadto jeszcze ocenę wpływu obecności tych endosymbiontów w jajach i larwach kleszczy na transowarialną transmisję *Rickettsia* spp. oraz ocenę ryzyka zachorowania na choroby odkleszczowe w wyniku inwazji larw zakażonych badanymi patogenami na drodze transmisji transowarialnej. Cele ambitne, umożliwiające osiągnięcie celu głównego pracy.

W rozdziale trzecim pt. "Materiały i metody" Autorka przedstawia wyczerpująco materiał badawczy, metodykę pozyskiwania jaj z napitych samic kleszczy oraz larw z tych jaj, a także metodykę wszystkich analiz molekularnych. Pragnę bardzo mocno zaznaczyć, że zastosowana w pracy metodyka może stanowić wzór w jaki sposób powinno się dokonywać detekcji patogenów w kleszczach, oraz jak należy analizować uzyskane wyniki. Widać tu wpływ doskonałego warsztatu badawczego Pani Profesor Angeliny Wójcik-Fatla, Promotora ocenianej rozprawy doktorskiej. Chciałbym ponadto z całą mocą zaznaczyć, że rzadko spotyka się opracowania i publikacje nt. patogenów przenoszonych przez kleszcze i inne stawonogi stojące na takim poziomie pod względem warsztatu badawczego i jakości przeprowadzonych analiz.

W rozdziale „Wyniki” Pani mgr inż. Anna Kloc przedstawia w sposób wyczerpujący, dość przejrzysty, wyniki uzyskane w trakcie przeprowadzonych badań, z uwzględnieniem ich krytycznej oceny. Rozdział ten podzielono na 5 podrozdziałów. Na wstępie tego rozdziału przedstawiono żywicieli samic kleszczy obu gatunków pozyskanych do badań. W dalszej kolejności Doktorantka przedstawia wyniki dotyczące liczby jaj złożonych przez samice obu gatunków, w tym zależność między gatunkiem kleszcza oraz jego żywicielem a liczbą jaj złożonych przez samicę w warunkach laboratoryjnych. Liczba jaj składanych przez samice obu gatunków żerujących na tym samym gatunku lub rodzaju żywiciela mogła być porównywana tylko w przypadku psów, bowiem jedynie z psów udało się pozyskać kleszcze obu gatunków. Okazało się, że średnia liczba jaj złożonych przez samice kleszcza łąkowego była 2,8 razy wyższa w porównaniu z liczbą jaj złożonych przez samice kleszcza pospolitego. Uwzględniono w tym podrozdziale także zależność pomiędzy liczbą składanych przez samice w warunkach laboratoryjnych jaj a miesiącem ich żerowania na żywicielu oraz stopniem wysycenia samic krwią żywiciela. W ostatnim punkcie tego podrozdziału przedstawiono wyniki badań molekularnych kleszczy obu gatunków. Tytuł nie informuje precyzyjnie o jego treści, bowiem dalsze podrozdziały dotyczące patogenów chorób odkleszczowych obejmują przecież także wyniki uzyskane metodami z zakresu biologii molekularnej. W mojej opinii bardziej precyzyjny byłby tytuł „Wyniki badań kleszczy *Ixodes ricinus* i *Dermacentor*

reticulatus metodami systematyki molekularnej,” lub inny z zaznaczeniem, że chodzi o badania metodami systematyki molekularnej. Identyfikowano samice, jaja i larwy obu gatunków. Akurat w przypadku samic i larw, ale także jaj wystarczyłaby identyfikacja morfologiczna. Różnice między obu gatunkami są wyraźne, należą bowiem do dwóch odrębnych rodzin w obrębie kleszczy właściwych (podrząd: Ixodina) – Ixodidae (*I. ricinus*) oraz Amblyomidae (*D. reticulatus*). Obejmują one wiele cech, w tym różnice kształtu i budowy gnatosomy, idiosomy, oraz wiele innych wyraźnych cech (patrz: Siuda, 1993; Nowak-Chmura 2013). Z drugiej strony badano fragmenty ciał kleszczy, stąd zapewne potrzeba identyfikacji metodami systematyki molekularnej.

W trzecim podrozdziale obejmującym 3 podpunkty, Doktorantka przedstawia wyniki badań nad transmisją transowarialną poszczególnych badanych patogenów, w tym występowanie *Borrelia burgdorferi* s.l., *Anaplasma phagocytophilum* i *Rickettsia* spp. w samicach, jajach i larwach obu gatunków kleszczy, wyniki identyfikacji gatunków w obrębie rodzaju *Rickettsia* u samic kleszczy pospolitych i łąkowych oraz wyniki badań nad transmisją transowarialną przedstawicieli rodzaju *Rickettsia*. Obecność fragmentu DNA krętka *Borrelia burgdorferi* s.l. została potwierdzona tylko w jednej puli jaj, spośród 8 złożonych przez samice kleszcza pospolitego. Nie wykryto DNA krętka u samic, w jajach i u larw kleszcza łąkowego. Ogółem, na 1080 jaj złożonych przez samice *Ixodes ricinus*, minimalny wskaźnik zakażenia *B. burgdorferi* wyniósł 0,09%. Badanie molekularne w próbie dodatkowo potwierdziło obecność dwóch genogatunków krętka - *Borrelia burgdorferi* sensu stricto i *Borrelia garinii*. W badaniach dotyczących *Anaplasma phagocytophilum* nie udało się wykluczyć ani potwierdzić możliwości transmisji transowarialnej. Jak wynika z przeprowadzonych badań samice kleszcza pospolitego najczęściej jaj składały w miesiącach wiosennych (kwiecień, maj), natomiast dwie samice dodatnie w kierunku *A. phagocytophilum* zostały pozyskane ze zwierzyny płowej we wrześniu. Wiadomo, że istnieją 2 szczyty aktywności *adulti* i nimf kleszczy pospolitych, wiosenny i jesienny; u kleszczy łąkowych dotyczy to tylko dorosłych postaci, nimfy bowiem są aktywne w miesiącach letnich, podobnie jak larwy. Obecność fragmentu DNA *Rickettsia* spp. stwierdzono u samic oraz w pulach jaj obu gatunków kleszczy, częściej u kleszcza łąkowego oraz u larw tego gatunku. Ponadto *Rickettsia* spp. była wykrywana w jajach i larwach składanych przez samice, u których nie potwierdzono obecności tego drobnoustroju, co zdaniem Doktorantki może mieć związek ze zbyt słabą jakością izolatu DNA uzyskanego z samicy, po zakończeniu procesu składania jaj. Ogółem jednak w badanej grupie 55 kleszczy, zakażonych samic mogło być ponad 78%.

Największy odsetek kleszczy z wynikami dodatnimi stwierdzono w przypadku samic *D. reticulatus* zebranych z dzików (80%). Biorąc pod uwagę wszystkie złożone jaja przez samice danego gatunku (łącznie z liczbą jaj, z których wyległy się larwy), minimalny wskaźnik zakażenia był znacznie niższy u kleszcza pospolitego (0,74%) niż u kleszcza łąkowego (ok. 3,5%), z uwzględnieniem dodatnich pul larw. W przypadku jaj i larw pozyskanych od samic kleszcza łąkowego można porównać odsetki wyników pozytywnych osobno dla grupy pul jaj i larw. Nieco wyższy procent uzyskano w przypadku jaj, gdzie na 564 badanych pul w 411 (ok. 73%) wykazano obecność *Rickettsia* spp., natomiast na 266 badanych pul larw patogen zidentyfikowano w 166 pulach (ok. 62%). Transmisję riketsji z rodzaju *Rickettsia* z zakażonej samicy na składane przez nią jaja zaobserwowano w jednym przypadku u kleszcza pospolitego (co stanowi 3% ogólnej populacji) oraz u 38 samic kleszcza łąkowego (69,1%), biorąc pod uwagę zarówno samice zakażone jak i samice ujemne (nie zakażone), które złożyły jaja dodatnie w kierunku *Rickettsia* spp. Sam odsetek samic dodatnich wśród populacji *I. ricinus* był blisko dwukrotnie niższy, aniżeli wśród samic *D. reticulatus* (odpowiednio 30,3% i 56,4%). Z uwagi na ogólną małą liczbę samic *I. ricinus*, które złożyły jaja w warunkach laboratoryjnych, trudno było zdaniem Doktorantki określić, czy w przypadku 8 samic dodatnich w kierunku *Rickettsia*, a które nie złożyły jaj, mogło dojść do transmisji transowarialnej. Ponadto potwierdzono jeden przypadek pozytywnej samicy, gdzie w złożonych przez nią jajach nie wykryto *Rickettsia*. Z kolei u 5-ciu dodatnich samic kleszcza łąkowego, które nie złożyły jaj, można według Pani mgr inż. Kloc założyć z większym prawdopodobieństwem, że do transmisji patogenu mogłoby dojść, ponieważ nie potwierdzono przypadku samicy dodatniej, która złożyła jaja ujemne. Zdaniem Doktorantki transmisja transowarialna riketsji z rodzaju *Rickettsia* jest możliwa u kleszczy pospolitych, jednak zbyt mała liczba jaj pozyskanych od samic dodatnich tego gatunku nie pozwala na jej jednoznaczne potwierdzenie. Natomiast w przypadku kleszcza łąkowego można było stwierdzić bardzo wysokie ryzyko transmisji transowarialnej *Rickettsia* spp. z zakażonej samicy na składane przez nią jaja, oraz możliwość utrzymywania się patogenu w pokoleniu larw. U samic kleszcza pospolitego zidentyfikowano 3 gatunki riketsji, najczęściej *Rickettsia helvetica*, ale także *R. raoulti* i *R. peacockii*. Natomiast u samic kleszcza łąkowego zidentyfikowano głównie *R. raoulti*, w pojedynczych przypadkach stwierdzono homologię do gatunków *R. massiliae*, *R. peacockii* i *R. parkeri*. Transmisję transowarialną riketsji *Rickettsia* spp. zaobserwowano w jednym przypadku wśród kleszczy pospolitych, co stanowiło 3% badanej populacji, oraz u 38 samic kleszcza łąkowego (69,1%).

W czwartym podrozdziale Wyników przedstawiono, także w 3 podpunktach, wyniki badań nad transmisją transowarialną endosymbiontów „*Francisella*-like endosymbionts” i *Spiroplasma* spp. u kleszczy pospolitych i łąkowych. Uwzględniono występowanie tych endosymbiontów u samic, larw i w jajach u obu gatunków kleszczy oraz przypadki stwierdzenia ich transmisji transowarialnej, a także badano wpływ obecności endosymbiontów na transmisję transowarialną *Rickettsia* spp. Wyniki badań potwierdzają hipotezę, że u kleszczy pospolitych nie ma bezpośredniej zależności wynikającej z transowarialnego przenoszenia badanych drobnoustrojów, natomiast w przypadku samic kleszcza łąkowego otrzymane wyniki wskazują na dodatnią korelację w zakresie transmisji tych drobnoustrojów. Ponadto wyniki badań mogą wskazywać, że wpływ *Francisella*-podobnych endosymbiontów zarówno na liczbę składanych jaj, jak też na efektywniejszą transmisję transowarialną *Rickettsia* spp., jest dużo wyższy niż w przypadku endosymbiontów z rodzaju *Spiroplasma*.

W kolejnym rozdziale pt. „Dyskusja” omówiono i przedyskutowano wyniki pracy w kontekście aktualnej wiedzy i wszystkich dostępnych danych literaturowych. Autorka bardzo wnikliwie analizuje otrzymane wyniki na tle piśmiennictwa polskiego i światowego, dając dowód Swej dużej wiedzy na temat pracy, jak też talentu przedstawiania skomplikowanych zależności w sposób wyczerpujący, a zarazem przejrzysty i zrozumiały dla czytelnika. Należy podkreślić, że zacytowane piśmiennictwo obejmuje 255 pozycji literatury naukowej, polskiej i światowej; zostało ono bardzo trafnie dobrane i wykorzystane we Wstępie pracy jak też podczas dyskusji uzyskanych wyników.

Dyskusja została zakończona podsumowaniem, w którym Doktorantka uzasadnia potrzebę tego badań nad transowarialną transmisją patogenów, jak też uzasadnia wybór patogenów do badań. Tego typu rozważania powinny jako założenia pracy poprzedzić cel albo cele badań.

Wykonane przez Panią mgr inż. Annę Kloc badania pozwoliły na sformułowanie 8 wniosków, które można uznać za ważne osiągnięcia Doktorantki, stanowiące Jej oryginalny wkład w naszą wiedzę na temat możliwości transowarialnego przenoszenia wybranych patogenów przez kleszcze pospolite i łąkowe. Należy jednak podkreślić, że są to bardziej konkluzje podsumowujące dyskusję, a nie wyraźnie zarysowane wnioski, prezentujące

bezdyskusyjne fakty odkryte przez Doktorantkę. W mojej opinii są zbyt obszerne, mają charakter dyskusyjny oraz zawierają dane liczbowe. Duża liczba wniosków jest jak najbardziej uprawniona przy tak szeroko zakrojonych i wszechstronnych badaniach. Z drugiej strony jednak niektóre wnioski są postawione trochę na wyrost (np. 1, 2 i 3); nawet Doktorantka używa sformułowania „można wnioskować” lub „można stwierdzić.” Podobnie wniosek 4 – „...nie udało się potwierdzić ani wykluczyć...” Wnioski nie mogą mieć formy wielozdaniowych konkluzji o charakterze dyskusyjnym, spornym, ale powinny stanowić ostro zarysowane, rzeczywiste osiągnięcia pracy, mające pokrycie i szerokie uzasadnienie w zaprezentowanych wynikach badań. Tym nie mniej wszystkie zaprezentowane w pracy konkluzje są ważnymi osiągnięciami naukowymi Doktorantki. Powinny być jednak poddane znaczącej „obróbce redakcyjnej” podczas przygotowywania pracy do druku.

W mojej ocenie praca doktorska Pani mgr. inż. Anny Kloc nie zawiera istotnych błędów rzeczowych, błędów metodycznych czy kontrowersyjnych sformułowań. Szkoda jednak, że nie wykorzystano metod statystycznych w analizie uzyskanych danych.

W trakcie uważnej lektury znalazłem pewne dane, do których chciałbym się odnieść nieco krytycznie, poza uwagami zamieszczonymi wcześniej.

1. Wstęp, punkt 1.1.1. **Systematyka i podział kleszczy**: obecnie kleszcze właściwe (czyli podrząd Ixodina) dzielimy na dwie rodziny. Rodzina Ixodidae (dawniej podrodzina Ixodinae) obejmuje rodzaj *Ixodes*. Pozostałe rodzaje kleszczy właściwych, w tym rodzaj *Dermacentor*, zaliczamy do rodziny Amblyommidae (dawniej podrodzina Amblyomminae). Wymienione w punkcie gatunki powinny być ułożone według rodzajów, do których należą; zatem w pierwszej kolejności należało wymienić *Ixodes ricinus* oraz *I. hexagonus*, a potem pozostałe gatunki. Ponadto powinno być *Hyalomma marginatum*, zamiast *Hyaloma marginatum*. Prezentując stanowisko systematyczne kleszczy można było podać, że Ixodida należą do nadrzędu Parasitiformes. Wtedy mielibyśmy pełne stanowisko systematyczne rzędu Ixodida.
2. Wstęp, punkt 1.1.2. **Budowa kleszczy** – powinien brzmieć „Budowa kleszczy właściwych” bowiem nie wspomniano nic o Argasina. Występują istotne różnice morfologiczne pomiędzy Argasina oraz Ixodina, między Ixodidae oraz Amblyommidae, jak też pomiędzy poszczególnymi gatunkami, biorąc pod uwagę kleszcze właściwe, których dotyczy ten rozdział, szczególnie w przypadku rodzajów i gatunków z rodziny Amblyommidae.

3. Z tego samego powodu punkt 1.1.3. Wstępu ma także niezbyt szczęśliwy tytuł. **Cykl rozwojowy kleszcza**. Co to znaczy? Jakiego gatunku kleszcza? Cykle życiowe Argasina różnią się znacząco od cykli życiowych Ixodina, że wspomnę tylko o liczbie stadiów nimfalnych. Różnice dotyczą także cykli życiowych między przedstawicielami rodzin Ixodidae oraz Amblyommidae, czy pomiędzy gatunkami szczególnie tej drugiej rodziny. Wśród kleszczy właściwych występują gatunki kleszczy jedno-, dwu- i trójżywieliowych.
4. Punkt 1.1.4. Wstępu. Inna jest liczba gatunków, które są stałym elementem fauny Polski – podaje się na ogół 19 gatunków (do 21). Inna natomiast jest liczba gatunków zawlekanych (około 15 gatunków), szczególnie z rodziny Amblyommidae (13 gatunków).
5. W podpunkcie 1.1.4.2. poprawnie opisano aktywność kleszcza łąkowego, natomiast dane zaprezentowane w punkcie 1.1.4.1., dotyczące kleszcza pospolitego (pastwiskowego) należy uzupełnić o informację, że szczyty wiosenny i jesienny aktywności dotyczą *adulti* oraz nimf, natomiast larwy tego gatunku mają szczyt aktywności w miesiącach letnich, podobnie jak larwy i nimfy kleszcza łąkowego. Ponadto podczas szczytu wiosennego obserwuje się znacznie wyższą liczebność aktywnych *adulti* i nimf kleszcza pospolitego aniżeli w okresie jesiennego szczytu ich aktywności.
6. Punkt 1.2. Wstępu, ze względu na jego zawartość, powinien nosić tytuł „Patogeny przenoszone przez kleszcze właściwe.”

Ponadto zaobserwowałem jeszcze inne drobne i nieliczne usterki tekstu dotyczące np. odstępów lub literówek (na przykład strona 44, powinno być „*semi-engorged ticks*” zamiast „*semi-engorged tick*”). Pragnę w tym miejscu podkreślić jednak z całą mocą, że powyższe uwagi dotyczą drugoplanowych szczegółów, które mogą mieć znaczenie przy późniejszym przygotowaniu pracy do druku i nie obniżają w żadnym stopniu mojej bardzo wysokiej oceny tej bardzo dobrej pracy doktorskiej.

Podsumowując, rozprawa doktorska Pani mgr inż. Anny Kloc to praca wartościowa, dobrze zaprojektowana, bardzo dobrze wykonana, o dużej wartości naukowej i aplikacyjnej, stanowiąca oryginalny i znaczący wkład do nauki światowej. Świadczy ona o umiejętności samodzielnego prowadzenia badań naukowych przez Doktorantkę, a także o Jej dobrym warsztacie badawczym, ogromnej pracowitości, dużej wiedzy teoretycznej i praktycznej w zakresie tematyki pracy. To wnikliwe i stojące na bardzo wysokim poziomie naukowym

opracowanie może stanowić podstawę do co najmniej trzech publikacji w renomowanych czasopiśmie o zasięgu międzynarodowym.

Wniosek końcowy. Rozprawa doktorska Pani mgr inż. Anny Kloc pt. „Transmisja transowarialna wybranych patogenów u kleszczy z gatunku *Ixodes ricinus* i *Dermacentor reticulatus*, żerujących na zwierzętach dzikich i domowych,” spełnia wszelkie wymagania stawiane pracom doktorskim, określone w art. 13 ust. 1 Ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach naukowych i tytule naukowym w zakresie sztuki (Załącznik do obwieszczenia Marszałka Sejmu RP z dnia 2 grudnia 2014 r. - Dz. U. poz. 1852). W związku z tym, stawiam pod adresem Rady Naukowej Instytutu Medycyny Wsi im. Witolda Chodźki w Lublinie wniosek o dopuszczenie Pani mgr inż. Anny Kloc do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Ponadto, ze względu na dużą wartość naukową recenzowanej rozprawy, wykrycie nowych dla nauki faktów, przy zastosowaniu zaawansowanych metod badawczych, **wnioskuję o przyjęcie tej rozprawy doktorskiej z wyróżnieniem.**

Uzasadnienie wniosku. Pani mgr inż. Anna Kloc podjęła w swojej rozprawie doktorskiej ambitny i nowatorski temat mający na celu zbadanie możliwości transowarialnego przenoszenia wybranych patogenów nie tylko przez kleszcze pospolite (*Ixodes ricinus*), ale także kleszcze łąkowe (*Dermacentor reticulatus*), co jest szczególnie cenne. Badanymi patogenami były krętki boreliozy z Lyme (*Borrelia burgdorferi* sensu lato), riketsje *Anaplasma phagocytophilum* i *Rickettsia* spp. oraz endosymbionty „*Francisella*-like endosymbionts” i *Spiroplasma* spp. Bardzo ważny i oryginalny jest zatem panel badanych patogenów. Cele szczegółowe obejmowały analizę procesu składania jaj przez napite samice kleszczy pospolitych i łąkowych oraz wylęgania larw w warunkach laboratoryjnych, ocenę roli transmisji transowarialnej w krążeniu w przyrodzie krętków *B. burgdorferi* s.l., riketsji *A. phagocytophilum* i *Rickettsia* spp. oraz utrzymywaniu wymienionych wcześniej endosymbiontów w populacjach obu gatunków kleszczy. Praca miała także na celu ocenę wpływu obecności tych endosymbiontów w jajach i larwach kleszczy na transowarialną transmisję *Rickettsia* spp. oraz ocenę ryzyka zachorowania na choroby odkleszczowe w wyniku inwazji larw zakażonych badanymi patogenami na drodze transmisji transowarialnej. Badania były zatem szeroko zakrojone, wszechstronne, wymagały opanowania szerokiego

zakresu metod badawczych. Cele były bardzo ambitne. W mojej opinii Doktorantka posługując się zaawansowanymi i różnorodnymi metodami badawczymi, uzyskała oryginalne wyniki, które wnikliwie zinterpretowała. Praca została zaplanowana w sposób bardzo staranny i logiczny, wykonana rzetelnie, na dużym materiale, przy zastosowaniu właściwej metodyki.

z Wyrazami Głębokiego Szacunku

KIEROWNIK
Zakładu Parazytologii
Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach
.....
prof. dr hab. n. biol. Krzysztof Solarz