



## KATEDRA I ZAKŁAD BIOLOGII I FARMAKOLOGII

### Zakład Biologii i Parazytologii

Wydział Nauk o Zdrowiu

Uniwersytet Medyczny w Lublinie

20-080 Lublin, ul. Radziwiłłowska 11

Tel./Fax. (81) 4486060

---

Lublin, 05.09.2022

### Recenzja

**rozprawy doktorskiej mgr Adama Kamila Trzeszczkowskiego pt. „Znaczenie kleszczy *Dermacentor reticulatus* i *Ixodes ricinus* w transmisji czynników chorobotwórczych na terenie Obszaru Chronionego Krajobrazu Doliny Bugu i Nurca“**

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska została wykonana w Klinice Chorób Zakaźnych i Neuroinfekcji Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku pod kierunkiem Prof. dr hab. n. med. Sławomira Pancewicza oraz Promotorki pomocniczej dr hab. n. med. Justyny Dunaj-Małyszko, znanych i cenionych specjalistów z zakresu chorób odkleszczowych. Podjęta przez Doktoranta tematyka jest istotna w kontekście obserwowanych aktualnie zmian w zasięgu występowania wielu gatunków kleszczy, niezwyklej plastyczności ekologicznej niektórych przedstawicieli rodzimej fauny Ixodidae, jak również w dobie zwiększonej zapadalności na choroby przenoszone przez kleszcze.

Oceniana dysertacja ma układ typowy dla rozpraw doktorskich. Zawarta jest na 151 stronach obejmujących spis treści, wstęp, cele pracy, metodykę badań, wyniki, dyskusję, wnioski. Opracowanie zamykają streszczenie w języku polskim i angielskim, wykaz cytowanego piśmiennictwa oraz spis rycin i spis tabel zawartych w pracy.

**Wstęp** napisany jest poprawnie z uwzględnieniem istotnych pozycji literaturowych z zakresu omawianej tematyki. Stanowi syntetyczną charakterystykę systematyki, morfologii i biologii *Dermacentor reticulatus* i *Ixodes ricinus* z uwzględnieniem ich roli jako wektorów i rezerwuarów patogenów. Rozdział **Cel pracy** zawiera jasno sformułowane cztery cele

rozprawy wynikające z treści przedstawionych we wstępie. Z kolei sekcja **Material i Metody** to szczegółowy opis stosowanych metod badawczych podzielonych na zadania terenowe i laboratoryjne. W zakres zadań terenowych wchodzi charakterystyka terenu badań, zbiory kleszczy z roślinności, pomiary mikroklimatyczne w siedliskach i analiza morfologiczna zebranych okazów. Zadania laboratoryjne uwzględniają izolację DNA z zebranych kleszczy, detekcję DNA wybranych patogenów odkleszczowych w uzyskanych izolatach oraz sekwencjonowanie uzyskanych amplikonów. W dalszej części rozprawy Doktorant opisał otrzymane **Wyniki** w sposób poprawny i czytelny, grupując je w podrozdziałach korespondujących z zaproponowaną uprzednio metodyką. Zebrane dane Autor przedstawił w sposób przejrzysty na 48 rycinach i w 44 tabelach ilustrujących m.in. harmonogram zbiorów, liczebność zbiorów obu badanych gatunków kleszczy ogółem i w każdym roku badań (z uwzględnieniem stadiów rozwojowych oraz występowania obu gatunków stawonogów w obrębie poszczególnych transektów). Ogółem Doktorant przeprowadził 108 godzinnych zbiorów kleszczy w okresie trzech lat, w trakcie których odłowił 811 okazów tych roztoczy. Na uwagę zasługuje fakt, że niewielki odsetek kleszczy zebranych z roślinności stanowiły nimfy *D. reticulatus*, co jest obserwacją rzadko spotykaną.

Ponieważ zbiory kleszczy w każdym roku rozpoczynały się w innym miesiącu (28.05.2016; 31.03.2017; 12.04.2018) dlatego też w przypadku tabel 13 i 20 należałoby doprecyzować, że dane dotyczące liczebności kleszczy w marcu i listopadzie dotyczyły tylko jednego roku, dane dotyczące kwietnia 2 lat, zaś dla pozostałych miesięcy to suma zbiorów kleszczy z trzech lat, co znacząco wpływa na odbiór przedstawionych danych. Z powyższych względów dane zestawione na rycinie 38 powinny być przesunięte względem siebie, aby łatwiej było porównać aktywność sezonową badanych kleszczy w tym samym okresie, w poszczególnych latach badań. Wskazane byłoby także jednoczesne zakończenie monitoringu aktywności kleszczyw każdym roku badań, w celu dokładnego scharakteryzowania jesiennego szczytu aktywności kleszczy, co jest szczególnie istotne w przypadku *D. reticulatus*.

Doprecyzowując kwestie metodyki proszę Doktoranta o wyjaśnienie czy godzinne zbiory opisane w tabelach 15-17 oraz 22-24 obejmowały odławianie kleszczy na wszystkich transektach przez jedną osobę czy realizowany schemat odłowu był inny?

Bardzo cennych wyników dostarczyły przeprowadzone przez Doktoranta analizy molekularne dotyczące jakościowej i ilościowej charakterystyki wybranych patogenów u *D. reticulatus* i *I. ricinus* na obszarze badań. Obecność materiału genetycznego patogenów odkleszczowych stwierdzono u 24,91% wszystkich badanych kleszczy (202/811), z czego 49,01% stanowiły *D. reticulatus* (99/202), zaś 50,99% *I. ricinus* (103/202). W poszczególnych latach badań obecność patogenów tj. *Borrelia burgdorferi* s.l., *Anaplasma phagocytophilum* i *Babesia* spp. stwierdzono u 21,62%, 20,52% oraz 30,84% kleszczy zebranych z roślinności (odpowiednio w 2016, 2017 i 2018). W kolejnych latach badań zmieniały się także proporcje w liczbie zakażonych kleszczy pomiędzy badanymi gatunkami, w 2016 roku wśród zakażonych kleszczy 70,83% stanowiły *I. ricinus*, w 2017 r. kleszcze pospolite stanowiły 63,64% zarażonych kleszczy zaś w 2017 r. już tylko 34,34%. W przypadku *D. reticulatus* wartości te stanowiły odpowiednio 29,17%, 36,36%, 65,66%.

Na Obszarze Chronionego Krajobrazu Doliny Bugu i Nurca patogenami najczęściej wykrywanymi u kleszczy były krętki *B. burgdorferi*, które wyizolowano z 14,92% wszystkich badanych kleszczy (121/811), przy czym stwierdzano je istotnie częściej u *I. ricinus* (33,68%), niż u *D. reticulatus* (4,75%). Wyniki sekwencjonowania potwierdziły występowanie u kleszczy 12 genogatunków krętków *Borrelia* przy czym najliczniej wykrywanymi genogatunkami były *B. afzelii* (56,49%), *B. garinii* (15,28%), *B. burgdorferi* s.s. *Borrelia afzelii* była najczęściej stwierdzanym genogatunkiem zarówno w przypadku *I. ricinus* (17,54%), jak i *D. reticulatus* (4,56%). Podkreślić należy odnotowanie przez Doktoranta obecności *B. spielmani* u samic *I. ricinus* na obszarze badań.

Materiał genetyczny pierwotniaków z rodzaju *Babesia* wyizolowano z 7,64% badanych kleszczy, jednakże istotnie częściej dotyczyło to *D. reticulatus* (11,22%) niż *I. ricinus* (1,05%). Badania prowadzone w kierunku identyfikacji genogatunków *Babesia* spp. wykazały występowanie trzech wariantów tj. *B. canis* (84,93%), *B. venatorum* (8,22%) i *B. microti* (4,11%), przy czym *Babesia canis* była najczęściej wykrywanym genogatunkiem u *D. reticulatus* (11,03%) i jedynym stwierdzonym u *I. ricinus* (1,4%).

Najrzadziej wykrywanym u kleszczy patogenem była *Anaplasma phagocytophilum*, której występowanie odnotowano u 0,99% badanych kleszczy, przy czym patogen ten izolowano zarówno z osobników *D. reticulatus* jak i z *I. ricinus* (odpowiednio 1,14% oraz 0,7%).

Jednoczesne wielogatunkowe zakażenia kleszczy patogenami odnotowano u 1,7% badanych kleszczy. Wśród koinfekcji dominowały gatunki z rodzaju *Borrelia* i *Babesia* (1,11% badanych kleszczy; 1,52% *D. reticulatus* i 0,35% *I. ricinus*).

Biorąc pod uwagę stadia rozwojowe kleszczy u których najczęściej wykrywano obecność mikroorganizmów chorobotwórczych były to samice i samce (dla *D. reticulatus* odpowiednio 11,41% i 7,41%, zaś w przypadku *I. ricinus* odpowiednio 19,3% i 14,74%).

Zwieńczeniem pracy jest rozdział **Dyskusja**, w którym Autor omawia najistotniejsze wyniki w kontekście bogatego piśmiennictwa z zakresu poruszanej problematyki. Uzyskane dane przedstawia na tle badań z różnych rejonów Polski i świata, szukając możliwych przyczyn ich rozbieżności. W swojej analizie mgr Adam Trzeszczkowski stara się znaleźć logiczne i poparte wiedzą naukową wytłumaczenie dla obserwacji rzadkich i nietypowych. W tej części pracy szczególnie uwidacznia się wnikliwość i talent pedagogiczny Doktoranta, jak również bardzo dobra znajomość omawianych zagadnień.

Rozdział **Wnioski** jest syntetycznym przedstawieniem najważniejszych osiągnięć wynikających z pracy zawartych w ośmiu dobrze uzasadnionych wnioskach.

**Streszczenie** zarówno w języku polskim jak i angielskim zostało opracowane poprawnie i wyczerpująco. **Spis literatury** obejmuje 205 pozycji w tym szereg publikacji anglojęzycznych pochodzących z renomowanych czasopism. Zacytowane piśmiennictwo uwzględnia najważniejsze publikacje dotyczące przedmiotu rozprawy.

Z obowiązku recenzentki wypada mi zwrócić uwagę na pewne drobne nieścisłości, na które natknęłam się w trakcie analizy rozprawy. W przypadku słowa „roztocz”, liczba mnoga to „roztocze”, nie zaś „roztocza” (str. 5). Transmisja wertykalna patogenów zachodząca w populacji kleszczy oprócz przekazu transtadialnego i transowarialnego obejmuje także przekaz transspermalny (str. 22). Termin infestacja dotyczy zarażenia ektopasożytami i nie powinien być stosowany w odniesieniu do prewalencji patogenów u kleszczy (str. 94). W przypadku rycin 23 i 24 brak opisu transektu E (obszar na granicy nasłonecznionej łąki i lasu) w opisie ww. Z kolei na rycinach 42-44 brak informacji jakie stadia rozwojowe przypisane są do kategorii 1-3.

Wymienione przeze mnie uwagi nie wpływają na merytoryczną wartość pracy, którą oceniam bardzo wysoko.

W mojej ocenie na podkreślenie zasługują następujące aspekty rozprawy:

- wybór do badań zróżnicowanych pod względem ekologicznym siedlisk,
- przeprowadzenie kompleksowej analizy habitatów kleszczy, uwzględniających potencjalny wpływ czynników biotycznych i abiotycznych na występowanie i aktywność tych stawonogów,
- wykonanie badań molekularnych, których wyniki dostarczają cennych z epidemiologicznego i medycznego punktu widzenia danych na temat patogenów występujących u *D. reticulatus* i *I. ricinus* na obszarze badań.

Doktorant rzetelnie wykonał bardzo pracochłonne badania, ich wyniki przeanalizował dogłębnie, a także wyciągnął prawidłowe wnioski, co zaowocowało wysoką jakością Jego dokonań.

### **Wniosek końcowy**

Przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska mgr Adama Trzszczkowskiego spełnia wszelkie wymagania stawiane rozprawom doktorskim, określone w art. 13 ustęp 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65 poz. 595, z późn. zm.).

W związku z powyższym wnoszę do Senatu Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku o dopuszczenie Pana mgr Adama Kamila Trzszczkowskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

**KIEROWNIK ZAKŁADU  
BIOLOGII I PARAZYTOLOGII,  
Katedry Farmakologii i Biologii  
Wydziału Nauk o Zdrowiu  
Uniwersytetu Medycznego w Lublinie**  
*Katarzyna Bartosik*  
**dr hab. n. med. Katarzyna Bartosik**