

AUTOREFERAT

dr Dorota Kiewra

Zakład Ekologii Drobnoustrojów i Ochrony Środowiska

Instytut Genetyki i Mikrobiologii

Wydział Nauk Biologicznych

Uniwersytet Wrocławski

Wrocław 2015

1. Imię i nazwisko

Dorota Kiewra

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe - z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytuł rozprawy doktorskiej

- Stopień doktora nauk biologicznych - Uniwersytet Wrocławski, Wydział Nauk Przyrodniczych, 18 listopada 2004.

Tytuł rozprawy doktorskiej: „Dynamika populacji kleszczy pospolitych (*Ixodes ricinus* L.) w Masywie Ślęży i ich wektorowa rola w boreliozie z Lyme”.

Promotor: prof. dr hab. Elżbieta Lonc, Recenzenci: prof. dr hab. Alicja Buczek, prof. dr hab. Anna Okulewicz.

- Stopień magistra biologii - Uniwersytet Wrocławski, Wydział Nauk Przyrodniczych, kierunek biologia, specjalizacja: mikrobiologia, 1990.

Tytuł pracy magisterskiej: „Wstępna ocena przydatności taksonomicznej glikolipidów promieniowców termofilnych”, wykonana pod kierunkiem doc. dr hab. Haliny Mordarskiej (Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN we Wrocławiu).

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

Od lutego 2007 do chwili obecnej: adiunkt w Zakładzie Ekologii Drobnoustrojów i Ochrony Środowiska, Instytut Genetyki i Mikrobiologii, Uniwersytet Wrocławski;

2005-2007 adiunkt w Zakładzie Parazytologii, Instytut Genetyki i Mikrobiologii, Uniwersytet Wrocławski;

1991-2005 asystent w Zakładzie Parazytologii, Instytut Genetyki i Mikrobiologii, Uniwersytet Wrocławski (w latach 1993-1999 urlop macierzyński i wychowawczy w związku z urodzeniem syna Michała [1993] i Tomasza [1996]).

4. Wskazane osiągnięcia * wynikające z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 ze zm.)

a) (autor/autorzy, tytuł/tytuły publikacji, rok wydania, nazwa wydawnictwa)

Kiewra D. 2014. Ocena wektorowej roli kleszczy *Ixodes ricinus* L. 1758 (Acari, Ixodidae) w transmisji krętków *Borrelia burgdorferi* s.l. na terenie Polski, ze szczególnym uwzględnieniem Dolnego Śląska. Wydawnictwo I-Bis. Wrocław. pp. 1 - 180.

Recenzenci: prof. dr hab. Anna Okulewicz i prof. em. dr hab. Krzysztof Siuda

* w przypadku, gdy osiągnięciem tym jest praca/ prace wspólne, należy przedstawić oświadczenia wszystkich jej współautorów, określające indywidualny wkład każdego z nich w jej powstanie

b) omówienie celu naukowego ww. pracy i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania

Cel naukowy podjętych przeze mnie badań jest uzasadniony epidemiologiczno-epizootologiczną rolą kleszczy (Ixodida), które są zaliczane do stawonogów o największym znaczeniu medyczno-weterynaryjnym na świecie. Szkodliwe działanie tych hematofagicznych roztoczy wynika z bezpośrednich skutków ich pasożytowania i z ich biologicznej zdolności transmisji chorobotwórczych drobnoustrojów. W Polsce najważniejszym gatunkiem wektorowym jest kleszcz pospolity, *Ixodes ricinus* L., który przenosi szereg patogenów, głównie bakterie *Borrelia burgdorferi* s.l., *Anaplasma phagocytophilum*, *Rickettsia* spp., jak również pierwotniaki (*Babesia* spp.) oraz wirusy (flawiwirus kleszczowego zapalenia mózgu). Duża rola epidemiologiczna kleszczy jest uwarunkowana biologicznymi i ekologicznymi cechami tych stawonogów. Notowany systematycznie od końca XX. wieku wzrost zachorowalności na choroby przenoszone przez kleszcze, w tym na boreliozę z Lyme (LB), uznaną w Polsce od ponad dziesięciu lat za chorobę zawodową, w pełni uzasadnia podjęcie pogłębionych badań nad biologią i ekologią tych groźnych dla zdrowia publicznego roztoczy.

Celem prowadzonych przeze mnie w latach 2005-2014 badań było:

- wyjaśnienie uwarunkowań środowiskowych rozprzestrzenienia kleszczy pospolitych, *Ixodes ricinus*, z zastosowaniem nowych, telemetrycznych technik monitorowania;
- oszacowanie roli *I. ricinus* w transmisji krętków *Borrelia* spp. z uwzględnieniem zarówno poziomu infekcji kleszczy jak i regionalnego (na Dolnym Śląsku) zróżnicowania gatunków w obrębie kompleksu *Borrelia burgdorferi* sensu lato;
- określenie związku występowania kleszczy i poziomu ich zakażenia z aktualnymi danymi epidemiologicznymi dotyczącymi zachorowalności na boreliozę z Lyme;
- ocena wyników dolnośląskich badań kleszczy, jako wektorów krętków na tle kompleksowo interpretowanych danych literaturowych zarówno krajowych jak i ogólnościowych;
- zastosowanie, po raz pierwszy w Polsce w badaniach ekologii kleszczy i ich epidemiologicznej roli, nowoczesnych narzędzi Geograficznych Systemów Informacyjnych (GIS), użytecznych przy tworzeniu, zarówno w skali regionalnej jak i ogólnokrajowej, map zróżnicowanego ryzyka zapadalności na boreliozę z Lyme.

Prezentowane, w monograficznym opracowaniu, ekologiczno-epidemiologiczne badania *I. ricinus* na Dolnym Śląsku, będące konsekwencją prowadzonych od 10 lat badań własnych, pozwoliły na potwierdzenie powszechnej obecności *I. ricinus*. Obecność tego gatunku kleszcza stwierdzono we wszystkich 15 badanych (z 26) dolnośląskich powiatach, zarówno na terenach leśnych, w tym objętych ochroną prawną (m.in. w Karkonoskim Parku Narodowym, Ślęzańskim Parku Krajobrazowym, Książańskim PK), jak i na terenach poddanych antropopresji (m.in. parki i ogrody działkowe we Wrocławiu). Podstawą obecnych, szczegółowych analiz fenologii *I. ricinus* były wcześniejsze, kilkuletnie (2001-2003), kompleksowe badania systematycznie prowadzone w Masywie Ślęży położonym ok. 35 km na południowy zachód od Wrocławia, będącym miejscem rekreacyjno-turystycznym na Dolnym Śląsku. Umożliwiły one m.in. dokonanie biometrycznej analizy wpływu sezonu na liczebność kleszczy, opublikowanej w roku 2006. W badaniach tych wykazano przy użyciu metody dekompozycji szeregu czasowego oraz po określeniu trendu i wahań sezonowych, wpływ losowych czynników na aktywność tych roztoczy. Okazało się, że aktywność kleszczy w bardzo dużym stopniu (w badaniach własnych aż w 50%) jest niezależna od wahań sezonowych i trendu wynikającego z długookresowej tendencji zmian w szeregu czasowym, oraz że czynnikiem determinującym w istotnym stopniu aktywność kleszczy mogą być warunki klimatyczne, w tym wilgotność powietrza. Wpływ czynników klimatycznych był przedmiotem moich badań opublikowanych w 2014 r., w których do określania szeregu zmiennych meteorologicznych (oszacowanych dla dnia zbioru kleszczy i dni poprzedzających zbiór) wykorzystałam klimatyczny model WRF (ang. *Weather Research and Forecasting*), wskazując równocześnie na jego przydatność w badaniach aktywności kleszczy. Zastosowany model umożliwił mi określenie szerokiego spektrum parametrów meteorologicznych (w tym m.in. średniej dobowej temperatury powietrza i gleby, wilgotności powietrza, promieniowania słonecznego, deficytu saturacji, prędkości wiatru) dla określonej lokalizacji, niezależnej od położenia stacji meteorologicznych.

Terenowe badania obejmujące różnorodne siedliska występowania, strukturę populacji oraz aktywność sezonową dolnośląskich populacji kleszcza pospolitego, były podstawą do określenia okresu odłowu kleszczy oraz wytypowania i terenowej weryfikacji położenia 12 stanowisk, zlokalizowanych w 4 dolnośląskich powiatach. Objęto je systematycznym, dwuletnim monitoringiem (2011-2012). W wyborze terenów odłowu kleszczy wykorzystano mapy typów siedliskowych lasów dostępne w poszczególnych nadleśnictwach. Kleszcze, łącznie 3908 okazów, w tym 230 larw (5,9%), 1738 nimf (44,5%), 927 samic (23,7%) i 1013

samców (25,9%), zebrano z roślinności stosując standardową metodę flagowania. Precyzyjna lokalizacja siedlisk odłowu, z użyciem odbiornika globalnego systemu określania pozycji GPS (ang. *Global Positioning System*), pozwoliła na utworzenie komputerowej bazy danych, będącej zbiorem danych przestrzennych zapisanych w postaci cyfrowej. Tym samym stworzono możliwość ich komputerowego przetwarzania, analizy i wizualizacji z zastosowaniem narzędzi GIS-u w trakcie dalszych badań.

Przeanalizowano liczbę odławianych kleszczy *I. ricinus* pod kątem sezonowości występowania oraz zagęszczenia i struktury populacji. Jak wykazały badania liczba nimf i postaci dorosłych zbieranych w ciągu 30 min nie przekraczała 50 okazów. Liczba larw była bardziej zróżnicowana i wahała się od zera do nawet kilkuset okazów. Jest to potwierdzeniem gniazdowego występowania tych form rozwojowych. Na terenach leśnych (w latach 2011-2012, w okresie od kwietnia do czerwca) w badaniach prowadzonych na obszarze czterech dolnośląskich powiatów o zróżnicowanej zapadalności na boreliozę (legnickim, lubańskim, milickim, oławskim), w czasie wiosennej aktywności liczebność odłowionych kleszczy była zmienna. Wahała się od 11,7 (zebranych w ciągu 30 min nimf i okazów dorosłych *I. ricinus*) w powiecie oławskim w 2012 r. do 35,7 w powiecie lubańskim w 2011 r. W większości stanowisk, w obu wyżej wymienionych sezonach badawczych, szczyt aktywności przypadał w maju. Jedynie w nielicznych przypadkach odnotowano miesięczne przesunięcia okresów najwyższej aktywności tego gatunku kleszcza. Uzyskane wyniki pozwoliły na oszacowanie ryzyka zagrożenia kleszczami i stanowiły podstawę do dalszej analizy, w tym korelacji z danymi epidemiologicznymi.

Prowadzone na Dolnym Śląsku badania własne dotyczące kleszczy, jako wektorów krętków *Borrelia*, są pionierskie na tym terenie. Pierwsze przesiewowe, prowadzone ponad dziesięć lat temu, oparłam na detekcji krętków obserwowanych w przyżyciowych preparatach kleszczy w ciemnym polu widzenia (DFM). Z uwagi na niespecyficzność tej metody potwierdzono wówczas tylko obecność krętków, nie określając przynależności gatunkowej obserwowanych bakterii. Dopiero kolejne, rozszerzone badania, prowadzone od 2005 r. metodą immunofluorescencji pośredniej (IFA), umożliwiły detekcję krętków *Borrelia* na terenach leśnych, w tym na obszarach parków krajobrazowych (Ślązańskiego i Książańskiego) oraz na terenie Wrocławia. W latach 2011–2012 ocenę zagrożenia boreliozą na podstawie zagęszczenia *I. ricinus* i stopnia zakażenia kleszczy krętkami *B. burgdorferi* s.l. przeprowadzono na 12 stanowiskach, zlokalizowanych w czterech dolnośląskich powiatach: legnickim, lubańskim, milickim i oławskim. W każdym powiecie badania prowadzono w 3

stanowiskach. Wyboru powiatów, o zróżnicowanej zapadalności na boreliozę, dokonano na podstawie analizy danych epidemiologicznych (z lat 2007–2010) otrzymanych z Wojewódzkiej Stacji Sanitarno-Epidemiologicznej we Wrocławiu. W ocenie poziomu zakażenia krętkami z rodzaju *Borrelia* i udziału poszczególnych gatunków z kompleksu *B. burgdorferi* s.l., przetestowano za pomocą czulej metody nested PCR, opartej na amplifikacji genu *fla*, łącznie w kierunku obecności krętków 850 nimf (540 w 2011 r. i 310 w 2012 r.) oraz 550 okazów dorosłych (252 w 2011 r. i 298 w 2012 r.), w tym 305 samic i 245 samców. W 2011 r. średni minimalny poziom infekcji nimf wynosił 11,5% oraz 37,7% dorosłych (39,1% samic i 35,6% samców), natomiast w 2012 r. odpowiednio 15,8% i 35,6% (34,4% samic i 36,8% samców). Łącznie w okresie od 2011 do 2012 roku średni poziom infekcji nimf wynosił 13,1%, samic 36,7%, a samców 36,3%, co wskazuje, iż poziom zakażenia kleszczy *I. ricinus* na Dolnym Śląsku należy do jednego z najwyższych w kraju. Brak istotnych statystycznie różnic w poziomie zakażenia kleszczy między poszczególnymi powiatami i latami badań wskazuje, że (przy porównywalnym odsetku infekcji), głównym czynnikiem wpływającym na zapadalność na boreliozę w skali powiatu jest zagęszczenie kleszczy.

Molekularne badania (PCR-RFLP) wskazały na występowanie na Dolnym Śląsku pięciu gatunków z kompleksu *B. burgdorferi* s.l. (*B. garinii*, *B. afzelii*, *B. burgdorferi* s.s., *B. valaisiana*, *B. lusitaniae*), a także *B. miyamotoi*. Sekwencjonowanie prób DNA *B. garinii*-dodatnich wykazało ich genetyczne zróżnicowanie. Zróżnicowany udział poszczególnych gatunków *B. burgdorferi* s.l., w zależności od stanowiska i roku, świadczyć może o zróżnicowanym składzie i liczebności żywicieli kleszczy, w tym najważniejszych zwierząt rezerwuarowych. Poza kompleksem gatunków należących do *B. burgdorferi* s.l. w badaniach własnych wykryto krętka *B. miyamotoi*. Stwierdzony poziom infekcji kleszczy *B. miyamotoi* na Dolnym Śląsku, wahający się od 4% (w 2011 r.) do 9,6% (łącznie z koinfekcjami) w 2012 r., jest porównywalny z wynikami innych europejskich badań prowadzonych m.in. w Niemczech, Francji i Szwajcarii.

Otrzymane wyniki wskazują, że na terenie Dolnego Śląska głównym czynnikiem, który należy brać pod uwagę przy szacowaniu ryzyka boreliozy z Lyme (LB), jest zagęszczenie kleszczy. Częstsze występowanie w populacjach kleszczy na Dolnym Śląsku krętków *B. afzelii* i *B. garinii*, w porównaniu z *B. burgdorferi* s.s. sugeruje, że przy diagnostyce przypadków LB należy zwrócić szczególną uwagę na objawy skórne i neurologiczne. Wykrycie, w obecnych badaniach, gatunku *B. miyamotoi*, wskazuje z kolei na rozprzestrzenienie na Dolnym Śląsku czynnika zaliczanego do grupy "relapsing fever" tzn.

gorączek powrotnych. Co więcej, gatunek ten nie tylko występował w pojedynczych infekcjach kleszczy, ale też w koinfekcjach (*B. afzelii*/*B. miyamotoi*, *B. lusitaniae*/*B. miyamotoi*, *B. garinii*/*B. miyamotoi*), co może wskazywać na możliwość jednoczesnej transmisji obu patogenów do żywiciela w czasie pobierania jego krwi przez kleszcza.

Geograficzne systemy informacyjne umożliwiły integrację własnych danych badań środowiskowych i laboratoryjnych z danymi pochodzącymi z innych źródeł, w tym dotyczących pokrycia terenu i epidemiologii. Zastosowane w badaniach narzędzia GIS (w tym dostępny w Zakładzie Ekologii Drobnoustrojów i Ochrony Środowiska program komputerowy ArcView) pozwoliły, przede wszystkim, na utworzenie własnej, komputerowej bazy danych. Obejmuje ona stanowiska odłowu kleszczy w 15 powiatach. W dalszej kolejności możliwe było sukcesywne uzupełnianie danych atrybutowych, ich aktualizacja oraz łączenie z istniejącymi bazami danych. Szeroki wachlarz możliwości oferowany przez wymienione oprogramowanie umożliwił mi okresową wizualizację różnorodnych wyników badań, w tym terenowych, laboratoryjnych i epidemiologicznych w postaci map dostosowanych do konkretnych zagadnień. Zróżnicowanie form prezentacji danych ułatwiło mi w aspekcie przestrzennym i czasowym śledzenie zmian i ich interpretację. Opracowane mapy ryzyka przedstawiają krajowe dane uzyskane w oparciu o publikacje pracowników różnych ośrodków akademickich. Obrazują one poziom zakażenia kleszczy krętkami *Borrelia* w poszczególnych województwach oraz spektrum gatunków kompleksu *B. burgdorferi* s.l. na różnych obszarach. Zastosowanie różnych metod kartograficznych, w tym diagramów, kartodiagramów i kartogramów oraz operowanie wyświetlanymi warstwami mapy pozwoliło na czytelną prezentację w/w wyników.

Narzędzia GIS, nie często stosowane w eko-epidemiologicznych badaniach, oferujące szerokie możliwości analiz elementów pokrycia terenu, umożliwiają pełniejszą charakterystykę obszarów występowania kleszczy. Za ich pomocą prześledzono wpływ nie tylko obecności i rodzaju lasów, użytków zielonych, gruntów ornych itp. na zagęszczenie kleszczy, ale również wpływ wielkości powierzchni poszczególnych elementów, długości ich granic, kształtu itp. Okazało się, że szczegółowe określenie wpływu tak szerokiego wachlarza parametrów, zależnych od pokrycia terenu, które mogą potencjalnie wpływać na zagęszczenie kleszczy, wymaga dalszych kompleksowych, szeroko zakrojonych badań, przy współdziale geografów i klimatologów. Badania własne dotyczące wpływu pokrycia terenu na liczebność kleszczy ukazują potencjalne możliwości analiz, ale można je traktować jedynie jako badania wstępne, wymagające kontynuacji. Określenie zależności między zagęszczeniem kleszczy a

charakterem pokrycia terenu jest pierwszym krokiem do opracowania modelu (map ryzyka) zagrożenia zdrowia człowieka odkleszczowymi patogenami w regionalnej i ogólnokrajowej skali.

Monografia, wskazana jako osiągnięcie naukowe, stanowi kompendium nt. biologii i wektorowej roli kleszcza pospolitego *I. ricinus* na Dolnym Śląsku. Zebrane dane literaturowe (w tym ponad 500 źródeł cytowanych w monografii), porównane z własnymi badaniami pozwoliły na zobrazowanie aktualnego stanu badań nad kleszczami pospolitymi *I. ricinus* - głównymi wektorami *B. burgdorferi* s.l. w Polsce.

Zamieszczone w monografii wyniki badań uzupełniają badania ogólnopolskie prowadzone przez inne ośrodki naukowe, wypełniając tym samym tzw. „białą plamę” na mapie Polski. Określenie związku występowania kleszczy i poziomu ich zakażenia krętkami *Borrelia* z ogólnodostępnymi danymi epidemiologicznymi (Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego i różnego szczebla Stacje Sanitarно-Epidemiologiczne) dotyczącymi boreliozy z Lyme, wykazało ogromne znaczenie monitorowania rozprzestrzenienia kleszczy w ocenie ryzyka zachorowań na tę zoonozę, a także innych chorób odkleszczowych. Zastosowanie geograficznych systemów informacyjnych umożliwiło mi przeprowadzenie analiz rozprzestrzenienia kleszczy w środowisku w oparciu o ujednolicone i systematycznie aktualizowane cyfrowe bazy danych, ukazując równocześnie możliwość wykorzystania nowych narzędzi w badaniach eko-epidemiologicznych chorób odkleszczowych.

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych

Pierwsze wyniki moich badań naukowych zawarte są w pracy magisterskiej pt. „Wstępna ocena przydatności taksonomicznej glikolipidów promieniowców termofilnych”, wykonanej pod kierunkiem doc. dr hab. Haliny Mordarskiej (w latach 1989-1990), w Laboratorium Aktywności Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN we Wrocławiu. Wykazałam, w oparciu o metodę chromatografii cienkowarstwowej, że glikolipidy promieniowców *Actinobacteria* mogą służyć jako markery taksonomiczne i diagnostyczne alergicznego zapalenia pęcherzyków płucnych.

W tematyce „kleszczowych” badań, które kontynuuję nieprzerwanie od końca lat 90. XX wieku, znaczącym osiągnięciem naukowym jest wykazanie poszerzenia zasięgu występowania kleszcza łąkowego, *Dermacentor reticulatus* (Karbowski i Kiewra 2010, Kiewra i Czułowska 2013, Lenc i wsp. 2013). *D. reticulatus* jest drugim (po *I. ricinus*) pod względem znaczenia i liczebności gatunkiem kleszcza w Europie. Zamieszkuje głównie

umiarkowanie wilgotne tereny otwarte, albo co najwyżej słabo porośnięte drzewami i krzewami. Występuje w strefie klimatu umiarkowanego w Eurazji, głównie na dwóch obszarach, tj. obszarze zachodnio- i wschodnioeuropejskim. Za zachodnią część zasięgu uznawano występowanie populacji od Francji do wschodnich Niemiec, zaś za obszar wschodniego zasięgu, tereny położone na wschód od linii Wisły. Badania własne wykazały po raz pierwszy w 2009 r., że gatunek ten obecnie może być uznany za stały element dolnośląskiej fauny. Jego powszechną obecność, potwierdzoną głównie metodą flagowania, wykazano na 10 nowych stanowiskach w pięciu dolnośląskich powiatach: legnickim, bolesławieckim, średzkim, lubińskim i wrocławskim oraz w obrębie aglomeracji miejskiej Wrocławia. Na terenie Wrocławia jego występowanie jest notowane głównie w zachodniej części miasta, na co wskazują zarówno badania zbioru okazów z roślinności (prowadzone metodą flagowania), jak i zbiór z żywicieli (psów). Udział tego gatunku w transmisji patogenów na Dolnym Śląsku jest przedmiotem aktualnie prowadzonych badań.

Badania wektorowej roli *I. ricinus* na Dolnym Śląsku przedstawione w punkcie 4. autoreferatu, obejmowały również wykrywanie patogenów innych niż krętki *Borrelia burgdorferi* s.l. Istotne było stwierdzenie obecności zakażonych kleszczy bakteriami *Borrelia myiamotoi* (Kiewra i wsp. 2014a) i *Anaplasma phagocytophilum* oraz pierwotniakami *Babesia microti* (Kiewra i wsp. 2014b, c, Kiewra i Zaleśny 2013). Obecność DNA *B. myiamotoi* wykryto zarówno w badaniach prowadzonych na terenie powiatu lubańskiego, legnickiego i milickiego (o czym wspomniano w 4. punkcie autoreferatu), jak i w kleszczach pospolitych odłowionych w Masywie Ślęży oraz na terenach miejskich Wrocławia. Występowanie kleszczy *I. ricinus* zainfekowanych *Anaplasma phagocytophilum* i *Babesia microti* wykazano metodami molekularnymi na obszarach leśnych powiatu lubańskiego, legnickiego, oławskiego i milickiego. Nie potwierdzono natomiast zakażenia wirusami kleszczowego zapalenia mózgu kleszczy *I. ricinus* odłowionych na terenach leśnych powiatu bolesławieckiego i kłodzkiego, mimo sporadycznie notowanych zachorowań ludzi na KZM na tym terenie (Stefanoff i wsp. 2013). Badaniami mikroflory jelitowej z zastosowaniem podłoża mikrobiologicznych oraz testów biochemicznych objęto również kleszcze odłowione z terenów rekreacyjnych (Kiewra i wsp. 2003). Wśród drobnoustrojów izolowanych z nimf *I. ricinus* zidentyfikowano bakterie gram-dodatnie (*Microccus*, *Bacillus*) oraz gram-ujemne (*Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Acinetobacter* oraz *Citrobacter*).

W ramach badań naukowych prowadzonych w Zakładzie Parazytologii, a następnie Zakładzie Ekologii Drobnoustrojów i Ochrony Środowiska, dotyczących ekologii i kontroli

liczebności populacji komarów, uczestniczyłam w latach 2007-2009 w trzech projektach badawczo-wdrożeniowych, realizowanych we współpracy z Wydziałem Środowiska i Rolnictwa Urzędu Miasta Wrocławia. Udział w badaniach zaowocował opracowaniem nowatorskich projektów zwalczania komarów z wykorzystaniem różnorodnych form preparatów mikrobiologicznych zawierających białka Cry laseczek *Bacillus*. Prowadzone badania pozwoliły na oszacowanie aktywności owadobójczej biopreparatów w zróżnicowanych, naturalnych warunkach dolnośląskich. Badania przeprowadzono na terenach irygowanych ściekami położonych w północnej części Wrocławia i stanowiących dogodne miejsce rozwojowe m.in. dla komarów *Culex p. pipiens*, *Ochlerotatus caspius* i *Aedes vexans*. Wyznaczono optymalne dawki aplikacji zróżnicowanych pod względem formy oraz typu i zawartości substancji aktywnej biopreparatów opartych na bazie gram-dodatnich, kryształotwórczych laseczek *Bacillus thuringiensis israelensis* (*Bti*) (VectoBac) oraz *B. sphaericus* (*Bs*) (VectoLex) wobec larw komarów. Przy zachowaniu wysokiej, bo ponad 90% skuteczności, dawkami optymalnymi okazały się dawki minimalne. Potwierdzono przy tym opóźnione działanie produktów opartych na *Bs* w porównaniu do produktów *Bti* (Rydzanicz i wsp. 2008, 2009a, 2009b). W ocenie skuteczności wybranych technik ręcznej aplikacji biopreparatów wykorzystano metodę tzw. „dużej kropli” z zastosowaniem opryskiwacza ciśnieniowego i „drobnej kropli” z użyciem opryskiwacza spalinowego, wykazując użyteczność obu metod w przypadku doprowadzających rowów ściekowych i tymczasowych zbiorników łąkowych. W przypadku stałych, niedostępnych rozlewisk wykazano natomiast użyteczność metody agrolotniczej z użyciem helikoptera (Rydzanicz i wsp. 2009c). W badaniach potwierdzono specyficzność testowanych preparatów w zwalczaniu populacji określonych gatunków owadów. W prowadzonych badaniach wskazano również na przydatność narzędzi GIS/GPS w klasyfikacji, mapowaniu oraz wizualizacji rozmieszczenia lokalnych populacji komarów (Rydzanicz i wsp. 2011). Określenie miejsc rozwoju komarów, w odniesieniu do typów zbiorników wodnych (pośniegowych, stałych lub tymczasowych), oraz analiza składu gatunkowego komarów z uwzględnieniem gatunków migracyjnych, były podstawą do ustalenia optymalnych dawek preparatu i oceny skuteczności ich stosowania (Rydzanicz i wsp. 2008).

Badania mikrobiologiczne mikroflory jelitowej wybranych larw i osobników dorosłych z rodzajów *Aedes*, *Culex* i *Anopheles* oraz potencjalnego udziału komarów (*Aedes*, *Culex*, *Anopheles*, *Culiseta*) w krążeniu krętków *Borrelia burgdorferi* s.l. stanowiły uzupełnienie badań ekologii i biologicznej kontroli komarów (Kiewra i wsp. 2003, Rydzanicz

i wsp. 2006). Z mikroflory jelitowej komarów wyizolowano bakterie gram-dodatnie (laseczki i ziarniaki) i gram-ujemne (pałeczki) oraz grzyby drożdżopodobne. Badania parazytologiczne wykazały obecność pierwotniaków należących do trzech typów: Ciliophora, Microspora i Apicomplexa. Ponadto u imagines rodzajów *Aedes* i *Culex* oraz larw *Culex pipiens* wykryto metodą immunofluorescencji pośredniej obecność *B. burgdorferi* s.l.

Równolegle do prowadzonych badań terenowych i laboratoryjnych, dotyczących biologii i ekologii wektorów (komarów i kleszczy), znaczącą uwagę poświęciłam działaniom profilaktycznym. Opracowane wyniki badań własnych oraz dane literaturowe prezentowałam w sposób czytelny dla szerokiego kręgu odbiorców (Lonc i Kiewra 2001, Lonc i wsp. 2007, 2010). O konieczności popularyzacji problematyki kleszczowej świadczą przeprowadzone przez mnie (w latach 2005-2014) badania ankietowe. Oszacowany stopień świadomości społeczeństwa o zagrożeniach biologicznych, szczególnie związanych z wektorami, wskazał na niską znajomość ryzyka związanego z pasożytowaniem kleszczy i w konsekwencji na niedostateczny stopień stosowania metod zapobiegania chorobom odkleszczowym (Rydzanicz i Kiewra 2005, Kiewra i Rydzanicz 2011, Król i wsp. 2014).

Publikacje wymienione w punkcie 5. autoreferatu

Karbowiak G., Kiewra D. 2010. New locations of *Dermacentor reticulatus* ticks in Western Poland: the first evidence of the merge in *D. reticulatus* occurrence areas? *Wiadomości Parazytologiczne*. 56 (4): 333-340.

Kiewra D., Czułowska A. 2013. Evidence for an increased distribution range of *Dermacentor reticulatus* in south-west Poland. *Experimental and Applied Acarology*. 59(4): 501-506. doi: 10.1007/s10493-012-9612-3.

Kiewra D., Lonc E., Rydzanicz K. 2003. Mikroflora jelitowa wybranych gatunków komarów i kleszczy odłowionych z terenów rekreacyjnych okolic Częstochowy i Wrocławia. W: Buczek A, Błaszak C. (red.): Stawonogi i żywicieli. Wydawnictwo Drukarnia LIBER. Lublin. 313-325.

Kiewra D., Rydzanicz K. 2011. Tick-bites prevention used by the inhabitants of Lower Silesia (Poland). Programme and abstracts. XI International Jena Symposium on Tick-borne Diseases (IJSTD-XI) Weimar (Germany) 24-26 March 2011: 99.

Kiewra D. Stańczak J. Richter M. 2014a. *Ixodes ricinus* ticks (Acari, Ixodidae) as a vector of *Borrelia burgdorferi* sensu lato and *Borrelia miyamotoi* in Lower Silesia, Poland – preliminary study. *Ticks and Tick-borne Diseases*. 5: 892-897.

- Kiewra D., Zaleśny G. 2013. Occurrence of *Babesia microti* in *Ixodes ricinus* ticks collected from forested areas in Lower Silesia, Poland. Materiały konferencyjne XII International Jena Symposium on Tick-borne Diseases (IJSTD-XII) 21-23 March 2013.
- Kiewra D, Zaleśny G, Czułowska A. 2014b. The prevalence of *Anaplasma phagocytophilum* in questing *Ixodes ricinus* ticks in SW Poland. *Polish Journal of Microbiology*. 63(1): 89-93.
- Kiewra D., Zaleśny G., Czułowska A. 2014c. The risk of infection with *Anaplasma phagocytophilum* and *Babesia microti* in Lower Silesia, SW Poland. W: Buczek A., Błaszak C. (red.) Stawonogi. Zagrożenie zdrowia człowieka i zwierząt. Wyd. Koliber. Lublin: 103-110.
- Król N., Kiewra D., Rydzanicz K. 2014. Profilaktyka chorób odkleszczowych na Dolnym Śląsku. W: Szczęśniak E. (red.): Środowisko Dolnego Śląska oczami przyrodników. Wrocław. 56-66. ISBN: 978-83-939243-0-1.
- Lonc E. Kiewra D. 2001. Czy bać się kleszczy? *Wiadomości Ekologiczne*. 47(4): 275-285.
- Lonc E, Kiewra D., Rydzanicz K. 2010. Zasoby i ochrona bioróżnorodności a zdrowie turystów. W: Lonc E., Toczek-Werner S. (red.): Atrakcyjność przyrody i turystyki na Ziemi Wałbrzyskiej. Wydawnictwo Państwowej Wyższej Szkoły Zawodowej im. A. Silesiusa. Wałbrzych. 31-66. ISBN: 978-83-88425-24-0.
- Lonc E., Król N., Kiewra D. 2013. *Ixodes* and *Dermacentor* ticks as parasites of pets in the Wrocław area. *Annals of Parasitology*. 59 (supplement): 177.
- Lonc E., Rydzanicz K., Kiewra D. 2007. Biologiczne zagrożenia w ocenie zalesionych rekreacyjnych środowisk Dolnego Śląska. W: Toczek-Werner (red.). Turystyka w Sudetach. Wyd. Państwowej Wyższej Szkoły Zawodowej. Wałbrzych: 131-138. ISBN: 978-83-88425-28-8.
- Rydzanicz K., Hoffman K., Jawień P., Kiewra D., Becker N. 2011. Implementation of Geographic Information System (GIS) in an environment friendly mosquito control programme in irrigation fields in Wrocław (Poland). *European Mosquito Bulletin*. 29, 1-12.
- Rydzanicz K., Kiewra D. 2005. Metody zapobiegania ukłuciom przez komary i kleszcze stosowane przez mieszkańców Dolnego Śląska. W: Buczek A, Błaszak C. (red.): Stawonogi. Różnorodność form i oddziaływań. Koliber. Lublin. 359-365. ISBN: 83-921869-3-1.
- Rydzanicz K., Kiewra D., DeChant P., Becker N. 2009b. Comparison of the efficacy of Vectobac G, Vectobac TP sand mixture and Vectobac WDG ice granules against floodwater mosquitoes in irrigation fields in Wrocław, Poland and floodplains of the Rhine river, Germany. The 5th European Mosquito Control Association (EMCA) Workshop, 9-13.03. 2009 Turin, Italy.

Rydzanicz K., Kiewra D., Lonc E. 2006. The occurrence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in the urban populations of mosquitoes in the Wrocław area. W: Buczek A, Błaszak C. (red.): Stawonogi. Znaczenie epidemiologiczne. Koliber. Lublin. 189-193.

Rydzanicz K., Lonc E., Kiewra D. 2008. Organizacja integrowanego programu zwalczania komarów na terenie wrocławskich pól irygowanych. W: Buczek A, Błaszak C. (red.): Stawonogi. Oddziaływanie na żywiciela. Akapit. Lublin. 281-288.

Rydzanicz K., Lonc E., Kiewra D. 2009c. Awareness of the risk of *Aedes albopictus* (Skuse 1895) invasion in Poland. International Symposium on The Asian Tiger mosquito *Aedes albopictus*. Its distribution in relation to its bionomy and climatic factors; organized by Gesellschaft zur Förderung der Stechmückenbekämpfung e.V. (GFS) and Bundesministeriums für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit sowie des Umweltbundesamtes (UBA). 13. 11. 2008, Speyer, Germany.

Rydzanicz K., Lonc E., Kiewra D., DeChant P., Krause S., Becker N. 2009a. Evaluation of three microbial formulations against *Culex pipiens pipiens* larvae in irrigation fields in Wrocław, Poland. *Journal of the American Mosquito Control Association*. 25(2): 140-148.

Stefanoff P, Pfeffer M, Hellenbrand W, Rogalska J, Rühle F, Makówka A, Michalik J, Wodecka B, Rymaszewska A, Kiewra D, Baumann-Popczyk A, Dobler G. 2013. Virus Detection in Questing Ticks is not a Sensitive Indicator for Risk Assessment of Tick-Borne Encephalitis in Humans. *Zoonoses and Public Health*. 60(3):215-226. doi: 10.1111/j.1863-2378.2012.01517.x.

Donata Thiemme