



**UNIWERSYTET
PEDAGOGICZNY**
IM. KOMISJI EDUKACJI
NARODOWEJ W KRAKOWIE

Dr hab. Magdalena Nowak-Chmura, prof. UP
Katedra Zoologii, Instytut Biologii i Nauk o Ziemi
Wydział Nauk Ścisłych i Przyrodniczych
Uniwersytet Pedagogiczny w Krakowie
magdalena.nowak-chmura@up.krakow.pl

Kraków, 31.08. 2023

Recenzja rozprawy doktorskiej
Pani mgr Aleksandry Czulowskiej
pt. „Kleszcze jako wektory wybranych patogenów chorób odkleszczowych
zagrożających leśnikom na Dolnym Śląsku”

Niniejszą recenzję przygotowano na podstawie Uchwały Rady Dyscypliny Naukowej Nauki Biologiczne Uniwersytetu Wrocławskiego z dnia 17 marca 2022 roku, w związku z przewodem doktorskim wszczętym przez mgr A. Czulowską na Radzie Wydziału Nauk Biologicznych Uniwersytetu Wrocławskiego w dniu 25 kwietnia 2019 roku (uchwała nr 157/2019).

Rozprawa doktorska Pani mgr Aleksandry Czulowskiej pt. „Kleszcze jako wektory wybranych patogenów chorób odkleszczowych zagrożających leśnikom na Dolnym Śląsku” została wykonana na Wydziale Nauk Biologicznych Uniwersytetu Wrocławskiego, w Zakładzie Ekologii Drobnoustrojów i Akarontomologii. Promotorką pracy była Pani dr hab. Dorota Kiewra, prof. UWr., ceniona w środowisku parazytologicznym badaczka kleszczy, dysponująca wybitnym dorobkiem naukowym w zakresie dysertacji.

Wzrost zainteresowań badaniami kleszczy (Acari: Ixodida), groźnymi pasożytami człowieka i zwierząt, ma odzwierciedlenie nie tylko w liczbie ukazujących się w ostatnim dziesięcioleciu publikacji w Polsce i na świecie, ale także w widocznym zainteresowaniu chorobami odkleszczowymi przez media, społeczności lokalne i ludzi prywatnych. Zauważalny i niepokojący jest wzrost zachorowań na choroby odkleszczowe, szczególnie u osób narażonych

na choroby przenoszone przez kleszcze, których praca zawodowa wymagająca ciągłego kontaktu z przyrodą stwarza zwiększone ryzyko ekspozycji na ataki kleszczy. Ponieważ praca w terenie i ekspozycja na kleszcze stanowią potencjalne zagrożenie dla zdrowia ludzkiego, uważam za niezwykle potrzebne i pożyteczne podjęcie przez Doktorantkę wielotorowych badań naukowych, podczas których Doktorantka oszacowała ryzyko narażenia leśników z Dolnego Śląska na choroby odkleszczowe. Tylko takie kompleksowe podejście do tematu, jakie zaplanowała w swoich badaniach Doktorantka ma szansę wiarygodnie oszacować zagrożenia chorobami odkleszczowymi na Dolnym Śląsku, poznać poziom zakażenia kleszczy patogenami oraz wskazać konieczność podjęcia działań profilaktycznych.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska mgr Aleksandry Czułowskiej ma formę klasycznej rozprawy doktorskiej w postaci oprawionego manuskryptu liczącego 136 stron. Zawiera 16 tabel i 26 rycin, które są integralną częścią rozprawy i szczegółowo ilustrują przedstawione dane. Staranne opracowanie graficzne i przejrzysty układ pracy spełniają wymagania stawiane pracom doktorskim. Rozprawa doktorska jest podzielona na standardowe dla prac biologicznych rozdziały a ich układ nie budzi zastrzeżeń. Bibliografia (227 pozycji) to wykaz najważniejszych polskich i obcojęzycznych pozycji literatury, z czego połowa to najnowsza literatura z ostatniego dziesięciolecia. Doktorantka wykazała również źródła internetowe.

Rozprawę doktorską otwiera **Streszczenie** w języku polskim (3 i pół strony) i angielskim (3 i pół strony). Kolejny rozdział to **Wstęp** (18 stron). W tym obszernym przeglądzie literatury Doktorantka charakteryzuje kilka aspektów, które obrazują potrzebę podjęcia niniejszych badań. Doktorantka przedstawia pokrótce ogólną charakterystykę *Ixodes ricinus*, opisuje rozprzestrzenienie kleszcza pospolitego, jego żywicieli oraz rolę jako wektora patogenów chorobotwórczych, przybliży też informacje o *Borrelia* spp. jako czynnika etiologicznym boreliozy oraz *Rickettsia* spp. jako czynnika etiologicznym rickettsjoz. Doktorantka szczególnie zwraca uwagę na problem chorób odkleszczowych jako zagrożenie dla osób, których praca zawodowa stwarza ryzyko choroby zawodowej i jest poważnym wyzwaniem zdrowia publicznego. Porusza też kwestie badań leśników w kierunku boreliozy uznanej za chorobę zawodową oraz ich narażenia na rzadsze infekcje odkleszczowe, takie jak bakterie z rodzaju *Rickettsia*. Treść rozdziału „Wstęp” jest wartościowym uzupełnieniem rozprawy, odpowiada tematowi określonemu w tytule i wskazuje myśl przewodnią podjęcia tematyki badań, którą szczegółowo, w punktach obrazujących cele badań Doktorantka zawarła

w kolejnym rozdziale **Cel pracy** (1 strona).

Rozdział **Material i metody** (20 stron) to kompendium wiedzy o zastosowanych przez Doktorantkę metodach badań terenowych i laboratoryjnych. O ogromie pracy włożonej w techniczną realizację badań świadczy rzetelny opis technik i metod związanych ze zbiorem materiału do badań oraz opracowywaniem go w zakresie biologicznym, molekularnym i statystycznym. Wszystkie wymienione metody badań w tym narzędzia badawcze takie jak: „Ankieta dla pracowników Nadleśnictw”, „Informacja dla Pacjenta”, „Zgoda Pacjenta na przeprowadzenie badań” oraz metody statystyczne - zastosowano poprawnie, jak również prawidłowo wykorzystano przy interpretacji wyników.

Doktorantka wykonała między innymi:

- wielokrotny zbiór kleszczy w terenie,
- identyfikację zebranych kleszczy,
- przygotowanie pacjentów do badań (ankieta, zgoda pacjenta, informacje dla pacjenta),
- badania molekularne kleszczy *Ixodes ricinus* w kierunku zakażenia kleszczy bakteriami z rodzaju *Borrelia* spp. i *Rickettsia* spp.,
- badania molekularne krwi leśników w kierunku *Borrelia* spp. i SFG (ang. Spotted Fever Group) *Rickettsia*,
- analizę statystyczną i opisową badań.

Czwarty rozdział recenzowanej rozprawy to **Wyniki** (27 i pół strony) - stanowiące zasadniczą część pracy doktorskiej, zostały podzielone na trzy podrozdziały, konsekwentnie w tekście pracy umieszczono tabele i ryciny (wykresy), które bardzo czytelnie obrazują otrzymane wyniki i pomagają je zrozumieć.

W pierwszym podrozdziale Doktorantka przedstawiła wyniki badań nad występowaniem kleszczy w Nadleśnictwie Milicz i Henryków, wykazując między innymi:

- dominację występowania *Ixodes ricinus* w obydwóch Nadleśnictwach i pojedyncze przypadki występowania kleszczy *Dermacentr reticulatus* i *Haemaphysalis concinna*, wykonała zbiór 725 osobników kleszczy czyhających na żywiciela na roślinności,
- dominację nimf *I. ricinus* zebranych na wyznaczonych obszarach obydwóch Nadleśnictw oraz przedstawiono dodatkowo pełną strukturę populacji zebranych kleszczy.

W drugim podrozdziale Doktorantka opisała występowanie patogenów w kleszczach zebranych z roślinności w Nadleśnictwie Milicz i Henryków, wykazując między innymi:

- DNA *Borrelia* spp. w 205 (28,3%) okazach *I. ricinus* (73 okazy z Nadleśnictwa Milicz,

132 okazy z Nadleśnictwa Henryków), najwięcej u samic (43,9%),

- identyfikację gatunkową pięciu wzorów restrykcyjnych w tym 4 wzorów odpowiadającym genogatunkom z kompleksu *B. burgdorferi* s.l.: *B. afzelii*, *B. garinii*, *B. lusitaniae*, *B. burgdorferi* s.s. oraz jednego wzoru spoza kompleksu: *B. miyamotoi*, dominującym gatunkiem były krętki *Borrelia afzelii* w obydwóch Nadleśnictwach,

- koinfekcje kleszczy u *I. ricinus* (8) w obydwóch Nadleśnictwach: *B. lusitaniae*/ *B. afzelii*, *B. garinii*/ *B. miyamotoi*, *B. lusitaniae*/ *B. miyamotoi*, *B. afzelii*/ *B. miyamotoi*,

- DNA *Rickettsia* spp, w 174 (24,0%) okazach *I. ricinus* (76 okazy z Nadleśnictwa Milicz, 98 okazy z Nadleśnictwa Henryków), najwięcej u samic (32,4%),

- identyfikację gatunkową dominującego gatunku *Rickettsia helvetica* (97,8%) i po raz pierwszy w kleszczach *I. ricinus* z terenów Nadleśnictw jednego przypadku należącego do taksonu „*Candidatus Rickettsia mendelii*”,

- koinfekcje kleszczy u *I. ricinus* (45) w obydwóch Nadleśnictwach: *Rickettsia* spp. i *Borrelia* spp.

W trzecim podrozdziale Doktorantka opisała na podstawie badań serologicznych występowanie patogenów u leśników w Nadleśnictwie Milicz i Henryków, wykazując między innymi:

- obecność przeciwciał przeciw *B. burgdorferi* s.l. w klasach IgM lub IgG w surowicy 22 (24,2%) pracowników obydwóch Nadleśnictw (14 (23,3%) pracowników Nadleśnictwa Milicz, 8 (25,8%) pracowników z Nadleśnictwa Henryków),

- obecność przeciwciał przeciw SFG *Rickettsia* w klasie IgG w surowicy 53 (58,2%) pracowników obydwóch Nadleśnictw (38 (63,3%) pracowników Nadleśnictwa Milicz, 15 (48,4%) pracowników z Nadleśnictwa Henryków),

- współwystępowanie przeciwciał przeciw *Borrelia* spp. i *Rickettsia* spp. u 14 pracowników obydwóch Nadleśnictw (10 (16,7%) pracowników Nadleśnictwa Milicz, 4 (12,9%) pracowników Henryków),

- trend zależności, że osoby z obecnością przeciwciał przeciw SFG *Rickettsia*, były częściej kłute przez kleszcze (więcej niż 5 razy w ciągu roku) w porównaniu do osób, u których przeciwciała nie zostały wykryte.

Rozdział **Dyskusja** (16 i pół strony) jest to obszerny rozdział, w którym Doktorantka omówiła najważniejsze wyniki swoich badań na tle bogatego piśmiennictwa, wspierając się pozycjami najnowszej literatury przedmiotu, zarówno z Polski i ze świata. W dyskusji

doskonale widać z iloma celami badawczymi podczas badań zmagala się Doktorantka, i widać też, że jest Ona specjalistką od zaprezentowanego tematu a prowadzone samodzielnie przez Doktorantkę badania wnoszą wiele cennych informacji do polskiej i światowej parazytologii i epidemiologii. Dyskusja jest napisana w sposób wszechstronny i odpowiadający najnowszemu stanowi wiedzy.

W rozdziale **Podsumowanie i wnioski** (1,5 strony) Doktorantka prezentuje 9 rzeczowych wniosków, stanowiących podsumowanie i wynikających bezpośrednio z przeprowadzonych badań.

Rozprawę doktorską kończą: **Podziękowania, Literatura** (27 stron, 227 pozycji literatury + źródła internetowe), **Spis tabel, Spis rycin i Wykaz załączników**.

Rozprawa doktorska przygotowana przez Panią mgr Aleksandrę Czułowską stanowi cenny wkład w polskie i światowe badania parazytologiczne w kontekście badań nad kleszczami (Acari: Ixodida) oraz oszacowaniem zagrożeń chorobami odkleszczowymi grup zawodowych związanych z pracą w terenie. Prezentowane wyniki badań dowodzą o wysokim poziomie prowadzonych badań naukowych. Moją uwagę zwracają szczególne dokonania Doktorantki, które zauważam i wyszczególniam.

Na podkreślenie zasługuje w szczególności:

- wykazanie nowego stanowiska kleszcza *Dermacentor reticulatus* (Nadleśnictwo Milicz, Dolny Śląsk) i potwierdzenie w kolejnych sezonach badań stałej obecności tego gatunku;
- potwierdzenie występowania kleszczy *Haemaphysalis concinna* w Polsce poprzez wykazanie nowego stanowiska tych kleszczy (Skorosów, Nadleśnictwo Milicz, Dolny Śląsk), było to jedno z kilku stanowisk, gdzie potwierdzono te kleszcze pierwszy raz po 60 latach od opisywanego znaleziska *H. concinna* w Troszynie (woj. zachodniopomorskie);
- wykazanie w obydwóch Nadleśnictwach (Milicz i Henryków) występowania kleszczy *I. ricinus* zakażonych *Rickettsia* spp. i korelacji z badaniami serologicznymi leśników, u których po raz pierwszy na Dolnym Śląsku potwierdzono obecność przeciwciał SFG *Rickettsia*;
- zidentyfikowanie po raz pierwszy w kleszczach *I. ricinus* z terenów Nadleśnictw objętych badaniami pojedynczego izolatu „*Candidatus Rickettsia mendelii*”;
- zwrócenie uwagi na potencjalne zagrożenie zdrowotne chorobami odkleszczowymi na

terenie dolnośląskich Nadleśnictw: Milicz i Henryków, wynikające nie tylko z powszechnego występowania kleszczy *I. ricinus*, ale też innych gatunków: *Dermacentor reticulatus* i *Haemaphysalis concinna*, ich udziału w transmisji wykrytych tam chorobotwórczych patogenów wywołujących boreliozę i ricketzjozy, ale również koinfekcji *Borrelia* i *Rickettsia*;

ponadto:

- bardzo dobrze zaplanowany metodycznie warsztat badawczy, pragnę docenić ogromny wkład Doktorantki w badania faunistyczne i prace w terenie na ogromnym obszarze, które wymagają dużo czasu, znajomości terenu, organizacji życia, w którym jest miejsce na systematyczne wyjazdy w teren, wnioskuję przez to również o znakomitych predyspozycjach Doktorantki do pracy w zespole;
- podkreślam również dociekliwość naukową Doktorantki, której wyrazem jest między innymi współpraca z Regionalną Dyrekcją Lasów Państwowych we Wrocławiu, szczególnie z leśnikami z Nadleśnictw Milicz i Henryków oraz z Wojewódzką Stacją Sanitarno-Epidemiologiczną we Wrocławiu.

Wyniki badań zachęcają do dyskusji, stąd moje pytania do Doktorantki. Bardzo proszę o odniesienie się do następujących zagadnień podczas publicznej obrony rozprawy doktorskiej:

1. Jak się przedstawia ogólny poziom zakażenia kleszczy krętkami *Borrelia* spp. w Polsce i Europie? Czy są zauważalne ostatnio jakieś trendy? Czy są dostępne w Europie dane obrazujące częstość występowania u kleszczy w/w zakażeń a tym samym czy są znane szacunki problemów jakie niosą ze sobą kleszcze?
2. Z Pani badań wynika, że jest zauważalna zależność między obecnością przeciwciał przeciw *B. burgdorferi* s.l. a wiekiem i stażem pracy pracowników Nadleśnictw. Co Pani o tym sądzi? Proszę o rozwinięcie tej myśli i komentarz.
3. Borelioza – najczęściej rejestrowana choroba zawodowa w Polsce w sekcji rolnictwa, leśnictwa i łowiectwa oraz najczęstsza choroba zakaźna. Przywilej dla grup zawodowych czy same problemy? Jakie jest Pani zdanie na ten temat, proszę o komentarz.
4. Czy ma Pani plany na kontynuację badań?

Ponadto drobne uwagi redakcyjne:

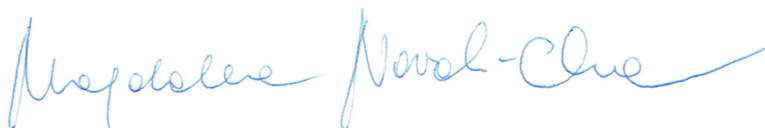
- str. 3 jest: *Ixodes ricinus* (L. 1748), powinno być: *Ixodes ricinus* (L. 1758)
- pod fotografiami należałoby dodać konkretne nazwisko autora zdjęć, jest to nie tylko dobrą praktyką ale prawem chronionym przez ustawę o prawie autorskim

Podsumowując, rozprawa doktorska Pani mgr Aleksandry Czułowskiej stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, dzięki któremu uzyskaliśmy rzetelne informacje na temat kleszczy i chorób odkleszczowych zagrażających pracownikom leśnictwa na terenie wybranych Nadleśnictw Dolnego Śląska. Doktorantka wykazała się ogólną wiedzę teoretyczną w dyscyplinie nauki biologiczne oraz umiejętnością samodzielnego prowadzenia pracy naukowej.

Wniosek końcowy

Stwierdzam, że przedstawiona do oceny rozprawa doktorska Pani mgr Aleksandry Czułowskiej pt. "Kleszcze jako wektory wybranych patogenów chorób odkleszczowych zagrażających leśnikom na Dolnym Śląsku" zaprezentowana jako wieloaspektowe badania parazytologiczne spełnia wszystkie, zarówno pod względem merytorycznym i formalnym wymagania stawiane pracom doktorskim przewidziane w art. 13 ust. 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 tym stawiam wniosek do Wysockiej Rady Dyscypliny Naukowej Nauki Biologiczne Uniwersytetu Wrocławskiego o dopuszczenie Pani mgr Aleksandry Czułowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Ponadto przedkładałam Wysockiej Radzie Dyscypliny Naukowej Nauki Biologiczne Uniwersytetu Wrocławskiego wniosek rekomendujący wyróżnienie rozprawy doktorskiej stosowną nagrodą. Rozprawa doktorska zasługuje na wyróżnienie, o czym świadczą wielowątkowe, oryginalne badania naukowe, które mają ogromne znaczenie dla zdrowia publicznego a szczególnie grup zawodowych wykonujących pracę zawodową w terenie, ale także dla szerokiej społeczności lokalnej i turystów Dolnego Śląska. Wkład Doktorantki w naukę i wiedzę na temat kleszczy uważam za bardzo znaczący. Doktorantka wykazała również szerokie horyzonty, znakomite rozeznanie w literaturze światowej, determinację i pasję badawczą.



Dr hab. Magdalena Nowak-Chmura, prof. UP

Kraków, 31.08. 2023