

Prof. dr hab. n. med. Ewa Brzezińska-Błaszczyk
Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Ocena
osiągnięcia naukowego oraz całościowego dorobku naukowego
dr n. med. Beaty Biernat w postępowaniu o nadanie stopnia naukowego
doktora habilitowanego

1. Przebieg pracy zawodowej

Dr n. med. Beata Biernat w roku 1987 ukończyła studia na Wydziale Biologii, Geografii i Oceanologii Uniwersytetu Gdańskiego uzyskując tytuł zawodowy magistra biologii. W roku 2004 Rada Wydziału Lekarskiego z Oddziałem Anglojęzycznym i Oddziałem Stomatologicznym Akademii Medycznej w Lublinie nadała Jej stopień doktora nauk medycznych w zakresie biologii medycznej na podstawie rozprawy doktorskiej zatytułowanej "Identyfikacja i rozprzestrzenienie na wybranych terenach północnej Polski kryptogatunków *Anopheles maculipennis* (Diptera: Culicidae) - owadów o znaczeniu epidemiologicznym". Należy podkreślić, że rozprawa doktorska została wyróżniona.

Od grudnia 1987 roku do dzisiaj pracuje w Zakładzie Parazytologii Tropikalnej, początkowo Instytutu Medycyny Morskiej i Tropikalnej w Gdyni, a obecnie Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego, na stanowisku biologa-stażysty, a następnie asystenta. Od grudnia 2004 roku zajmuje stanowisko adiunkta.

2. Ocena osiągnięcia naukowego

Osiągnięcie naukowe przedstawione przez Habilitantkę jako podstawa do ubiegania się o stopień naukowy doktora habilitowanego jest cyklem spójnych tematycznie siedmiu publikacji pod wspólnym tytułem "Kleszcze *Ixodes ricinus* i *Dermacentor reticulatus* (Acari, Ixodida) jako wektory wirusów kleszczowego zapalenia mózgu i riketsji z grupy gorączek plamistych – wybrane aspekty epidemiologiczne". Prace są opublikowane w latach 2014 - 2016 w czasopiśmie z listy filadelfijskiej; w pięciu pracach Habilitantka jest pierwszym

autorem. Łączna wartość współczynnika oddziaływania IF publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego wynosi **12,078** (w tym prac z pierwszym autorstwem - **8,758**), a łączna punktacja MNiSW - **165** (w tym prac z pierwszym autorstwem - **120**).

Celem cyklu prac było poszerzenie wiedzy o roli kleszczy w naturalnym krążeniu wirusów kleszczowego zapalenia mózgu (KZM) oraz riketsji wywołujących choroby z grupy gorączek plamistych (SFG). Biorąc pod uwagę, że kleszcze są jednymi z najważniejszych stawonogów wektorujących szereg patogenów, a w Europie, w tym w Polsce, choroby odkleszczowe są najważniejszą grupą chorób transmisyjnych, tematyka podjętych przez Habilitantkę badań jest bardzo ważna. Trzeba podkreślić przy tym, że w Polsce kleszczowe zapalenie mózgu jest jedną z najczęściej diagnozowanych chorób odkleszczowych, a wśród pracowników leśnych odsetek osób, u których wykryto swoiste przeciwciała przeciwko riketsjom SFG wynosi nawet 50,7 (Lubelszczyzna).

W pierwszym etapie pracy Habilitantka określała poziom zakażenia wirusem KZM dwóch powszechnie występujących kleszczy *Ixodes ricinus* (kleszcz pospolity) oraz *Dermacentor reticulatus* (kleszcz łąkowy) zebranych z roślinności. Do detekcji patogenu zastosowano techniki biologii molekularnej (izolacja RNA z zebranych kleszczy, odwrotna transkrypcja i uzyskanie cDNA, "gniazdowy" (nested) PCR, analiza sekwencyjna). W pierwszej z cyklu prac (według kolejności przedstawionej w dokumentacji) oceniono poziom zakażenia wirusem KZM kleszczy *I. ricinus* zebranych w północno-wschodniej Polsce (endemiczny teren występowania wirusa KZM). Stwierdzono wyniki dodatnie u 6,73% przebadanych pul kleszczy, a średni minimalny wskaźnik zakażenia kleszczy wirusem KZM wynosił 0,96%. Po raz pierwszy w Polsce przebadano w kierunku występowania RNA wirusa KZM larwy *I. ricinus* i uzyskano wynik pozytywny, co wskazuje na transowarialną transmisję wirusa KZM. Celem kolejnej pracy (publikacja numer dwa w dokumentacji) było określenie ekstensywności zainfekowania kleszcza łąkowego zebranego z roślinności wirusem KZM na terenach naturalnych (obszar północno-wschodniej Polski) oraz zurbanizowanych (Warszawa). Dodatnie wyniki odnotowano u kleszczy na wszystkich badanych stanowiskach, a poziom zakażenia tych roztoczy wirusem KZM wynosił 2,12%. Na terenach naturalnych odsetek zakażonych kleszczy *D. reticulatus* wynosił 1,96%; ze względu na fakt, że bydlę jest kompetentnym żywicielem kleszcza łąkowego obserwacja ta wskazuje nie tylko na ważną rolę tego kleszcza w podtrzymywaniu i transmisji wirusa KZM w środowisku, ale także na możliwość zakażenia ludzi poprzez niepasteryzowane mleko. Ponadto, Habilitantka wykazała obecność RNA wirusa KZM w kleszczach *D. reticulatus* zebranych na terenach zurbanizowanych. Obserwacja ta może mieć istotne znaczenie epidemiologiczne bowiem

wskazuje, że *D. reticulatus* odgrywa ważną rolę czynnika umożliwiającego krążenie wirusa KZM w środowisku miejskim.

Kontynuacją tych prac są kolejne badania, w których określano prevalencję wirusa KZM w kleszczach *D. reticulatus* zebranych z żubrów (*Bison bonasus bonasus*) z wolnożyjącego stada w Puszczy Białowieskiej oraz z norników północnych (*Microtus oeconomus*) odłowionych w Białowieskim Parku Narodowym. Wyniki tych badań zostały przedstawione w publikacjach numer 3 i 4 (numeracja według dokumentacji). Należy podkreślić, że po raz pierwszy wykazano obecność RNA wirusa KZM u zimujących kleszczy łąkowych zebranych z żubrów - naturalnych żywicieli tych pasożytów. Ponieważ wiele osobników ze stada białowieskiego jest introdukowanych w inne lokalizacje naszego kraju oraz do innych krajów Europy, powyższe obserwacje sugerują możliwość rozprzestrzeniania się wirusa KZM poprzez dyspersję/migrację żywicieli. Habilitantka wykazała ponadto obecność wirusa KZM u 3 dorosłych form kleszcza łąkowego po metamorfozie w warunkach laboratoryjnych nimf zebranych z żywicieli *Microtus oeconomus*. Tak więc udokumentowano możliwość transstadialnej transmisji wirusa KZM u tego gatunku kleszcza,' bez wątpienia te dane wskazują, że kleszcz łąkowy może odgrywać ważną rolę w podtrzymywaniu krążenia wirusa KZM w środowisku.

Kolejnym zagadnieniem w toku badań było określenie roli kleszcza *I. ricinus* w naturalnym cyklu krążenia bakterii z rodzaju *Rickettsia*. Wyniki tych badań przedstawiono w publikacjach numer 5, 6 i 7 (kolejność według dokumentacji). Habilitantka udokumentowała, że poziom infestacji larwami kleszcza *I. ricinus* u gryzoni z gatunku *Apodemus flavicollis* (myszarka leśna) jest bardzo wysoki i znacząco wyższy niż u *Myodes glareolus* (nornica ruda). Nie wykryto DNA *Rickettsia* spp. we krwi tych gryzoni, natomiast zakażenie tą bakterią stwierdzono u 8% nimf oraz u 10,7% larw kleszcza *I. ricinus*. Podobnie, poziom infestacji ptaków, szczególnie z rzędu *Passeriformes*, larwami i nimfami *I. ricinus* był znaczący, przy czym DNA *Rickettsia* spp. wykryto zarówno u larw, jak i nimf kleszcza. Analiza uzyskanych sekwencji fragmentów genów *gltA* i 16S rRNA *Rickettsia* spp. wykazała, że dominującym gatunkiem riketsji w *I. ricinus* zebranych zarówno z gryzoni, jak i z ptaków jest *R. helvetica*. Wykrycie *R. helvetica* u larw i nimf *I. ricinus* żerujących na gryzoniach i ptakach, przy równoczesnym braku riketsemii u żywicieli tych kleszczy sugeruje, że zakażenie kleszczy odbywa się głównie drogą transmisji wertykalnej lub też sugeruje bardzo krótki okres riketsemii u tych kręgowców. Co więcej, Habilitantka udokumentowała, po raz pierwszy, obecność DNA *Rickettsia* spp. z grupy SFG w *I. ricinus* pasożytujących na nietoperzach (publikacja numer 7). Tak więc wykazała, że kleszcz pospolity jest rezerwuarem

riketsji SFG nie tylko dla ptaków, ssaków naziemnych, w tym człowieka, ale również nietoperzy.

W mojej ocenie przedstawione prace, stanowiące osiągnięcie naukowe dr Beaty Biernat, stanowią zwarty tematycznie cykl badań oryginalnych. Badania w znacznym stopniu są nowatorskie, a uzyskane wyniki wnoszą wiele cennych i ważkich informacji na temat cyklu krążenia wirusa KZM i oraz riketsji z grupy SFG, a tym samym sytuacji epidemiologicznej chorób wektorowanych przez kleszcze. W tym kontekście, w moim przekonaniu, osiągnięcie naukowe Habilitantki zasługuje w pełni na pozytywną ocenę.

3. Ocena pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych

Na dorobek naukowy dr Beaty Biernat, poza pracami zaprezentowanymi jako odrębny cykl stanowiący osiągnięcie naukowe, składa się: 21 prac oryginalnych, z których 7 jest opublikowanych w czasopismach z IF, 2 prace oryginalne opublikowane w suplementach czasopism, 6 prac poglądowych, 14 rozdziałów w książkach/podręcznikach (w tym 2 rozdziały w podręcznikach międzynarodowych), 3 prace popularnonaukowe oraz 2 monografie. Łączna punktacja MNiSW wynosi 248 (bez prac prezentowanych jako osiągnięcie naukowe), a łączny IF wynosi 14,255 (bez prac prezentowanych jako osiągnięcie naukowe). Habilitantka jest ponadto współautorem 80 doniesień zjazdowych, w tym 30 prezentowanych na konferencjach zagranicznych. Łączna liczba cytowań wynosi 272 (według bazy Web of Science) i 336 (według bazy Scopus). Indeks Hirscha wynosi 8.

Zainteresowania naukowe Habilitantki koncentrowały się wokół zagadnień związanych z parazytologią, a szczególnie akaroentomologią medyczną. Pierwszym nurtem zainteresowań były badania faunistyczne stawonogów o znaczeniu medycznym, to jest komarów i kleszczy, czyli wektorów chorób transmisyjnych. W toku tych badań Autorka ustaliła między innymi, że w Trójmieście wśród komarowatych występuje aż siedem gatunków plagowych i antropofilnych, w tym mogących przenosić wirusa gorączki Zachodniego Nilu i inne arbowirusy. Tym samym wykazano występowanie potencjalnych wektorów groźnych chorób transmisyjnych, stanowiących zagrożenie zdrowia i życia ludzi. Co wydaje się szczególnie ciekawe, w sąsiedztwie portu lotniczego Gdańsk-Rębiechowo stwierdzono miejsca wylęgu *Anopheles maculipennis* complex – głównego wektora malarii w Europie oraz *Anopheles claviger* s.s. Ta obserwacja wskazuje, że istnieje realne niebezpieczeństwo powstania lokalnego ogniska malarii w sezonie letnim, w przypadku

importowania drogą lotniczą zarażonych *Plasmodium vivax* komarów lub też zarażonych żywicieli pośrednich - ludzi. Należy podkreślić, że do badań faunistycznych Habilitantka wykorzystywała metody biologii molekularnej (technika PCR, sekwencjonowanie DNA) co umożliwiło dokładną identyfikację kryptogatunków komarów wektorujących patogeny oraz nie będących przenosicielami.

Kolejnym nurtem badań była detekcja patogenów w stawonogach hematofagicznych. Habilitantka oceniała rolę komarów w krążeniu arbowirusów na terenie województwa Pomorskiego i zaobserwowała między innymi, że wśród komarów dominuje gatunek *Culex pipiens* - potencjalny wektor arbowirusów. Oceniała również obecność krętków *Borrelia burgdorferii* u komarów. Udokumentowała, że na obszarach, gdzie występuje wysoka zapadalność na boreliozę, odsetek zakażonych krętkami komarów sięgał nawet 8% i było to pierwsze w Polsce wykazanie tych krętków w komarach. W cyklu badań Habilitantka wykazała, że *B. burgdorferi* jest rozprzestrzeniona w populacjach kleszczy na terenie całego kraju. Wskazała również, że kleszcze *I. ricinus* w Polsce są zainfekowane bakterią *Anaplasma phagocytophilum*, a w Puszczy Białowieskiej odsetek zakażonych tą bakterią kleszczy wynosi aż 16%. Ciekawa i ważna jest ponadto obserwacja, że zakażone *A. phagocytophilum* kleszcze występują także na terenach zurbanizowanych. Podobnie ważną obserwacją jest wskazanie, że kleszcze z okolic Trójmiasta są zakażone pierwotniakiem *Babesia* spp. Badania kleszczy prowadzono również w kierunku wykrycia riketsji z grupy gorączek plamistych. Ważnym zagadnieniem, którym zajmowała się Habilitantka, była ocena współwystępowania różnych gatunków mikroorganizmów nie tylko w obrębie populacji *I. ricinus* z różnych regionów Polski, ale przede wszystkim w organizmie pojedynczego kleszcza, gdyż mogłoby to wskazywać na możliwość jednoczesnej transmisji żywicielowi kilku patogenów. U dorosłych kleszczy często (26,8%) notowano infekcje mieszane dwoma, a nawet trzema gatunkami *Borrelia* (*B. afzelii*, *B. burgdorferi*, *B. garinii*). Wykazano również możliwość wystąpienia u *I. ricinus* koinfekcji *A. phagocytophilum* i *B. burgdorferi* (8,3 - 16,7%), *A. phagocytophilum* i *B. microti* (2,0%), a także *B. microti* i *B. burgdorferi* (0,3%).

Habilitantka prowadziła również badania nad diagnostyką chorób tropikalnych wektorowanych przez stawonogi u pacjentów powracających ze stref ich endemicznego występowania. Badania oparto na technikach biologii molekularnej: PCR, PCR z odwrotną transkryptazą oraz sekwencjonowanie DNA. Ważnym osiągnięciem jest wdrożenie do diagnostyki malarii zoptymalizowanej reakcji "nested" PCR w kierunku wykrycia gatunku *Plasmodium knowlesi* z kontrolą dodatnią w postaci plazmidu z wklonowanym syntetycznym fragmentem DNA *P. knowlesi*. Bardzo istotne są również badania, prowadzone po raz

pierwszy w Polsce, nad określaniem serotypów wirusa dengi przenoszonego przez komary *Aedes* spp. Określenie serotypu wirusa jest niezwykle istotne, bowiem pomimo, że każdy może powodować pełne spektrum choroby, to infekcja jednym z serotypów może wiązać się z ciężkim przebiegiem infekcji wtórnej, gdy osoba uprzednio kontaktująca się z serotypem DENV-1, nadkaża się serotypem DENV-2 lub DENV-3 lub pacjent w przeszłości eksponowany na DENV-3, nabywa DENV-2. Ogółem przebadano 69 surowic pacjentów powracających z endemicznych terenów występowania dengi. RNA wirusa dengi wykazano we krwi 10 pacjentów, przy czym sześć sekwencji było identycznych z serotypem DENV-1, dwie sekwencje wykazywały zgodność z serotypem DENV-2, a kolejne dwie z DENV-3.

4. Ocena działalności dydaktycznej i organizacyjnej

Dr Beata Biernat współuczestniczyła w realizacji dziewięciu krajowych projektów badawczych, przy czym w dwóch była kierownikiem projektu. Była wykonawcą jednego projektu międzynarodowego. Ponadto, była kierownikiem lub wykonawcą ekspertyz i opracowań wykonanych na zlecenie Ministerstwa Zdrowia i Opieki Społecznej.

W latach 1999 - 2004 współpracowała z Kliniką Chorób Zakaźnych Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku prowadząc badania nad występowaniem *A. phagocytophilum* w kleszczach *I. ricinus* oraz przeciwciał przeciw temu patogenowi u ludzi. Od lat prowadzi wspólne prace badawcze z Wydziałem Nauk o Zdrowiu Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego (rola stawonogów w biernym przenoszeniu patogenów oraz skutki pasożytowania ektopasożytów dla żywicieli), z Instytutem Parazytologii Polskiej Akademii Nauk w Warszawie (wykrywanie i identyfikacja RNA wirusa KZM u kleszczy *D. reticulatus* oraz wykrywanie wiremii u żywicieli tych stawonogów) oraz z Zakładem Morfologii Zwierząt Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu (występowanie i identyfikacja *Rickettsia* spp. w kleszczach i ich żywicielach).

Od 2001 roku jest członkiem European Mosquito Control Association. Jest również członkiem Polskiego Towarzystwa Parazytologicznego; od 2003 roku przez kolejne dwie kadencje pełniła funkcję członka Zarządu oraz przewodniczącej Komisji Rewizyjnej oddziału gdańskiego. Ponadto jest członkiem Polskiego Towarzystwa Entomologicznego.

W roku 2004 otrzymała Zespołową Nagrodę Naukową II Stopnia Rektora Akademii Medycznej w Gdańsku za osiągnięcia naukowe w dziedzinie epidemiologii transmisyjnych zoonoz - ludzkiej anaplazmozy granulocytarnej na terenie Polski.

Od 1988 roku Habilitantka bierze udział w prowadzeniu kursów podyplomowych dla lekarzy, biologów i farmaceutów w zakresie parazytologii organizowanych przez Centrum Kształcenia Podyplomowego w Warszawie. Prowadzi także zajęcia na kursach w ramach specjalizacji dla lekarzy i diagnostów laboratoryjnych. Prowadzi wykłady i ćwiczenia z przedmiotów: Parazytologia, Diagnostyka parazytologiczna, Problemy zdrowia środowiskowego dla studentów różnych kierunków studiów Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego. Współuczestniczy w opracowaniu programów nauczania tych przedmiotów oraz przygotowaniu pomocy dydaktycznych. Opracowuje programy nauczania oraz prowadzi zajęcia z przedmiotów: Parasitology i Tropical Medicine dla studentów anglojęzycznych Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego.

Podsumowanie - wniosek końcowy

Na podstawie szczegółowej analizy osiągnięcia naukowego oraz całościowego dorobku naukowego, a także oceny działalności dydaktyczno-organizacyjnej dr Beaty Biernat stwierdzam, że:

[1] przedłożony do oceny cykl siedmiu oryginalnych publikacji stanowiących odrębne osiągnięcie naukowe pod tytułem "Kleszcze *Ixodes ricinus* i *Dermacentor reticulatus* (Acari, Ixodida) jako wektory wirusów kleszczowego zapalenia mózgu i riketsji z grupy gorączek plamistych – wybrane aspekty epidemiologiczne" jest znacznym wkładem Habilitantki w rozwój dyscypliny naukowej, którą reprezentuje i świadczy o Jej dużej aktywności naukowej. Prace posiadają oryginalną wartość jakościową i wnoszą nowe wartości poznawcze;

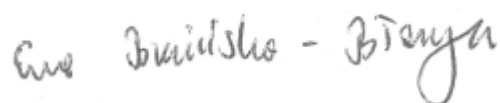
[2] Habilitantka ma udokumentowany dorobek naukowy, a wyniki badań własnych prezentowała na szeregu ważnych w Jej dyscyplinie naukowej konferencjach krajowych i zagranicznych;

[3] Habilitantka ma olbrzymie doświadczenie dydaktyczne i prowadzi nie tylko zajęcia ze studentami ale również liczne szkolenia podyplomowe; jest badaczem potrafiącym kierować badaniami naukowymi oraz współpracować z innymi zespołami badawczymi.

Reasumując stwierdzam, że dr n. med. Beata Biernat jest doskonale przygotowanym merytorycznie pracownikiem nauki z bardzo dobrym warsztatem metodycznym, co upoważnia Ją do prowadzenia samodzielnych badań. Jest bez wątpienia ekspertem w zakresie epidemiologii chorób transmisyjnych. W mojej ocenie osiągnięcie naukowe, dorobek publikacyjny, dydaktyczny i organizacyjny Habilitantki spełniają kryteria pozytywnej oceny

w postępowaniu o nadanie stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk medycznych, dyscyplina biologia medyczna. Dlatego przedkładam Wysokiej Radzie Wydziału Nauk o Zdrowiu Uniwersytetu Medycznego w Łodzi wniosek o dopuszczenie dr n. med. Beaty Biernat do dalszych etapów przewodu habilitacyjnego.

Łódź, 27 grudnia 2016 roku

Handwritten signature in black ink, reading "Ewa Brzezińska - Błaszczyk".

prof. dr hab. n. med. Ewa Brzezińska-Błaszczyk