

dr Joanna Werszko

Autoreferat

Znaczenie medyczne i epidemiologiczne wybranych gatunków krwio pijnych muchówek i ich potencjalna rola w transmisji patogenów

Warszawa 2024

1. Imię i nazwisko.

Joanna Werszko (nazwisko panińskie Hapunik)

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe lub artystyczne – z podaniem podmiotu nadającego stopień, roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej.

Stopień doktora nauk biologicznych nadany uchwałą Rady Naukowej Instytutu Parazytologii im. Witolda Stefańskiego w Warszawie na podstawie rozprawy doktorskiej „Charakterystyka molekularna świdrowców z podrodzaju *Megatrypanum* występujących u wybranych gatunków przeżuwaczy w Polsce”

Promotor pracy: Prof. dr hab. Grzegorz Karbowski

Recenzenci: Prof. dr hab. Alicja Majewska, Prof. dr hab. Edward Siński

Data uzyskania stopnia doktora: 17.06.2014 r.

Stopień magistra inżyniera uzyskałam na Wydziale Bioinżynierii Zwierząt, Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie, specjalność Biotechnologia w hodowli zwierząt. Temat pracy: „Udział interleukiny 1 α w regulacji wydzielania prostaglandyn w macicy krowy; potencjalne zastosowanie w regulacji cyklu i wczesnej ciąży”.

Promotorem pracy był dr n. wet. Mamadou Moussa Bah

Recenzent: Prof. dr hab. Władysław Kordan

Data uzyskania dyplomu: 3.07.2007r.

3. Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych lub artystycznych.

Od stycznia 2015 do maja 2023 roku: Instytut Parazytologii Polskiej Akademii Nauk im. W. Stefańskiego w Warszawie.

17.04.2008r.- 1.01.2015r. - asystent

1.01.2015r.- 31.06.2023r. - adiunkt

Od czerwca 2023 roku - Katedra i Zakład Biologii Ogólnej i Parazytologii, Warszawski Uniwersytet Medyczny

od 1.06. 2023 r. - do chwili obecnej- adiunkt

4. Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 z późn. zm.).

a. Tytuł osiągnięcia naukowego – jednotematyczny cykl publikacji objęty tytułem

„Znaczenie medyczne i epidemiologiczne wybranych gatunków krwio pijnych muchówek i ich potencjalna rola w transmisji patogenów”.

b. Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego

- IF podany według bazy Web of Science i raportu Biblioteki WUM

- liczba punktów MEiN podana według danych na stronie www.nauka.gov.pl i raportu Biblioteki WUM

- cytowania (bez autocytowań) podane według bazy Scopus dn. 6.12.2023 i raportu Biblioteki WUM

1. **Werszko J.**, Szewczyk T., Steiner-Bogdaszewska Ż., Laskowski Z., Karbowski G. Molecular detection of *Anaplasma phagocytophilum* in Blood-Sucking Flies (Diptera: Tabanidae) in Poland. *Journal of Medical Entomology*. 2019; 56(3):822-827, doi:10.1093/jme/tjy217.

IF = 1,925; cyt. 5; MEiN = 70 pkt.; Q1

Wkład habilitantki - autorstwo koncepcji badań, współudział w badaniach terenowych, analiza molekularna części zebranego materiału, opracowanie uzyskanych danych, współudział w interpretacji wyników badań, przygotowanie i złożenie manuskryptu, korespondencja z recenzentami, autorka korespondencyjna.

2. **Werszko J.**, Szewczyk T., Steiner-Bogdaszewska Ż., Wróblewski P., Karbowski G., Laskowski Z. Molecular detection of *Megatrypanum* trypanosomes in tabanid flies. *Medical and Veterinary Entomology*. 2020; 34(1), 69-73, doi: 10.1111/mve.12409.

IF = 2,739; cyt. 7; MEiN = 140 pkt.; Q1

Wkład habilitantki - autorstwo koncepcji badań, współudział w badaniach molekularnych, opracowanie uzyskanych danych, współudział w zbiorze muchówek, współudział w interpretacji wyników badań, przygotowanie i złożenie manuskryptu, korespondencja z recenzentami, autorka korespondencyjna.

3. **Werszko J.**, Steiner-Bogdaszewska Ż., Jeżewski W., Szewczyk T., Kuryło G., Wołkowycki M., Wróblewski P., Karbowski G. Molecular detection of *Trypanosoma* spp. in *Lipoptena cervi* and *Lipoptena fortisetosa* (Diptera: Hippoboscidae) and their potential role in the transmission of pathogens. *Parasitology*. 2020; 147: 1629-1635.

IF = 3,234; cyt. 15; MEiN = 100 pkt.; Q2

Wkład habilitantki - autorstwo koncepcji badań, pozyskanie środków do badań, przeprowadzenie etapu terenowego badań, współudział w badaniach molekularnych, opracowanie uzyskanych danych, współudział w interpretacji wyników badań, przygotowanie i złożenie manuskryptu, korespondencja z recenzentami, autorka korespondencyjna.

4. **Werszko J.**, Asman M., Witecka J., Steiner-Bogdaszewska Ż., Szewczyk T., Kuryło G., Wilamowski K., Karbowski G. The role of sheep ked (*Melophagus ovinus*) as potential vector of protozoa and bacterial pathogens. *Scientific Reports*. 2021; 11(1):15468, doi: 10.1038/s41598-021-94895-x.

IF = 4,997; cyt. 5; MEiN = 140 pkt.; Q1

Wkład habilitantki - autorstwo koncepcji badań, przeprowadzenie etapu terenowego badań, zbiór muchówek, współudział w analizie molekularnej zebranego materiału, opracowanie uzyskanych danych, współudział w interpretacji wyników badań, przygotowanie i złożenie manuskryptu, korespondencja z recenzentami, autorka korespondencyjna.

5. **Werszko J.**, Świsłocka M., Witecka J., Szewczyk T., Steiner-Bogdaszewska Ż., Wilamowski K., Asman M. The New Haplotypes of *Bartonella* spp. and *Borrelia burgdorferi* Sensu Lato Identified in *Lipoptena* spp. (Diptera: Hippoboscidae) Collected in the Areas of North-Eastern Poland. *Pathogens*. 2022; 11(10), 1111; hdoi.org/10.3390/pathogens11101111.

IF= 3,700; cyt.1; MEiN= 100 pkt.; Q2

Wkład habilitantki - autorstwo koncepcji badań, przeprowadzenie etapu terenowego badań, zbiór muchówek, współudział w analizie molekularnej zebranego materiału, opracowanie uzyskanych danych, współudział w interpretacji wyników badań, przygotowanie i złożenie manuskryptu, korespondencja z recenzentami, autorka korespondencyjna.

Łączna punktacja dla publikacji wchodzących w skład jednotematycznego cyklu publikacji wg części A Wykazu Czasopism Naukowych Ministerstwa Edukacji i Nauki (MEiN) wynosi **550 pkt.**

Sumaryczny Impact Factor (IF) dla publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego według listy Journal Citation Reports (JCR) raportu Biblioteki WUM, zgodnie z rokiem opublikowania wynosi: **16,595.**

Publikacje stanowiące osiągnięcie naukowe wraz z oświadczeniami współautorów, określającymi ich indywidualny wkład w powstawanie pracy, znajdują się w załączeniu.

c. Omówienie celu naukowego ww. prac i osiągniętych wyników

Wstęp

Owady stanowią największą grupę organizmów na świecie i charakteryzują się doskonałą zdolnością do eksploatacji różnych typów siedlisk, w tym siedlisk synantropijnych oraz nowych obszarów geograficznych. Wiele ważnych chorobotwórczych patogenów takich jak bakterie, pierwotniaki, krętki, riketsje, grzyby, robaki i wirusy przenoszonych jest przez stawonogi (wektory), co stanowi jeden z najpoważniejszych problemów zdrowia publicznego (Shanchez-Contreras i Vlisidou 2008). Szacuje się, że ok. 60% chorób zakaźnych człowieka to choroby odzwierzęce, a prawie 20% zgonów wśród ludzi jest spowodowanych przez choroby zakaźne, które są określane jako przenoszone przez wektory (Wilson i wsp., 2017). Do transmisji choroby dochodzi najczęściej, gdy owad wysysając krew przekazuje patogeny. Inną drogą zarażenia jest połknięcie przez kręgowca zainfekowanego nosiciela (bezkęgowca) lub gdy rana zostanie zanieczyszczona odchodami wektora zawierającymi materiał zakaźny. Niezależnie od drogi przenoszenia, owady są krytycznym ogniwem w transmisji chorób o znaczeniu medycznym. Liczne badania dotyczą roli kleszczy i komarów w przenoszeniu chorobotwórczych patogenów między dziką zwierzyną, zwierzętami gospodarskimi, zwierzętami towarzyszącymi i ludźmi. Natomiast niewiele wiadomo na temat krwiopijnych muchówek, szczególnie z rodziny Tabanidae i Hippoboscidae, jako wektorów.

Bąkowate (Diptera, Tabanidae) występują na całym świecie i obejmują około 4400 gatunków należących do 144 rodzajów (Pape i wsp., 2011), z czego w Polsce opisano około 50 gatunków (Trojan, 1959). Do gatunków ważnych z gospodarczego punktu widzenia zalicza się w szczególności muchówki należące do rodzaju *Chrysops* i *Tabanus*. W naszym kraju masowo występują dwie grupy muchówek: wiosenna i letnia (Trojan, 1959). Do tych pierwszych należą: *Tabanus confinis*, *T. fulvicornis*, *T. tropicus* i *T. maculicornis*. Druga grupa obejmuje *T. bromius*, *T.*

bovinus, *T. miki* i *Chryzozona pluvialis*. Samice tych owadów odżywiają się krwią ssaków, natomiast samce pyłkiem kwiatów i spadzią. Samice mogą wielokrotnie atakować swoich żywicieli w celu pobrania krwi, która jest konieczna by zapoczątkować rozwój jajników. Jaja składane są w pobliżu wody przeważnie na roślinach. Rozwój larw trwa długo, nawet dwa lata. Przepoczwarczenie przebiega w glebie. Żywicielami muchówek są głównie dzikie i domowe zwierzęta kopytne (m.in. jeleniowate, bydło domowe, konie). Często też atakują one również ludzi, a zatem mogą stanowić słabo poznany czynnik ryzyka przenoszenia chorób przez tę grupę owadów. Biorąc pod uwagę wielokrotne żerowanie tego samego osobnika na różnych gatunkach żywicieli, istnieje duże prawdopodobieństwo transmisji patogenu nie tylko zwierzę-zwierzę ale także zwierzę-człowiek lub nawet człowiek-człowiek. Co ma istotne znaczenie w szeroko dyskutowanej i wdrażanej strategii Jedno Zdrowie (One Health).

Z kolei rodzina narzępikowatych (Hippoboscidae) obejmuje ponad 213 gatunków pasożytujących zarówno na ptakach, jak i ssakach (Rahola i wsp., 2011). W Europie opisano 31 gatunków muchówek, a w Polsce potwierdzono dotychczas występowanie 10 gatunków narzępikowatych (Oboňa i wsp., 2019b). W polskiej faunie pasożytami ssaków są: narzępik koński (*Hippobosca equina*) pasożyt zewnętrzny głównie koni i innych dużych ssaków, w tym bydła, wpleszcz owczy (*Melophagus ovinus*) występujący u owiec oraz strzyżak jeleni (syn. jelenica) *Lipoptena cervi* i *Lipoptena fortisetosa*, których żywicielami specyficznymi są jeleniowate. Człowiek również może być narażony na ataki strzyżaków, których ukłucia mogą skutkować wystąpieniem ciężkiego zapalenia skóry (Maślanko i wsp., 2020) oraz stanowić ryzyko transmisji patogenów. Z dwóch stwierdzonych w Polsce gatunków *L. cervi* jest owadem rodzimym, natomiast *L. fortisetosa* jest inwazyjnym gatunkiem pochodzącym z Dalekiego Wschodu i wschodniej Syberii, który stopniowo rozprzestrzenił się w Europie (Borowiec 1984; Sokół i Michalski, 2015; Kowal i wsp., 2016). Wykazano, że na terenie Polski populacja *L. fortisetosa* stale rośnie, jednak miejsca jego występowania nie zostały dotychczas dobrze zbadane. Pierwsze obserwacje tego gatunku prowadzono na Dolnym Śląsku pod koniec lat 80. (Borowiec i Zatwarnicki, 1989), następnie odnotowano *L. fortisetosa* w latach 2007-2012 u jeleni bytujących na północy kraju oraz w Tatrach. (Cyzdik i Kadulski, 2009; Jedrysik i Kadulski; Kowal i wsp., 2009; Matysek i Kowal, 2014). W 2017 gatunek ten został wykryty na terenie Wielkopolski (Sokół i Gałęcki, 2017). W 2021r. występowanie *L. fortisetosa* stwierdzono na terenie Warmii i Mazur (Gałęcki i wsp., 2021).

Wśród wymienionych gatunków muchówek nastąpiła stopniowa utrata zdolności do lotu, na rzecz związania się z żywicielem (Kowal i wsp., 2016). Cykl rozwojowy przedstawicieli narzępikowatych przebiega z larworodnością i przeobrażeniem zupełnym (holometabolia) (Kowal i wsp., 2016). Rozwój larw od I do III stadium przebiega w jajowodzie samicy, gdzie wydzielina ściany tego narządu służy im jako źródło pokarmu. Przed przepoczwarczeniem larwy III stadium

opuszczają ciało samicy, opadają na podłoże lub przyczepiają się do sierści żywicieli i w ciągu około godziny przekształcają się w poczwarki typu bobówki (puparium). Bezskrzydły wpleszcz owczy jest na stałe związany ze swoim żywicielem, na którym przechodzi swój cały cykl rozwojowy. Samica wpleszcza na żywicielu składa w pełni rozwiniętą larwę, która mocno przyczepia się do wełny i po kilku godzinach przekształca się w poczwarkę typu bobówki, która następnie rozwija się w postać dojrzałą (Small, 2005). W pełni lotny narzępek koński jest pasożytem tymczasowym, który po połknięciu krwi opuszcza miejsce żerowania i przenosi się na innego osobnika lub na ziemię, gdzie składa larwy w trzecim stadium larwalnym (Kowal i wsp., 2016). Natomiast strzyżaki po wylądowaniu na żywicielu zrzucają skrzydła i do końca życia są już na stałe z nim związane. Po przepoczwarczeniu skrzydlate strzyżaki poszukują żywiciela, są jednak zdolne do lotu tylko na niewielkie odległości (Kowal i wsp., 2016).

Wiadomo, że niektóre gatunki krwio pijnych muchówek z rodziny Tabanidae i Hippoboscidae są odpowiedzialne za rozprzestrzenianie poważnych czynników chorobotwórczych takich jak: wirusy (m.in. wirusa zakaźnej anemii koni, wirusa polio, wirusa kleszczowego zapalenia mózgu); bakterii (tj. *Anaplasma marginale*, *A. phagocytophilum*, *Francisella tularensis*, *Borrelia burgdorferi*, *Bartonella* sp.); pierwotniaków (*Trypanosoma brucei*, *T. evansi*); nicieni (*Loa loa*). Wiele występujących w Europie owadów potencjalnie zdolnych do przenoszenia patogenów nie zostało dokładnie zbadanych pod tym kątem (Baldacchino i wsp., 2014). Natomiast w Polsce badania na temat roli krwio pijnych muchówek z rodziny Tabanidae i Hippoboscidae w rozprzestrzenianiu chorób transmisyjnych (vector-borne diseases) o znaczeniu medycznym i weterynaryjnym nie były prowadzone. To właśnie ciekawość i potrzeba uzupełnienia wiedzy z tego zakresu skłoniła mnie do podjęcia badań nad potencjalną rolą krwio pijnych muchówek z rodziny Tabanidae i Hippoboscidae w rozprzestrzenianiu: pierwotniaków z rodzaju *Trypanosoma* oraz bakterii z rodzaju *Anaplasma*, *Borrelia* i *Bartonella* w Polsce.

Borelioza z Lyme zwana też krętkowicą kleszczową, należy do najczęściej diagnozowanych chorób odkleszczowych w Europie. W Polsce z roku na rok obserwowany jest wzrost zachorowań na boreliozę wśród ludzi. Według danych Narodowego Instytutu Zdrowia Publicznego (Meldunki Epidemiologiczne, www.pzh.gov.pl) liczba zarejestrowanych przypadków systematycznie wzrasta. W 2020 roku zarejestrowano ich 12934, natomiast w 2022 roku liczba ta wzrosła do 17369. Za wywoływanie zmian chorobowych u ludzi odpowiedzialne są gatunki należące do kompleksu *Borrelia burgdorferi* sensu lato - *Borrelia burgdorferi* sensu stricto, *B. afzelii*, *B. garinii*, *B. bavariensis*, *B. spielmanii*, *B. bissetii*, *B. valaisiana*, *B. lusitaniae*, *B. bavariensis*, *B. kurtenbachii*. Na terenie Europy najczęściej stwierdzanymi gatunkami są *B. afzelii* i *B. garini*. Ze względu na brak specyficznych objawów oraz zróżnicowany obraz kliniczny diagnostyka w rozpoznawaniu boreliozy jest często trudna. Choroba ta przenoszona jest

głównie przez kleszcze z rodzaju *Ixodes*, a jej naturalnym rezerwuarem są gryzonie, ptaki oraz zwierzęta parzystokopytne.

Ludzka anaplazmoza granulocytarna (human granulocytic anaplasmosis; HGA) wywoływana jest przez Gram-ujemne bakterie *Anaplasma phagocytophilum* bytujące głównie w granulocytach obojętnochłonnych krwi obwodowej ludzi i zwierząt (Dumler i wsp., 2001). W Europie rezerwuarem tych bakterii są dziko żyjące zwierzęta kopytne oraz gryzonie, a wektorem kleszcze z rodzaju *Ixodes* (Dumler i wsp., 2005). Liczba przypadków ludzkiej anaplazmozy granulocytarnej stale rośnie. Według danych CDC (Centers for Disease Control and Prevention, USA) w samych Stanach Zjednoczonych w 2000 r. zgłoszonych zostało 273 przypadków anaplazmozy a w 2021 r. liczba ta wzrosła do 6723 (<https://www.cdc.gov/anaplasmosis/stats>). Prawdopodobnie przypadków jest znacznie więcej, jednak ze względu na mało charakterystyczne objawy, które często przypominają grypę (kaszel, bóle stawowo-mięśniowe, bóle głowy, wysoka temperatura) jest chorobą trudną do rozpoznania i różnicowania. Według najnowszych badań przeprowadzonych w Polsce na grupie 1375 pacjentów, anaplazmozę zdiagnozowano u 120 (8,7%) osób (Moniuszko-Malinowska i wsp., 2021). Oznacza to, że ludzka anaplazmoza granulocytarna w Europie nie jest tak rzadka, jak dotąd sądzono (Malinowska i wsp., 2021).

Bakterie z rodzaju *Bartonella* należą do pasożytów wewnątrzkomórkowych atakujących erythrocyty i komórki śródbłonna naczyń krwionośnych ssaków. Obecnie do rodzaju *Bartonella* należą 24 gatunki, a połowa z nich jest patogenna dla człowieka, m.in.: *B. henselae*, *B. alsatica*, *B. quintana*, *B. elizabethae*, *B. bacilliformis*, *B. alsatica*, *B. koehlerae*, *B. vinsonii* subsp. *Arupensis* (Dally i wsp., 1993; Fenollar i wsp., 2005; Minnick i wsp., 2009). Wywołują one bartonellozy, choroby o różnorodnym obrazie klinicznym między innymi: chorobę kociego pazura, bakteryjną naczyniakowatość, plamicę wątrobową i zapalenie wsierdza. Według badań Podsiadły i wsp., 2002, w Polsce w latach 1998-2001 notowano pojedyncze przypadki zachorowań wywołanych *Bartonella quintana*. Rezerwuarem bakterii z rodzaju *Bartonella* są koty, psy, zwierzęta hodowlane oraz dziko żyjące. Przenosicielami tych drobnoustrojów są krwio pijne stawonogi: kleszcze, pchły kocie (*Ctenocephalides felis*), moskity z rodzaju *Lutzomyia* oraz wszy odzieżowe (*Pediculus humanus corporis*). Wykazano również, że w transmisji *B. schoenbuchensis* mogą uczestniczyć krwio pijne muchówki - *Lipoptena cervi* (Hippoboscidae) (Dehio i wsp., 2004). W Polsce obecność *Bartonella* wykryto u aż 75,12% strzyżaków zebranych z jeleniowatych na terenie północno-wschodniej Polski (Szewczyk i wsp., 2017).

Trypanosoma czyli świdrowce to pierwotniaki o dużym znaczeniu medycznym i gospodarczym, szczególnie w strefie tropikalnej, gdzie odpowiadają za choroby ludzi i zwierząt (choroba Chagasa, trypanosomoza afrykańska). Natomiast niewiele wiadomo o gatunkach uważanych za słabo patogenne lub nieszkodliwe, szczególnie tych występujących u zwierząt

zamieszkujących strefę umiarkowaną. W Polsce dotychczas przeprowadzono jedynie badania nad świdrowcami z podrodzaj *Megatrypanum*, które występują u dużych ssaków z rzędu przeżuwaczy (Ruminantia). Do tej pory opisano 5 gatunków świdrowców: *Trypanosoma wrublewskii* u żubra (*Bison bonasus bonasus*), *T. theileri* u bydła domowego (*Bos taurus*), *T. stefanskii* u sarny (*Capreolus capreolus*), *T. cervi* u jelenia szlachetnego (*Cervus elaphus*) oraz *T. melophagium* u owcy (*Ovis aries*) (Kingston i Morton, 1975; Kingston i wsp., 1992). Wykazano, że ich przenosicielami są krwio pijne muchówki należące do rodziny Tabanidae, Hippoboscidae i Muscidae (Hoare, 1972; Böse i wsp., 1987; Böse i Petersen, 1991). Rozwój świdrowców odbywa się zewnątrzkomórkowo w obrębie żołądka, jelita cienkiego i prostego owada, z pominięciem ślinianek (Hoare, 1972). W Polsce nie prowadzono badań na temat roli krwio pijnych muchówek w przenoszeniu świdrowców.

Pomimo licznych badań nad rolą kleszczy i komarów w przenoszeniu chorobotwórczych patogenów, niewiele wiadomo o udziale krwio pijnych muchówek w rozprzestrzenianiu chorób ludzi i zwierząt, szczególnie tych słabo poznanych i diagnozowanych, tzw. chorób zaniedbanych (neglected diseases). W Polsce rola krwio pijnych muchówek w przenoszeniu chorobotwórczych mikroorganizmów między dziką zwierzyną, zwierzętami gospodarskimi, zwierzętami towarzyszącymi i ludźmi będąca istotną częścią koncepcji „Jedno Zdrowie” („One Health”) nie została poznana. Przeprowadzone przeze mnie badania pozwoliły na wykazanie potencjalnej roli tych owadów w transmisji chorób oraz ich możliwe wykorzystanie jako wskaźnika obciążenia środowiska patogenami.

Bibliografia:

1. Cydzik K., Kadulski S. Parasitic insects of the red deer (*Cervus elaphus* L.) in Northeastern Poland, [w:] Buczek A., Błaszak C. (red.): Stawonogi. Inwazje i ich ograniczanie. Akapit, Lublin 2009, s. 113-115.
2. Baldacchino F., Desquesnes M., Mihok S., Foil LD., Duvall G., Jittapalpong S. Tabanids: neglected subjects of research, but important vectors of disease agents! *Infection, Genetic and Evolution: journal of molecular epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases*. 2014; 28:596-615. doi: 10.1016/j.meegid.2014.03.029.
3. Borowiec L. Wpleszczowate – Hippoboscidae. Klucze do oznaczania owadów Polski. 1984; cz. 28, z. 21. Wydawnictwo PWN, Warszawa.
4. Borowiec L., Zatwarnicki T.: *Lipoptena fortisetosa* Maa, 1965 (Diptera, Hippoboscidae), nowy gatunek dla fauny Polski. *Przegląd Zoologiczny*. 1989, 33, 579-582.

5. Daly J., Worthington M., Brenner D., Moss C., Hollis D., Weyant R., Steigerwalt A., Weaver R., Daneshvar M., O'Connor S. *Rochalimaea elizabethae* sp. nov. isolate from a patient with endocarditis. *Journal of Clinical Microbiology*. 1993; 31, 872-881.
6. Dehio C., Sauder U., Hiestand R. Isolation of *Bartonella schoenbuchensis* from *Lipoptena cervi*, a blood-sucking arthropod causing deer ked dermatitis. *Journal of Clinical Microbiology*. 2004; 42, 5320-532.
7. Dumler J.S., Barbet A.F., Bekker C.P., Dasch G.A., Palmer G.H., Ray S.C., Rikihisa Y., Rurangirwa F.R. Reorganization of genera in the families Rickettsiaceae and Anaplasmataceae in the order Rickettsiales: unification of some species of *Ehrlichia* with *Anaplasma*, *Cowdria* with *Ehrlichia* and *Ehrlichia* with *Neorickettsia*, descriptions of six new species combinations and designation of *Ehrlichia equi* and 'HGE agent' as subjective synonyms of *Ehrlichia phagocytophila*. *International Journal Systematic Evolutionary Microbiology*. 2001; 51(6):2145-2165. doi: 10.1099/00207713-51-6-2145.
8. Dumler J.S., Choi K.S., Garcia-Garcia J.C., Barat N.S., Scorpio D.G., Garyu J.W., Grab D.J., Bakken J.S. Human granulocytic anaplasmosis and *Anaplasma phagocytophilum*. *Emerging Infectious Disease*. 2005; 11(12):1828-34. doi: 10.3201/eid1112.050898.
9. Fenollar F., Sire S., Raoult D. *Bartonella vinsonii* subsp. arupensis as an agent of blood culture – negative endocarditis in a human. *Journal of Clinical Microbiology*. 2005; 43, 945-947.
10. Gałęcki R., Jaroszewski J., Bakula T., Xuan X. Molecular characterization of *Lipoptena cervi* from environmental samples collected in Poland. *International Journal for Parasitology. Parasites and wildlife*. 2020; 25;14:41-47. doi: 10.1016/j.ijppaw.2020.12.005.
11. Gałęcki R., Xuan X., Bakula T., Jaroszewski J. Molecular Characterization of *Lipoptena fortisetosa* from Environmental Samples Collected in North-Eastern Poland. *Animals*. 2021; 11:1093.
12. Gibson W., Pilkington J. G. & Pemberton J. M. *Trypanosoma melophagium* from the sheep ked *Melophagus ovinus* on the island of St. Kilda. *Parasitology*. 2010; 137, 1799–1804.
13. Jędrzyk D., Kadulski S.: Parasitic arthropods of roe deer *Capreolus capreolus* (L.) of the region of Pojezierze Południowobałtyckie (The Southern Baltic Lake District), [w:] A. Buczek, C. Błaszak (red.): *Arthropods. The medical and economic importance*. Akapit, Lublin 2012, s. 95-103
14. Kowal J., Nosal P., Kornas S.. Biodiversity and importance of hippoboscids infection in cervids. *Medycyna Weterynaryjna*. 2016; 72(12):745-749 doi:10.21521/mw.5602.
15. Kowal J., Nosal P., Rościszewska M., Matysek M.: Nowe stanowiska *Lipoptena fortisetosa* Maa, 1965 (Diptera: Hippoboscidae) w Polsce. *Dipteron*. 2009; 25,27-29.

16. Madslie, K., Ytrehus, B., Vikøren, T., Malmsten, J., Isaksen, K., Hygen, H. O., & Solberg, E. J. Hair-loss epizootic in moose (*Alces alces*) associated with massive deer ked (*Lipoptena cervi*) infestation. *Journal of Wildlife Diseases*. 2011; 47(4), 893-906.
17. Maślanko W., Bartosik K., Raszewska-Famielec M., Szwał E., Asman M. Exposure of Humans to Attacks by Deer Keds and Consequences of Their Bites- A Case Report with Environmental Background. *Insects*. 2020; 3;11(12):859. doi: 10.3390/insects11120859.
18. Matysek M., Kowal J.: Dwa nowe gatunki muchówek. *Tatry*. 2014; 48, 64-65.
19. Minnick M., Battisti J. Pestilence, persistence and pathogenicity: infection strategies of *Bartonella*. *Future Microbiology*. 2009; 4, 743-758.
20. Moniuszko-Malinowska A., Dunaj J., Andersson M.O., Chmielewski T., Czupryna P., Groth M., Grygorczuk S., Zajkowska J., Kondrusik M., Kruszewska E., Pancewicz S. Anaplasmosis in Poland - analysis of 120 patients. *Ticks and Tick Borne Disease*. 2021; 12(5):101763.
21. Oboňa J., Sychra O., Greš S., Heřman P., Manko P., Roháček J., Šestáková A., Šlapák J., Hromada M. A revised annotated checklist of louse flies (Diptera, Hippoboscidae) from Slovakia. *ZooKeys*. 2019b; 862: 129–152. doi.org/10.3897/zookeys.862.25992.
22. Pape T., Blagoderov V., Mostovski M.B. Order Diptera Linnaeus, 1758. In: Zhang Z-Q (Ed.) *Animal biodiversity: an outline of higher-level classification and survey of taxonomic richness*. *Zootaxa*. 201; 3148(1): 222–229. doi:10.11646/zootaxa.3148.1.42.
23. Rahola N., Goodman S.M., Robert V. The Hippoboscidae (Insecta: Diptera) from Madagascar, with new records from the „Parc National de Midongy Befotaka”. *Parasite*. 2011; 18: 127–140. 10.1051/parasite/2011182127.
24. Reeves W.K., Lloyd J.E. Louse flies, keds, and bat flies (Hippoboscoidea). *Medical and Veterinary Entomology*. 2019; 421–438 doi.org/10.1016/B978-0-12-814043-7.00020-0.
25. Sanchez-Contreras M., Vlisidou I. The diversity of insect-bacteria interactions and its applications for disease control. *Biotechnology Genetic Engineering Reviews*. 2008; 25:203-43. doi: 10.5661/bger-25-203.
26. Sharma H.C., Dhillon M.K. 2018. Climate Change Effects on Arthropod Diversity and its Implications for Pest Management and Sustainable Crop Production. *Agronomy Monographs*. doi.org/10.2134/agronmonogr60.2016.0019.
27. Small R. W. A review of *Melophagus ovinus* (L.), the sheep ked. *Veterinary Parasitology*. 2005; 130, 141–155.
28. Sokół R., Michalski M.M. Occurrence of *Hippobosca equina* in Polish primitive horses during the grazing season. *Annals of Parasitology*. 2015; 61: 118–122.
29. Trojan P. Klucze do oznaczania owadów Polski. Tabanidae Śleپaki (Insecta: Diptera). 1959; 27. Wydawnictwo PWN Warszawa.

30. Wilson A.J., Morgan E.R., Booth M., Norman R., Perkins S.E., Hauffe H.C., Mideo N., Antonovics J., McCallum H., Fenton A.. What is a vector? *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences.* 2017; 5;372(1719):20160085. doi: 10.1098/rstb.2016.0085.
31. Zhang QX, Wang Y, Li Y, Han SY, Wang B, Yuan GH, Zhang PY, Yang ZW, Wang SL, Chen JY, Zhong HS, Han XQ, He HX. Vector-Borne Pathogens with Veterinary and Public Health Significance in *Melophagus ovinus* (Sheep Ked) from the Qinghai-Tibet Plateau. *Pathogens.* 2021;10(2):249. doi: 10.3390/pathogens10020249.

Cel naukowy prowadzonych badań

Celem badań będących przedmiotem niniejszej rozprawy habilitacyjnej było:

1. Ocena roli krwio pijnych muchówek jako potencjalnych wektorów rozprzestrzeniających patogeny o znaczeniu medycznym i weterynaryjnym.
2. Analiza i identyfikacja materiału genetycznego w celu wykrycia *Anaplasma phagocytophilum*, *Borrelia burgdorferi* s.l., *Bartonella* spp., i *Trypanosoma* spp. u wybranych gatunków muchówek z rodziny Tabanidae i Hippoboscidae.
3. Analiza różnorodności genetycznej ww. patogenów w oparciu o wybrane markery genetyczne.
4. Zbadanie możliwości transstadialnego (wertikalnego) przenoszenia badanych patogenów u krwio pijnych muchówek.

Publikacja 1.

Werszko J., Szewczyk T., Steiner-Bogdaszewska Ż., Laskowski Z., Karbowski G. Molecular detection of *Anaplasma phagocytophilum* in Blood-Sucking Flies (Diptera: Tabanidae) in Poland. *Journal of Medical Entomology.* 2019; 56 (3):822-827, doi:10.1093/jme/tjy217.

Celem prezentowanej pracy było molekularne wykrycie i charakterystyka bakterii *Anaplasma phagocytophilum* w krwio pijnych muchówkach z rodziny Tabanidae. Muchówki z rodziny Tabanidae należące do trzech gatunków: *Haematopota pluvialis*, *Tabanus distinguendus* i *T. bromius* zebrano z terenów Polski północno-wschodniej (Puszcza Białowieska, ferma jeleniowatych w Kosewie Górnym). DNA *Anaplasma phagocytophilum* wykryto u wszystkich badanych gatunków muchówek. Ogólna prevalencja zakażenia wynosiła 24,39% (10/41). W badanej grupie *H. pluvialis* ekstensywność zakażenia wyniosła 1,35% (5/27). Najniższy wskaźnik infekcji *A. phagocytophilum* wykazano u trzech z dziewięciu *T. distinguendus* i u dwóch

z sześciu *T. bromius*. Uzyskano cztery sekwencje nukleotydowe, które sklasyfikowano jako fragment genu *16S rDNA A. phagocytophilum* (397 pz). Otrzymane sekwencje nukleotydowe *A. phagocytophilum* z *H. pluvialis* (GenBank:MH844585, MH844586, MH844587) i sekwencja otrzymana z *T. distinguendus* (MH844584) były identyczne ze szczepem *A. phagocytophilum* powszechnie występującym w Stanach Zjednoczonych, Chorwacji, Austrii, Korei Południowej, Japonii, Chinach, Turcji, Rosji, Białorusi, Szwajcarii i Norwegii; wśród różnorodnych gospodarzy: kleszcze, gryzonie, bydło domowe, żubry, owce, lisy, jenoty oraz człowiek. Wykazano, że w Polsce zakażenie *A. phagocytophilum* u kleszczy pospolitych (*Ixodes ricinus*) jest wysokie i w zależności od regionu wynosi od 0,9% do 26,6% (Tab.1).

Tabela 1. Odsetek kleszczy zakażonych *Anaplasma phagocytophilum* w Polsce (uwzględnione zostały wszystkie stadia rozwojowe).

Region Polski	Prewalencja zakażenia (%)	Autorzy
północny		
	0.9	Stańczak i wsp., 2015
	14.0	Stańczak i wsp., 2004
	19.2	Stańczak i wsp., 2002
północno-zachodni		
	0.9	Asman i wsp., 2017
	4.1	Skotarczak i wsp., 2006
	4.5	Skotarczak i wsp., 2003
	4.6	Rymaszewska i wsp., 2005
północno-wschodni		
	8.7	Grzeszczuk i wsp., 2004a
	14.1	Grzeszczuk i wsp., 2006
centralny		
	3.0-6.0	Welc-Falęciak i wsp., 2014
	8.7-14.5	Sytykiewicz i wsp., 2012
wschodni		
	3.4-12.1	Sytykiewicz i wsp., 2012
	2.8-10.2	Chmielewska-Badora i wsp., 2007
	13.1	Tomasiewicz i wsp., 2004
	4.9	Wójcik-Fatla i wsp., 2009

	1.1-1.3	Welc-Falęciak i wsp., 2014
	14.5	Grzeszczuk, 2006
	10.3	Dzięgiel i wsp., 2014
południowy		
	26.6	Asman i wsp., 2013
	5.8	Rozwadowska i wsp., 2018
południowo-zachodni		
	1.2	Witecka i wsp., 2018

W regionie północno-wschodniej Polski wysoki wskaźnik infekcji *A. phagocytophilum* 1,5%- 50,9% zaobserwowano również u jeleniowatych (Hapunik i in. 2011). Dziko żyjące zwierzęta kopytne są naturalnymi rezerwuarami tych bakterii i zapewniają stałą obecność i krążenie *A. phagocytophilum* w środowisku naturalnym. Kwestia rezerwuaru zoonotycznego jest znacznie bardziej skomplikowana, ze względu na istnienie całego szeregu genomogatunków i szczepów, wszystkich przenoszonych przez kleszcza pospolitego, ale różniących się preferencjami względem kręgowca i patogennością dla człowieka (Karbowski i wsp., 2016). Ze względu na fakt, że kleszcz pospolity jest gatunkiem poliksenicznym, może atakować szereg żywicieli i przenosić różne szczepy patogenów do szerokiego zakresu żywicieli. Taki mechanizm może wyjaśniać podobieństwo pomiędzy sekwencjami *A. phagocytophilum* otrzymanymi od muchówek z rodziny Tabanidae i sekwencjami wyizolowanymi od zwierząt mięsożernych i gryzoni.

Przeprowadzone przeze mnie badania molekularne po raz pierwszy w Europie potwierdziły obecność materiału genetycznego *A. phagocytophilum* u trzech gatunków muchówek z rodziny Tabanidae: *Haematopota pluvialis*, *Tabanus bromius* i *Tabanus distinguendus*. Otrzymane wyniki wskazują, że bąkowate mogą być potencjalnymi przenosicielami tych wewnątrzkomórkowych pasożytów. Wysoki odsetek infekcji *A. phagocytophilum* w badanej grupie muchówek wskazuje, że mogą one zostać wykorzystane jako wskaźnik obciążenia środowiska patogenami. Bąkowate mogą zostać wykorzystane jako dodatkowy materiał biologiczny, przy pomocy którego będzie można określić prewalencje przenoszonych przez nie patogenów, co może pomóc w przewidywaniu rozmieszczenia chorób, a także oszacować ryzyko zakażenia u zwierząt i ludzi w północno-wschodniej Polsce.

Bibliografia:

1. Asman M., Nowak M., Cuber P., Strzelczyk J., Szilman E., Szilman P., Trapp G., Siuda K., Solarz K., Wiczowski A. The risk of exposure to *Anaplasma phagocytophilum*, *Borrelia burgdorferi* sensu lato, *Babesia* sp. and co-infections in *Ixodes ricinus* ticks on the territory

- of Niepolomice Forest (southern Poland). *Annals of Parasitology*. 2013; 59 (1) p13-19.
2. Asman M., Nowak-Chmura M, Solarz k., Szilman E., Semla M., Zyśk B. *Anaplasma phagocytophilum*, *Babesia microti*, *Borrelia burgdorferi* sensu lato, and *Toxoplasma gondii* in *Ixodes ricinus* (Acari, Ixodida) ticks collected from Slowinski National Park (Northern Poland). *Journal of Vector Ecology*. 2017; 42 (1): 200-202. doi: 10.1111/jvec.12258.
 3. Baldacchino F., Desquesnes M., Mihok S., Foil LD., Duvallet G., Jittapalapong S. Tabanids: neglected subjects of research, but important vectors of disease agents! *Infection, Genetic and Evolution: journal of molecular epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases*. 2014; 28:596-615. doi: 10.1016/j.meegid.2014.03.029.
 4. Cao W.C., Zhan L., He J., Foley J.E., DE Vlas S. J., Wu X.M., Yang H., Richardus J. H., Habbema J.D. Natural *Anaplasma phagocytophilum* infection of ticks and rodents from a forest area of Jilin Province, China. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 2006; 75: 664–668.
 5. Chmielewska-Badora J., Zwoliński J., Cisak E., Wójcik-Fatla A., Buczek A., Dutkiewicz J. Prevalence of *Anaplasma phagocytophilum* in *Ixodes ricinus* ticks determined by polymerase chain reaction with two pairs of primers detecting 16S rRNA and ankA genes. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*. 2007; 14 (2): 281-285.
 6. Dumler J. S., Choi K. S., Garcia-Garcia J. C., Barat N. S., Scorpio D. G., Garyu J. W., Grab D. J., Bakken J. S. Human granulocytic anaplasmosis and *Anaplasma phagocytophilum*. *Emerging Infectious Disease*. 2005; 11: 1828–1834.
 7. Foil L. D. Tabanids as vectors of disease agents. *Parasitology Today*. 1989; 5: 88–96.
 8. Grzeszczuk A. and J. Stańczak. Highly variable year-to-year prevalence of *Anaplasma phagocytophilum* in *Ixodes ricinus* ticks in north-eastern Poland: a 4-year follow-up. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2006; 1078:309-11.
 9. Grzeszczuk A., Stańczak J., Kubica-Biernat B., Racewicz M., Kruminis-Łozowska W., Prokopowicz D. Human anaplasmosis in north-eastern Poland: seroprevalence in humans and prevalence in *Ixodes ricinus* ticks. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*. 2004a; 11 (1): 99-103.
 10. Hapunik J., Vichová B., Karbowski G., Wita I., Bogdaszewski M., Peřko B. Wild and farm breeding cervids infections with *Anaplasma phagocytophilum*. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*. 2011; 18: 73–77.
 11. Prokopowicz D. 1995. Choroby przenoszone przez kleszcze. Wydawnictwa Fundacji Büchnera, Warszawa.
 12. Rozwadowska B., Albertyńska M., Dudek S., Jasik K.P., Mendera-Bożek U. Obecność *Anaplasma phagocytophilum* u kleszczy z terenu województwa Śląskiego [Prevalence of *Ana-*

- plasma phagocytophilum* in ticks from the Silesian Voivodeship]. In: Buczek A., Błaszak Cz (eds): Arthropods. At the beginning of the new century. Koliber, Lublin. 2018; 131-137.
13. Rymaszewska A. Identification of *Anaplasma phagocytophilum* on the basis of a fragment of the 16S rDNA gene. *Folia Biol (Krakow)*. 2005; 53 (3-4): 199-203.
 14. Skotarczak B., Rymaszewska A., Wodecka B., Sawczuk M. Molecular evidence of coinfection of *Borrelia burgdorferi* sensu lato, human granulocytic ehrlichiosis agent, and *Babesia microti* in ticks from northwestern Poland. *Journal of Parasitology*. 2003; 89: 194-196.
 15. Skotarczak B., Rymaszewska A., Wodecka B., Sawczuk M., Adamska M., Maciejewska A. PCR detection of granulocytic *Anaplasma* and *Babesia* in *Ixodes ricinus* ticks and birds in west-central Poland. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*. 2006; 13(1):21-3.
 16. Stańczak J., Racewicz M., Kruminis-Łozowska W., Kubica- Biernat B. Coinfection of *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae) in northern Poland with the agents of Lyme borreliosis (LB) and human granulocytic ehrlichiosis (HGE). *International Journal of Medical Microbiology*. 2002; 291(33), 198-201.
 17. Stańczak J., Gabre R.M., Kruminis-Łozowska W., Racewicz M., Kubica-Biernat B. *Ixodes ricinus* as a vector of *Borrelia burgdorferi* sensu lato, *Anaplasma phagocytophilum* and *Babesia microti* in urban and suburban forests. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*. 2004; 11 (1): 109-114.
 18. Stańczak J., Cieniuch S., Lass A., Biernat B., Racewicz M. Detection and quantification of *Anaplasma phagocytophilum* and *Babesia* spp. in *Ixodes ricinus* ticks from urban and rural environment, northern Poland, by real-time polymerase chain reaction. *Experimental and Applied Acarology*. 2015; 66 (1): 63-81. doi: 10.1007/s10493-015-9887-2.
 19. Sytykiewicz H., Karbowski G., Hapunik J., Szpechciński A., Supergan-Marwicz M., Goławska S., Sprawka I., Czerniewicz P. Molecular evidence of *Anaplasma phagocytophilum* and *Babesia microti* co-infections in *Ixodes ricinus* ticks in central-eastern region of Poland. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*. 2012; 19 (1): 45-49.
 20. Tomaszewicz K., Modrzewska R., Buczek A., Stańczak J., Maciukaję J. The risk of exposure to *Anaplasma phagocytophilum* infection in mid-eastern Poland. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*. 2004; 11: 261-264.
 21. Trojan, P. 1979. Tabanidae Śleپaki (Insecta: Diptera). Fauna Polski, Wydawnictwo PWN 426 Warszawa; Poland.
 22. Welc-Falęciak R., Kowalec M., Karbowski G., Bajer A., Behnke M.J., Siński E. Rickettsiaceae and Anaplasmataceae infections in *Ixodes ricinus* ticks from urban and natural forested areas of Poland. *Parasites and Vectors*. 2014; 7:121. doi: 10.1186/1756-3305-

7-121.

23. Witecka J., Asman M., Solarz K., Zwonik A. The occurrence of *Babesia microti* and *Anaplasma phagocytophilum* in *Ixodes ricinus* ticks collected in the selected areas of the Opolskie Province. A preliminary study. The 20th International Symposium Parasitic and Allergic Arthropods - medical and sanitary significance. Janowiec, Poland, June 5-7, 2018: 78.
24. Wójcik-Fatla A., Szymańska J., Wdowiak L., Buczek A., Dutkiewicz J. Coincidence of three pathogens (*Borrelia burgdorferi* sensu lato, *Anaplasma phagocytophilum* and *Babesia microti*) in *Ixodes ricinus* ticks in the Lublin macroregion. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*. Med. 2009; 16 (1): 151-158.

Publikacja 2.

Werszko J., Szewczyk T., Steiner-Bogdaszewska Ż., Wróblewski P., Karbowski G., Laskowski Z. Molecular detection of *Megatrypanum* trypanosomes in tabanid flies. *Medical and Veterinary Entomology*. 2020; 34(1), 69-73, doi: 10.1111/mve.12409.

Świdrowce z rodzaju *Trypanosoma* należą do najważniejszych i najbardziej rozpowszechnionych pasożytów na świecie, wywołujących poważne choroby u ludzi i zwierząt. Natomiast mało poznane są gatunki świdrowców występujące u zwierząt zamieszkujących strefę umiarkowaną i uważane za mało lub niepatogeniczne. Świdrowce z podrodzaju *Megatrypanum* zostały zidentyfikowane u wielu gatunków zwierząt na całym świecie. W Polsce, jak dotąd, prowadzono jedynie badania nad świdrowcami z podrodzaju *Megatrypanum* występującymi u dużych przeżuwaczy. Rola krwio pijnych muchówek z rodziny Tabanidae jako wektorów świdrowców jest słabo poznana. W Polsce nie prowadzono badań nad tym zagadnieniem. Celem badań w prezentowanej pracy była molekularna identyfikacja świdrowców z podrodzaju *Megatrypanum* w krwio pijnych muchówkach z rodziny Tabanidae.

W trakcie badań muchówki z rodziny Tabanidae zebrano na terenie Puszczy Białowieskiej (n=29) oraz na Fermie Jeleniowatych w Kosewie Górnym (n=66). Zidentyfikowano siedem gatunków muchówek: *Hamatopota pluvialis*, *Tabanus autumnalis*, *T. bovinus*, *T. distinguendus*, *T. apricus*, *T. bromius* and *T. maculicornis*. Spośród tych siedmiu gatunków pięć (*H. pluvialis*, *T. autumnalis*, *T. bovinus*, *T. bromius* i *T. maculicornis*) występuje na Pojezierzu Mazurskim (Graczyk i Giłka, 2002), natomiast pozostałe dwa (*T. distinguendus* i *T. apricus*) zostały wykryte po raz pierwszy na tym obszarze. *Tabanus distinguendus* występował dotychczas w centralnej

i północno-zachodniej Polsce, a *T. apricus* w południowej części kraju (Trojan, 1959). Ogólna ekstensywność zarażenia świdrowcami w badanej grupie owadów była wysoka i wynosiła 33,68% (32/95). Najwyższy wskaźnik infekcji wykazano u *H. pluvialis* (57,14%; 20/35). Niską prewalencję zarażenia wykazano w grupie *T. bromius* 17,95% (7/39). Świdrowce wykryto u trzech z pięciu przebadanych *T. maculicornis* oraz u dwóch z dwunastu *T. distinguendus* (Tab. 1).

Tabela 1. Zarażenie *Trypanosoma* spp

Gatunek	Prewalencja zarażenia (%) / liczba zarażonych muchówek/liczba badanych muchówek	Miejsca zbioru muchówek
<i>Haematopota pluvialis</i>	57,14% (20/35)	Białowieża Primeval Forest
<i>Tabanus autumnalis</i>	0 % (0/1)	Białowieża Primeval Forest
<i>Tabanus bovinus</i>	0 % (0/1)	Białowieża Primeval Forest
<i>Tabanus distinguendus</i>	16,67% (2/12)	Deer Farm in Kosewo Górne
<i>Tabanus bromius</i>	17,95% (7/39)	Deer Farm in Kosewo Górne
<i>Tabanus apricus</i>	0% (0/2)	Deer Farm in Kosewo Górne
<i>Tabanus maculicornis</i>	60% (3/5)	Deer Farm in Kosewo Górne
<i>Haematopota pluvialis</i>	37,5% (3/8)	Deer Farm in Kosewo Górne

Wyniki badań własnych są zbliżone do rezultatów uzyskanych przez Böse i wsp. (1987), którzy potwierdzili wysoką ekstensywność zarażenia (2,6-39%) świdrowcami u muchówek z rodziny Tabanidae w Niemczech. Podobnie Ganyukova i wsp. (2018) wykazali wysoką ekstensywność zarażenia świdrowcami podobnymi do gatunku *T. theileri* (33%) w północno-zachodniej Rosji. Wysoką ekstensywność zarażenia *Trypanosoma theileri* (59,3%) potwierdzili Vot'ypka i wsp. (2015) u zebranych w Afryce muchówek z rodziny Tabanidae. W trakcie badań otrzymano cztery sekwencje nukleotydowe fragmentu genu 18S rDNA *Trypanosoma* sp. Sekwencje uzyskane z *T. distinguendus* (MK088729) i *T. maculicornis* (MK088728) były identyczne z sekwencją *Trypanosoma theileri* otrzymaną od muchy tse-tse (*Glossina fuscipes fuscipes*) z Afryki (KR024688) i *Trypanosoma cf. cervi* (JX178193) otrzymaną od mulaka białoogoniastego (*Odocoileus virginianus*) ze Stanów Zjednoczonych. Natomiast dwie sekwencje nukleotydowe

Trypanosoma sp. uzyskane od *H. pluvialis* były identyczne z izolatami *Trypanosoma* sp. opisaną u daniela (*Dama dama*) z Niemiec (GenBank AJ009165) i Polski (GenBank KJ195885), jak i z izolatami otrzymanymi od jelenia sika (*Cervus nippon*) (GenBank: KJ195879) i jelenia szlachetnego (*Cervus elaphus*) (GenBank: KJ397590) z Polski. Uzyskane izolaty były również identyczne z sekwencją nukleotydową *Trypanosoma* sp. otrzymaną od muchy piaskowej (*Phlebotomus perfilliewi*) z Włoch. Kosmopolityczny gatunek *T. theileri* występuje w krwi dzikich i domowych przeżuwaczy. Poprzednie analizy filogenetyczne wykazały, że w obrębie tego gatunku występują dwie linie genetyczne *T. theileri* (TthI) i (TthII) a także blisko spokrewnione genotypy (Garcia i wsp. 2011; Fischer i wsp., 2013). W przedstawionych badaniach wykazano, że na badanym fragmencie genu *18S* rRNA sekwencje zgodne w 100% i/lub minimalnie się różniące grupują się, w efekcie czego otrzymano dwie grupy/linie genetyczne *Trypanosoma*: TthI do, której sklasyfikowano sekwencje otrzymane od *T. distinguendus* i *T. maculicornis* oraz grupę TthII z, którą spokrewnione były sekwencje uzyskane od *H. pluvialis* (Tab. 2).

Tabela 2. Miejsca zmiennej sekwencji nukleotydowych fragmentu genu *18S* rRNA *Trypanosoma* spp. otrzymanych z *Tabanus maculicornis*, *T. distinguendus* i *Haematopota pluvialis* dopasowanych do sekwencji pochodzących z GeneBank (Blast). Numeracja pozycji nukleotydów opiera się na sekwencji genu *18S* rRNA *T. theileri* (numer dostępu GenBank: AB007814).

Gatunki <i>Trypanosoma</i>	Kraj	Numer dostępu GenBank	Żywiciel	Pozycja nukleotydowa															Linie genetyczn e/grupy <i>T.theileri</i>
				875	990	998	999	1001	1005	1006	1007	1008	1009	1010	1016	1309	1315	1321	
<i>Trypanosoma theileri</i>	Afryka	KR024688	<i>Glossina fuscipes fuscipes</i>	T	T	T	T	T	A	T	C	T	T	T	A	T	A	G	ThI
<i>T. sp.</i>	Polska	MK088728	<i>Tabanus maculicornis</i>	T	T	T	T	T	A	T	C	T	T	T	A	T	A	G	
<i>T. sp.</i>	Polska	MK088729	<i>Tabanus distinguendus</i>	T	T	T	T	T	A	T	C	T	T	T	A	T	A	G	
<i>T. sp.</i>	Rosja	MK156794	<i>Hybomitra tarandina</i>	T	T	T	T	T	A	T	T	T	T	A	T	A	G		
<i>T. sp.</i>	Rosja	MK156793	<i>Chrysops divaricatus</i>	T	T	T	T	T	A	T	T	T	T	A	T	A	G		
<i>T. sp.</i>	Rosja	MK156792	<i>Hybomitra muehlfeldi</i>	T	T	T	T	T	A	T	T	T	T	A	T	A	G		
<i>T. cf. cervi</i>	USA	JX178192	<i>Odocoileus virginianus</i>	C	T	T	T	T	A	T	T	T	T	-	A	T	A	G	
<i>T. sp.</i>	Niemcy	AJ009165	<i>Cervus dama</i>	T	T	A	T	C	-	T	T	C	T	-	A	C	G	A	ThII
<i>T. theileri</i>	Polska	KJ397591	<i>Bison bonasus</i>	T	T	A	T	C	-	-	T	T	T	C	A	C	G	A	
<i>T. sp.</i>	Rosja	MK156791	<i>Hybomitra tarandina</i>	T	T	A	T	C	-	T	T	T	T	-	A	C	G	A	
<i>T. theileri</i>	Szkocja	AJ009163	<i>Bos taurus</i>	T	T	A	T	C	-	T	T	T	C	-	A	C	G	A	
<i>T. sp.</i>	Włochy	KY681802	<i>Phlebotomus perfilliewi</i>	T	T	A	T	C	T	T	C	T	-	-	A	C	G	A	
<i>T. sp.</i>	Polska	MK088730	<i>Haematopota pluvialis</i>	T	T	A	T	C	T	T	C	T	-	-	A	C	G	A	
<i>T. melophagium</i>	Szkocja	FN666409	<i>Melophagus ovinus</i>	T	G	A	C	C	A	T	T	T	T	-	G	C	G	A	
<i>T. melophagium</i>	Chorwacja	HQ664912	<i>Melophagus ovinus</i>	T	G	A	C	C	A	T	T	T	T	-	G	C	G	A	

Wyniki przeprowadzonych badań wskazują, że muchówki z rodziny Tabanidae są nosicielami *Trypanosoma (Megatrypanum)*. Po raz pierwszy materiał genetyczny świdrowców zidentyfikowano u gatunku *Hamatopota pluvialis* i *Tabanus bromius* w Polsce oraz u *T. maculicornis* i *T. distinguendus* na świecie.

Bibliografia:

1. Baldacchino F.M., Desquesnes S., Mihok L.D., Foil G., Duvallet S., Jittapalapon S. (Tabanids: neglected subjects of research, but important vectors of disease agents! Infection, Genetics and Evolution. 2014; 28, 596–615.
2. Böse R., Friedhoff K.T., Olbrich S. Transmission of *Trypanosoma theileri* to cattle by Tabanidae. Parasitology Research. 1987; 73, 421–424.
3. Böse R., Petersen K. *Lipoptena cervi* (Diptera), a potential vector of *Megatrypanum* trypanosomes of deer (Cervidae). Parasitology Research. 1991; 77, 723–725.
4. Fisher A.C., Schuster G., Cobb W.J. et al. Molecular characterization of *Trypanosoma (Megatrypanum)* spp. infecting cattle (*Bos taurus*), white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*), and elk (*Cervus elaphus canadensis*) in the United States. Veterinary Parasitology. 2013; 197, 29–42.
5. Ganyukova A.I., Zolotarev A.V., Malysheva M.N., Frolov A.O. First record of *Trypanosoma theileri*-like flagellates in horse-flies from Northwest Russia. Protistology. 2018; 12, 223–230.
6. Garcia H.A., Rodrigues A.C., Martinkovi'c F. et al. Multilocus phylogeographical analysis of *Trypanosoma (Megatrypanum)* genotypes from sympatric cattle and water buffalo populations supports evolutionary host constraint and close phylogenetic relationships with genotypes found in other ruminants. International Journal for Parasitology. 2011; 41, 1385–1396.
7. Graczyk D., Gilka W. Bąki (Diptera: Tabanidae) miejscowości Wyskok na Mazurach. Wiadomości Entomologiczne. 2002; 21, 35–37.
8. Hoare C.A. 1972. The Trypanosomes of Mammals. Blackwell Oxford and Edinburgh: Blackwell Scientific Publications.
9. Kingston, N., Morton, J.K. *Trypanosoma cervi* sp. n. from elk (*Cervus canadensis*) in Wyoming. Journal of Parasitology. 1975; 61, 17–23.
10. Kingston N., Drózd J., Rutkowska M., Wita I., Maki L. Redescription of *Trypanosoma (Megatrypanum) wrublewskii* Wladimiroff et Yakimoff, 1909 from the European bison,

Bison bonasus L., from Puszcza Białowieska (Poland). *Acta Parasitologica*. 1992; 37, 163–168.

11. Trojan P. 1959. Klucze do oznaczania owadów Polski. cz. 28, z. 21: Ślelaki Tabanidae.
12. Vot'ypka J., Rádrová J., Skalick'y T. et al. A tse-tse and tabanid fly survey of African great apes habitats reveals the presence of a novel trypanosome lineage but the absence of *Trypanosoma brucei*. *International Journal for Parasitology*. 2015; 45, 741–748.

Publikacja 3.

Werszko J., Steiner-Bogdaszewska Ż., Jeżewski W., Szewczyk T., Kuryło G., Wołkowycki M., Wróblewski P., Karbowski G. Molecular detection of *Trypanosoma* spp. in *Lipoptena cervi* and *Lipoptena fortisetosa* (Diptera: Hippoboscidae) and their potential role in the transmission of pathogens. *Parasitology*. 2020; 147, 1629-1635.

Według danych literaturowych świdrowce (*Megatrypanum*) nie wykazują specyficzności względem gatunku owada i mogą zarażać różne gatunki krwio pijnych muchówek (Böse i in., 1987), dlatego też naszą hipotezą było to, że krwio pijne muchówki z rodziny Hippoboscidae mogą być nosicielami tych pierwotniaków w środowisku. Większość badań nad strzyżakami (*Lipoptena cervi* i *Lipoptena fortisetosa*) prowadzono głównie w Europie Północnej. Natomiast w Europie Środkowej, w tym w Polsce, badania tych ektopasożytów w dużej mierze zostały zaniedbane. Celem badań była identyfikacja materiału genetycznego pierwotniaków *Trypanosoma* (*Megatrypanum*) u muchówek z gatunku *L. cervi* i *L. fortisetosa* zebranych z dzikich jeleniowatych oraz ze środowiska, co mogłoby wskazywać na potencjalną rolę tych owadów jako rezerwuaru i wektorów badanych pierwotniaków.

Zebrano łącznie 155 strzyżaków: 118 (52 ♀, 66 ♂) *L. cervi* i 37 (24 ♀, 13 ♂) *L. fortisetosa* z terenów Polski północno-wschodniej (Puszcza Piska, Puszcza Białowieska) (Tab. 1). Większość strzyżaków zebrano od jeleniowatych podczas polowań, ze środowiska uzyskano 27 (10 ♀, 17 ♂) skrzydlatych *L. cervi* (osobniki nie miały wcześniej kontaktu z żywicielem). Odnotowano dwa nowe stanowiska występowania *L. fortisetosa* w tym regionie jedno w Puszczy Piskiej, a drugie w Puszczy Białowieskiej. W analizowanych próbkach *Lipoptena* spp. wykazano obecność materiału genetycznego *Trypanosoma* spp. Świdrowce wykryto u 42 spośród 155 (27,09%) przebadanych strzyżaków. Ekstensywność

zarażenia w badanej grupie *L. cervi* wynosiła 20% (24/118), z czego 18,51% (5/27) u osobników skrzydlatych pozyskanych ze środowiska. *Trypanosoma* spp. zidentyfikowano u 18 z 37 (48,64%) *L. fortisetosa*.

Tabela 1. Szczegółowe dane dotyczące prevalencji zarażenia świdrowcami u *L. cervi* i *L. fortisetosa* z podziałem na płeć i miejsca ich zbioru.

Prewalencja zarażenia <i>Trypanosoma</i> sp. (%)			Miejsca zbioru muchówek				Ogólna liczba zarażonych osobników
			Nadleśnictwo Strzałowo (Puszcza Piska)	Białowieża	Hajnówka	Smolany Sadek (osobniki, które nie miały wcześniej kontaktu z żywicielem)	
<i>Lipoptena cervi</i>	♀	zbadane	27	6	9	10	52
		zarażone	5	0	2	3	10
	♂	zbadane	38	3	8	17	66
		zarażone	7	2	3	2	14
	suma	zbadane	65	9	17	27	118
		zarażone	12	2	5	5	24 (20.33%)
<i>Lipoptena fortisetosa</i>	♀	zbadane	16	8	-	-	24
		zarażone	10	3	-	-	13
	♂	zbadane	11	2	-	-	13
		zarażone	4	1	-	-	5
	suma	zbadane	27	10	-	-	37
		zarażone	14	4	-	-	18 (48.64%)

Obecność materiału genetycznego *Trypanosoma* u skrzydlatych *L. cervi* czyli będącym już nowym pokoleniem, może wskazywać na ich wertykalną transmisję. Zjawisko przenoszenia patogenów z samicy na kolejne pokolenie jest prawdopodobne, jednak dokładne wyjaśnienie tego procesu wymaga kolejnych analiz. Strzyżaki zrzucają skrzydła gdy znajdą odpowiedniego żywiciela i do końca życia są stale z nim związane. Korhonen i wsp. (2015) wykazali obecności DNA bakterii *Bartonella* u poczwerek i skrzydlatych *L. cervi* potwierdzając w ten sposób potencjał strzyżaków w transmisji transstadialnej tych patogenów. Według Dehio i wsp. (2004) strzyżaki mogą być potencjalnymi wektorami biologicznymi *Bartonella schoenbuchensis*, których skupiska zaobserwowano w jelicie środkowym badanych owadów. Víchová i in. (2011) oraz De la Fuente i wsp. (2005) nie wykazali obecności bakterii z rodzaju *Anaplasma* u skrzydlatych *L. cervi* zebranych w środowisku. W analizowanych próbach nie zaobserwowano różnic zarażenia w zależności od gatunku i płci badanej grupy strzyżaków.

Kolejnym etapem badań było porównanie uzyskanych sekwencji nukleotydowych fragmentu genu *18S* rRNA *Trypanosoma* spp. z sekwencjami zamieszczonymi w bazie Gen-

Bank. Wykazano, że sekwencje *Trypanosoma* spp. uzyskane z *L. cervi* (izolat Lc99 KGMT393974; izolat Lc106KGMT393977, izolat Lc6SMMT393982) były identyczne z sekwencją *T. theileri* uzyskanej od muchytse-tse (*Glossina fuscipes fuscipes*) z Afryki (KR024688) oraz z sekwencją *T. cf. cervi* (JX178193) z jelenia wirginijskiego (*Odocoileus virginianus*) pochodzącą ze Stanów Zjednoczonych. Dwie sekwencje nukleotydowe *Trypanosoma* spp. otrzymane od *L. fortisetosa* (izolat Lf4KG MT393983; izolat Lf15KG MT393984) były identyczne z sekwencją *T. theileri* z żubra (*Bison bonasus*) oraz bydła (*Bos taurus*) (KF924257) z Polski. Otrzymane sekwencje były również identyczne z sekwencjami *T. theileri* opisanymi u przeżuwaczy z rodziny Bovidae w Stanach Zjednoczonych i Brazylii (JX853185, JX178162, JX178185, JX178188, AY773679, AY773674). Sekwencja *Trypanosoma* spp. otrzymana z *L. fortisetosa* (izolat Lf10KG, MT394044) była identyczna z sekwencją *T. melophagium* z wpleszcza owczego (*M. ovinus*) z Chorwacji i Wielkiej Brytanii (HQ664912, FN666409). Druga sekwencja *Trypanosoma* spp. otrzymana z *L. fortisetosa* (izolat 1LfHka, MT393991) charakteryzowała się 99,6% podobieństwem do sekwencji *T. theileri* z sitatungii sawannowej (*Tragelaphus spekkii*) z Afryki Środkowej (FM202489) oraz z *Trypanosoma* sp. opisaną u bąka syberyjskiego (*Hybomitra tarandina*) w Rosji (MK156791).

Podsumowując uzyskane wyniki wykazano, że *Lipoptena cervi* i *Lipoptena fortisetosa* są nosicielami świdorców *Trypanosoma* spp. Po raz pierwszy na świecie materiał genetyczny świdorców został zidentyfikowany u *L. fortisetosa* zebranych z żywicieli oraz skrzydlatych *L. cervi* pozyskanych ze środowiska. Obecność materiału genetycznego świdorców u osobników, które nie miały wcześniej bezpośredniego kontaktu z żywicielem wskazuje na to, że pierwotniaki prawdopodobnie mogą być przenoszone podczas rozwoju embrionalnego larw (transmisja wertykalna). Wykazano także dwa nowe stanowiska występowania *L. fortisetosa* w północno-wschodniej Polsce: w Puszczy Białowieskiej i Puszczy Piskiej.

Bibliografia

1. Borowiec L. Wpleszczowate – Hippoboscidae. Klucze do oznaczania owadów Polski. 1984; cz. 28, z. 21. Wydawnictwo PWN, Warszawa.
2. Böse R., Friedhoff K.T., Olbrich S. Transmission of *Trypanosoma theileri* to cattle by Tabanidae. *Parasitology Research*. 1987; 73, 421–424.
3. De La Fuente J., Naranjo V., Ruiz-Fons F., Höfle U., Fernández De Mera I.G., Villanúa D., Almazán C., Torina A., Caracappa S., Kocan K.M., Gortázar C. Potential

vertebrate reservoir hosts and invertebrate vectors of *Anaplasma marginale* and *A. phagocytophilum* In Central Spain. *Vector Borne and Zoonotic Diseases*. 2005; 5, 390–401.

4. Dehio C., Sauder U., Hiestand R. Isolation of *Bartonella schoenbuchensis* from *Lipoptena cervi*, a blood-sucking arthropod causing deer ked dermatitis. *Journal of Clinical Microbiology*. 2004; 42 (11): 5320–5323. doi: 10.1128/JCM.42.11.5320-5323.2004.
5. Korhonen E.M., Pérez Vera C., Pulliainen A.T., Sironen T., Aaltonen K., Kortet R., Härkönen L., Härkönen S., Paakkonen T., Nieminen P., Mustonen A.M., Ylönen H., Vapalahti O. Molecular detection of *Bartonella* spp. in deer ked pupae, adult keds and moose blood in Finland. *Epidemiology and Infection*. 2015; 143, 578–585.
6. Víchová B., Majláthová V., Nováková M., Majláth I., Čurlík J., Bona M., Peřko B. PCR detection of re-emerging tick-borne pathogen, *Anaplasma phagocytophilum*, in deer ked (*Lipoptena cervi*) a blood-sucking ectoparasite of cervids. *Biologia*. 2011; 66, 1082.

Publikacja 4.

Werszko J., Asman M., Witecka J., Steiner-Bogdaszewska Ź., Szewczyk T., Kuryło G., Wilamowski K., Karbowski G. The role of sheep ked (*Melophagus ovinus*) as potential vector of protozoa and bacterial pathogens. *Scientific Reports*. 2021; 29;11(1):15468, doi: 10.1038/s41598-021-94895-x.

W Polsce nie prowadzono badań nad rolą wpleszczy owczych (*Melophagus ovinus*) jako potencjalnych wektorów chorób zakaźnych. Celem badań w prezentowanej pracy była molekularna identyfikacja pierwotniaków z rodzaju *Trypanosoma* spp. i bakterii należących do *Anaplasma* sp., *Bartonella* spp. i *Borrelia burgdorferi* s.l. u wpleszczy owczych (*M. ovinus*). Jednocześnie założono przeprowadzenie analizy możliwości występowania koinfekcji tymi patogenami. Sekwencje nukleotydowe otrzymanych amplikonów poddano analizie molekularnej oraz określono ich pozycję filogenetyczną. Wpleszcze owcze n=129 (69 ♀; 60 ♂) zostały zebrane od owiec podczas strzyżenia w gospodarstwach położonych w Polsce północno-wschodniej. Materiał genetyczny świdrowców *Trypanosoma* spp. zidentyfikowano

u 58,91% badanych muchówek. Wysoką ekstensywność zarażenia *Bartonella* spp. wykazano u 86,82% owadów. Z kolei zarażenie *B. burgdorferi s.l.* zidentyfikowano u 2 dwóch osobników (1,55%). Natomiast bakterii *A. phagocytophilum* nie wykryto w badanej grupie muchówek (Tab. 1).

Tabela 1. Prewalencja zarażenia wpleszczy owczych patogenami z podziałem na płeć i miejsca ich zbioru.

Prewalencja zarażenia patogenami (%)			Lokalizacja				Ogólna liczba zainfekowanych osobników
			Rzepiska	Nowoberezowo	Walify	Gródek	
<i>Trypanosoma</i> spp.	<i>M. ovinus</i> ♀	zbadane	23	28	18	0	69
		zarażone	21	7	14	0	42
	<i>M. ovinus</i> ♂	zbadane	15	11	15	19	60
		zarażone	15	2	0	17	34
	suma	zbadane	38	39	33	19	129
		zarażone	36	9	14	17	76 (58.91%)
<i>Bartonellas</i> spp.	<i>M. ovinus</i> ♀	zbadane	23	28	18	0	69
		zakażone	23	24	18	0	65
	<i>M. ovinus</i> ♂	zbadane	15	11	15	19	60
		zakażone	12	8	13	14	47
	sums	zbadane	38	39	33	19	129
		zakażone	35	32	31	14	112 (86.82%)
<i>Borrelia burgdorferi s.l.</i>	<i>M. ovinus</i> ♀	zbadane	23	28	18	0	69
		zakażone	0	0	0	0	0
	<i>M. ovinus</i> ♂	zbadane	15	11	15	19	60
		zakażone	0	0	0	2	2
	suma	zbadane	38	39	33	19	129
		zakażone	0	0	0	2	2 (1.55%)
<i>Anaplasma</i> spp.	<i>M. ovinus</i> ♀	zbadane	23	28	18	0	69
		zakażone	0	0	0	0	0
	<i>M. ovinus</i> ♂	zbadane	15	11	15	19	60
		zakażone	0	0	0	0	0
	suma	zbadane	38	39	33	19	129
		zakażone	0	0	0	0	0

W Europie wysoki wskaźnik infekcji (37% - 100%) bakteriami *Bartonella* u wpleszczy owczych został potwierdzony przez innych autorów (Halos i wsp., 2004; Rudolf i wsp., 2016; Boucheikhchoukh i wsp., 2019). Natomiast dwukrotnie wyższy odsetek zarażenia muchówek przez *Borrelia garinii* i *Borrelia valaisiana* (gatunki należące do kompleksu *B. burgdorferi s.l.*) odnotowano w Chinach (Chu i wsp., 2011).

W badanej grupie owadów potwierdzono również występowanie infekcji mieszanych dwu- i trzygatunkowych. Współwystępowanie *Trypanosoma* spp. i *Bartonella* spp wykryto u 65 ze 129 (50,39%) muchówek. Koinfekcję *Trypanosoma* spp., *Bartonella* spp. i *B. burgdorferi s.l.* wykazano u 2 wpleszczy owczych (1,55%). Natomiast inni autorzy współwystę-

powanie bakterii *Bartonella* i *Anaplasma* odnotowali na poziomie 18,64% (Boucheikhchoukh i wsp., 2019).

Analiza statystyczna wykazały, że istnieją trzy istotne powiązania między zmiennymi: tj. w przypadku częstości występowania *Trypanosoma* spp. u wpleszczy owczych i miejsce pobrania próbki ($X^2 = 51,8768$, $p \leq 0,01$) oraz częstość występowania któregośkolwiek z badanych patogenów i miejsce pobrania próbki ($X^2 = 15,6845$, $p \leq 0,01$) oraz pod kątem występowania *Bartonella* spp. a płcią badanych muchówek ($X^2 = 7,064$, $p \leq 0,01$).

Uzyskano cztery sekwencje nukleotydowe fragmentu genu rpoB *Bartonella* spp. (numery dostępu Gen Bank: MW929188, MW929189, MW929190, MW92919), które były identyczne z sekwencją *Bartonella melophagi* otrzymaną z wpleszcza owczego ze Stanów Zjednoczonych (EF605288). Spośród ośmiu uzyskanych sekwencji nukleotydowych fragmentu genu 18S rRNA *Trypanosoma* spp., trzy z nich (MZ014571, MZ014572, MZ014565) były identyczne z *Trypanosoma melophagium* opisaną u wpleszcza owczego z Wielkiej Brytanii i Chorwacji (FN666409, HQ664912). Pozostałe pięć sekwencji (MZ014566, MZ014567, MZ014568, MZ014569, MZ014570) były identyczne z sekwencją *Trypanosoma* sp. otrzymaną ze strzyżaka (*L. fortisetosa*) z Polski (MT393991). Natomiast otrzymane dwie sekwencje nukleotydowe fragmentu genu *fla B* *B. burgdorferi* s.l. (MW929186, MW929187) były identyczne ze szczepem *B. burgdorferi* otrzymanym z kleszczy pospolitych (*I. ricinus*) pochodzących z Polski (MK604273, MK604272, MF150052, KX64620, KF422802, HM345911), Szwajcarii (KF422803) i Serbii (AB189460). Otrzymane sekwencje były także identyczne z izolatami *B. burgdorferi* uzyskanymi od pacjenta chorego na boreliozę w Czechach (FJ231333–FJ231335). Wynik ten potwierdza obecność szczepu typowego dla Europy Środkowej. Ponadto otrzymane sekwencje były identyczne z sekwencją *B. burgdorferi* z myszy bawełnianej (*Peromyscus gossypinus*) otrzymaną ze Stanów Zjednoczonych (EU220782). Polska północno-wschodnia uważana jest za region endemiczny o wysokim ryzyku występowania zachorowań na choroby odkleszczowe. Mimo to w Polsce nie ma oficjalnych danych na temat wpleszczy owczych, ich roli w przenoszeniu patogenów oraz ich kompetencji jako wektorów w zakresie czynników zakaźnych.

Uzyskane wyniki po raz pierwszy w Polsce potwierdziły obecność materiału genetycznego *Trypanosoma* sp., *Anaplasma* sp. *Bartonella* sp. i *Borrelia burgdorferi* s.l. u wpleszczy owczych (*M. ovinus*). Ponadto po raz pierwszy w Europie wykazano obecność DNA bakterii *B. burgdorferi* s.l. u tego gatunku krwio pijnej muchówki. Wykazano również że u

wplezczy owczych mogą jednocześnie współwystępować dwa (*Trypanosoma* spp. i *Bartonella* spp) oraz trzy patogeny (*Trypanosoma* spp., *Bartonella* spp. i *B. burgdorferi* s.l.).

Bibliografia

1. Boucheikhchoukh M., Mechouk N., Benakhla A., Raoult D., Parola P. Molecular evidence of bacteria in *Melophagus ovinus* sheep keds and *Hippobosca equina* forest flies collected from sheep and horses in northeastern Algeria. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Disease*. 2019; 65:103–109. doi: 10.1016/j.cimid.2019.05.010.
2. Chu C.Y., Jiang B.G., Qiu E.C., Zhang F., Zuo S.Q., Yang H., Liu W., Cao W.C. *Borrelia burgdorferi* sensu lato in sheep keds (*Melophagus ovinus*), Tibet, China. *Veterinary Microbiology*. 2011;149:526529. doi: 10.1016/j.vetmic.2010.11.031.
3. Halos L., Jamal T., Maillard R., Girard B., Guillot J., Chomel B., Vayssier-Taussat M., Boulouis H-J. Role of Hippoboscidae flies as potential vector of *Bartonella* spp. infecting wild domestic ruminants. *Applied and Environmental Microbiology*. 2004;70:6302–6305. doi: 10.1128/AEM.70.10.6302-6305.2004.
4. Rudolf I., Betasova L., Bischof V., Venclikova K., Blazejova H., Mendel J., Hubalek Z., Kosoy M. Molecular survey of arthropod-borne pathogens in sheep keds (*Melophagus ovinus*), Central Europe. *Parasitology Research*. 2016; 115:3679–3682. doi: 10.1007/s00436-016-5175-2.

Publikacja 5.

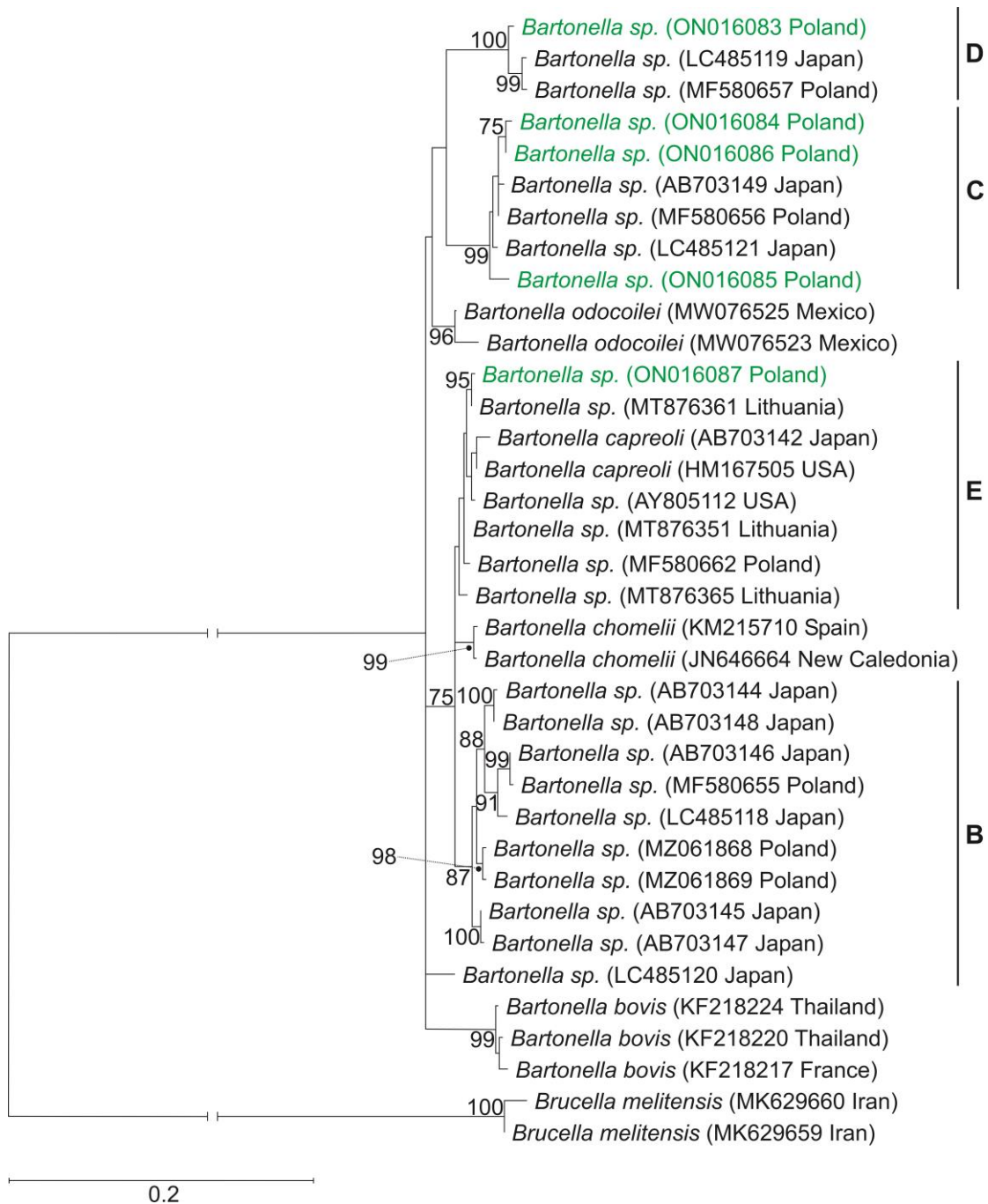
Werszko J., Świsłocka M., Witecka J., Szewczyk T., Steiner-Bogdaszewska Ż., Wilamowski K., Asman M. The New Haplotypes of *Bartonella* spp. and *Borrelia burgdorferi* Sensu Lato Identified in *Lipoptena* spp. (Diptera: Hippoboscidae) Collected in the Areas of North—Eastern Poland. *Pathogens*. 2022; 11(10), 1111; [hdoi.org/10.3390/pathogens11101111](https://doi.org/10.3390/pathogens11101111).

Głównym celem pracy było określenie roli strzyżaków (*Lipoptena* spp.) w przenoszeniu bakteryjnych patogenów - *Bartonella* spp. oraz *Borrelia burgdorferi* sensu lato, oszacowanie częstości występowania infekcji wielogatunkowych oraz analiza różnorodności genetycznej patogenów w oparciu o wybrane markery genetyczne.

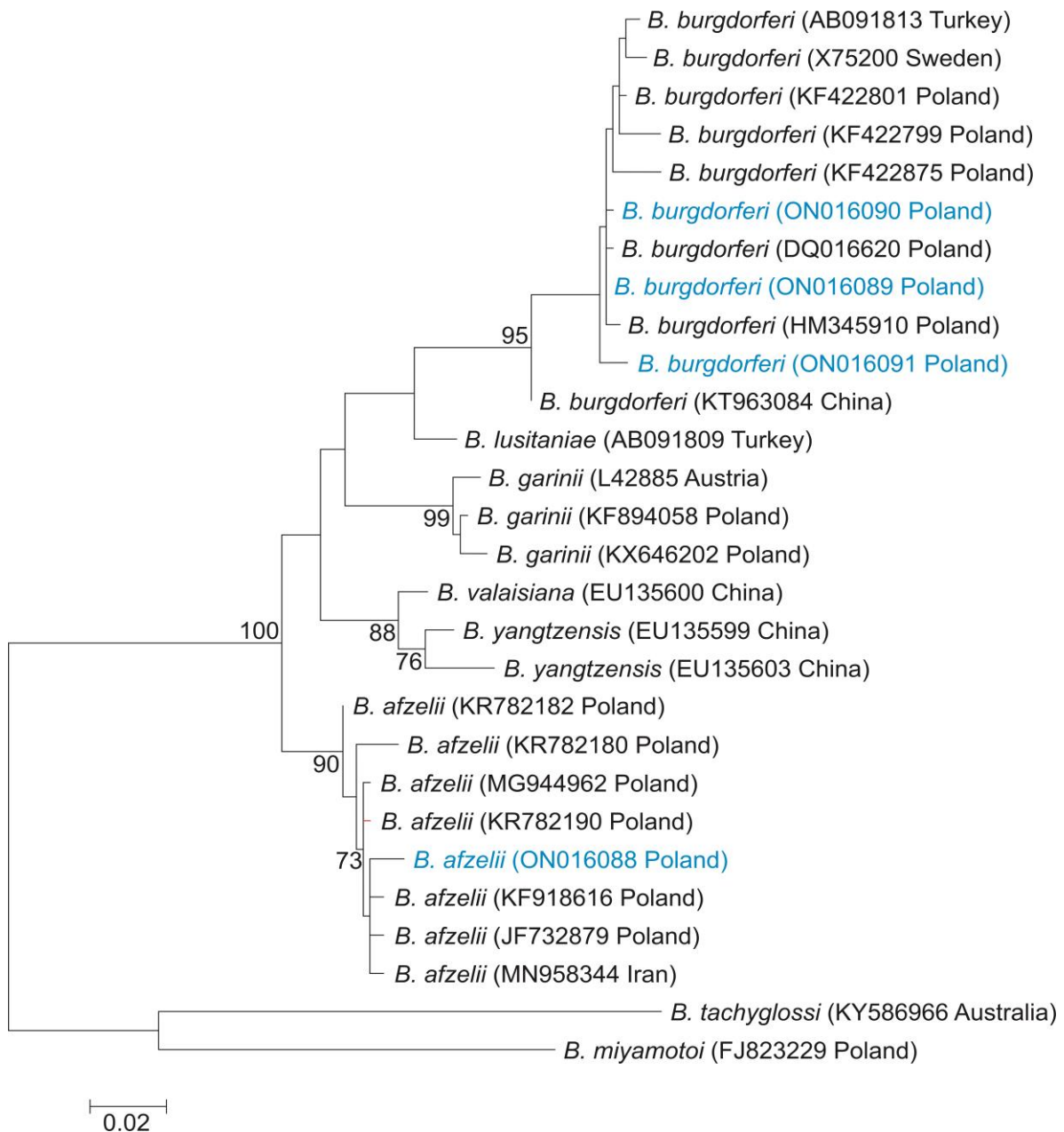
Z terenów Puszczy Piskiej i Puszczy Białowieskiej zebrano i przebadano 237 strzyżaków należących do dwóch gatunków: *L. cervi* n=198 (w tym osobniki skrzydlate nie mające wcześniej kontaktu z żywicielem n=27) oraz *L. fortisetosa* n=37.

Przeprowadzone badania molekularne potwierdziły obecność DNA bakterii *B. burgdorferi* s.l. u 14,04% (33/235) *L. cervi*, w tym u osobników skrzydlatych 14,8% (4/27). Natomiast nie wykryto zakażenia *B. burgdorferi* s. l. w badanej grupie *L. fortisetosa*. Obecność materiału genetycznego *Bartonella* spp. wykryto u 57,02% (134/235) badanych strzyżaków. Obecność DNA tych bakterii stwierdzono wśród 53,5% (106/198) *L. cervi* i u 75,7% (28/37) *L. fortisetosa*. Potwierdzono także obecność infekcji mieszanych, które u strzyżaków są znane, ale rzadko występują. Zakażenie *B. burgdorferi* s.l. i *Bartonella* spp. wykryto u 23 z 198 (11,61%) przebadanych *L. cervi*. Uzyskane w trakcie badań sekwencje nukleotydowe fragmentu genu *rpoB* *Bartonella* oraz fragmentu genu *flaB* *Borrelia* zdeponowano w bazie danych GenBank NCBI (nr dostępu ON016083 — ON016087 dla *Bartonella* sp., ON016088 dla *Borrelia afzelii* i ON016089 — ON016091 dla *Borrelia burgdorferi*). Otrzymano dwa drzewa filogenetyczne wykonane metodą największej wiarygodności ML (Maximum Likelihood) (Ryc. 1, Ryc. 2).

Rycina 1. Topologia filogenetyczna *Bartonella* spp., uzyskana metodą największej wiarygodności (Maximum Likelihood, ML) obliczone za pomocą modelu ewolucji sekwencji GTR+I+G, przedstawiająca powiązania filogenetyczne pomiędzy sekwencjami fragmentu genu *rpoB* *Bartonella* sp. otrzymanymi w trakcie badań (H1–H5, zaznaczone na zielono) i opublikowanymi (H6–H36) w GenBank. Liczby wymienione w węzłach reprezentują procent wsparcia dla tego węzła z 1000 powtórzeń. Drzewo zostało ukorzenione do sekwencji *Brucella melitensis*. Linie B, C, D, E, według Sato i wsp. (2011, 2021).



Rycina 2. Drzewo wykonane metodą największej wiarygodności (*Maximum Likelihood*, ML) obliczone za pomocą modelu ewolucji sekwencji GTR + G, reprezentujące powiązania filogenetyczne pomiędzy sekwencjami genu *flaB* *Borrelia* sp. z Polski (H1–H4, zaznaczono na niebiesko) i opublikowanymi (H5–H28) w GenBank. Liczby wymienione w węzłach reprezentują procent wsparcia dla tego węzła z 1000 powtórzeń. Drzewo zostało ukorzenione do sekwencji *B. tachyglossi* i *B. miyamotoi*.



Otrzymano pięć haplotypów na podstawie analizy otrzymanych sekwencji nukleotydowych fragmentu genu *rpoB* *Bartonella* sp., (ON016083-ON1687), reprezentowanych jako linia filogenetyczna C, D i E tego gatunku (Sato i wsp., 2011, 2021). Uzyskany haplotyp H1 należy do odrębnej linii filogenetycznej D. Natomiast linia C jest reprezentowana przez haplotyp: H2 (otrzymany z *L. fortisetosa*), H3 (otrzymany z *L. cervi*) i H4 (otrzymany z *L. fortisetosa*). Haplotyp H5 należy do odrębnej linii filogenetycznej E. Haplotyp H1 *Bartonella* sp. reprezentujący linię D, wykazał podobieństwo na poziomie 98,8% z haplotypami opisanymi w Polsce przez Szewczyka i wsp. (2017) (numer dostępu GenBank MF580657) i w Japonii przez Sato i wsp. (2011) (GenBank LC485119). Haplotypy H2–H4 należące do grupy filogenetycznej C grupowane są także z haplotypami opisanymi w Japonii (Sato i wsp., 2011, 2021) (GenBank AB703149 i LC485121) oraz z Polski (Wodecka i wsp., 2011) (GenBank MF580656). Haplotyp H5 *Bartonella* sp. stwierdzony u dwóch różnych osobników *L. cervi* wykazał 99,85% podobieństwa z sekwencją *Bartonella* sp. otrzymaną od łosia na Litwie (nr dostępu GenBank MT876361; niepublikowany). Sekwencje zostały sklasyfikowane do grupy z haplotypem *Bartonella* sp., otrzymanym z jelenia białogoniastego ze Stanów Zjednoczonych USA (Tate i wsp., 2015) (nr dostępu GenBank AY805112) (Ryc. 2).

Wśród czterech osobników *L. cervi* stwierdzono występowanie czterech haplotypów genu flageliny *Borrelia* sp. Haplotyp H1 należy do *B. afzelii*, podczas gdy haplotypy H2, H3 i H4 reprezentują *B. burgdorferi*. Uzyskany haplotyp *B. afzelii* wykazał 98,84% podobieństwa do haplotypów tego gatunku opisanych w Polsce przez Wodecką i wsp. (2011) (GenBank KF918616 i JF732879) oraz otrzymanych w Iranie przez Naddaf i wsp. 2021 (GenBank MN958344). Otrzymane haplotypy *B. burgdorferi* przypisano do grupy z sekwencjami opisanymi w Polsce przez Wodecką i wsp. (2011) (GenBank DQ016620 i HM345910) (Ryc.2).

Podsumowując uzyskane wyniki zidentyfikowano pięć nowych haplotypów *Bartonella* sp. u dwóch gatunków strzyżaków *Lipoptena cervi* /*Lipoptena fortisetosa*. Po raz pierwszy w Polsce i na świecie potwierdziliśmy występowanie haplotypu *Borrelia afzelii* oraz trzech haplotypów *B. burgdorferi* u skrzydlatych *L. cervi* zebranych ze środowiska, które nie miały bezpośredniego kontaktu z żywicielem.

Bibliografia:

1. Sato S., Kabeya H., Yamazaki M., Takeno S., Suzuki K., Kobayashi S., Souma K., Masuko T., Chomel B.B., Maruyama S. Prevalence and genetic diversity of *Bartonella* species in sika deer (*Cervus nippon*) in Japan. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 2012; 35: 575–581.
2. Sato S., Kabeya H., Ishiguro S., Shibasaki Y., Maruyama S. *Lipoptena fortisetosa* as a vector of *Bartonella* bacteria in Japanese sikadeer (*Cervus nippon*). *Parasites & Vectors* 2021; 14: 1–10.
3. Wodecka B. *flaB* gene as a molecular marker for distinct identification of *Borrelia* species in environmental samples by the PCR-restriction fragment length polymorphism method. *Applied Environmental Microbiology*. 2011; 77: 7088–7092.
4. Naddaf S.R., Mahmoudi A., Ghasemi A., Rohani M., Mohammadi A., Ziapourn S.P., Nemat A.H., Mostafavi E. Infection of hard ticks in the Caspian Sea littoral of Iran with Lyme borreliosis and relapsing fever borreliae. *Ticks and Tick Borne Disease*. 2020; 11: 101500.
5. Szewczyk T., Werszko J., Steiner-Bogdaszewska Ż., Laskowski Z., Karbowski G. Molecular detection of *Bartonella* spp. in deer ked (*Lipoptena cervi*) in Poland. *Parasites Vectors*. 2017; 10:487.
6. Tate C.M., Mead D.G., Luttrell M.P., Howerth E.W., Dugan V.G., Munderloh U.G., Davidson W.R. Experimental infection of white-tailed deer with *Anaplasma phagocytophilum*, etiologic agent of human granulocytic anaplasmosis. *Journal of Clinical Microbiology*. 2005; 43: 3595–3601.

d. Podsumowanie

Przeprowadzone badania i uzyskane wyniki prezentowane w zbiorze publikacji zgłoszonych do postępowania habilitacyjnego dostarczają dowodów na to, że krwio pijne muchówki są nosicielami patogenów w środowisku i mogą stanowić potencjalne zagrożenie dla zdrowia człowieka i zwierząt. Podsumowując najważniejsze wyniki badań w moim osiągnięciu naukowym:

1. Po raz pierwszy w Europie potwierdzono obecność materiału genetycznego *Anaplasma phagocytophilum* u trzech gatunków muchówek z rodziny Tabanidae: *Haematopota pluvialis*, *Tabanus bromius* i *Tabanus distinguendus*.

2. Wykazano, że muchówki z rodziny Tabanidae są nosicielami *Trypanosoma* (*Megatrypanum*). Po raz pierwszy materiał genetyczny świdrowców zidentyfikowano u gatunków *Hamatopota pluvialis* i *Tabanus bromius* w Polsce oraz u *T. maculicornis* i *T. distinguendus* na świecie.
3. Po raz pierwszy na świecie zidentyfikowano obecność materiału genetycznego świdrowców u *Lipoptena fortisetosa* zebranych z żywicieli oraz skrzydlatych strzyżaków *Lipoptena cervi* pozyskanych ze środowiska.
4. Wykazano obecność materiału genetycznego świdrowców u skrzydlatych osobników, które nie miały wcześniej bezpośredniego kontaktu z żywicielem, co może wskazywać na wertykalną transmisję świdrowców.
5. Wykazano dwa nowe stanowiska występowania *L. fortisetosa* w północno-wschodniej Polsce: w Puszczy Białowieskiej i Puszczy Piskiej.
6. Po raz pierwszy w Polsce potwierdzono obecność materiału genetycznego *Trypanosoma* sp., *Anaplasma* sp., *Bartonella* sp. i *Borrelia burgdorferi* s.l. u wpleszczy owczych (*Melophagus ovinus*).
7. Po raz pierwszy w Europie zidentyfikowano obecność DNA bakterii *B. burgdorferi* s.l. u *M. ovinus*.
8. Wykazano że wpleszcze owcze (*M. ovinus*) mogą być jednocześnie zarażone dwoma (*Trypanosoma* spp. i *Bartonella* spp) i/lub trzema patogenami (*Trypanosoma* spp., *Bartonella* spp. i *B. burgdorferi* s.l.).
9. Zidentyfikowano pięć nowych haplotypów *Bartonella* sp. u dwóch gatunków strzyżaków (*Lipoptena cervi* /*Lipoptena fortisetosa*).
10. Po raz pierwszy w Polsce i na świecie potwierdzono występowanie haplotypu *Borrelia afzelii* oraz trzech haplotypów *B. burgdorferi* u skrzydlatych *L. cervi*, co może wskazywać na to, że bakterie te mogą być przenoszone podczas rozwoju embrionalnego larw.

Badania przeprowadzono w ramach realizacji projektów badawczych:

1. Kierownik i wykonawca w projekcie badawczym Miniatura 2 finansowanym przez NCN o numerze 2018/02/X/NZ8/00037 pt. „Różnorodność i znaczenie muchówek z rodziny narzępikowatych (Hippoboscidae) w przenoszeniu świdrowców z podrodzaju

Megatrypanum w Polsce północno-wschodniej” (2018-2019). Koordynator: Instytut Parazytologii PAN.

2. Kierownik i wykonawca w projekcie pt. „Przenosiciele świdrowców z podrodzaju *Megatrypanum* w Polsce” realizowanym w Instytucie Parazytologii PAN im. W. Stefańskiego w ramach Dotacji dla Młodych Naukowców przyznawanej przez MNiSW (2016-217).

5. Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej.

Szczegółowa analiza bibliometryczna wykonana przez Bibliotekę Uczelnianą Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego została przedstawiona w załączniku 5.

Jestem autorką lub współautorką 37 prac naukowych (w tym 5 publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego, 2 monografii, 6 prac poglądowych). Przed doktoratem opublikowałam 13 prac, z czego 10 ukazało się w czasopiśmie z bazy Journal Citation Reports (JCR). Po doktoracie ukazało się 24 publikacji, z czego 20 ukazało się w czasopiśmie z bazy JCR. Jestem autorką/współautorką 30 krajowych i zagranicznych doniesień konferencyjnych. Ponadto jestem autorką 178 sekwencji nukleotydowych zgłoszonych do GenBank. Podsumowanie danych bibliometrycznych przygotowanych przez Bibliotekę Uczelnianą WUM o Nr Referencyjnym BIBG/Punktacja/741/2023/KK:

- Sumaryczny Impact Factor (IF) wszystkich opublikowanych prac według listy JCR, zgodnie z rokiem opublikowania: **65,021** (przed doktoratem IF: 21,392; po doktoracie IF: 43,692)
- Sumaryczna punktacja wg listy MEiN: **1610** (przed doktoratem MEiN: 285; po doktoracie MEiN: 1325)
- Liczba cytowań wg Bazy Web of Sciences: **487**, bez autocytowań: **441**
- Liczba cytowań wg bazy Scopus: **552**, bez autocytowań: **501**
- Indeks Hirscha wg Web Of Science: **13**
- Indeks Hirscha wg bazy Scopus: **14**

Aktywność naukowa przed uzyskaniem stopnia doktora

We wcześniejszych etapach pracy naukowej, przed uzyskaniem stopnia doktora, aktywnie uczestniczyłam w badaniach prowadzonych w Instytucie Parazytologii PAN. Badania te dotyczyły struktury ognisk zoonotycznych chorób transmisyjnych przenoszonych przez krwio pijne stawonogi oraz zależności pomiędzy pasożytem, żywicielem, przenosicielem i środowiskiem. Uczestniczyłam w badaniach nad pasożytami krwi i ektopasożytami gryzoni, których celem było wykazanie ich roli jako żywicieli dla kleszczy i rezerwuaru zoonotycznego patogenów chorób odkleszczowych. Badania te realizowane były we współpracy z Instytutem Parazytologii Słowackiej Akademii Nauk w Koszycach. We krwi myszarki polnej (*Apodemus agrarius*) metodą mikrohematokrytu oraz metodą mikroskopowej oceny rozmazu krwi wykryto następujące gatunki pasożytów: świdorowce *Trypanosoma grosi* (12,7%), piroplazmy podobne do *Babesia microti* (0,1%) i bakterie *Bartonella* sp. (0,81%). W ramach współpracy z tą samą jednostką naukową współrealizowałam badania na temat roli ssaków drapieżnych w cyklu zoonotycznym patogenów. Po raz pierwszy w Polsce obecność DNA pierwotniaków wykryto w 22 (15,9%) z 138 próbek śledzion lisów, pochodzących z województwa mazowieckiego. Zidentyfikowano trzy gatunki pierwotniaków: *Hepatozoon canis*, *Toxoplasma gondii* i *Babesia* sp. W 16 próbach wykazano obecność *H. canis* (11,6%). *T. gondii* wykryto w 5 próbkach (3,6%), a występowanie *Babesia* sp. stwierdzono w 1 próbce (0,7%). Natomiast w próbkach śledzion lisów otrzymanych w ramach współpracy ze Stacją Sanitarno-Epidemiologiczną w Ostrołęce po raz pierwszy w Polsce wykazano obecność DNA *A. phagocytophilum* w 3 na 111 przebadanych próbek śledzion lisów. W roku 2009 odbywałam trzymiesięczny staż naukowy w Instytucie Parazytologii Słowackiej Akademii Nauk w Koszycach. Pobyt realizowany był w ramach stypendium SAIA, w zakresie programu National Scholarship Programme of the Slovak Republic koordynowanego przez Słowacką Akademię Nauk. W czasie odbywania stażu prowadziłam badania na temat „Dzikie ssaki jako zoonotyczny rezerwuariusz anaplazmozy granulocytarnej (HGE)”. Wyniki badań zostały opublikowane w 2011 roku w *Annals of Agricultural Environmental Medicine*. Wykazano, że w próbkach krwi wszystkich badanych gatunków jeleniowatych wykryto DNA *A. phagocytophilum*. Największy wskaźnik infekcji wykazano u jelenia szlachetnego (*Cervus elaphus*) – 50,9% (54 /106), sarny (*Capreolus capreolus*) – 38,7% (12 /31) i jelenia sika (*Cervus nippon*) – 34,4% (11/ 32). Natomiast wśród danieli (*Dama dama*) zarażenie *A. phagocytophilum* u 2 (1,5%) ze 130 przebadanych zwierząt. Wykazano również, że ekstensywność zarażenia była niższa u zwierząt hodowlanych (utrzymywanych na Fermie

Jeleniowatych w Kosewie Górnym) niż w przypadku jeleni wolnożyjących. W ramach współpracy z dr hab. Hubertem Sytykiewiczem z Katedry Biochemii i Biologii Molekularnej Wydziału Przyrodniczego Uniwersytetu Podlaskiego w Siedlcach prowadziłam badania na temat współwystępowania *A. phagocytophilum* i *B. microti* w populacji kleszczy *I. ricinus* zebranych zarówno z terenów miejskich oraz naturalnych siedlisk mało zmienionych przez człowieka w środkowo-wschodniej Polsce. Tereny zurbanizowane obejmowały obszary parków i lasów miejskich na terenie Warszawy, Siedlec i Białej Podlaskiej. Obszary mało zmienione przez człowieka stanowiły Kampinoski Park Narodowy i Nadbużański Park Krajobrazowy. Wykazano, że odsetek kleszczy *I. ricinus* zarażonych *B. microti* wyniósł 3,1%, a zarażonych *A. phagocytophilum* - 8,5%. Stwierdzono współwystępowanie obu tych patogenów w badanej populacji kleszczy (1,8%). Przy czym współczynnik koinfekcji był najwyższy wśród samic *I. ricinus* (3,8%), a najniższy wśród badanych nimf (0,9%). Występowanie koinfekcji było istotnie wyższe u kleszczy zbieranych w parkach miejskich Warszawy (3,3%) i na obszarach podmiejskich tej miejscowości (4,8%). Ponadto ustalono, że współczynnik koinfekcji kleszczy zamieszkujących tereny leśne na terenie Kampinoskiego Parku Narodowy i Nadbużańskiego Parku Krajobrazowego był zbliżone i kształtowały się na poziomie odpowiednio 1,4% i 1,1%. Prawdopodobnym jest, że ryzyko pojawienia się koinfekcji *A. phagocytophilum* i *B. microti* jest wyższe na terenach miejskich i podmiejskich niż na obszarach naturalnych. Na podstawie uzyskanych wyników, zaplanowano kolejną pracę, której celem była weryfikacja hipotezy zakładającej, że zarówno pojedyncze jak i mieszane zarażenie kleszczy przez bakterie *B. henselae* i *B. burgdorferi* s.l. może być różna na terenach o różnym stopniu antropopresji. Kleszcze zbierano na terenie środkowej i wschodniej Polski zarówno z terenów zurbanizowanych, z parków i lasów miejskich zlokalizowanych w Płocku, Warszawie, Siedlcach, Międzyrzeczu Podlaskim, Białej Podlaskiej. Naturalne siedliska obejmowały tereny leśne w obrębie miejscowości Ceranów, Jerzyska, Korczew-Mogielnica i Sterdyń oraz tereny Nadbużańskiego Parku Krajobrazowego. Odsetek kleszczy *I. ricinus* zarażonych *B. henselae* wyniósł 4,8%, a zarażonych *B. burgdorferi* s.l. 12,3%. Po raz pierwszy w Polsce współwystępowanie obu tych bakterii wykryto jedynie u dorosłych osobników, u których współczynnik koinfekcji wyniósł 1,4% i różnił się istotnie u samic (4,0%) i samców (2,1%). Infekcji mieszanych nie wykryto u nimf. Najniższy współczynnik koinfekcji (0,7%) odnotowano u kleszczy zebranych z terenów zalesionych położonych w obrębie Nadbużańskiego Parku Krajobrazowego, nieco wyższy u kleszczy zebranych w parkach i lasach w Płocku (1,6%) i Białej Podlaskiej (1,7%). Najwyższy

współczynnik koinfekcji odnotowano u kleszczy zebranych z lasów miejskich i parków na terenie Warszawy (3,8-4,4%). Prawdopodobnie może mieć to związek z dostępnością na tych terenach zwiększonej liczebności różnych grup żywicieli (ludzie oraz zwierzęta żyjące w jego bliskim sąsiedztwie) będącymi żywicielami zarówno dla kleszczy i przenoszonych przez nie patogenów. Brałam udział w badaniach nad występowaniem *Babesia*, *Bartonella* i *A. phagocytophilum* w naturalnie zakażonych populacjach saren prowadzonych pod kierownictwem dr hab. Renaty Welc-Fałęciak z Zakładu Parazytologii na Wydziale Biologii Uniwersytetu Warszawskiego. Po raz pierwszy w Polsce w próbkach krwi (n=67) otrzymanych od saren (*Capreolus capreolus*) wykazano obecność *A. phagocytophilum* u 37,3%, a *Bartonella* u 13,4% osobników. Natomiast DNA *Babesia* spp. wykryto w 18 z 67 przebadanych próbek krwi (26,9%). Wykazano, że 18,3% wszystkich pozytywnych próbek pobranych od saren było zakażonych co najmniej dwoma patogenami. Wysoki odsetek przenoszonych przez kleszcze czynników chorobotwórczych, który odnotowano u saren wskazuje, że ten gatunek zwierząt jest istotnym rezerwuarem zoonotycznym patogenów odkleszczowych w Europie. W ramach badań prowadzonych we współpracy z dr hab. Joanną Stańczak i dr hab. Beatą Kubicą-Biernat z Zakładu Parazytologii Tropikalnej, Katedry Medycyny Tropikalnej i Parazytologii Międzywydziałowego Instytutu Medycyny Morskiej i Tropikalnej Akademii Medycznej w Gdańsku, wykazano obecność RNA wirusa kleszczowego zapalenia mózgu (TBE) u *Dermacentor reticulatus* zebranych z roślinności w czterech lokalizacjach w Puszczy Białowieskiej, Biebrzańskim Parku Narodowym, Mazurskim Parku Krajobrazowym (północno-wschodnia Polska) oraz na terenie m.st. Warszawy. Wskaźnik infekcji wśród badanych kleszczy wahał się od 0,99 do 12,5%. Odsetek zakażonych samic i samców był podobny i wynosił odpowiednio 2,17 i 1,98%. Większy odsetek zarażonych kleszczy odnotowano na obszarach miejskich (Warszawa)- 3,12%, w porównaniu do obszarów naturalnych, nie przekształconych działalnością człowieka (parki narodowe i krajobrazowe) - 1,96 %. Przypuszczalnie, w tym przypadku żywicielami dorosłych kleszczy łąkowych (*D. reticulatus*) są prawdopodobnie psy, które mogą również przenosić zakażone kleszcze z obszarów endemicznych na nowe tereny oraz w bliskie sąsiedztwo ludzi. Ryzyko wystąpienia u ludzi wirusa TBE przenoszonego przez *D. reticulatus* jest niskie. Jednak możliwe jest utrzymanie się wirusa w środowisku poprzez przekazywanie go kolejnym pokoleniom kleszczy na drodze transstadialnej i transowarialnej pomimo braku w środowisku żywicieli podatnych na infekcje. W badaniach nad strukturą ognisk zoonotycznych chorób odkleszczowych w Strefie Wykluczenia w Czarnobylu prowadzonych

w ramach współpracy z dr Katarzyną Slivinską (Instytut Zoologii Narodowej Akademii Nauk Ukrainy w Kijowie) wykazano, że na tych terenach populacja kleszczy łąkowych (*D. reticulatus*) jest zarażona przez bakterie *Anaplasma phagocytophilum* (25,36%) i przez piroplazme *Babesia canis* (3,41%).

Publikacje z IF opublikowane przed uzyskaniem stopnia doktora (chronologicznie):

1. Karbowski G., Stanko M, Fričová J., Wita I., **Hapunik J.**, Peťko B. Blood parasites of the striped field mouse *Apodemus agrarius* and their morphological characteristics. *Biologia*. 2009; 64 (6): 1219-1224.
2. Karbowski G., Vichová B., Majláthová V., **Hapunik J.**, Peťko B. *Anaplasma phagocytophilum* infection of red foxes (*Vulpes vulpes*). *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*. 2009; 16 (2): 299-300.
3. Karbowski G., Majláthová V., **Hapunik J.**, Peťko B., Wita I. Apicomplexan parasites of red foxes (*Vulpes vulpes*) in northeastern Poland. *Acta Parasitologica*. 2010; 55 (3): 210-214. doi: 10.2478/s11686-010-0030-6.
4. **Hapunik J.**, Vichová B., Karbowski G., Wita I., Bogdaszewski M., Peťko B. Wild and farm breeding cervids infections with *Anaplasma phagocytophilum*. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*. 2011; 18 (1): 73-77.
5. Sytykiewicz H., Karbowski G., **Hapunik J.**, Szpechciński A., Supergan-Marwicz M., Goławska S., Sprawka I., Czerniewicz P. Molecular evidence of *Anaplasma phagocytophilum* and *Babesia microti* co-infections in *Ixodes ricinus* ticks in central-eastern region of Poland. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*. 2012; 19 (1): 45-49.
6. Sytykiewicz H., Karbowski G., **Werszko J.**, Czerniewicz P., Sprawka I., Mitrus J. Molecular screening for *Bartonella henselae* and *Borrelia burgdorferi* sensu lato co-existence within *Ixodes ricinus* populations in central and eastern parts of Poland. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*. 2012; 19 (3): 451-456.
7. Welc-Falęciak R, **Werszko J**, Cydzik K., Bajer A, Michalik J., Behnke J.M. Co-infection and genetic diversity of tick-borne pathogens in roe deer from Poland. *Vector Borne Zoonotic Diseases*. 2013; 13 (5): 277-288.
10. Biernat B., Karbowski G., **Werszko J.**, Stańczak J. Prevalence of tick-borne encephalitis virus (TBEV) RNA in *Dermacentor reticulatus* ticks from natural and urban environment, Poland. *Experimental and Applied Acarology*. 2014; 64 (4): 543-551. doi: 10.1007/s10493-

014-9836-5.

11. Karbowski G., Vichová B., Slivinska K., **Werszko J.**, Didyk J., Peřko B., Stanko M., Akimov I. The infection of questing *Dermacentor reticulatus* ticks with *Babesia canis* and *Anaplasma phagocytophilum* in the Chernobyl exclusion zone. *Veterinary Parasitology*.2014; 204 (3-4): 372-375. doi: 10.1016/j.vetpar.2014.05.030.

Aktywność naukowa po uzyskaniu stopnia doktora

W czerwcu 2010 roku uchwałą Rady Naukowej Instytutu Parazytologii PAN został otwarty mój przewód doktorski. Tematem rozprawy doktorskiej była „Charakterystyka molekularna świdorców z podrodzaju *Megatrypanum* występujących u wybranych gatunków przeżuwaczy w Polsce”. Badania finansowane były z projektu promotorskiego (MNiSW nr NN308 563840), którego byłam autorem i głównym wykonawcą. Stopień doktora nauk biologicznych uzyskałam dnia 17 czerwca 2014 r. Wyżej wymieniona praca dotyczyła świdorców z podrodzaju *Megatrypanum* występujących we krwi dzikich i domowych przeżuwaczy. Świdrowce są grupą pasożytów spotykanych u wszystkich grup zmienno- i stałocieplnych kręgowców oraz u krwio pijnych bezkręgowców, które są ich wektorami. W oparciu o zdobytą wiedzę o różnicach morfometrycznych i ultrastrukturalnych świdorców, celem moich badań stało się przeprowadzenie analizy różnorodności genetycznej wspomnianych pasożytów na poziomie molekularnym. Uzyskane wyniki potwierdziły występowanie dwóch linii genetycznych świdorców z podrodzaju *Megatrypanum* w Europie. Po raz pierwszy stwierdzono, że otrzymane izolaty świdorców można zaliczyć do wyróżnionych grup, niezależnie od żywicieli, od których pochodzą. Otrzymane wyniki potwierdziły dużą zmienność morfologiczną i genetyczną świdorców występujących u przeżuwaczy.

Po obronie pracy doktorskiej kontynuowałam badania nad rolą ssaków drapieżnych w ogniskach zoonotycznych chorób transmisyjnych, których koordynatorem był Prof. dr hab. Grzegorz Karbowski. Podczas badań parazytologicznych lisa, jenota i borsuka stwierdzono, że kleszcz pospolity *Ixodes ricinus*, jeżowy *Ixodes hexagonus* i łąkowy *Dermacentor reticulatus* należą do ektopasożytów oligoksenicznych. Natomiast kleszcz lisi *Ixodes crenulatus*, wszoły *Trichodectes canis*, pchły *Paraceras melis*, *Chaetopsylla globiceps* i *Ch. trichosa* są związane z żywicielami z rzędu Carnivora. Ponadto wykazano, że 20% lisów rudych i 50 % jenotów było zakażonych *Sarcoptes scabiei*. Po raz pierwszy w Polsce wykazano obecność bakterii *A. phagocytophilum* u zwierząt drapieżnych. Najwyższy odsetek

zarażenia wykazano u kun leśnych (41,70%), jenotów (35,30%) i lisów (34,48%). Najniższy stopień infekcji zaobserwowano u borsuków (18,70%). Zarażenie bakteriami wykryto u dwóch z czterech przebadanych tchórzy zwyczajnych.

Publikacje z IF (chronologicznie):

1. Karbowski G., Szewczyk T., **Werszko J.** Ectoparasites of carnivores in north-eastern Poland. *Annals of Parasitology*. 2016; 62 (suppl.): 184.
2. Szewczyk T, **Werszko J.**, Myczka A.W., Laskowski Z., Karbowski G. Molecular detection of *Anaplasma phagocytophilum* in wild carnivores in north-eastern Poland. *Parasites and Vectors*. 2019; 12 (1): 465. doi: 10.1186/s13071-019-3734-y.

Jednocześnie kontynuowałam badania prowadzone we współpracy z Instytutem Zoologii I.I. Schmalhausena Narodowej Akademii Nauk Ukrainy w Kijowie dotyczące struktury ognisk zoonotycznych chorób odkleszczowych w Strefie Wykluczenia w Czarnobylu. Wykazano, że *Rickettsia raoulti* występuje u ponad 70% czarnobylskiej populacji kleszczy łąkowych (*D. reticulatus*). Współuczestniczyłam w badaniach na temat roli gryzoni odławianych w Strefie Wykluczenia w Czarnobylu jako rezerwuaru zoonotycznego patogenów chorób odkleszczowych. Wykazano, że tamtejsza populacja gryzoni zarażona jest szczepami *Bartonella* powszechnie występującymi w Europie. Zarażenie tymi bakteriami wykryto u 38,89% osobników. Nie wykryto zarażenia świdrowcami i piroplazmami z rodzaju *Babesia*. Ze względu na brak podobnych badań prowadzonych w Ukrainie poza strefą, na tym etapie badań nie można stwierdzić, czy uboga fauna pasożytów ma związek ze skażeniem promieniotwórczym, czy jest tylko efektem innej lokalizacji geograficznej.

Publikacje z IF (chronologicznie):

1. Karbowski G., Slivinska K., Chmielewski T., Barszcz K., Tylewska-Wierzbanowska S., **Werszko J.**, Szewczyk T., Wróblewski P. *Rickettsia raoultii* in *Dermacentor reticulatus* ticks, Chernobyl Exclusion Zone, Ukraine, 2010. *Emerging Infectious Diseases*. 2016; 22 (12): 2214-2215. doi: 10.3201/eid2212.160678.
2. Szewczyk T., **Werszko J.**, Slivinska K., Laskowski Z., Karbowski G. Molecular Detection of *Bartonella* spp. in Rodents in Chernobyl Exclusion Zone, Ukraine. *Acta Parasitologica*. 2021; 66 (1): 222-227. doi: 10.1007/s11686-020-00276-1.

W ramach współpracy międzynarodowej z Instytutem Parazytologii Słowackiej Akademii Nauk w Koszycach oraz Instytutem Zoologii I.I. Schmalhausena Narodowej Akademii Nauk Ukrainy w Kijowie współrealizowałam badania na temat patogenów i przenosicieli chorób odkleszczowych koni. Za pomocą technik biologii molekularnej (PCR, nested PCR) próbki krwi koni pochodzących z Polski, Ukrainy i Słowacji zostały przebadane na obecność pierwotniaków *Theileria equi* i bakterii *Anaplasma phagocytophilum*. Zarejestrowaliśmy pierwszy przypadek zarażenia koni przez *T. equi* na terenach Ukrainy i Polski. Prewalencja zarażenia wyniosła 13,39%. Natomiast zarażenia piropłasmą nie wykryto wśród koni pochodzących ze Słowacji. Po raz pierwszy obecność materiału genetycznego *A. phagocytophilum* została potwierdzona u koni (1,4%) pochodzących z terenów Polski i Słowacji. Zarażenia *A. phagocytophilum* nie wykryto wśród koni pochodzących z Ukrainy.

Publikacje z IF:

1. Slivinska K., Vichová B., **Werszko J.**, Szewczyk T., Wróblewski Z., Peťko B., Ragač O., Demeshkant V., Karbowski G. Molecular surveillance of *Theileria equi* and *Anaplasma phagocytophilum* infections in horses in some regions of Ukraine, Poland and Slovakia: preliminary study. *Veterinary Parasitology*. 2016; 215 (1): 35-37. doi: 10.1016/j.vetpar.2015.10.025.

Badania nad rolą strzyżaków (*L. cervi*) w rozprzestrzenianiu bakterii z rodzaju *Bartonella* stały się podstawą moich badań nad rolą krwio pijnych muchówek w transmisji chorobotwórczych patogenów. Po raz pierwszy w Polsce obecność *Bartonella* wykryto u 75,12% strzyżaków zebranych z jeleniowatych na terenie północno-wschodniej Polski. Otrzymano izolaty, które były spokrewnione z sekwencją *B. schoenbuchensis* otrzymaną od łosia ze Szwecji. Uzyskano również szczep *Bartonella* spp. pochodzący od japońskiego jelenia sika.

Publikacje z IF:

1. Szewczyk T., **Werszko J.**, Steiner-Bogdaszewska Ż., Jeżewski W., Laskowski Z., Karbowski G. Molecular detection of *Bartonella* spp. in deer ked (*Lipoptena cervi*) in Poland. *Parasites & Vectors*. 2017; 10(1): 487. doi: 10.1186/s13071-017-2413-0.

Inne tematy badawcze, w które byłam zaangażowana to:

- W ramach współpracy prowadzonej pomiędzy Instytutem Parazytologii PAN a Instytutem Badania Ssaków od 2007 do 2014 r. brałam udział w pobieraniu materiału badawczego od żubrów eliminowanych w Puszczy Białowieskiej. Badania obejmowały monitoring parazytologiczny stanu zarażenia żubrów patogenami krwi przenoszonymi przez kleszcze.

Publikacje z IF (chronologicznie):

1. Karbowski G., Demiaszkiewicz A.W., Pyziel A.M., Wita I., Moskwa B., **Werszko J.**, Bień J., Goździk K., Lachowicz J., Cabaj W. The parasitic fauna of the European bison (*Bison bonasus*) (Linnaeus, 1758) and their impact on the conservation. Part 1. The summarising list of parasites noted. *Acta Parasitologica*. 2014; 59 (3), 363–371. doi: 10.2478/s11686-014-0252-0.
 2. Karbowski G., Demiaszkiewicz A.W., Pyziel A.M., Wita I., Moskwa B., **Werszko J.**, Bień J., Goździk K., Lachowicz J., Cabaj W. The parasitic fauna of the European bison (*Bison bonasus*) (Linnaeus, 1758) and their impact on the conservation. Part 2. The structure and changes over time. *Acta Parasitologica*. 2014; 59 (3), 372–379. doi: 10.2478/s11686-014-0253-z.
 3. Karbowski G., Víchová B., **Werszko J.**, Demiaszkiewicz A.W., Pyziel A.M., Sytykiewicz H., Szewczyk T., Peťko B. The infection of reintroduced ruminants – *Bison bonasus* and *Alces alces* - with *Anaplasma phagocytophilum* in northern Poland. *Acta Parasitologica*. 2015; 60.
 4. Biernat B., Karbowski G., Stańczak J., Masny A., **Werszko J.** The first detection of the tick-borne encephalitis virus (TBEV) RNA in *Dermacentor reticulatus* ticks collected from the lowland European bison (*Bison bonasus bonasus* L.). *Acta Parasitologica*. 2016; 61 (1): 130-135. doi: 10.1515/ap-2016-0017. 4.
- Potwierdzenie transstadialnej transmisji wirusa kleszczowego zapalenia mózgu (KZM) u kleszczy łąkowych (*D. reticulatus*) zebranych z gryzoni z terenów Puszczy Białowieskiej

Publikacje z IF:

1. Karbowski G., Biernat B., **Werszko J.**, Rychlik L. The transstadial persistence of tick-borne encephalitis virus in *Dermacentor reticulatus* ticks in natural conditions. *Acta Parasitologica*. 2016; 61 (1): 201-203. doi: 10.1515/ap-2016-0028.
- Rola poszczególnych stadiów rozwojowych kleszczy jako przenosicieli chorób odkleszczowych człowieka i zwierząt w Europie Środkowej.

Publikacje z IF :

1. Karbowski G., Biernat B., Stańczak J., Szewczyk T., **Werszko J.** The role of particular tick developmental stages in the circulation of tick-borne pathogens affecting humans in Central Europe. 3. Rickettsiae. *Annals of Parasitology*. 2016; 62 (2): 89-100. doi: 10.17420/ap6202.38.
 2. Karbowski G., Biernat B., Stańczak J., **Werszko J.**, Wróblewski P., Szewczyk T., Sytykiewicz H. The role of particular ticks developmental stages in the circulation of tick-borne pathogens in Central Europe. 4. Anaplasmataceae. *Annals of Parasitology*. 2016; 62 (4): 267-284. doi: 10.17420/ap6204.62
 3. Karbowski G., Biernat B., Stańczak J., **Werszko J.**, Szewczyk T., Sytykiewicz H. The role of particular ticks developmental stages in the circulation of tick-borne pathogens in Central Europe. 5. Borreliaceae. *Annals of Parasitology*. 2018; 64 (3): 151-171. doi: 10.17420/ap6403.147.
- W ramach współpracy z dr hab. Anną Pyziel (Katedra Higieny Żywności i Ochrony Zdrowia Publicznego, SGGW) opisano zmiany patologiczne w tkance płuc związane z infekcją nowo opisanego nicienia płucnego-*Dictyocaulus cervi* (Nematoda: Trichostrongyloidea) występującego u jelenia szlachetnego w północno-wschodniej Polsce.

Publikacje z IF:

1. Pyziel A.M., Dolka I., **Werszko J.**, Laskowski Z., Steiner-Bogdaszewska Ż., Wiśniewski J., Demiaszkiewicz A.W., Anusz K. Pathological lesions in the lungs

of red deer *Cervus elaphus* (L.) induced by a newly-described *Dictyocaulus cervi* (Nematoda: Trichostrongyloidea). *Veterinary Parasitology*. 2018; 261 (15) :22-26. doi: 10.1016/j.vetpar.2018.08.003.

- Określenie stanu zarażenia *Ashworthius sidemi* dzikich i domowych przeżuwaczy w Polsce.

Publikacja z IF:

1. Kornacka A., Cybulska A., Bień-Kalinowska J., Demiaszkiewicz A.W., Merta D., Kobielski J., **Werszko J.**, Filip-Hutsch K., Moskwa B. *Ashworthius sidemi* in cattle and wild ruminants in Poland –the current state of play. *Annals of Parasitology*. 2020; 66 (4), 517-520 doi:10.17420/ap6604.293.

- W ramach współpracy z dr Katarzyną Filip-Hutsch (Katedra Higieny Żywności i Ochrony Zdrowia Publicznego, SGGW) po raz pierwszy za pomocą technik biologii molekularnej potwierdziliśmy obecność świdrowców z podrodzaju *Megatrypanum* u łośi w Europie Środkowej. Analiza filogenetyczna fragmentu genu 18S rRNA wykazała, że otrzymane izolaty- haplotyp H1 i H2 należą do grupy *Trypanosoma theileri*. i zostały umieszczone w linii TthII wraz z izolatami otrzymanymi od bydła i dzikich jeleniowatych z Europy i Azji.

Publikacje z IF:

1. Katarzyna Filip-Hutsch, Magdalena Świsłocka, Grzegorz Karbowski, Anna W. Myczka, Aleksander W. Demiaszkiewicz, **Joanna Werszko**.2022. Molecular identification of *Trypanosoma theileri* complex in Eurasian moose *Alces alces* (L.) *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, 19, 317-322, <https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2022.11.008>.

- Współudział w badaniach nad ektopasożytami gryzoni

Publikacje z IF:

1. Karbowski G., Miklisová D., Stanko M., **Werszko J.**, Hajdul-Marwicz M., Szewczyk T., Rychlik L. The competition between immatures of *Ixodes ricinus* and *Dermacentor reticulatus* (Ixodida: Ixodidae) ticks for rodent hosts. *Journal of Medical Entomology*. 2019; 56 (2): 448-452. doi: 10.1093/jme/tjy188.
2. Karbowski G., Stanko M., Rychlik L., **Werszko J.** Communities of ectoparasitic arthropods associated with the root vole *Microtus oeconomus* in north-eastern Poland. *Biologia*. 2022; 77 (6), 1661-1666.
3. Karbowski G., Stanko M., Rychlik L., **Werszko J.** An annotated checklist of arthropods associated with the root vole *Microtus oeconomus*. *Biologia*. 2023; doi: 10.1007/s11756-023-01433-3.
4. Karbowski, G.; Stanko, M.; Smahol, K.; **Werszko, J.**, Rychlik, L. Parasitic Arthropods of Soricinae Shrews in North-Eastern Poland. *Animals*. 2023; 13, 2960. <https://doi.org/10.3390/ani13182960>.

Byłam kierownikiem i współbadaczem w następujących projektach badawczych:

1. Główny wykonawca w projekcie promotorskim MNiSW o numerze N308 563840 pt. „Charakterystyka molekularna świdrowców z podrodzaju *Megatrypanum* występujących u wybranych gatunków przeżuwaczy w Polsce”. Projekt realizowany w latach 2011-2013 (kierownik grantu Prof. dr hab. G. Karbowski).
2. Współbadacz w projekcie badawczym finansowanym przez NCN o numerze nr 2011/01/B/NZ7/03574 pt. „Fermy jeleniowatych a choroby przenoszone przez kleszcze”. Projekt realizowany w latach 2011-2014.
3. Kierownik i wykonawca w projekcie pt. „Przenosiciele świdrowców z podrodzaju *Megatrypanum* w Polsce” realizowanym w Instytucie Parazytologii PAN im . W. Stefańskiego w ramach Dotacji dla Młodych Naukowców przyznawanej przez MNiSW. Projekt realizowany w latach 2016-2017.
4. Kierownik i wykonawca w projekcie badawczym Miniatura 2 finansowanym przez NCN o numerze 2018/02/X/NZ8/00037 pt. „Różnorodność i znaczenie muchówek z

rodziny narzępikowatych (Hippoboscidae) w przenoszeniu świdrowców z podrodzaju *Megatrypanum* w Polsce północno-wschodniej”. Projekt realizowany w latach 2018-2019.

5. Współbadacz w projekcie finansowanym ze środków Narodowej Agencji Wymiany Akademickiej (NAWA) w ramach programu Akademickie Partnerstwa Międzynarodowe o numerze BPN/BSK/2021/1/00078/U/00001, pt. „Kleszcz *Dermacentor reticulatus* i Europa Środkowa – czasoprzestrzenne zmiany na początku stulecia i ryzyka epidemiologiczne”. Projekt realizowany w latach 2022-2023.

6. Działalność dydaktyczna, popularyzacyjna i organizatorska:

W latach 2016-2021 byłem promotorem pomocniczym w przewodzie doktorskim mgr Tomasza Szewczyka pod tytułem „Rezerwuuar zoonotyczny bakteryjnych patogenów przenoszonych przez stawonogi”, który został obroniony przed Radą Naukową Instytutu Parazytologii PAN dnia 28.09.2021 r. W latach 2007-2014 sprawowałam opiekę nad stażystami, będącymi studentami Wydziału Biologii Uniwersytetu Warszawskiego w Instytucie Parazytologii PAN. Moim obowiązkiem było zapoznanie stażystów z zasadami pracy w laboratorium oraz technikami biologii molekularnej w kierunku diagnostyki pasożytów krwi u gryzoni. W latach 2007-2021 wielokrotnie prezentowałam wyniki badań naukowych podczas zebrań naukowych organizowanych w Instytucie Parazytologii PAN. Prowadziłam również warsztaty naukowe „Nauka też Sztuka”, które odbyły się w Olsztynie w ramach Rodzinnego Pikniku Naukowego Polskiej Akademii Nauk (8 czerwca 2019 r.). Oprócz tego prowadziłam warsztaty edukacyjne „Akademia Czystych Rąk” dla uczniów z warszawskich placówek edukacyjnych (listopad 2020 r.), które miały na celu upowszechnianie wiedzy na temat chorób pasożytniczych. W latach 2020-2022 uczestniczyłam i prowadziłam seminaria na temat chorób pasożytniczych zwierząt wolno żyjących w Katedrze Higieny Żywności i Ochrony Zdrowia Publicznego Instytutu Medycyny Weterynaryjnej SGGW w Warszawie. Od października 2023 r. prowadzę zajęcia z następujących przedmiotów: Parazytologia oraz Podstawy Biologii Molekularnej dla Studentów Kierunku Lekarskiego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego.

7. Pozostałe informacje dotyczące kariery zawodowej oprócz kwestii wymienionych w pkt. 1-6.

Nagrody:

- Nagroda Dyrektora Instytutu Parazytologii im. Witolda Stefańskiego w Warszawie za osiągnięcia naukowe

Funkcja recenzenta w czasopismach naukowych z Impact Factor:

- Dwie recenzje dla czasopisma Annals of Agricultural and Environmental Medicine (2020 r.-2024 r.)
- Jedna recenzja dla czasopisma Pathogens (2021 r.)
- Dwie recenzje dla czasopisma Insects (2021- 2022 r.)
- Jedna recenzja dla czasopisma Acta Parasitologica (2023 r.)

Staż w polskich jednostkach naukowych:

- 28.09.2021r.-1.10.2021 r.- Staż naukowy w Centrum Naukowo-Badawczym Instytutu Nauk Leśnych Politechniki Białostockiej w Hajnówce. Celem badań prowadzonych w ramach stażu była analiza morfologiczna i morfometryczna krwio pijnych muchówek z rodziny Hippoboscidae i Tabanidae przy użyciu mikroskopii świetlnej i skaningowej.

Kursy i szkolenia

- Szkolenie „Kurs dla osób planujących doświadczenia, wykonujących procedury i uśmiercających zwierzęta” organizowane przez Polskie Towarzystwo Nauk o Zwierzętach Laboratoryjnych (POLLASA) w Warszawie (4.07.2016- 8.07.2016 r.).
- Szkolenie „Real-Time PCR. Analiza ekspresji genów” organizowane przez Szkołę Główną Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie i firmę ABO Sp. z o.o. (8.05.2013 r.).
- Szkolenie „Metody izolacji DNA oraz polimorfizm STR w genotypowaniu” organizowane przez Szkołę Główną Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie (18.08.2009- 20.08.2009 r.).
- Szkolenie „Metody wykrywania mutacji punktowych” organizowane przez Szkołę Główną Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie (20.09.2023-23.09.2009 r.).

.....

(podpis wnioskodawcy)