

## **AUTOREFERAT W JĘZYKU POLSKIM**

## AUTOREFERAT

### 1. Imię i nazwisko

Renata Welc-Falęciak

Nazwisko panieńskie: Welc

### 2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe

- Stopień doktora nauk biologicznych w zakresie biologii nadany uchwałą Rady Naukowej Wydziału Biologii Uniwersytetu Warszawskiego z dnia 18 maja 2009 r. Tytuł rozprawy doktorskiej: 'Pasożyty krwi gryzoni *Babesia microti* i *Bartonella* spp. patogenne dla człowieka: badania środowiskowe i molekularne'. Promotorem w przewodzie doktorskim był prof. dr hab. Edward Siński (Zakład Parazytologii, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski), a recenzentami: prof. dr hab. Michał Kozakiewicz (Zakład Ekologii, Instytut Zoologii, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski) oraz prof. dr hab. Henryka Długońska (Zakład Immunoparazytologii, Uniwersytet Łódzki).

**Rozprawa doktorska uzyskała wyróżnienie Rady Naukowej Wydziału Biologii UW. Ponadto, została wyróżniona nagrodą Jego Magnificencji Rektora Uniwersytetu Warszawskiego (2010 r.) oraz nagrodą Prezesa Rady Ministrów RP (2011 r.).**

- Tytuł magistra biotechnologii w zakresie mikrobiologii (dyplom z wyróżnieniem) uzyskany na Wydziale Biologii Uniwersytetu Warszawskiego; lipiec 2004. Tytuł pracy magisterskiej: 'Molekularna charakterystyka systemu replikacyjnego plazmidu pMTH4 *Paracoccus methylutens* DH1'. Praca została wykonana w Zakładzie Genetyki Bakterii pod opieką prof. dr hab. Mirosławy Włodarczyk.
- Tytuł licencjata biotechnologii w zakresie mikrobiologii uzyskany na Wydziale Biologii Uniwersytetu Warszawskiego; lipiec 2002. Tytuł pracy licencjackiej: 'Próba identyfikacji determinantów niezgodności w obrębie minireplikonu pMTH100'. Praca została wykonana w Zakładzie Genetyki Bakterii pod opieką dr Anny Kraczkiewicz-Dowjat.

### 3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych i odbytych studiach

- 15.10.2010 do chwili obecnej: adiunkt w Zakładzie Parazytologii Instytutu Zoologii na Wydziale Biologii Uniwersytetu Warszawskiego
- 11.06.2014-01.10.2017: urlop macierzyński/wychowawczy (3 lata i 4 miesiące)
- 06.08.2009-15.10.2010: urlop macierzyński/ wychowawczy (1 rok i 2 miesiące)
- 01.10.2004-31.10.2008: studia doktoranckie na Wydziale Biologii Uniwersytetu Warszawskiego pod kierunkiem prof. dr hab. Edwarda Sińskiego

- 01.10.2002-08.07.2004: studia magisterskie na Wydziale Biologii Uniwersytetu Warszawskiego
- 01.10.1999-07.07.2002: studia licencjackie na Wydziale Biologii Uniwersytetu Warszawskiego

#### 4. Wskazanie osiągnięcia wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (dz. u. nr 65, poz. 595 ze zm.)

##### a) Tytuł osiągnięcia naukowego

**Różnorodność genetyczna patogenów u kleszczy *Ixodes ricinus* i ich żywicieli, w tym u ludzi o różnym statusie immunologicznym oraz ocena ryzyka infekcji w drodze transfuzji krwi**

##### b) Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego ze szczegółowym omówieniem indywidualnego wkładu wnioskodawcy

1. **Welc-Fałęciak R.**, Werszko J., Cydzik K., Bajer A., Michalik J., Behnke J.M. 2013. Co-infection and genetic diversity of tick-borne pathogens in roe deer from Poland. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* 13 (5), 277-288.

IF<sub>2013</sub> – **2.531**; IF<sub>5-year</sub> – **2.635**; MNiSW<sub>2013</sub> - **30**; liczba cytowań (wg bazy Web of Science) – **21**

*Wkład habilitanta: 70%. Autor korespondencyjny. Autorstwo koncepcji badań; zaplanowanie i wykonanie badań (badania molekularne [PCR], analizy sekwencji nukleotydowych i analizy filogenetyczne); udział w opracowaniu części analiz statystycznych; zdeponowanie sekwencji w bazie GenBank (NCBI), analiza i interpretacja wyników badań; przygotowanie wszystkich rycin i tabel; udział w przygotowaniu manuskryptu (jego pierwszej wersji) i odpowiedzi na uwagi recenzentów, pozyskanie finansowania badań (Projekt IP2010045470).*

2. **Welc-Fałęciak R.**, Kowalec M., Karbowski G., Bajer A., Behnke J.M., Siński E. 2014. Rickettsiaceae and Anaplasmataceae infections in *Ixodes ricinus* ticks from urban and natural forested areas of Poland. *Parasites & Vectors* 7: 121.

IF<sub>2014</sub> – **3.430**; IF<sub>5-year</sub> – **3.434**; MNiSW<sub>2014</sub> - **35**; liczba cytowań (wg bazy Web of Science) – **34**

*Wkład habilitanta: 70%. Autor korespondencyjny. Współautorstwo koncepcji badań; zebranie części materiału ze środowiska; zaplanowanie i wykonanie części badań (badania molekularne [PCR], analizy sekwencji nukleotydowych i analizy filogenetyczne); udział w opracowaniu części analiz statystycznych; opieka nad studentem (M. Kowalec) podczas wykonywania badań, które weszły w skład publikacji; zdeponowanie sekwencji w bazie GenBank (NCBI); analiza i interpretacja wyników badań; przygotowanie wszystkich rycin i tabel; udział w przygotowaniu manuskryptu (jego pierwszej wersji) i odpowiedzi na uwagi recenzentów, pozyskanie w części finansowania badań (Projekt DSM nr 501/86-102356).*

3. **Welc-Falęciak R.**, Siński E., Kowalec M., Zajkowska J., Pancewicz SA. 2014. Asymptomatic "*Candidatus Neoehrlichia mikurensis*" infections in immunocompetent humans. *Journal of Clinical Microbiology* 52(8): 3072-3074.

IF<sub>2014</sub> – **3.993**; IF<sub>5-year</sub> – **4.068**; MNiSW<sub>2014</sub> - **35**; liczba cytowań (wg bazy Web of Science) – **17**

*Wkład habilitanta: 70%. Autor korespondencyjny. Współautorstwo koncepcji badań; zaplanowanie i wykonanie części badań (badania molekularne [PCR], analizy sekwencji nukleotydowych i analizy filogenetyczne); zdeponowanie sekwencji w bazie GenBank (NCBI); opieka nad studentem (M. Kowalec) podczas wykonywania badań, które weszły w skład publikacji; analiza i interpretacja wyników badań; przygotowanie ryciny; udział w przygotowaniu manuskryptu (jego pierwszej wersji) i odpowiedzi na uwagi recenzentów.*

4. **Welc-Falęciak R.**, Pawełczyk A., Radkowski M., Pancewicz S.A., Zajkowska J., Siński E. 2015. First report of two asymptomatic cases of human infection with *Babesia microti* (Franca, 1910) from Poland. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine* 22(1): 51-54.

IF<sub>2015</sub> – **0.895**; IF<sub>5-year</sub> – **1.215**; MNiSW<sub>2015</sub> - **20**; liczba cytowań (wg bazy Web of Science) – **15**

*Wkład habilitanta: 60%. Autor korespondencyjny. Współautorstwo koncepcji badań; zaplanowanie i wykonanie części badań (badania molekularne [PCR], analizy sekwencji nukleotydowych i analizy filogenetyczne); zdeponowanie sekwencji w bazie GenBank (NCBI), analiza i interpretacja wyników badań; przygotowanie ryciny; udział w przygotowaniu manuskryptu (jego pierwszej wersji) i odpowiedzi na uwagi recenzentów.*

5. **Welc-Falęciak R.**, Kowalska J.D., Bednarska M., Szatan M., Pawełczyk A. 2018. Molecular identification of tick-borne pathogens in asymptomatic individuals with human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) infection: a retrospective study. *BMC Infectious Diseases* 18(1):227.

IF<sub>2017</sub> – **2.620**; IF<sub>5-year</sub> – **2.949**; MNiSW<sub>2016</sub> - **30**; liczba cytowań (wg bazy Web of Science) – **1**

*Wkład habilitanta: 65%. Autor korespondencyjny. Autorstwo koncepcji badań; zaplanowanie i wykonanie części badań (badania molekularne [PCR], analizy sekwencji nukleotydowych i analizy filogenetyczne); zdeponowanie sekwencji w bazie GenBank (NCBI); analiza i interpretacja wyników badań; przygotowanie ryciny; udział w przygotowaniu manuskryptu (jego pierwszej wersji) i odpowiedzi na uwagi recenzentów, pozyskanie finansowania badań (Projekt nr IP2014050373).*

6. Pawełczyk A., Bednarska M., Kowalska J.D., Uszyńska-Kałuża B., Radkowski M., **Welc-Falęciak R.** 2019. Seroprevalence of six pathogens transmitted by the *Ixodes ricinus* ticks in asymptomatic individuals with HIV infection and in blood donors. *Scientific Reports* 9(1):2117.

IF<sub>2017</sub> - **4.122**; IF<sub>5-year</sub> - **4.609**; MNiSW<sub>2016</sub> - **40**; liczba cytowań (wg bazy Web of Science) – **0**

*Wkład habilitanta: 55%. Autor korespondencyjny. Autorstwo koncepcji badań; wykonanie części badań serologicznych; analiza i interpretacja wyników badań; analiza statystyczna wyników,*

przygotowanie wszystkich rycin i tabel; udział w przygotowaniu manuskryptu (jego pierwszej wersji) i odpowiedzi na uwagi recenzentów, pozyskanie finansowania badań (Projekt nr IP2014050373).

Sumaryczny współczynnik oddziaływania czasopism, w których ukazały się publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego, zgodnie z rokiem opublikowania (w przypadku prac z lat 2018-2019 wykorzystano ostatnią dostępną w bazach wartość IF2017) – **17.591** (5-letni IF- **18.910**)

Liczba punktów MNiSW za publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego – **190**

Liczba cytowań publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego do dnia złożenia wniosku (wg bazy Web of Science Core Collection) – **88**

c) Omówienie celu naukowego ww. prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania

### **Wstęp**

---

Szybko rozprzestrzeniające się choroby zakaźne (*emerging infectious diseases*; EID) stanowią niezwykle istotny problem dla zdrowia publicznego. Liczba przypadków EID znacząco wzrosła w latach 80-tych XX w., co było związane m. in. z pandemią HIV (Jones i wsp. 2008). Zdecydowaną większość przypadków EID stanowią choroby odzwierzęce (zoonozy), spośród których w ponad 70% źródło zarażenia stanowią zwierzęta dziko żyjące. Prawie 30% przypadków EID stanowią tzw. choroby transmisyjne (*vector-borne diseases*), których czynnikiem etiologicznym są patogeny przenoszone przez krwiopijne stawonogi. Opublikowany w 2018 r. raport ekspertów Center for Disease Control and Prevention (CDC) wykazał alarmujący wzrost liczby przypadków chorób transmisyjnych na terenie Stanów Zjednoczonych w latach 2004-2016 (Rosenberg i wsp. 2018). Spośród 650 tys. odnotowanych przypadków zachorowań, w ponad 75% czynnikiem etiologicznym były patogene mikroorganizmy przenoszone przez kleszcze, które, zaraz po komarach, są najważniejszymi wektorami w aspekcie medycznym i weterynaryjnym.

Głównym wektorem dla patogenów odkleszczowych w Europie jest kleszcz pospolity *Ixodes ricinus*. Gatunek ten związany jest z lasami liściastymi i mieszаныmi, jednak obserwowana przez ostatnie dekady ekspansja *I. ricinus* pozwoliła poszerzyć zasięg jego występowania o północne obszary kontynentu oraz tereny położone na wyższej wysokości n.p.m. Wzrost zagęszczenia kleszczy, także na obszarach zurbanizowanych, oraz wydłużenie okresu aktywności tych pajęczaków są prawdopodobnie wynikiem zmian zachodzących w środowisku m. in. w użytkowaniu gruntów w rolnictwie, w zarządzaniu lasami, zmianami w liczebności i rozmieszczeniu wolno żyjących zwierząt oraz zmianami klimatu (Buczek i wsp. 2014; Léger i wsp. 2013; Medlock i wsp. 2013; Pfäffle i wsp. 2013). Obserwowane zjawiska przekładają się bezpośrednio na wzrost ryzyka transmisji patogenów przenoszonych przez kleszcze, co może stanowić istotny problem dla osób z zaburzeniami układu immunologicznego, których udział w społeczeństwie stale wzrasta (Karp i wsp. 2009).

Żywicielami dla kleszczy *I. ricinus* może być ponad 300 gatunków kręgowców. Cykl życiowy kleszcza pospolitego obejmuje trzy aktywne stadia rozwojowe (larwa, nimfa, osobnik dorosły), które

poszukują żywiciela, odżywiają się jego krwią, a następnie linieją lub składają jaja (samice). Okres pasożytowania kleszczy na żywicielu ogranicza się do kilku lub kilkunastu dni (larwy 3-5 dni, nimfy 4-7 dni, samice 7-11 dni), podczas gdy czas życia wszystkich stadiów rozwojowych może trwać kilka lat (Swanson i wsp. 2006). Ten niezwykle złożony cykl życia sprawia, że kleszcze są podatne na zmiany w strukturze siedlisk i dostępności żywicieli.

Kleszcze są kompetentnymi wektorami dla wielu gatunków patogennych wirusów, bakterii czy pierwotniaków. Istotnym problemem w epidemiologii chorób odkleszczowych są koinfekcje, czyli jednoczesne, wielogatunkowe zakażenia, szczególnie trudne do zdiagnozowania u ludzi. Koinfekcje u kleszczy są wynikiem ich żerowania na zwierzętach, które są żywicielami dla kilku różnych gatunków patogenów. Gryzonie i ptaki stanowią jedną z najważniejszych grup żywicieli, zarówno dla licznych patogenów (m. in. z rodzajów *Borrelia*, *Babesia*, *Anaplasma*, *Neoehrlichia*), jak i samych kleszczy (larw i nimf). Dlatego też u samic kleszczy, które często atakują ludzi i zwierzęta hodowlane, dochodzi do kumulacji patogenów nabytych podczas pasożytowania larw i nimf w wyniku transmisji transstadialnej (przekaz mikroorganizmów pomiędzy poszczególnymi stadiami rozwojowymi) i transowarialnej (przekaz mikroorganizmów na drodze samica-jajo-larwa). Zjawisko koinfekcji ma istotne znaczenie dla diagnostyki i leczenia chorób odkleszczowych. Warto podkreślić, że oprócz najlepiej poznanej drogi zakażenia z wykorzystaniem krwio pijnych stawonogów, infekcje patogenami wektorowanymi możliwe są także poprzez bezpośredni kontakt z krwią zarażonych zwierząt (np. podczas polowań) oraz w trakcie transfuzji krwi i preparatów krwiopochodnych od bezobjawowych dawców.

Jedną z najczęściej diagnozowanych chorób odkleszczowych w Europie jest borelioza z Lyme (BL), każdego roku odnotowuje się około 85 tys. nowych przypadków zachorowań. Zapadalność na boreliozę w Polsce wzrosła znacząco z 20.3/ 100 tys. mieszkańców w 2007 roku do 56/ 100 tys. mieszkańców w 2017 roku (liczba przypadków zachorowań wzrosła prawie trzykrotnie z 7 735 w 2007 roku do 21 516 w roku 2017) (Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego- Państwowy Zakład Higieny, Meldunki Epidemiologiczne, [www.pzh.gov.pl](http://www.pzh.gov.pl)). Jednak faktyczne dane epidemiologiczne wydają się niedoszacowane ze względu na trudności w diagnostyce boreliozy (Dunaj i Zajkowska 2013). Co najmniej pięć gatunków z kompleksu *Borrelia burgdorferi* sensu lato - *Borrelia burgdorferi* sensu stricto, *Borrelia garinii*, *Borrelia afzelii*, *Borrelia spielmani* i *Borrelia bavariensis*- uznane są za gatunki patogenne dla człowieka i wydaje się, że każdy z nich jest związany z odmiennym obrazem klinicznym BL. Nowym gatunkiem opisanym ostatnio w Europie jest *Borrelia miyamotoi*, czynnik etiologiczny wywołujący gorączki powrotne (boreliozę miyamotoi, BM) (Siński i wsp. 2016). Pomimo wzrastającej liczby przypadków zachorowań wśród ludzi, nadal niewiele wiadomo o ekologii i epidemiologii tych bakterii.

W Europie dotychczas opisano około 100 potwierdzonych przypadków ludzkiej anaplazmozy granulocytarnej (*human granulocytic anaplasmosis*; HGA) (Stuen i wsp. 2013) oraz ponad 60 przypadków ludzkiej babeszjozy powodowanej głównie przez *Babesia divergens* (Hildebrandt i wsp. 2013). Odnotowano również pojedyncze przypadki riketsjoz, powodowanych m. in. przez *Rickettsia monacensis* i *R. helvetica*, oraz ludzkiej erlichiozy granulocytarnej (*human granulocytic ehrlichiosis*; HGE) (Blanco i Oteo 2002). Wyniki ostatnich badań sugerują, że kleszcze *I. ricinus* są także kompetentnym wektorem dla bakterii z rodzaju *Bartonella* (Angelakis i wsp. 2010; Cotté i wsp.

2008; Dietrich i wsp. 2010). U osób immunokompetentnych infekcje odkleszczowe mają zazwyczaj przebieg mało specyficzny (objawy grypopodobne ustępują samoistnie w ciągu kilku tygodni) lub bezobjawowy, ale przewlekły (Bakken i Dumler 2015; Hildebrandt i wsp. 2013; Krause i wp. 1998). W aspekcie bezpiecznego krwiodawstwa ma to fundamentalne znaczenie, szczególnie jeśli weźmiemy pod uwagę, iż biorcami krwi są często osoby z immunosupresją (Alhumaidan i wsp. 2013; Cable i Leiby 2003;). U osób z wrodzonymi lub nabytymi zaburzeniami odporności patogeny odkleszczowe mogą wywoływać przewlekłą, wyniszczającą infekcję oportunistyczną, która prowadzi może nawet do śmierci (Chmelík i wsp. 2016; Gonzales i wsp. 2015; Krause i wsp. 2008; Ryan i Thorn 2013; van Burgel i wsp. 2010; Wennerås 2015).

Prace wchodzące w skład mojego osiągnięcia naukowego dotyczą występowania oraz różnicowania gatunkowego i genetycznego patogenów odkleszczowych w Polsce w: (i) populacji wektorów (kleszczy *I. ricinus*) zebranych z terenów o różnym stopniu antropopresji; (ii) populacji jeleniowatych, które stanowią istotną grupę żywicieli zarówno dla kleszczy, jak i patogenów przez nie przenoszonych; (iii) u osób immunokompetentnych narażonych na częstszy kontakt z kleszczami (pracownicy leśni); (iv) u osób z nabytymi niedoborami odporności (zakażonych wirusem HIV-1), a także (v) wśród dawców krwi w Polsce w celu oszacowania potencjalnego ryzyka potransfuzyjnych zakażeń biorców krwi patogenami odkleszczowymi.

### **Różnorodność gatunkowa i genetyczna patogenów przenoszonych przez kleszcze u saren w Polsce**

---

[1] **Welc-Fałęciak R.**, Werszko J., Cydzik K., Bajer A., Michalik J., Behnke J.M. 2013. Co-infection and genetic diversity of tick-borne pathogens in roe deer from Poland. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* 13 (5), 277-288.

Znaczącą część przypadków EID stanowią transmisyjne choroby odzwierzęce (zoonozy), dlatego też niezwykle istotna jest identyfikacja tych grup zwierząt, które stanowią źródło zakażenia/zarażenia dla wektorów. W czasie badań prowadzonych w ramach pracy doktorskiej wykazałam, że wolno żyjące gryzonie stanowią istotne źródło infekcji dla kleszczy patogennymi gatunkami *Babesia* i *Bartonella*, a wysoka intensywność i ekstensywność infestacji gryzoni przez larwy i nimfy *I. ricinus* ułatwia szerokie rozpowszechnienie pasożytów w środowisku. Po zatrudnieniu w Zakładzie Parazytologii WB UW kontynuowałam rozpoczętą podczas studiów doktoranckich tematykę badawczą skupiając się na dużych ssakach leśnych z rodziny jeleniowatych (badania finansowane w ramach projektu Iuventus Plus MNiSW IP2010045470, którego byłam kierownikiem). W Polsce doniesienia dotyczące roli saren jako źródła zakażenia dla kleszczy nadal są nieliczne (Hapunik i wsp. 2011; Rymaszewska 2008; Sawczuk i wsp. 2005; Skotarczak i Adamska 2005) i poświęcone pojedynczym patogenom, nie uwzględniające przy tym infekcji wielogatunkowych.

W Europie sarny stanowią jedną z najważniejszych grup żywicieli dla kleszczy, utrzymując populację tych pajęczaków, a tym samym patogenów przez nie przenoszonych. Rizzoli i wsp. (2014) wykazali, że ekstensywność zakażenia kleszczy wirusem kleszczowego zapalenia mózgu (KZM) i zapadalność na KZM wśród mieszkańców danego regionu jest pozytywnie skorelowana z liczebnością lokalnej populacji saren. Dodatkowo myśliwi i pracownicy leśni narażeni są na kontakt z krwią dzikich zwierząt, w tym saren, co stwarza ryzyko bezpośredniej transmisji patogenów. W

Europie sarny stanowią jedną z najliczniejszych grup zwierzyny łownej, która jako przestrzeń życiową wykorzystuje zarówno obszary leśne, jak i tereny rolnicze (pola, łąki, pastwiska), a przez to może stanowić istotne ogniwo w transmisji pomiędzy żywicielami leśnymi a stosunkowo nowymi żywicielami, jakim jest np. bydło.

Głównym celem pracy było określenie roli saren w utrzymywaniu naturalnych źródeł zakażenia/zarażenia patogenami z rodzajów *Anaplasma*, *Babesia* i *Bartonella*, oszacowanie częstości występowania infekcji wielogatunkowych oraz analiza różnorodności genetycznej patogenów odkleszczowych w oparciu o wybrane markery genetyczne. Analizie molekularnej poddano sekwencje nukleotydowe otrzymanych amplikonów oraz określono ich pozycję filogenetyczną.

Najczęściej identyfikowanym patogenem były bakterie z gatunku *Anaplasma phagocytophilum*, ekstensywność zakażenia wynosiła ponad 37%. Analiza sekwencji nukleotydowych uzyskanych amplikonów 16S rRNA i operonu szoku cieplnego (*groESL*) pozwoliła na identyfikację dwóch wariantów genetycznych każdego z badanych markerów. Mimo zmienności na poziomie DNA operonu szoku cieplnego wśród sekwencji własnych, wszystkie podstawienia nukleotydowe miały charakter synonimiczny i prawdopodobnie nie wpływały na funkcjonowanie białka. Dalsza analiza filogenetyczna sekwencji własnych oraz zdeponowanych w bazie GenBank NCBI pozwoliła na wyróżnienie dwóch linii genetycznych *A. phagocytophilum*, z których jedna obejmowała izolaty uznane za patogenne i potwierdzone m. in. u ludzi, kleszczy, psów i saren z terenów Europy i USA; druga natomiast obejmowała europejskie izolaty od kleszczy i saren, które prawdopodobnie nie są chorobotwórcze. W pracy wykazano, że o ile częstość występowania patogennych i niepatogennych izolatów *A. phagocytophilum* u saren w Polsce jest podobna, to różny był zasięg ich występowania. Izolaty niepatogenne występowały na terenie całego kraju, natomiast te chorobotwórcze odnotowano jedynie u saren z województwa wielkopolskiego. Stwierdzono również obecność izolatów *A. phagocytophilum*, których pozycja (patogenne vs. niepatogenne) różniła się w zależności od stosowanego w genotypowaniu markera (16S rRNA vs. *groESL*), co może być wynikiem rekombinacji wewnątrzgatunkowej opisywanej już wcześniej dla bakterii przenoszonych przez kleszcze (Paziewska i wsp. 2011). Wysoka zmienność obserwowana na poziomie DNA jest charakterystyczna także dla innych populacji *A. phagocytophilum* w Europie (Rar i wsp. 2011).

U 27% badanych zwierząt potwierdzono obecność DNA pierwotniaków z rodzaju *Babesia*. Na podstawie analizy sekwencji fragmentu genu 18S rRNA u saren wykazano obecność 3 gatunków: *B. divergens* i *B. capreoli* oraz, po raz pierwszy w Polsce, *B. venatorum*, który jest stosunkowo nowo poznany gatunkiem *Babesia* powodującym zachorowania w Europie, głównie wśród osób z niedoborami odporności (Herwaldt i wsp. 2003). Analizując częstość występowania poszczególnych gatunków wykazano, że udział *Babesia* swoistych dla jeleniowatych (*B. capreoli*) był prawie dwukrotnie wyższy niż gatunków uznanych za patogenne dla człowieka (*B. divergens*, *B. venatorum*). Zróżnicowanie gatunków *B. divergens* i *B. capreoli* możliwe było dzięki analizie fragmentu genu 18S rRNA o długości 1100 pz, co pozwoliło na identyfikację pojedynczych substytucji nukleotydowych w pozycji 631 i 633. Dotychczasowe badania molekularne opierały się głównie na analizie krótkiego fragmentu genu 18S rRNA (409 pz), co uniemożliwiało rozróżnienie gatunków patogennych dla człowieka (*B. divergens*) od niepatogennych (*B. capreoli*). W



konsekwencji przypisywano tej grupie zwierząt większą niż w rzeczywistości rolę jako żywicieli dla *B. divergens*.

Badania dotyczące występowania bakterii z rodzaju *Bartonella* u jeleniowatych są dość rzadko prowadzone, także w Polsce (Skotarczak i Adamska 2005). Identyfikację gatunków *Bartonella* oparto o analizę dwóch markerów genetycznych: fragmentu genu syntazy cytrynianowej (*gltA*) i podjednostki  $\beta$  polimerazy RNA (*rpoB*). U 13% badanych zwierząt stwierdzono obecność bakterii *Bartonella* należących do dwóch gatunków: *Bart. capreoli* oraz, po raz pierwszy w Polsce, *Bart. schoenbuchensis*, którego potencjał zoonotyczny ze względu na blisko pokrewieństwo z *Bart. bacilliformis* jest wciąż nieznanym (Dehio i wsp. 2001).

U badanych zwierząt potwierdzono także obecność infekcji mieszanych, trzy- i dwugatunkowych, których częstość występowania była wyższa niż wynika to z ekstensywności zakażenia każdego z badanych gatunków patogenów osobno. Uzyskane wyniki sugerują zatem, że częstość występowanie infekcji wielogatunkowych nie wynika tylko z obecności tego samego wektora, ale może być także skutkiem oddziaływań pomiędzy patogenami np. poprzez promowanie wzajemnej transmisji, tak jak to opisano dla bakterii *Borrelia* i *A. phagocytophilum* (Thomas i wsp. 2001). Znaczący udział w infekcjach mieszanych u saren miały gatunki/ izolaty niepatogenne, co wskazuje na niskie ryzyko pojawienia się koinfekcji odkleszczowych u ludzi.

#### **GŁÓWNE OSIĄGNIĘCIA:**

- wykazanie, że w populacji saren obecne są bakterie *A. phagocytophilum* należące do dwóch linii genetycznych obejmujące odpowiednio izolaty niepatogenne i uznane za chorobotwórcze;
- potwierdzenie po raz pierwszy w Polsce obecności patogenego dla ludzi gatunku *Babesia venatorum* oraz swoistego dla jeleniowatych *Bartonella schoenbuchensis* w populacji saren w Polsce;
- rozróżnienie dwóch gatunków: *Babesia divergens* i *Babesia capreoli* na podstawie analizy pojedynczych substytucji nukleotydowych w obrębie fragmentu genu 18S rRNA;
- wykazanie, że pomimo wysokiej częstości występowania wielogatunkowych infekcji u saren, w znaczącą większość z nich zaangażowane są gatunki swoiste dla tej grupy zwierząt, co sugeruje niskie ryzyko pojawienia się koinfekcji odkleszczowych u ludzi.

#### **Bakterie z rodziny Anaplasmataceae i Rickettsiaceae u kleszczy *Ixodes ricinus* z terenów zurbanizowanych i mało zmienionych przez człowieka**

---

[2] Welc-Falęciak R., Kowalec M., Karbowski G., Bajer A., Behnke J.M., Siński E. 2014. Rickettsiaceae and Anaplasmataceae infections in *Ixodes ricinus* ticks from urban and natural forested areas of Poland. *Parasites & Vectors* 7: 121.

Zagęszczenie kleszczy w środowisku oraz częstość zakażeń u tych pajęczaków zależy od wielu czynników, a niezwykle złożony cykl życia kleszczy sprawia, że są one podatne na zmiany w strukturze siedlisk i dostępności żywicieli. Z kolei dostępność żywicieli zależy m. in. od charakteru siedliska oraz wpływa na różnorodność szczepów/gatunków patogenów przenoszonych przez kleszcze (Overzier i wsp. 2013). Na terenach zurbanizowanych ludzie, zwierzęta domowe (zwłaszcza psy), synantropijne gatunki gryzoni i ptaków odgrywają istotną rolę zarówno jako żywicieli dla kleszczy, jak i źródło infekcji dla tych pajęczaków. Wydaje się, że proces urbanizacji i inne

antropogenne zmiany w środowisku nie tylko sprzyjają kontaktowi kleszczy i ludzi (Rizzoli i wsp. 2014), ale także wpływają pośrednio na transmisję i obieg patogenów odkleszczowych, m. in. poprzez fragmentację lasów czy obniżając bioróżnorodność (Sprong i wsp. 2018). Na terenach mało zmienionych istotną grupę żywicieli stanowią jeleniowate, dziki, lisy oraz drobne gryzonie i ptaki.

Celem pracy była weryfikacja hipotezy zakładającej, że zagęszczenie kleszczy, a w konsekwencji częstości występowania patogenów przez nie przenoszonych oraz ich różnorodność gatunkowa/ genetyczna różni się istotnie pomiędzy terenami o różnym stopniu antropopresji. Identyfikacja bakterii z rodziny Anaplasmataceae i Rickettsiaceae, badanych przeze mnie w ramach przedstawionego osiągnięcia naukowego, prowadzona była u kleszczy z wybranych terenów zurbanizowanych oraz mało zmienionych przez człowieka. Tereny zurbanizowane obejmowały obszary lasów miejskich (Las Kabacki i Las Bielański) położonych w odległości < 10 km od centrum Warszawy, otoczonych miejską zabudową, które stanowią miejsce odpoczynku i rekreacji dla mieszkańców miasta. Obszary mało zmienione przez człowieka stanowiły Kampinoski Park Narodowy, Białowieski Park Narodowy oraz Mazurski Park Krajobrazowy. Badania uzyskały finansowanie w ramach projektu MNiSW NN404795240, którego byłam głównym wykonawcą oraz projektu DSM Wydziału Biologii UW, którego byłam kierownikiem.

Zebrano ponad 1325 kleszczy, których zagęszczenie na badanych terenach różniło się istotnie. Prawie dwukrotnie wyższe zagęszczenie kleszczy obserwowano na terenach naturalnych (13.4/100 m<sup>2</sup>), mało zmienionych przez człowieka w porównaniu do obszarów zurbanizowanych (8.8/100 m<sup>2</sup>). Ciekawe wyniki otrzymano analizując ekstensywność zakażenia kleszczy przez bakterie z rodziny Anaplasmataceae i Rickettsiaceae na badanych obszarach. Wykazano, że wśród kleszczy z terenów zurbanizowanych, pomimo ich niższego zagęszczenia, trzykrotnie częściej (11.6%) obserwowano obecność badanych bakterii niż u kleszczy z terenów naturalnych (4.4%). Dodatkowo analiza występowania infekcji wielogatunkowych wykazała ich obecność jedynie u kleszczy z terenów zurbanizowanych (4.8%).

Najczęściej identyfikowanym u kleszczy *I. ricinus* patogenem były bakterie z rodzaju *Rickettsia* – ekstensywność zakażenia wynosiła ponad 4%. Bakterie te istotnie częściej występowały u kleszczy z obszarów zurbanizowanych. Analiza sekwencji fragmentu genu syntazy cytrynianowej (*glfA*) potwierdziła obecność dwóch gatunków, z których dominującym był *R. helvetica* (95%). *Rickettsia monacensis* była identyfikowana znacznie rzadziej, natomiast kleszcze zakażone tym gatunkiem odnotowano jedynie na terenach zurbanizowanych. Obecność *R. monacensis* potwierdzono wcześniej w m. in. w Niemczech (Simsler i wsp. 2002) i tylko jeden raz w Polsce, w północno-zachodniej części kraju (Rymaszewska i Piotrowski 2013), gdzie gatunek ten wcześniej nie był notowany.

Podobnie jak w przypadku *Rickettsia*, bakterie z rodzaju *Anaplasma* występowały istotnie częściej u kleszczy z terenów miejskich. Analiza sekwencji nukleotydowych uzyskanych izolatów *Anaplasma* wykazała polimorfizm w obrębie fragmentów genu 16S rRNA oraz operonu szoku cieplnego (*groESL*), co pozwoliło wyróżnić kilka wariantów genetycznych dla każdego z badanych markerów. Dla sekwencji 16S rRNA zidentyfikowano 4 różne warianty, a dla *groESL* – 7, z czego odpowiednio dwa i trzy warianty po raz pierwszy zdeponowano w bazie GenBank NCBI. Analiza

filogenetyczna z uwzględnieniem sekwencji zdeponowanych w bazie GenBank NCBI, podobnie jak w przypadku izolatów uzyskanych od saren, umożliwiła wyróżnienie dwóch linii genetycznych *A. phagocytophilum*, z których jedna obejmowała izolaty uznane za patogenne, druga natomiast - europejskie izolaty, które prawdopodobnie nie są chorobotwórcze. Interesujące wyniki otrzymano analizując występowanie poszczególnych wariantów genetycznych na badanych terenach. Pomimo, że większą różnorodność *A. phagocytophilum* odnotowano wśród kleszczy z terenów naturalnych, to izolaty patogenne obserwowano jedynie u kleszczy z terenów zurbanizowanych. Prawdopodobnie jest to wynikiem dostępności różnych grup żywicieli i wyraźnie wskazuje, że na terenach miejskich ludzie, zwierzęta towarzyszące (psy) oraz gatunki synantropijne są odpowiednim żywicielem zarówno dla kleszczy, jak i patogenów przez nie przenoszonych.

Analizując sekwencje nukleotydowe *groESL* zidentyfikowano po raz pierwszy w Polsce bakterie z gatunku *Candidatus Neoehrlichia mikurensis*, który powoduje stosunkowo niedawno opisaną chorobę odkleszczową- neoerlichiozę (Welinder-Olsson i wsp. 2010). Uzyskany w naszych badaniach izolat był identyczny z *Ca. N. mikurensis* izolowanym w Niemczech od pacjenta stosującego przewlekłą terapię immunosupresyjną. Uzyskane wyniki wskazują zatem na ryzyko pojawienia się neoerlichiozy również w Polsce.

#### **GŁÓWNE OSIĄGNIĘCIA:**

- wykazanie, że zagęszczenie kleszczy na terenach zurbanizowanych i mało zmienionych przez człowieka istotnie się różni. Pomimo, że kleszczy na terenach naturalnych było istotnie więcej, to częstość ich zakażenia gatunkami/izolatami patogennymi oraz częstość występowania infekcji mieszanych była znacząco wyższa na terenach zurbanizowanych. Przekłada się to bezpośrednio na wyższe ryzyko pojawienia się chorób odkleszczowych na terenach miejskich w porównaniu do obszarów mało zmienionych przez człowieka.
- zidentyfikowano nowe warianty genetyczne 16S rRNA i *groESL* *A. phagocytophilum* u kleszczy *I. ricinus* w Polsce;
- potwierdzenie po raz pierwszy w Polsce u kleszczy obecności patogennego dla ludzi nowego gatunku *Ca. Neoehrlichia mikurensis*, którym zakażenie jest szczególnie niebezpieczne dla osób z niedoborami odporności.

#### **Asymptomatyczne zakażenia odkleszczowe u osób immunokompetentnych**

---

[3] **Welc-Falęciak R.**, Siński E., Kowalec M., Zajkowska J., Pancewicz SA. 2014. Asymptomatic "*Candidatus Neoehrlichia mikurensis*" infections in immunocompetent humans. *Journal of Clinical Microbiology* 52(8): 3072-3074.

[4] **Welc-Falęciak R.**, Pawełczyk A., Radkowski M., Pancewicz S.A., Zajkowska J., Siński E. 2015. First report of two asymptomatic cases of human infection with *Babesia microti* (Franca, 1910) from Poland. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine* 22(1): 51-54.

W Europie, w tym w Polsce, najczęściej diagnozowaną chorobą odkleszczową jest borelioza z Lyme (BL), której przypadki podlegają obowiązkowemu zgłoszeniu do właściwych organów. Pozostałe, takie jak anaplazmoza, babeszjoza czy riketsjozy odnotowywane są sporadycznie. Nieswoiste symptomy kliniczne zakażeń odkleszczowych i trudności diagnostyczne mają kluczowy wpływ na ich prawidłowe rozpoznanie, a w konsekwencji skuteczne leczenie. Zakażenia odkleszczowe u osób

immunokompetentnych często mają przebieg bezobjawowy, ale przewlekły (Krause i wsp. 1998) . W aspekcie bezpiecznego krwiodawstwa ma to fundamentalne znaczenie, szczególnie jeśli biorcami krwi są osoby z immunosupresją. Biorąc pod uwagę wyniki wcześniej prowadzonych przeze mnie badań, które jednoznacznie potwierdziły obecność u kleszczy i ich żywicieli gatunków mikroorganizmów uznanych za patogenne dla ludzi, kolejnym etapem było oszacowanie częstości występowania patogenów przenoszonych przez kleszcze u osób immunokompetentnych. Badania te, prowadzone we współpracy z prof. dr hab. Sławomirem Pancewiczem i prof. dr hab. Joanną Zajkowską z Kliniki Chorób Zakaźnych i Neuroinfekcji Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku oraz dr Agnieszką Pawełczyk i prof. dr hab. Markiem Radkowskim z Zakładu Immunopatologii Chorób Zakaźnych i Pasożytniczych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego, uzyskały finansowanie w ramach projektu MNiSW NN404795240, którego byłam głównym wykonawcą. Materiał do badań stanowiły próby krwi pobrane od pracowników leśnych z regionów endemicznym dla kleszczy i boreliozy z Lyme (północno-wschodnia Polska), którzy z racji wykonywanego zawodu są narażeni na częste kontakty z kleszczami. Na podstawie przeprowadzonych ankiet do badań włączono jedynie próby od osób bez wrodzonych i nabytych niedoborów odporności.

Przeprowadzone badania molekularne potwierdziły obecność bakterii *Ca. Neoehrlichia mikurensis* u 1.6% badanych osób (5/316) (praca nr 3). Żadna z zakażonych osób nie zgłaszała objawów mogących sugerować infekcję odkleszczową. W jednym przypadku infekcja utrzymywała się prawdopodobnie przez okres 6 miesięcy- obecność DNA bakterii we krwi potwierdzono zarówno w czerwcu, jak i listopadzie 2012 roku. Nie można jednak z całą pewnością wykluczyć ponownego zakażenia w czasie pomiędzy pierwszym a drugim pobraniem prób krwi, tym bardziej, że przypadał on na okres wzmożonej aktywności kleszczy. Badania molekularne uzyskanych izolatów przeprowadzono z wykorzystaniem fragmentu genu 16S rRNA oraz *groESL*, którego większa zmienność pozwala na rozróżnienie dwóch linii genetycznych *Ca. N. mikurensis*: europejskiej i azjatyckiej. Analiza sekwencji nukleotydowych wybranych markerów wykazała, że badane izolaty są identyczne względem siebie oraz sekwencji *Ca. N. mikurensis* zdeponowanych w bazie GenBank NCBI pochodzących od europejskich gryzoni i kleszczy *I. ricinus*, a także pacjentów ze zdiagnozowaną neoerlichiozą m. in. z Niemiec i Szwajcarii. Sekwencje obu markerów genetycznych były również identyczne z izolatami *Ca. N. mikurensis*, które zostały przez nas opisane u kleszczy z terenów zurbanizowanych i mało zmienionych przez człowieka (praca nr 2).

Jest to pierwsze na świecie doniesienie o asymptomatycznych zakażeniach *Ca. N. mikurensis* u osób immunokompetentnych. Te gramujemne, wewnątrzkomórkowe bakterie z rodziny Anaplasmataceae zostały po raz pierwszy opisane u szczura *Rattus norvegicus* i kleszczy *Ixodes ovatus* w Japonii (Kawahara i wsp. 2004). Gatunek *Ca. Neoehrlichia mikurensis* został niedawno uznany w Europie za patogenny dla człowieka i wydaje się być drugim po *Borrelia afzelii* najczęściej przenoszonym przez kleszcze *I. ricinus* patogenem w Europie Środkowej (Richter i Matuschka, 2012). Dotychczas większość pacjentów z neoerlichiozą w Europie miało zaburzenia autoimmunologiczne, choroby hematologiczne lub przebyło splenektomię. Wydaje się, że docelową lokalizacją dla *Ca. N. mikurensis* stanowią leukocyty i komórki śródbłonka naczyń krwionośnych (Pekova i wsp. 2011). Dlatego też wyniki naszych badań mają niezwykle istotne znaczenie w aspekcie bezpiecznego krwiodawstwa, gdzie największe niebezpieczeństwo stanowią bezobjawowi dawcy. Warto podkreślić, że dla innych bakterii z rodziny Anaplasmataceae przenoszonych przez

kleszcze (*Anaplasma*, *Ehrlichia*) udowodniono potransfuzyjne zakażenia u biorców oraz potwierdzono, że bakterie te mogą przeżyć w koncentratkach krwinek czerwonych (KKCz) w warunkach chłodniczych nawet 18 dni (Kalantarpour i wsp. 2000).

W pracy nr 4 przedstawiono wyniki badań molekularnych z wykorzystaniem metod PCR i Real Time PCR, które potwierdziły pierwsze w Polsce i drugie w Europie (Hildebrandt i wsp. 2007) zarażenia z udziałem pierwotniaków *Babesia microti* u ludzi (3.4%, 2/38). Żadna z zarażonych osób nie zgłaszała objawów mogących sugerować babeszjozę lub inną infekcję odkleszczową. Analiza sekwencji nukleotydowych uzyskanych ampikonów wykazała, że badane izolaty są identyczne z izolatami *B. microti* Jena uzyskanymi od pacjentów na terenie Niemiec (Hildebrandt i wsp. 2007). Warto podkreślić, że obecność szczepu *B. microti* Jena została przez nas potwierdzona także u kleszczy *I. ricinus* (Welc-Falęciak i wsp. 2012) oraz gryzoni (Welc-Falęciak 2009), co wskazuje na istnienie naturalnych źródeł zarażenia *B. microti* w naszym kraju. Podobnie jak w przypadku zakażeń z udziałem *Ca. N. mikurensis*, asymptomatyczne zarażenia *B. microti* są szczególnie niebezpieczne w krwiodawstwie, gdzie istotne zagrożenie stanowią bezobjawowi dawcy. Potransfuzyjna babeszjoza jest coraz częściej opisywana na świecie, głównie w Stanach Zjednoczonych (Ward i wsp. 2018). Według Agencji ds. Żywności i Leków (*Food and Drug Administration*, FDA) zarażenia *B. microti* są jedną z najczęstszych przyczyn zgonów związanych z transfuzją krwi lub preparatów krwiopochodnych wraz z czynnikami zakaźnymi. Dotychczas potwierdzono 225 przypadków potransfuzyjnej babeszjozy, z czego prawie 13% (28) zakończyła się śmiercią biorcy (Kumar 2018). W Polsce przebycie babeszjozy jest jednym z kryteriów dyskwalifikacji stałej dla kandydatów na dawców krwi pod warunkiem, że potencjalny dawca wiedział o zarażeniu (badania przesiewowe w kierunku zakażeń *Babesia* nie są w Polsce prowadzone).

#### **GŁÓWNE OSIĄGNIĘCIA:**

- wykazanie asymptomatycznych zakażeń *Ca. N. mikurensis* i *Babesia microti* u osób immunokompetentnych, co ma istotne znaczenie w aspekcie bezpiecznego krwiodawstwa, gdzie największe zagrożenie stwarzają bezobjawowi dawcy.

#### **Patogeny przenoszone przez kleszcze u osób z nabytymi niedoborami odporności i dawców krwi w Polsce**

---

[5] Welc-Falęciak R., Kowalska J.D., Bednarska M., Szatan M., Pawełczyk A. 2018. Molecular identification of tick-borne pathogens in asymptomatic individuals with human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) infection: a retrospective study. *BMC Infectious Diseases* 18(1):227.

[6] Pawełczyk A, Bednarska M, Kowalska JD, Uszyńska-Kałuża B, Radkowski M, Welc-Falęciak R. 2019. Seroprevalence of six pathogens transmitted by the *Ixodes ricinus* ticks in asymptomatic individuals with HIV infection and in blood donors. *Scientific Reports* 9(1):2117.

U pacjentów zakażonych HIV (*Human Immunodeficiency Virus*) zaburzenia układu immunologicznego, będące konsekwencją obniżonego poziomu limfocytów T CD4+, istotnie podnosi ryzyko zachorowań wywoływanych przez patogeny, których namnażanie i chorobotwórczość jest zwykle kontrolowana przez humoralną i komórkową odpowiedź

immunologiczną (Chang i wsp. 2013). W Polsce od 1985 r. zakażenie HIV potwierdzono u ponad 22 tys. osób, z czego 1.4 tys. zmarło (Sadkowska-Todys i wsp. 2016). Diagnostyka infekcji u osób zakażonych HIV jest uważana za skomplikowaną z powodu obniżonego PPV (*positive predictive value*) dla badań serologicznych u tej grupy pacjentów (Cook i wsp. 2017). Obecnie jednak większość pacjentów osiąga satysfakcjonującą odbudowę immunologiczną i ryzyko obniżonego PPV dla badań serologicznych jest znacznie niższe. Od czasu wprowadzenia leków antyretrowirusowych i skutecznych schematów terapii antyretrowirusowej (*Highly Active Antiretroviral Therapy*, HAART) rokowanie dla osób zakażonych HIV uległo znacznej poprawie. Dlatego też osoby te mają większe szanse na aktywne życie, co zwiększa jednocześnie szansę na kontakt z kleszczami. Dotychczas nieliczne opracowania dotyczyły występowania zakażeń odkleszczowych u osób HIV pozytywnych, były to głównie doniesienia o pojedynczych przypadkach klinicznych zakażeń z udziałem patogenów z rodzajów *Babesia*, *Borrelia* i *Rickettsia* (Cerný i wsp. 2006; Colomba i wsp. 2013; Machtinger i wsp. 1993). Naszym celem były kompleksowe badania molekularne i serologiczne zakażeń z udziałem 6 najczęstszych patogenów przenoszonych przez krwio pijne stawonogi na dużej liczbie pacjentów z nabytymi zaburzeniami odporności, pierwsze tego typu w Europie. Grupę kontrolną stanowiły osoby zdrowe- dawcy krwi, co jednocześnie pozwoliło oszacować częstości występowania patogenów przenoszonych przez krwio pijne stawonogi u tej grupy, a tym samym – ryzyko infekcji potransfuzyjnych w Polsce. Istotną przesłankę do tego typu badań stanowiły uzyskane przeze mnie wyniki dotyczące występowania asymptomatycznych zakażeń z udziałem *Ca. N. mikurensis* i *B. microti* u osób immunokompetentnych w Polsce. Badania z udziałem osób zakażonych HIV i dawców krwi prowadziłam we współpracy z dr hab. Justyną D. Kowalską z Kliniki Chorób Zakaźnych dla Dorosłych WUM, dr Agnieszką Pawełczyk i prof. dr hab. Markiem Radkowskim z Zakładu Immunopatologii Chorób Zakaźnych i Pasożytniczych WUM oraz dr Beatą Uszyńską-Kałużą z Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa MSWiA. Badania były finansowane w ramach projektu Iuventus Plus MNiSW (IP2014050373), którego byłam kierownikiem.

Do badań włączono próby krwi i surowicy pobrane od 227 osób zakażonych HIV oraz 199 dawców krwi. Dla pacjentów HIV pozytywnych zebrano dane medyczne dotyczące m. in. liczby limfocytów T CD4+, poziomu wiremii, stosowania HAART. Dla dawców krwi przygotowano anonimowe ankiety, w których uwzględniono m. in. status immunologiczny, historię kontaktów z kleszczami i chorób odkleszczowych (BL). Osoby przyjmujące leki immunosupresyjne oraz antybiotyki zostały wykluczone z dalszych badań.

Wyniki przeprowadzonych badań wykazały, że u osób HIV pozytywnych seroprewalencja wybranych zakażeń odkleszczowych była istotnie wyższa niż u osób zdrowych (dawców krwi) [praca nr 6]. U pacjentów z HIV najczęściej odnotowywano obecność przeciwciał klasy IgM (30%) i IgG (5%) swoistych dla krętków *B. burgdorferi*, najwyższą seroprewalencję obserwowano u pacjentów powyżej 35 r.ż. oraz ze średnią liczbą limfocytów T CD4+ poniżej 300/uł. Biorąc pod uwagę reakcje krzyżowe antygenów *B. burgdorferi* i *Treponema pallidum* (Aguero-Rosenfeld 2008), wyniki testów ELISA zostały potwierdzone testem Western Blott (WB) w celu wykluczenia wyników fałszywie dodatnich. Jedynie połowa pozytywnych wyników ELISA została potwierdzona testem WB, co wskazuje na konieczność wykonywania dwustopniowej diagnostyki serologicznej BL, szczególnie u osób z obniżoną odpornością.

W celu potwierdzenia obecności DNA *Borrelia* we krwi badanych pacjentów z HIV wykorzystano nested PCR w oparciu o dwa markery genetyczne: 16S rRNA i gen białka flageliny (*flaB*) [praca nr 5]. U jednej osoby potwierdzono obecność krętków *B. garinii*, który jest gatunkiem neurotropowym. W wywiadzie nie potwierdzono objawów mogących sugerować wczesną lub późną postać BL. Dodatkowo wyniki przeprowadzonych badań serologicznych nie były jednoznaczne. Pacjent był natomiast dwukrotnie diagnozowany i leczony w kierunku kiły, której objawy kliniczne mogą być podobne do BL, a zastosowana antybiotykoterapia mogła mieć wpływ na przebieg BL. Wyniki naszych badań wskazują zatem, że u osób zakażonych HIV infekcje odkleszczowe mogą mieć przebieg bezobjawowy, a w przypadku niejednoznacznych wyników testów serologicznych należy rozważyć wykonanie PCR jako metody wspomagającej w diagnostyce BL.

Dostępne dane literaturowe wyraźnie wskazują, że w Europie zachorowania ludzi na babeszjozę powodowane są w zdecydowanej większości przypadków przez *B. divergens*. Jednak wyniki naszych dotychczasowych badań (Welc-Fałęciak i wsp. 2012; praca nr 4), jak również innych grup badawczych (Moniuszko i wsp. 2014; Moniuszko-Malinowska i wp. 2016; Skotarczak i Cichocka 2001; Wójcik-Fatla i wsp. 2015) wskazują, że gatunkiem powodującym infekcje u ludzi i dominującym u kleszczy *I. ricinus* w Polsce jest *B. microti*. Dlatego też w niniejszej pracy oszacowano seroprewalencję *B. microti* u osób z obu grup badawczych. Istotnie częściej swoiste przeciwciała IgM notowano u osób zakażonych HIV (9.3%) niż w grupie dawców krwi (1%), jednak różnice te nie były obserwowane w przypadku IgG. Nie potwierdzono także obecności DNA *Babesia* w badanych próbach krwi. Babeszjoza jest szczególnie niebezpieczna dla osób z HIV, u których nawroty infekcji mogą powtarzać się kilkakrotnie pomimo leczenia, a wysoka parazytemia może wymagać przetoczeń krwi (Vyas i wsp. 2007). Wyniki naszych badań wskazują jednak, że w Polsce ryzyko zachorowania w tej grupie pacjentów jest niewielkie.

Na podstawie wyników badań serologicznych i molekularnych potwierdzono, po raz pierwszy na świecie, zakażenie *A. phagocytophilum* u pacjenta HIV pozytywnego [praca nr 5]. Zakażenie, podobnie jak w przypadku *B. garinii*, miało przebieg asymptomatyczny, jednak wczesne objawy HGA są często mało charakterystyczne i naśladują łagodną infekcję wirusową (Bakken i Dumler 2015). Analiza sekwencji nukleotydowych fragmentów genu 16S rRNA i operonu *groESL* uzyskanego izolatu *A. phagocytophilum* potwierdziła jego wysokie podobieństwo (<99.8%) do izolatów zidentyfikowanych przez mnie u kleszczy *I. ricinus* w trakcie poprzednich badań (praca nr 2). Analiza filogenetyczna wykazała natomiast, że izolat ten należy do linii genetycznej obejmującej izolaty patogenne dla ludzi i zwierząt.

Analizując częstość występowania koinfekcji jedynie u 3% pacjentów zakażonych HIV (7/227) wykazano obecność swoistych przeciwciał dla dwóch z sześciu badanych mikropasożytów. Nie odnotowano koinfekcji z udziałem 3 lub więcej patogenów. Najczęściej obserwowano infekcje wielogatunkowe z udziałem *A. phagocytophilum* i *Ehrlichia chaffeensis* (59%). Prawdopodobnie wynika to z reakcji krzyżowych pomiędzy tymi gatunkami, co może mieć wpływ na odsetek wyników fałszywie dodatnich w testach serologicznych (Ismail i wsp. 2010). Wyniki naszych badań wskazują zatem na konieczność testowania surowic zarówno w kierunku *A. phagocytophilum*, jak i *E. chaffeensis* przy przypisywaniu określonej etiologii.

Interesująca wydaje się analiza występowania wyników niejednoznacznych w obu grupach badawczych. Istotnie częściej wyniki niejednoznaczne testów serologicznych stwierdzano u pacjentów zakażonych HIV, co najprawdopodobniej wynika z dysfunkcji układu immunologicznego oraz reakcji krzyżowych z innymi patogenami, m. in. powodujących inwazje oportunistyczne w tej grupie pacjentów. Wydaje się zatem, że w przypadku osób z nabytymi niedoborami odporności diagnostyka określonej infekcji powinna uwzględnić równoległe zastosowanie testów serologicznych i molekularnych.

Seroprewalencja badanych patogenów odkleszczowych w grupie dawców krwi nie przekraczała zazwyczaj 5% i była zbliżona do średniej europejskiej (De Keukeleire i wsp. 2017; Hunfeld i wsp. 2002), u żadnego z dawców krwi nie potwierdzono także obecności DNA badanych patogenów, co wskazuje na niskie prawdopodobieństwo zakażeń potransfuzyjnych. Obecność IgG swoistych dla *B. burdorferi* stwierdzono u 5% dawców (n=10), którzy w ostatnich 10 latach przechodzili LB. Trudno jednoznacznie określić czy u osób tych krętki były obecne w momencie oddawania krwi, należy jednak wziąć pod uwagę, że dawcy ci deklarowali wielokrotne donacje. W przypadku bakteriemii istnieje ryzyko zakażeń potransfuzyjnych, jednak dotychczas nie odnotowano przypadków BL, które byłyby skutkiem przetoczeń. Częstość zakażeń wielogatunkowych u dawców krwi była niska (1.5%) i odnotowywana jedynie w przypadku IgM. Dodatkowo udział we wszystkich koinfekcjach miały te same gatunki tj. *A. phagocytophilum* i *E. chaffeensis*, co prawdopodobnie wynika z reakcji krzyżowych pomiędzy nimi. Podsumowując wyniki badań przedstawionych w pracach 3, 4 i 6 można wnioskować, że ryzyko przeniesienia patogenów odkleszczowych wraz z krwią w Polsce jest niskie. Jednak należy wziąć pod uwagę, że nawet pojedyncze przypadki mogą mieć ciężki, nawet kończący się śmiercią, przebieg. Analizując realne znaczenie patogenów odkleszczowych dla krwiodawstwa i krwiolecznictwa, należy rozważyć nie tylko zagrożenia związane z ewentualnym przeniesieniem infekcji, ale również ryzyko niebezpiecznego zmniejszenia zasobów krwi spowodowanego stosowaną bez wystarczającego uzasadnienia profilaktyką np. poprzez stałą lub czasową dyskwalifikacją krwiodawców.

#### **GŁÓWNE OSIĄGNIĘCIA:**

- wykazanie, że seroprewalencja zakażeń odkleszczowych, w tym infekcji wielogatunkowych, jest istotnie wyższa u osób zakażonych HIV niż w zdrowej populacji;
- wykazanie, że zakażenia odkleszczowe u osób z nabytymi niedoborami odporności mogą mieć przebieg asymptotyczny, a częstość wyników niejednoznacznych w testach serologicznych u tej grupy pacjentów jest istotnie wyższa niż w zdrowej populacji, dlatego też diagnostyka określonej infekcji powinna uwzględnić równoległe zastosowanie testów serologicznych i molekularnych;
- wykazanie, że ryzyko potransfuzyjnych zakażeń patogenami odkleszczowymi w Polsce jest niskie;
- uzyskane wyniki pozwoliły uzupełnić dotychczasowy stan wiedzy, co może bezpośrednio przełożyć się na postępowanie kliniczne u osób z zaburzeniami odporności.

#### **Podsumowanie**

---

Przedstawione w niniejszym wniosku prace uwzględniają wszystkie trzy elementy układu patogen-wektor-żywiciel, co pozwala kompleksowo spojrzeć na problem zakażeń odkleszczowych. Prowadzone badania z zakresu parazytologii, ekologii, biologii molekularnej i filogenetyki oraz



diagnostyki zakażeń odkleszczowych mają natomiast wymiar interdyscyplinarny zgodnie z globalną koncepcją 'One health' (Dantas-Torres i wsp. 2012, Vayssier-Taussat i wsp. 2015). Wyniki badań przedstawionych w niniejszym wniosku jednoznacznie wskazują na ryzyko wystąpienia u ludzi w Polsce zakażeń odkleszczowych innych niż borelioza z Lyme. Pojawianie się nowych gatunków patogenów przenoszonych przez kleszcze zawsze stawia pytania o czułość i specyficzność dostępnych metod diagnostycznych oraz o zagrożenie dla bezpieczeństwa krwiolecznictwa. W celu opracowania autorskich metod diagnostycznych w zakresie infekcji pasożytniczych oraz komercjalizacji wyników badań w 2015 roku zostało założone Laboratorium Diagnostyki Zarażeń Pasożytniczych i Odzwierzęcych AmerLab Sp. z o.o. – pierwsza spółka typu 'spin-off' łącząca dwa Uniwersytety: Uniwersytet Warszawski i Warszawski Uniwersytet Medyczny, którego jestem współzałożycielką.

## Plany naukowe

---

W najbliższych latach planuję kontynuację projektów badawczych dotyczących:

- zastosowania wolnokrążącego DNA (*cell-free DNA*) w diagnostyce chorób pasożytniczych- celem badań będzie opracowanie nowych metod diagnostycznych opartych na bezpośredniej identyfikacji cfDNA pasożytów. Ma to szczególnie istotne znaczenie w przypadku pasożytów, których objawy zarażenia są mało swoiste, a bezpośrednia diagnostyka jest bardzo utrudniona ze względu na lokalizację pasożytów lub ich cykl życiowy (np. nieregularne wydalanie cyst pierwotniaków). Badania wstępne w temacie uzyskały finansowanie w ramach projektu MINIATURA NCN (2017/01/X/NZ7/01860).
- oceny wpływu mikrobiomu kleszczy na transmisję krętków *Borrelia* na drodze kleszcz- człowiek- celem badań będzie określenie czy endosymbionty kleszczy oraz patogeny przez nie przenoszone mają wpływ na dynamikę transmisji krętków *Borrelia* podczas żerowania przez kleszcza oraz oszacowanie ryzyka i wpływu wybranych czynników na rozwój objawowej BL. Badania będą prowadzone z wykorzystaniem metod molekularnych i serologicznym oraz analiz metagenomicznych (NGS) i filogenetycznych.

## Literatura

---

Aguero-Rosenfeld ME. Lyme disease: laboratory issues. *Infect Dis Clin N Am*. 2008; 22:301–13.

Alhumaidan H, Westley B, Esteva C, Berardi V, Young C, Sweeney J. Transfusion-transmitted anaplasmosis from leukoreduced red blood cells. *Transfusion* 2013; 53:81–186.

Angelakis E, Pulcini C, Waton J, Imbert P, Socolovschi C, Edouard S, Dellamonica P, Raoult D. Scalp eschar and neck lymphadenopathy caused by *Bartonella henselae* after tick bite. *Clin. Infect. Dis*. 2010; 50:549e51.

Bakken JS, Dumler JS. Human granulocytic anaplasmosis. *Infect. Dis. Clin. North. Am*. 2015; 29:341-355.

Blanco JR, Oteo JA. Human granulocytic ehrlichiosis in Europe. *Clin. Microbiol. Infect*. 2002; 8: 763–772.

- Buczek A, Ciura D, Bartosik K, Zając Z, Kulisz J. Threat of attacks of *Ixodes ricinus* ticks (Ixodida: Ixodidae) and Lyme borreliosis within urban heat islands in south-western Poland. *Parasit. Vectors* 2014; 7:562.
- Cable RG, Leiby DA. Risk and prevention of transfusion-transmitted babesiosis and other tick-borne diseases. *Curr. Opin. Hematol.* 2003; 10:405–411.
- Cerný R, Machala L, Bojar M, Rozsypal H., Pícha D. Neuroborreliosis in an HIV-1 positive patient. *Infection* 2016; 34:100–102.
- Chang CC, Crane M, Zhou J, Mina M, Post JJ, Cameron BA, Lloyd AR, Jaworowski A, French MA, Lewin SR. HIV and co-infections. *Immunol. Rev.* 2013; 254:114–142.
- Chmelík V, Chrdle A, Růžek D. Fatal tick-borne encephalitis in an immunosuppressed 12-year-old patient. *J. Clin. Virol.* 2016; 74:73–74.
- Colomba C, Siracusa L, Madonia S, Saporito L, Bonura C, De Grazia S, Giammanco GM. A case of spotted fever rickettsiosis in a human immunodeficiency virus-positive patient. *J. Med. Microbiol.* 2013; 62:1363–1364.
- Cook MJ, Puri BK. Application of Bayesian decision-making to laboratory testing for Lyme disease and comparison with testing for HIV. *Int. J. Gen. Med.* 2017; 10:113-123.
- Cotté V, Bonnet S, Le Rhun D, Le Naour E, Chauvin A, Boulouis HJ, Lecuelle B, Lilin T, Vayssier-Taussat M. Transmission of *Bartonella henselae* by *Ixodes ricinus*. *Emerg. Infect. Dis.* 2008; 14: 1074e80.
- Dantas-Torres F, Chomel BB, Otranto D. Ticks and tick-borne diseases: a One Health perspective. *Trends Parasitol.* 2012; 28:437-446.
- De Keukeleire M, Vanwambeke SO, Cochez C, Heyman P, Fretin D, Deneys V, Luyasu V, Kabamba B, Robert A. Seroprevalence of *Borrelia burgdorferi*, *Anaplasma phagocytophilum*, and *Francisella tularensis* infections in Belgium: results of three population-based samples. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2017; 17:108–115.
- Dehio C, Lanz C, Pohl R, Behrens P, Bermond D, Piémont Y, Pelz K, Sander A. *Bartonella schoenbuchii* sp. nov., isolated from the blood of wild roe deer. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2001; 51:1557-1565.
- Dietrich F, Schmidgen T, Maggi RG, Richter D, Matuschka FR, Vonthein R, Breitschwerdt EB, Kempf VA. Prevalence of *Bartonella henselae* and *Borrelia burgdorferi* sensu lato DNA in *Ixodes ricinus* ticks in Europe. *Appl. Environ. Microbiol.* 2010; 76:1395e8.
- Dunaj J, Zajkowska J. Lyme borreliosis. Challenges and difficulties of laboratory diagnosis. *Forum Zakazeń* 2013; 4:241–249.
- González LM, Castro E, Lobo CA, Richart A, Ramiro R, González-Camacho F, Luque D, Velasco AC, Montero E. First report of *Babesia divergens* infection in an HIV patient. *Int. J. Infect. Dis.* 2015; 33:202–204.
- Hapunik J, Víchová B, Karbowski G, Wita I, Bogdaszewski M, Pet'ko B. Wild and farm breeding cervids infections with *Anaplasma phagocytophilum*. *Ann. Agric. Environ. Med.* 2011; 18:73-77.
- Herwaldt BL, Cacciò S, Gherlinzoni F, Aspöck H, Slemenda SB, Piccaluga P, Martinelli G, Edelhofer R, Hollenstein U, Poletti G, Pampiglione S, Löschenberger K, Tura S, Pieniasek NJ. Molecular characterization of a non-*Babesia divergens* organism causing zoonotic babesiosis in Europe. *Emerg. Infect. Dis.* 2003; 9:942-948.
- Hildebrandt A, Gray JS, Hunfeld KP. Human babesiosis in Europe: what clinicians need to know. *Infection* 2013; 41:1057–1072.
- Hildebrandt A, Hunfeld KP, Baier M, Krumbholz A, Sachse S, Lorenzen T, Kiehnopf M, Fricke HJ, Straube E. First confirmed autochthonous case of human *Babesia microti* infection in Europe. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2007;26:595–601.

- Hunfeld KP, Lambert A, Kampen H, Albert S, Epe C, Brade V, Tenter AM. Seroprevalence of *Babesia* infections in humans exposed to ticks in midwestern Germany. *J. Clin. Microbiol.* 2002; 40:2431–2436.
- Ismail N, Bloch KC, McBride JW. Human ehrlichiosis and anaplasmosis. *Clin. Lab. Med.* 2010; 30: 261–292.
- Jones KE, Patel NG, Levy MA, Storeygard A, Balk D, Gittleman JL, Daszak P. Global trends in emerging infectious diseases. *Nature* 2008; 451:990-993.
- Kalantarpour F, Chowdhury I, Wormser GP, Aguero-Rosenfeld ME. Survival of the human granulocytic ehrlichiosis agent under refrigeration conditions. *J. Clin. Microbiol.* 20000; 38:2398-9.
- Karp G, Schlaeffer F, Jotkowitz A, Riesenberk K. Syphilis and HIV co-infection. *Eur. J. Intern. Med.* 2009; 20:9-13.
- Kawahara M, Rikihisa Y, Isogai E, Takahashi M, Misumi H, Suto C, Shibata S, Zhang C, Tsuji M. Ultrastructure and phylogenetic analysis of “*Candidatus* Neoehrlichia mikurensis” in the family Anaplasmataceae, isolated from wild rats and found in *Ixodes ovatus* ticks. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2004; 54:1837–1843.
- Krause PJ, Gewurz BE, Hill D, Marty FM, Vannier E, Foppa IM, Furman RR, Neuhaus E, Skowron G, Gupta S, McCalla C, Pesanti EL, Young M, Heiman D, Hsue G, Gelfand JA, Wormser GP, Dickason J, Bia FJ, Hartman B, Telford SR 3rd, Christianson D, Dardick K, Coleman M, Giroto JE, Spielman A. Persistent and relapsing babesiosis in immunocompromised patients. *Clin. Infect. Dis.* 2008; 46: 370–376.
- Krause PJ, Spielman A, Telford SR 3rd, Sikand VK, McKay K, Christianson D, Pollack RJ, Brassard P, Magera J, Ryan R, Persing DH. Persistent parasitemia after acute babesiosis. *N. Engl. J. Med.* 1998; 339:160-165.
- Kumar S. Keeping Blood and Blood Products Safe by Developing Tests for Malaria and Other Parasites and Helping to Develop Malaria Vaccine, 2018; <https://www.fda.gov/>
- Léger E, Vourc'h G, Vial L, Chevillon C, McCoy KD. Changing distributions of ticks: causes and consequences. *Exp. Appl. Acarol.* 2013; 59:219-244.
- Machtinger L, Telford SR 3rd, Inducil C, Klapper E, Pepkowitz SH, Goldfinger D. Treatment of babesiosis by red blood cell exchange in an HIV-positive, splenectomized patient. *J. Clin. Apher.* 1993; 8:78–81.
- Medlock J.M. i wsp. Driving forces for changes in geographical distribution of *Ixodes ricinus* ticks in Europe. *Parasit. Vectors* 2013; 6: 1.
- Moniuszko A, Dunaj J, Święcicka I, Zambrowski G, Chmielewska-Badora J, Zukiewicz-Sobczak W, Zajkowska J, Czupryna P, Kondrusik M, Grygorczuk S, Swierzbinska R, Pancewicz S. Co-infections with *Borrelia* species, *Anaplasma phagocytophilum* and *Babesia* spp. in patients with tick-borne encephalitis. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2014; 33:1835-1841
- Moniuszko-Malinowska A, Swiecicka I, Dunaj J, Zajkowska J, Czupryna P, Zambrowski G, Chmielewska-Badora J, Żukiewicz-Sobczak W, Swierzbinska R, Rutkowski K, Garkowski A, Pancewicz S. Infection with *Babesia microti* in humans with non-specific symptoms in North East Poland. *Infect. Dis (Lond).* 2016; 48:537-543.
- Overzier E, Pfister K, Thiel C, Herb I, Mahling M, Silaghi C. Diversity of *Babesia* and *Rickettsia* species in questing *Ixodes ricinus*: a longitudinal study in urban, pasture, and natural habitats. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2013; 13:559-64.
- Paziewska A, Harris PD, Zwolińska L, Bajer A, Siński E. Recombination within and between species of the alpha proteobacterium *Bartonella* infecting rodents. *Microb. Ecol.* 2011; 61:134-145.

- Pekova S, Vydra J, Kabickova H, Frankova S, Haugvicova R, Mazal O, Cmejla R, Hardekopf DW, Jancuskova T, Kozak T. *Candidatus* Neoehrlichia mikurensis infection identified in 2 hematooncologic patients: benefit of molecular techniques for rare pathogen detection. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 2011; 69:266-270.
- Pfäffle M, Littwin N, Muders SV, Petney TN. The ecology of tick-borne diseases. *Int. J. Parasitol.* 2013; 43: 1059-1077.
- Rar V, Golovljova I. *Anaplasma*, *Ehrlichia*, and "*Candidatus* Neoehrlichia" bacteria: pathogenicity, biodiversity, and molecular genetic characteristics, a review. *Infect. Genet. Evol.* 2011; 11:1842-61.
- Richter D, Matuschka FR. "*Candidatus* Neoehrlichia mikurensis," *Anaplasma phagocytophilum*, and Lyme disease spirochetes in questing European vector ticks and in feeding ticks removed from people. *J. Clin. Microbiol.* 2012; 50:943–947.
- Rizzoli A, Silaghi C, Obiegala A, Rudolf I, Hubálek Z, Földvári G, Plantard O, Vayssier-Taussat M, Bonnet S, Spitalská E, Kazimírová M. *Ixodes ricinus* and its transmitted pathogens in urban and peri-urban areas in Europe: new hazards and relevance for public health. *Front. Public Health.* 2014; 2:251.
- Rosenberg R. i wsp.. Trends in Reported Vectorborne Disease Cases — United States and Territories, 2004–2016. *MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep.* 2018; 67:496–501.
- Ryan MF, Thorn C. Lyme carditis in an immunocompromised patient. *Case Rep. Emerg. Med.* 2013, 380734.
- Rymaszewska A, Piotrowski M. Use of DNA sequences for *Rickettsia* identification in *Ixodes ricinus* ticks: the first detection of *Rickettsia monacensis* in Poland. *Microbes Infect.* 2013;15:140-146.
- Rymaszewska A. Divergence within the marker region of the *groESL* operon in *Anaplasma phagocytophilum*. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2008; 27:1025-1036.
- Sadkowska-Todys M, Paradowska-Stankiewicz I, Rosińska M, Czarkowski MP. Zakażenia ludzkim wirusem upośledzenia odporności (HIV) (w) Sytuacja zdrowotna ludności Polski i jej uwarunkowania, red. Wojtyniak B, Goryński P, Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego- Państwowy Zakład Higieny, Warszawa, 2016, s. 200-203.
- Sawczuk M, Maciejewska A, Adamska M, Skotarczak B. Roe deer (*Capreolus capreolus*) and red deer (*Cervus elaphus*) as a reservoir of protozoans from *Babesia* and *Theileria* genus in north-western Poland. *Wiad. Parazytol.* 2005; 51:243-247.
- Simser JA, Palmer AT, Fingerle V, Wilske B, Kurtti TJ, Munderloh UG. *Rickettsia monacensis* sp. nov., a spotted fever group *Rickettsia*, from ticks (*Ixodes ricinus*) collected in a European city park. *Appl. Environ. Microbiol.* 2002; 68:4559-4566.
- Siński E, Welc-Falęciak R, Zajkowska J. *Borrelia miyamotoi*: A human tick-borne relapsing fever spirochete in Europe and its potential impact on public health. *Adv Med Sci.* 2016; 61:255-260.
- Skotarczak B, Adamska M. *Capreolus capreolus* and *Ixodes ricinus* as a reservoir of *Bartonella* in north-western Poland. *Wiad. Parazytol.* 2005; 51:139-143.
- Skotarczak B, Cichońska A. Isolation and amplification by polymerase chain reaction DNA of *Babesia microti* and *Babesia divergens* in ticks in Poland. *Ann. Agric. Environ. Med.* 2001; 8:187-189.
- Sprong H, Azagi T, Hoornstra D, Nijhof AM, Knorr S, Baarsma ME, Hovius JW. Control of Lyme borreliosis and other *Ixodes ricinus*-borne diseases. *Parasit. Vectors* 2018; 11:145.
- Stuen S, Granquist EG, Silaghi C. *Anaplasma phagocytophilum*—a widespread multi-host pathogen with highly adaptive strategies. *Front. Cell Infect. Microbiol.* 2013; 3:31.

Swanson SJ, Neitzel D, Reed KD, Belongia EA. Coinfections acquired from *Ixodes* ticks. Clin. Microbiol. Rev. 2006; 19:708-727.

Thomas V, Anguita J, Barthold SW, Fikrig E. Coinfection with *Borrelia burgdorferi* and the agent of human granulocytic ehrlichiosis alters murine immune responses, pathogen burden, and severity of Lyme arthritis. Infect Immun 2001, 69:3359–3371.

van Burgel ND, Oosterloo M, Kroon FP, van Dam AP. Severe course of Lyme neuroborreliosis in an HIV-1 positive patient; case report and review of the literature. BMC Neurol. 2010; 10:117.

Vayssier-Taussat M, Kazimirova M, Hubalek Z, Hornok S, Farkas R, Cosson JF, Bonnet S, Vourch G, Gasqui P, Mihalca AD, Plantard O, Silaghi C, Cutler S, Rizzoli A. Emerging horizons for tick-borne pathogens: from the 'one pathogen-one disease' vision to the pathobiome paradigm. Future Microbiol. 2015;10:2033-2043.

Vyas JM, Telford SR 3rd, Robbins GK. Treatment of refractory *Babesia microti* infection with atovaquone-proguanil in an HIV-infected patient: case report. Clin. Infect. Dis. 2007; 45:1588-1590.

Ward SJ, Stramer SL, Szczepiorkowski ZM. Assessing the risk of *Babesia* to the United States blood supply using a risk-based decision-making approach: Report of AABB's Ad Hoc *Babesia* Policy Working Group (original report). Transfusion. 2018;58:1916-1923.

Welc-Falęciak R, Bajer A, Paziewska-Harris A, Baumann-Popczyk A, Siński E. Diversity of *Babesia* in *Ixodes ricinus* ticks in Poland. Adv. Med. Sci. 2012; 57:364-369.

Welc-Falęciak R. Pasożyty krwi gryzoni *Babesia microti* i *Bartonella* spp. patogenne dla człowieka: badania środowiskowe i molekularne. Praca doktorska, Uniwersytet Warszawski, 2009.

Welinder-Olsson C, Kjellin E, Vaht K, Jacobsson S, Wennerås C. First case of human *Candidatus Neoehrlichia mikurensis* infection in a febrile patient with chronic lymphocytic leukemia. J. Clin. Microbiol. 2010; 48:1956-1959.

Wennerås C. Infections with the tick-borne bacterium *Candidatus Neoehrlichia mikurensis*. Clin. Microbiol. Infect. 2015; 21:621–630.

Wójcik-Fatla A, Zając V, Sawczyn A, Cisak E, Dutkiewicz J. *Babesia* spp. in questing ticks from eastern Poland: prevalence and species diversity. Parasitol. Res. 2015; 114:3111-3116.

---

## 5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo – badawczych

---

### 5.1. Osiągnięcia naukowo-badawcze przed uzyskaniem stopnia doktora

---

- Siński E., Bajer A., Welc R., Pawełczyk A., Ogrzewalska M., Behnke JM. 2006. *Babesia microti*: prevalence in wild rodents and *Ixodes ricinus* ticks from the Mazury Lakes District of North-Eastern Poland. Int J Med Microbiol., 296; 137-143.
- Welc-Falęciak R., Bajer A., Bednarska M., Paziewska A., Siński E. 2007. Long term monitoring of *Babesia microti* infection in BALB/c mice using nested PCR. Ann Agric Environ Med., 14; 287-290.
- Welc-Falęciak R., Bajer A., Behnke JM., Siński E. 2008. Effects of host diversity and the community composition of ixodid ticks (Ixodidae) on *Babesia microti* infection. Int J Med Microbiol., 298; 235-242.
- Welc-Falęciak R., Paziewska A., Bajer A., Behnke JM., Siński E. 2008. *Bartonella* spp. infection in rodents from different habitats of Mazury Lakes District, NE Poland. Vector Borne Zoonotic Dis., 8(4); 467-474.
- Welc-Falęciak R., Bajer A., Behnke JM., Siński, E. 2010. The ecology of *Bartonella* spp. infections in two rodent communities in the Mazury Lake District region of Poland. Parasitology 137(7); 1069-77.

Moja praca doktorska poświęcona była przenoszonym przez kleszcze, patogennym dla człowieka pasożytom krwi z rodzaju *Babesia* i *Bartonella* w oparciu o badania ekologiczne i molekularne. Uzyskane przeze mnie wyniki badań prowadzonych we współpracy z prof. J. Behnke z The School of Biology, The University of Nottingham, potwierdziły, że w środowisku to głównie gryzonie są naturalnym źródłem zarażenia *Babesia* dla młodocianych stadiów rozwojowych kleszczy. Jednocześnie przeprowadzony przeze mnie w warunkach laboratoryjnych roczny eksperyment na modelu mysim wykazał, iż pierwotniaki te utrzymują się we krwi nawet do 6 miesięcy od zarażenia, co może sprzyjać zarażeniu większej liczby kleszczy w warunkach naturalnych. Uzyskałam również interesujące wyniki dotyczące różnorodności genetycznej *B. microti* na terenie Pojezierza Mazurskiego. Izolaty badane w roku 2004 i 2005 należały do niepatogennego szczepu *B. microti* Munich, natomiast wszystkie izolaty uzyskane w roku 2006 i nieliczne w roku 2005 były identyczne z chorobotwórczym dla człowieka szczepem *B. microti* Gray. Wymiana genotypu pierwotniaków w kolejnych latach badań mogła być skutkiem m. in. niższej przeżywalności w niesprzyjających warunkach środowiska zwierząt zarażonych typowych dla nich szczepem Munich w porównaniu do gryzoni zainfekowanych patogennym dla człowieka szczepem *B. microti* Gray. Ciekawe wydają się również wyniki dotyczące różnorodności genetycznej bakterii z rodzaju *Bartonella*. Badania te, pierwsze tego typu w Polsce prowadzone z wykorzystaniem metod molekularnych i analizy filogenetycznej, pozwoliły wykazać stosunkowo dużą różnorodność *Bartonella* u gryzoni oraz wysoką częstość zakażenia gatunkiem *B. grahamii*, który uznany jest za patogenny dla człowieka.

## 5.2. Osiągnięcia naukowo-badawcze po uzyskaniu stopnia doktora

Badania prowadzone po uzyskaniu stopnia doktora dotyczyły: (a) zarażeń pasożytniczych u zwierząt domowych (psów) i hodowlanych (bydło); (b) transmisji pionowej *Babesia microti* w warunkach eksperymentalnych i naturalnych; (c) opisu i charakterystyki biologicznej nowych gatunków *Babesia* i *Bartonella* odkrytych u gryzoni z masywu Synaju; (d) roli kleszczy *Ixodes ricinus* i *Dermacentor reticulatus* w transmisji patogenów; (e) zarażeń pasożytniczych u osób immunokompetentnych oraz z wrodzonymi i nabytymi niedoborami odporności.

### 5.2.1. Zarażenia pasożytnicze u zwierząt domowych i hodowlanych

- **Welc-Falęciak R.**, Rodo A., Siński E., Bajer A. 2009. *Babesia canis* and other tick-borne infections in dogs in Central Poland. *Vet Parasitol.*, 166(3-4): 191-198.
- **Welc-Falęciak R.**, Grono K. 2013. The first cases of *Bartonella bovis* infection in cattle from Central Europe. *Vet Microbiol.*, 162 (2-4): 954-956.
- Bajer A, Rodo A, Bednarska M, Mierzejewska E, **Welc-Falęciak R.** 2013. *Babesia canis* and tick-borne encephalitis virus (TBEV) co-infection in sled dog. *Ann Agric Environ Med.*, 20, 426-430.
- Mierzejewska E., **Welc-Falęciak R.**, Rodo A., Bajer A. 2013. The first evidence for the vertical transmission of *Babesia canis* in a litter of Central Asian Shepherd dogs. *Ann Agric Environ Med.*, 21(3): 500-503.
- Bajer A, Mierzejewska EJ, Rodo A, Bednarska M, Kowalec M, **Welc-Falęciak R.** 2014a. The risk of vector-borne infections in sled dogs associated with existing and new endemic areas in Poland: Part 1: A population study on sled dogs during the racing season. *Vet Parasitol.*, 202(3-4): 276-286.

- Bajer A, Mierzejewska EJ, Rodo A, **Welc-Falęciak R.** 2014b. The risk of vector-borne infections in sled dogs associated with existing and new endemic areas in Poland. Part 2: Occurrence and control of babesiosis in a sled dog kennel during a 13-year-long period. *Vet Parasitol.*, 202(3-4): 234-240.
- Bajer A, Rodo A, Mierzejewska EJ, Tołkacz K, **Welc-Falęciak R.** 2016. The prevalence of *Dirofilaria repens* in cats, healthy dogs and dogs with concurrent babesiosis in an expansion zone in central Europe. *BMC Vet Res.*, 12(1):183.

Prowadzone badania dotyczyły przebiegu inwazji pierwotniaków *Babesia canis* u psów zaprzęgowych z Europy Środkowej, u których wykazano objawowe i bezobjawowe zarażenia (Welc-Falęciak i wsp. 2009) oraz opisano pierwszy przypadek kliniczny koinfekcji z udziałem *B. canis* i wirusa KZM (Bajer i wsp. 2013). Stosując metody mikroskopowe i molekularne udowodniono także transmisję pionową *B. canis* od matki do szceniąt (Mierzejewska i wsp. 2013). W trakcie wieloletnich badań określono sezonową dynamikę zarażeń *B. canis* oraz wskazano na pojawienie się nowego ogniska psiej babeszjozy w okolicach Warszawy (Bajer i wsp. 2014a i 2014b). Analizowano także częstość występowania inwazji wielogatunkowych z udziałem *B. canis* i nicieni *Dirofilaria repens* z uwzględnieniem parametrów klinicznych w przebiegu koinwazji (Bajer i wsp. 2016).

W ramach prowadzonych badań wykazano również pierwsze w Europie Środkowej infekcje *Bartonella* u bydła (Welc-Falęciak i wsp. 2013). Zakażenia te są często błędnie diagnozowane, a nieleczone mogą prowadzić do zapalenia mięśnia sercowego. Dotychczas infekcje *Bartonella* opisywano jedynie na terenie Francji i Włoch. Genotypowanie uzyskanych izolatów przeprowadzono z wykorzystaniem trzech markerów genetycznych: *rpoB* (podjednostka  $\beta$  polimerazy RNA), 16-23S rRNA ITS oraz *gltA* (syntaza cytrynianowa). Analiza sekwencji nukleotydowych uzyskanych izolatów potwierdziła obecność gatunku *Bartonella bovis*.

### 5.2.2. Pasożyty krwi wolno żyjących gryzoni i transmisja pionowa *Babesia microti*

---

- Bajer A, **Welc-Falęciak R.**, Bednarska M, Alsarraf M, Behnke-Borowczyk J, Siński E, Behnke JM. 2014. Long-term spatiotemporal stability and dynamic changes in the haemoparasite community of bank voles (*Myodes glareolus*) in NE Poland. *Microbial Ecology*, 68:196-211.
- Bednarska M, Bajer A, Drozdowska A, Mierzejewska EJ, Tołkacz K, **Welc-Falęciak R.** 2015. Vertical Transmission of *Babesia microti* in BALB/c Mice: Preliminary Report. *PLoS One*, 10(9):e0137731.
- Tołkacz K, Bednarska M, Alsarraf M, Dwużnik D, Grzybek M, **Welc-Falęciak R.**, Behnke JM, Bajer A. 2017. Prevalence, genetic identity and vertical transmission of *Babesia microti* in three naturally infected species of vole, *Microtus* spp. (Cricetidae). *Parasit Vectors*, 10(1):66.
- Kloch A, Wenzel MA, Laetsch DR, Michalski O, **Welc-Falęciak R.**, Piertney SB. 2018. Signatures of balancing selection in toll-like receptor (TLRs) genes - novel insights from a free-living rodent. *Sci Rep.*, 8(1):8361.

W ramach prowadzonych badań przeprowadzono wieloletnie analizy występowania pasożytów krwi u nornicy rudej oraz czynników żywicielski i pozażywicielskich, które mogły kształtować dynamikę zarażenia u tych gryzoni. Badania obejmowały okres 11 lat i były prowadzone na trzech izolowanych geograficznie powierzchniach na terenie Pojezierza Mazurskiego (Bajer i wsp. 2014).

Ciekawym kierunkiem badań okazała się analiza polimorfizmu receptorów TLR (*Toll-like receptors*) u nornicy rudej w powiązaniu z zarażeniami pasożytniczymi, która wykazała istotne

powiązanie między allelami aminokwasowymi TLR1 i TLR5 oraz podatnością na zakażenie *Bartonella* (Kloch i wsp. 2018).

Zjawisko transmisji pionowej pierwotniaków *Babesia microti* badano u myszy BALB/c w warunkach eksperymentalnych oraz u wolno żyjących gryzoni. Transmisja pionowa jest trzecią, zaraz po kontakcie z kleszczem i transfuzji krwi, drogą transmisji tych pierwotniaków, która jest dotychczas najslabiej poznana. W ramach badań laboratoryjnych oszacowano sukces transmisji pionowej u myszy BALB/c w fazie ostrej i chronicznej inwazji (Bednarska i wsp. 2015). Wykazano, że w wyniku transmisji pierwotniaków na drodze matka-potomstwo u osesków występuje bezobjawowa inwazja *B. microti*. Do transmisji pasożytów doszło jedynie w przypadku fazy chronicznej inwazji u matek, wydaje się zatem, że rozwój ciąży w fazie ostrej inwazji nie jest możliwy. Uzyskane wyniki badań eksperymentalnych sugerują, że zarażenie *Babesia* może mieć wpływ na utratę ciąży u myszy. Fenomen transmisji pionowej potwierdzono także u gryzoni wolno żyjących (norników) w warunkach naturalnych (Tołkacz i wsp. 2017). DNA *B. microti* wykryto u 81% embrionów pochodzących od zarażonych samic oraz u 71% młodych pochodzących od zarażonych matek. Wrodzone zarażenie nie miało wpływu ani na kondycję ani na przeżywalność potomstwa.

### 5.2.3. Badania środowiskowe, opis i charakterystyka biologiczna nowych gatunków *Babesia* i *Bartonella* odkrytych u gryzoni z masywu Synaju (Egipt)

- Bajer A, Alsarraf M, Bednarska M, Mohallal EME, Mierzejewska EJ, Behnke-Borowczyk J, Zalat S, Gilbert F, **Welc-Falęciak R**. 2014. *Babesia behnkei* sp. nov., a novel *Babesia* species infecting isolated populations of Wagner's gerbil, *Dipodillus dasyurus*, from the Sinai Mountains, Egypt. Parasit Vectors, 7:572.
- Alsarraf M, Bednarska M, Mohallal EM, Mierzejewska EJ, Behnke-Borowczyk J, Zalat S, Gilbert F, **Welc-Falęciak R**, Kloch A, Behnke JM, Bajer A. 2016. Long-term spatiotemporal stability and dynamic changes in the haemoparasite community of spiny mice (*Acomys dimidiatus*) in four montane wadis in the St. Katherine Protectorate, Sinai, Egypt. Parasit Vectors, 9:195.
- Alsarraf M, Mohallal EME, Mierzejewska EJ, Behnke-Borowczyk J, **Welc-Falęciak R**, Bednarska M, Dziewit L, Zalat S, Gilbert F, Behnke JM, Bajer A. 2017. Description of *Candidatus* Bartonella fadhilae n. sp. and *Candidatus* Bartonella sanaae n. sp. (Bartonellaceae) from *Dipodillus dasyurus* and *Sekeetamys calurus* (Gerbillinae) from the Sinai Massif (Egypt). Vector Borne Zoonotic Dis., 17(7):483-494.

W ramach prowadzonych badań opisano nowe gatunki pasożytów krwi z rodzaju *Babesia* i *Bartonella* u gryzoni z masywu Synaju w Egipcie oraz analizowano zmienność czaso-przestrzenną zespołów pasożytów krwi kolcomyszy arabskiej (Alsarraf i wsp. 2016). Analizy molekularne sekwencji nukleotydowych dwóch markerów: 18S rRNA i ITS2 dla uzyskanych izolatów *Babesia* (n=32) wykazały odrębność nowego gatunku *Babesia* od dwóch gatunków swoistych dla gryzoni na świecie (*Babesia microti* i *B. rhodaini*), jak również innych znanych gatunków (Bajer i wsp. 2014). Nowy gatunek został nazwany *Babesia behnkei* sp. nov. na cześć prof. Jerzego Behnke z University of Nottingham. *Babesia behnkei* sp. nov. jest gatunkiem najbliższym spokrewnionym z *B. lengau*, izolowanym pierwotnie od gepardów, oraz z patogennym dla ludzi *B. duncani* z Ameryki Północnej.

Obecność bakterii z rodzaju *Bartonella* potwierdzono u czterech gatunków gryzoni z masywu Synaj. Analizy molekularne i filogenetyczne sekwencji dwóch genów (*rpoB* i *gltA*)



pozwoły na identyfikację dwóch nowych gatunków: *Candidatus Bartonella fadhilae* n. sp. oraz *Candidatus Bartonella sanaae* n. sp. (Alsarraf i wsp. 2017).

#### 5.2.4. Kleszcze *Ixodes ricinus* i *Dermacentor reticulatus* jako wektory patogenów

---

- **Welc-Falęciak R.**, Bajer A., Paziewska A., Baumann-Popczyk A., Siński, E. 2012. Diversity of *Babesia* in *Ixodes ricinus* ticks in Poland. *Advances in Medical Sciences*, 11: 1-6.
- Mierzejewska EJ, **Welc-Falęciak R.**, Karbowski G, Kowalec M, Behnke JM, Bajer A. 2015a. Dominance of *Dermacentor reticulatus* over *Ixodes ricinus* (Ixodidae) on livestock, companion animals and wild ruminants in eastern and central Poland. *Exp Appl Acarol.*, 66(1):83-101.
- Mierzejewska EJ, Pawełczyk A, Radkowski M, **Welc-Falęciak R.**, Bajer A. 2015b. Pathogens vectored by the tick, *Dermacentor reticulatus*, in endemic regions and zones of expansion in Poland. *Parasit Vectors*, 8: 490.
- Gryczyńska A, **Welc-Falęciak R.** 2016. Long-term study of the prevalence of *Borrelia burgdorferi* s.l. infection in ticks (*Ixodes ricinus*) feeding on blackbirds (*Turdus merula*) in NE Poland. *Exp Appl Acarol.*, 70(3):381-394.
- Kowalec M, Szewczyk T, **Welc-Falęciak R.**, Siński E, Karbowski G, Bajer A. 2017. Ticks and the city - are there any differences between city parks and natural forests in terms of tick abundance and prevalence of spirochaetes? *Parasit Vectors*, 10(1):573.
- Kowalec M, Szewczyk T, **Welc-Falęciak R.**, Siński E, Karbowski G, Bajer A. 2018. Rickettsiales occurrence and co-occurrence in *Ixodes ricinus* ticks in natural and urban areas. *Microb Ecol.*, doi: 10.1007/s00248-018-1269-y.

Prowadzone badania dotyczyły roli kleszczy dwóch najczęściej spotykanych w Polsce gatunków – *Ixodes ricinus* i *Dermacentor reticulatus* w transmisji patogennych mikroorganizmów. Wyniki naszych badań jednoznacznie wskazują, że kleszcz łąkowy *D. reticulatus* był gatunkiem dominującym wśród kleszczy zebranych z psów, koni, krów i żubrów (Mierzejewska i wsp. 2015a), a wyniki analiz molekularnych potwierdziły, że gatunek ten jest istotnym wektorem dla patogennych bakterii *Rickettsia raoultii* (44%), pierwotniaków *B. canis* (4%) oraz wirusa KZM (7.6%) (Mierzejewska i wsp. 2015b).

Odsetek kleszczy *I. ricinus* zarażonych pierwotniakami z rodzaju *Babesia* w Polsce nie jest wysoki (>2%), jednak zarażone osobniki istotnie częściej występują na terenach naturalnych, gdzie ich zagęszczenie jest wyższe w porównaniu do obszarów zurbanizowanych (Welc-Falęciak i wsp. 2012). Natomiast obecność patogennego gatunku *B. venatorum* potwierdzono jedynie u kleszczy zebranych na terenie Warszawy. Ciekawym kierunkiem badań okazała się analiza częstości występowania krętków *Borrelia* u kleszczy zebranych z terenów o różnym stopniu antropopresji (Kowalec i wsp. 2017). O ile zagęszczenie kleszczy na terenach naturalnych było istotnie wyższe, to ekstensywność zakażenia *Borrelia* u *I. ricinus* zebranych z terenów naturalnych i miejskich była podobna (12% vs. 11%). Natomiast częstość występowania bakterii z rzędu Rickettsiales (*Rickettsia* spp., *A. phagocytophilum* i *Ca. N. mikurensis*), jak również częstość występowania koinfekcji z udziałem tych gatunków na badanych terenach różniła się istotnie (Kowalec i wsp. 2018). Dwukrotnie częściej bakterie te identyfikowano u kleszczy z terenów miejskich i ponad ośmiokrotnie częściej u kleszczy tych występowały infekcje wielogatunkowe, także z udziałem krętków *Borrelia*. Wydaje się zatem, że ryzyko pojawienia się zakażeń odkleszczowych z udziałem bakterii z rzędu Rickettsiales jest istotnie wyższe na terenach miejskich niż na obszarach naturalnych.

### 5.2.5. Zarażenia pasożytnicze u osób immunokompetentnych oraz z wrodzonymi i nabytymi niedoborami odporności

- Bajera, A., Bednarska, M., Caccio, S., Wolska-Kuśnierz, B., Paziewska, A., **Welc-Falęciak, R.**, Siński, E. 2008. Genotyping of *Cryptosporidium* isolates from human clinical cases in central Poland. *Parasitol Res.*, 103:37-42.
- Bednarska M, Bajera A, **Welc-Falęciak R**, Czubkowski P, Teisseyre M, Graczyk T, Jankowska I. 2013. First case of *Enterocytozoon bieneusi* infection in Poland. *Ann Agric Environ Med.*, 20, 287–288.
- Bednarska M, Bajera A, **Welc-Falęciak R**, Paweł A. 2015. *Cyclospora cayetanensis* infection in transplant traveller: a case report of outbreak. *Parasit Vectors*, 8:411.
- Bednarska M, Jankowska I, Paweł A, Piwczyńska K, Bajera A, Wolska-Kuśnierz B, Wielopolska M, **Welc-Falęciak R**. 2018. Prevalence of *Cryptosporidium*, *Blastocystis*, and other opportunistic infections in patients with primary and acquired immunodeficiency. *Parasitol Res.*, 117(9):2869-2879.
- **Welc-Falęciak, R.**, Hildebrandt, A. i Siński, E. 2010. Coinfection with *Borrelia* species and other tick-borne pathogens in humans: two cases from Poland. *Ann Agric Environ Med.*, 17; 309-317.
- **Welc-Falęciak R**, Kowalec M, Zajkowska J, Pancewicz SA, Siński E. 2015. Clinical and molecular features of one case of human infection with *Anaplasma phagocytophilum* from Podlaskie Province in eastern Poland. *Ann Agric Environ Med.* 22(3):414-7.
- Siński E, **Welc-Falęciak R**, Zajkowska J. 2016. *Borrelia miyamotoi*: A human tick-borne relapsing fever spirochete in Europe and its potential impact on public health. *Adv Med Sci.*, 61(2):255-260.

Badania dotyczące inwazji pasożytów jelitowych u ludzi o różnym statusie immunologicznym prowadzone były we współpracy z Kliniką Gastroenterologii, Hepatologii, Zaburzeń Odżywiania i Pediatrii oraz Kliniką Immunologii Centrum Zdrowia Dziecka w Warszawie, a także Kliniką Gastroenterologii Onkologicznej Centrum Onkologii w Warszawie. Genotypowaniu poddano izolaty *Cryptosporidium*, *Enterocytozoon*, *Cyclospora* i *Blastocystis* uzyskane od pacjentów, w tym dzieci, m. in. z wrodzonymi i nabytymi niedoborami immunologicznymi. U 34% badanych pacjentów potwierdzono zarażenia z udziałem trzech gatunków *Cryptosporidium*: *parvum*, *hominis* i *meleagridis* (Bajera i wsp. 2008). Wykazano, że zarażenia mikropasożytami jelitowymi istotnie częściej występują u badanych dorosłych (13%) niż dzieci (3%) oraz u mężczyzn (5%) niż kobiet (0.6%) (Bednarska i wsp. 2018). Po raz pierwszy w Polsce opisano przypadek infekcji *Enterocytozoon bieneusi* u pacjenta po przeszczepie wątroby, a analizy molekularne i filogenetyczne potwierdziły wysokie podobieństwo uzyskanego izolatu do *E. bieneusi* izolowanego od pacjentów z AIDS (Bednarska i wsp. 2013).

Ciekawe wyniki uzyskano analizując próby biologiczne od trzech mężczyzn z Polski, którzy powrócili z ostrą biegunką po podróży do Indonezji w listopadzie 2013 roku (Bednarska i wsp. 2015). Objawy zaburzeń jelitowych pojawiły się u wszystkich trzech osób w ciągu dwóch tygodni, ale przebieg choroby był inny u każdego z podróżnych. Biegunka była najbardziej dokuczliwa i przewlekła u pacjenta po przeszczepie nerki (2010 r.), a leczenie przeprowadzone w tym czasie było nieskuteczne. Pozostałe dwie osoby bez niedoborów odporności zwalczyły objawy inwazji w ciągu miesiąca. Badania mikroskopowe i molekularne przeprowadzone 3 miesiące po zarażeniu potwierdziły inwazję *C. cayetanensis* u pacjenta po przeszczepie. U jednej z dwóch immunokompetentnych osób wykazano chroniczną, bezobjawową cyklosporozę. Na podstawie przeprowadzonego wywiadu wydaje się, że źródłem zarażenia było spożycie skażonej wody (niebutelkowanej) podczas posiłku w restauracji.

Wstępne badania dotyczące infekcji odkleszczowych u ludzi w Polsce były przez mnie prowadzone od roku 2010 we współpracy z dr Anke Hildebrandt z Institute of Medical Microbiology Friedrich-Schiller-University w Jenie oraz prof. dr hab. Sławomirem Pancewiczem i prof. dr hab. Joanną Zajkowską z Kliniki Chorób Zakaźnych i Neuroinfekcji Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku. Na podstawie przeprowadzonych badań molekularnych i mikroskopowych potwierdzono dwa przypadki koinfekcji z udziałem *Babesia* i *A. phagocytophilum* u osób z BL (Welc-Falęciak i wsp. 2010) oraz jeden przypadek zakażenia *A. phagocytophilum* u pacjenta hospitalizowane z powodu wczesnej BL (Welc-Falęciak i wsp. 2015). Pojawienie się doniesień o zakażeniach u ludzi w Europie nowym gatunkiem *Borrelia miyamotoi*, który odpowiedzialny jest za gorączki powrotne (boreliozę miyamotoi) stały się podstawą do stworzenia pracy przeglądowej, w której uwzględniono dotychczasowy stan wiedzy w zakresie ekologii i epidemiologii *B. miyamotoi* (Siński i wsp. 2016). Badania dotyczące występowania *B. miyamotoi* u kleszczy oraz oceny ryzyka boreliozy miyamotoi w Polsce są nadal prowadzone.

## 6. Dane bibliometryczne

- Sumaryczny współczynnik oddziaływania czasopism, w których ukazały się wszystkie publikacje habilitantki, zgodnie z rokiem opublikowania (w przypadku prac z lat 2018-2019 wykorzystano ostatnią dostępną w bazach wartość IF 2017) – **97.75**
- Liczba punktów MNiSW za wszystkie publikacje habilitantki – **1225**
- Liczba cytowań wszystkich publikacji habilitantki (Web of Science Core Collection) – **503**
- Indeks Hirscha habilitantki (wg bazy Web of Science) - **15**

Renata Welc-Falęciak