

AUTOREFERAT

**Rola gryzoni (Rodentia) w epidemiologii wybranych zoonoz
stanowiących zagrożenie dla zdrowia ludzi**

dr n. wet. Maciej Grzybek



**Zakład Parazytologii Tropikalnej
Instytut Medycyny Morskiej i Tropikalnej
Gdański Uniwersytet Medyczny**

Gdynia, 2020

1. IMIĘ I NAZWISKO

Maciej Grzybek

2. POSIADANE DYPLOMY I STOPNIE NAUKOWE:

- **Tytuł licencjata z genetyki z wyróżnieniem – BSc (Hons) Genetics**

uzyskany w dniu 22 lipca 2009 r. po ukończeniu studiów pierwszego stopnia, na podstawie pracy licencjackiej pt. „Construction of a gene regulatory network (GRN) for lens specification in the chicken (*Gallus gallus*)”.

Promotor: Dr Matt Loose

Jednostka nadająca tytuł: School of Life Sciences, The University of Nottingham, Wielka Brytania (World University Ranking = 84; Top UK Universities Ranking: 17/131)

- **Tytuł magistra z parazytologii z najwyższym wyróżnieniem – MRes in Parasitology with Distinction**

uzyskany w dniu 17 lipca 2012 r. po ukończeniu studiów drugiego stopnia, na podstawie pracy magisterskiej pt. „Analysis of the helminth community structure in bank voles (*Myodes glareolus*) from three study localities of NE Poland over an 11 year period”.

Promotor: Prof. Jerzy M. Behnke

Jednostka nadająca tytuł: School of Life Sciences, The University of Nottingham, Wielka Brytania (World University Ranking = 84; Top UK Universities Ranking: 17/131)

- **Tytuł magistra biologii; specjalność: biologia stosowana**

nadany w dniu 12 lipca 2013 r. po ukończeniu studiów drugiego stopnia, na podstawie pracy pt. „Płeć i wiek gospodarza jako czynniki wpływające na strukturę społeczności endopasożytów normicy rudej (*Myodes glareolus*)”.

Promotor: Prof. dr hab. Jerzy Demetraki-Paleolog

Jednostka nadająca tytuł: Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

- **Stopień doktora nauk weterynaryjnych; specjalność: parazytologia weterynaryjna**

nadany 23 czerwca 2016 r. uchwałą Rady Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie na podstawie rozprawy doktorskiej pt. „Anthelmintic activity of pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) seeds extracts” – praca w jęz. angielskim. Tytuł w jęz. polskim: „Badanie aktywności przeciw pasożytniczej ekstraktów z pestek dyni zwyczajnej (*Cucurbita pepo* L.)”.

Promotor: Dr hab. Krzysztof Tomczuk

Jednostka nadająca tytuł: Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie.

3. INFORMACJE O DOTYCHCZASOWYM ZATRUDNIENIU W JEDNOSTKACH NAUKOWYCH

12.2017 – obecnie Adiunkt - Zakład Parazytologii Tropikalnej, Katedra Medycyny Tropikalnej i Parazytologii, Wydział Nauk o Zdrowiu z Instytutem Medycyny Morskiej i Tropikalnej, Gdański Uniwersytet Medyczny

12.2017 – obecnie Adiunkt - Katedra Zoologii i Ekologii Zwierząt, Wydział Biologii Środowiskowej, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

11.2016 – 11.2017 Adiunkt - Zakład Parazytologii i Chorób Inwazyjnych, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

05. 2013 – 05.2017 Kierownik grantu - Grant NCN Preludium (2012/07/N/NZ9/02060), Instytut Genetyki i Hodowli Zwierząt PAN w Jastrzębcu

11. 2012 – 10.2016 Asystent - Zakład Parazytologii i Chorób Inwazyjnych, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

09.2009 – 09.2010 Wolontariusz - Pracownia Immunologii i Genetyki, Katedra i Klinika Pneumonologii, Onkologii i Alergologii, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

4. OMÓWIENIE OSIĄGNIĘĆ, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt 2 Ustawy

a) Tytuł osiągnięcia naukowego:

Rola gryzoni (Rodentia) w epidemiologii wybranych zoonoz stanowiących zagrożenie dla zdrowia ludzi

b) Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego: autor/autorzy, tytuł/tytuły publikacji, rok wydania, nazwa wydawnictwa

Osiągnięcie naukowe będące podstawą do ubiegania się o stopień doktora habilitowanego to monotematyczny cykl czterech prac oryginalnych, przedstawiających wyniki długoterminowych (2002 – 2013), międzynarodowych badań dotyczących roli drobnych gryzoni w naturalnym krążeniu patogenów potencjalnie zagrażających zdrowiu ludzi. Prace opublikowano w latach 2018-2019. Ich łączny współczynnik oddziaływania **Impact Factor (IF)** wynosi **16,622** (MNiSW=340 p.).

1. Grzybek, M., Sironen, T., Mäki, S., Tołkacz, K., Alsarraf, M., Strachecka, A., Paleolog, J., Biernat, B., Szczepaniak, K., Behnke-Borowczyk, J., Vaheri, A., Henttonen, H., Behnke, J.M., Bajer, A., 2019. Zoonotic Virus Seroprevalence among Bank Voles, Poland, 2002–2010. *Emerg. Infect. Dis.* 25, 1607–1609. <https://doi.org/10.3201/eid2508.190217>

IF₂₀₁₈ – 7,185; IF_{5-year} – 7,152; MNiSW₂₀₁₉ – 140; liczba cytowań (wg bazy WoS) - 0

Mój udział w pracy: autor korespondencyjny, współudział w opracowaniu koncepcji badań, nawiązanie współpracy z University of Helsinki, planowanie i wykonanie badań (współudział w badaniach terenowych, sekcje parazytologiczne gryzoni, przygotowanie materiału do badań laboratoryjnych, badania serologiczne), analiza statystyczna wyników, interpretacja wyników, przygotowanie rycin i tabel; współudział w przygotowaniu manuskryptu; korespondencja z redaktorem, odpowiedź na uwagi recenzentów.

2. Grzybek, M., Cybulska, A., Tołkacz, K., Alsarraf, M., Behnke-Borowczyk, J., Szczepaniak, K., Strachecka, A., Paleolog, J., Moskwa, B., Behnke, J.M., Bajer, A., 2019. Seroprevalence of *Trichinella* spp. infection in bank voles (*Myodes glareolus*) – A long term study. *Int. J. Parasitol. Parasites Wildl.* 9, 144–148. <https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2019.03.005>

IF₂₀₁₈ – 2,075; IF_{5-year} – niedostępny; MNiSW₂₀₁₉ – 100; liczba cytowań (wg bazy WoS) - 0

Mój udział w pracy: autor korespondencyjny, współautorstwo koncepcji badań, zaplanowanie i wykonanie badań (współudział w badaniach terenowych, sekcje parazytologiczne gryzoni, przygotowanie materiału do badań laboratoryjnych, badania serologiczne), analiza statystyczna wyników, interpretacja wyników, przygotowanie rycin i tabel; współudział w przygotowaniu manuskryptu; korespondencja z redaktorem, odpowiedź na uwagi recenzentów.

3. Grzybek, M., Tołkacz, K., Alsarraf, M., Dwuznik, D., Szczepaniak, K., Tomczuk, K., Biernat, B., Behnke, J.M., Anna Bajer (2019): Seroprevalence of TBEV in three voles species (*Microtus* spp.) from NE Poland. *J. Wildl. Dis.* <https://doi.org/10.7589/2019-02-048>

IF₂₀₁₈ – 1, 150; IF_{5-year} – 1,397; MNiSW₂₀₁₉ – 70; liczba cytowań (wg bazy WoS) - 0

Mój udział w pracy: autor korespondencyjny, współautorstwo koncepcji badań, planowanie i wykonanie badań (współudział w badaniach terenowych, sekcje parazytologiczne gryzoni, przygotowanie materiału do badań, badania serologiczne), analiza statystyczna wyników, interpretacja wyników, przygotowanie rycin i tabel; współudział w przygotowaniu manuskryptu; korespondencja z redaktorem, odpowiedź na uwagi recenzentów.

4. Grzybek, M., Alsarraf, M., Tołkacz, K., Behnke-Borowczyk, J., Biernat, B., Stańczak, J., Strachecka, A., Guz, L., Szczepaniak, K., Paleolog, J., Behnke, J.M., Bajer, A., 2018. Seroprevalence of TBEV in bank voles from Poland – a long-term approach. *Emerg. Microbes Infect.* 7, 145. <https://doi.org/10.1038/s41426-018-0149-3>

IF₂₀₁₈ – 6,212; IF_{5-year} – 6,183; MNiSW₂₀₁₈ – 30; liczba cytowań (wg bazy WoS) - 2

Mój udział w pracy: autor korespondencyjny, autorstwo koncepcji badań, nawiązanie współpracy z University of Helsinki, planowanie i wykonanie badań (współudział w badaniach terenowych, sekcje parazytologiczne gryzoni, przygotowanie materiału do badań laboratoryjnych, badania serologiczne), analiza statystyczna wyników, interpretacja wyników, przygotowanie rycin i tabel; współudział w przygotowaniu manuskryptu; korespondencja z redaktorem, odpowiedź na uwagi recenzentów.

Punktacja IF dla prac składających się na osiągnięcie naukowe została podana zgodnie z listą bazy Journal Citation Reports (JCR), obowiązującą w roku ukazania się publikacji.

Punktacja MNiSW została podana zgodnie z ujednoliconym wykazem czasopism naukowych, obowiązującym w roku ukazania się publikacji.

Omówienie celu naukowego prac, uzyskanych wyników, wraz z perspektywami ich wykorzystania

Wprowadzenie

Zoonozy (syn. choroby odzwierzęce; z greki „*zoon*” – zwierzę, „*noso*” - choroba) to jednostki chorobowe przenoszące się w sposób naturalny ze zwierząt kręgowych na człowieka (Pojmańska, 2016). Są one znaczącym i narastającym zagrożeniem dla zdrowia publicznego oraz przyczyną wybuchów większości nowych epidemii na całym świecie (Jones et al., 2008; Lloyd-Smith et al., 2009; Taylor et al., 2001). Szacuje się, że w skali globu, z powodu chorób odzwierzęcych co roku dochodzi do około miliarda zachorowań i milionów zgonów (ECDC, 2019a). Około 60% pojawiających się na świecie chorób zakaźnych to zoonozy (Daszak et al., 2001; Taylor et al., 2001). W ciągu ostatnich trzech dziesięcioleci wykryto ponad 30 nowych ludzkich patogenów, z których 75% pochodzi od zwierząt (Jones et al., 2008)

Wyróżnia się trzy typy chorób odzwierzęcych: a) zoonozy endemiczne, występujące w wielu lokalizacjach i dotykające szerokie grupy ludzi i zwierząt; b) zoonozy o charakterze epidemii, które występują sporadycznie i czasowo oraz na ograniczonych terenach; c) nowo pojawiające się lub nawracające zoonozy o dynamicznym charakterze, wysokiej zjadliwości i szerokim zasięgu geograficznym (ang. *emerging zoonotic diseases*) (WHO, 2019).

Przyczyną wzrastającego występowania zoonoz jest ekspansja (ingerencja) człowieka w środowisko naturalne, nachodzenie na siebie środowiska sylwaticznego i synantropijnego, migracja społeczności, jak również zmieniające się warunki klimatu. Powyższe czynniki sprzyjają rozprzestrzenianiu się nowych patogenów odzwierzęcych w sposób nieprzewidywalny. Pojawienie się etiologicznego czynnika zoonozy w określonej lokalizacji geograficznej stanowi w dzisiejszych czasach zagrożenie dla globalnego bezpieczeństwa zdrowotnego. Można tłumaczyć to rozwiniętą obecnie wymianą handlową oraz łatwością i szybkością podróżowania, również międzykontynentalnego. Dlatego można stwierdzić, że zoonozy są globalnym zagrożeniem ze względu na ich potencjał zakaźny oraz wysoką śmiertelność w przypadku niektórych gatunków patogenów. Brak odpowiednich leków oraz systemów prewencji, takich jak szczepienia, sprzyjają rozprzestrzenianiu się tych jednostek chorobowych. Powodują one również znaczne straty gospodarcze poprzez utratę dochodów w sektorach handlu, turystyki i rolnictwa.

Proces przeniesienia się patogenu (niezależnie od drogi zarażenia/zakażenia) z żywiciela zwierzęcego (lub rezerwuaru środowiskowego) na żywiciela ludzkiego, jest określane mianem „rozłania patogenu” (ang. *zoonotic spillover*) i jest skutkiem złożonych dwukierunkowych interakcji między ludźmi, zwierzętami, patogenami i środowiskiem (Childs, 2007; Plowright et al., 2017). Oczywiście jest jednak, że nie każda osoba jest w równym stopniu narażona na inwazję zoonotycznych patogenów. Ponadto, w porównaniu do innych procesów ekologicznych, przeniesienie patogenu z rezerwuaru zwierzęcego na człowieka jest stosunkowo rzadkim zjawiskiem (Sokolow et al., 2019), a początek trwałej transmisji wśród ludzi stanowi podzbiór powyższych zdarzeń (Cutler et al., 2010). Szeroka gama czynników kulturowych, społeczno-ekonomicznych i ekologicznych uważana jest za istotną w pojawieniu się chorób zakaźnych (Alexander and McNutt, 2010; Bryan et al., 1994; Morse, 1995). Nadal nie jesteśmy w stanie dokładnie przewidzieć, kiedy i gdzie pojawi się następny patogen, szczególnie w przypadku chorób z udziałem żywicieli należących do świata zwierząt.

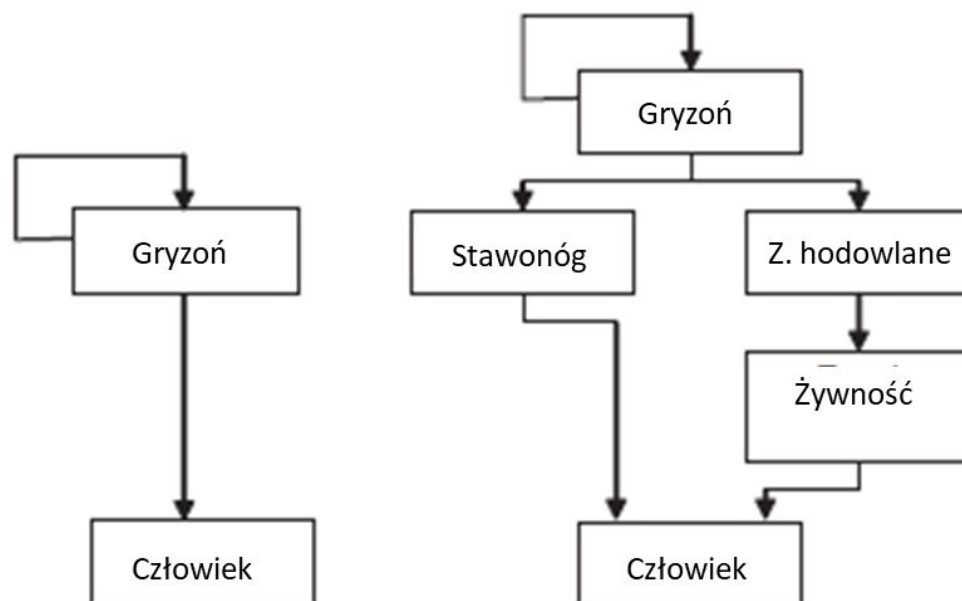
Kluczowym aspektem prewencji i zwalczania zoonoz jest wypracowanie skutecznych mechanizmów współpracy pomiędzy służbą zdrowia, służbą weterynaryjną i przedstawicielami świata nauki, tzw. „One Health Approach”. Połączenie różnych dyscyplin, takich jak ekologia, medycyna, medycyna weterynaryjna i zdrowie publiczne umożliwia skuteczne poznanie chorób odzwierzęcych. Multidyscyplinarne podejście powinno zawsze rozpoczynać się od identyfikacji ognisk choroby, potencjalnych przenosicieli (wektorów) i ich pojemności (ang. *vector capacity*) oraz możliwych dróg zarażenia/zakażenia (Mazet et al., 2009). Wymiana informacji dotyczących wybranego czynnika chorobotwórczego powinna być transparentna i dostępna z poziomu akademickiego, sektora służby zdrowia, komercyjnego i instytucji pozarządowych (ang. *Non Government Organizations*) (Bird i Mazet, 2018). Takie wielokierunkowe podejście umożliwia szybkie i sprawne reagowanie na epidemie przez

jednostki systemu stworzone do zapewnienia ochrony zdrowia ludzi i zwierząt (Belay et al., 2017).

Gryzonie (Rodentia) i przenoszone przez nie patogeny

Gryzonie to najbogatszy w gatunki (poznanych 2277 gatunków w 33 rodzinach) i najbardziej zróżnicowany rząd ssaków, obejmujący około 42% światowej liczby gatunków ssaków (Wilson i Reeder, 2005). Gryzonie mają ogólnoświatowe rozprzestrzenienie, brak ich jedynie na Antarktydzie i niektórych odizolowanych wyspach (Han et al., 2015a; Lacey i Solomon, 2003). Charakteryzują się szczególnym uzębieniem, składającym się z pojedynczej pary stale rosnących siekaczy w górnej i dolnej szczęce oraz zestawu zębów do żucia (Wood, 1955). Są małymi i średnimi ssakami, z krótkim cyklem reprodukcyjnym i licznymi miotami. Posiadają morfologiczną i biologiczną zdolność adaptacji do różnych trybów życia (np. lądowy, podziemny) oraz różnych środowisk (np. wodne lub suche biotopy) (Nowak, 1999). Ta wysoka plastyczność sprawia, że zwierzęta te są jednym z rządów ssaków najlepiej przystosowanym do życia w różnych ekosystemach (Sherman et al., 1991). Pomimo korzystnych działań gryzoni, takich jak napowietrzanie gleby, cykliczny obieg składników mineralnych, wzrost absorpcji wody, ułatwianie odzysku biotycznego i kontrola populacji owadów, mogą one powodować znaczące straty dla gospodarki (Rabiu i Rose, 2004). Odpowiedzialne są bowiem za niszczenie upraw oraz wyjadanie zbiorów. W wielu miejscach zwierzęta te żyją w bliskim kontakcie z człowiekiem i zwierzętami hodowanymi. Gryzonie żyjące na terenach zurbanizowanych są łącznikiem między dzikimi i udomowionymi zwierzętami.

Biorąc pod uwagę wszechobecność tych ssaków, stanowią one znaczące zagrożenie dla zdrowia ludzi i zwierząt ze względu na przenoszenie szerokiej gamy patogenów wywołujących zoonozy (ang. *rodent-borne diseases*) (Meerburg et al., 2009). Można tu zaliczyć mikro i makroorganizmy takie jak: bakterie, grzyby, wirusy, pasożyty wewnętrzne i zewnętrzne. Mogą one rozprzestrzeniać się na dwa sposoby: bezpośrednio i pośrednio (Ryc.1). W pierwszym przypadku, gryzonie mogą przenosić patogeny niebezpieczne dla ludzi poprzez kontakt bezpośredni, np. ugryzienie w przypadku wirusa wścieklizny. Do zarażenia/zakażenia może dojść także *per os*, poprzez spożycie pożywienia zanieczyszczonego odchodami (moczem i kałem) gryzoni (np. leptospiroza) lub drogą aerogenną, przez wdychanie zarazków obecnych w ich odchodach (np. hantawirusy).



Rycina 1. Bezpośredni i pośredni model rozprzestrzeniania się chorób przenoszonych przez gryzonie.

W drugim przypadku, gryzonie pełnią rolę żywicieli i rezerwuarów patogenów, do których przenoszenia niezbędne są stawonogi. Przy pomocy pasożytów zewnętrznych – wektorów (np. kleszczy, roztoczy, pcheł) – dochodzi do przeniesienia etiologicznego czynnika choroby (np. borelioza, kleszczowe zapalenie mózgu) z gryzonia na człowieka. Gryzonie mogą stanowić źródło zakażenia/zarażenia dla zwierząt hodowlanych, gdy przypadkowo lub celowo zostaną przez nie połknięte. Następstwem tego może być wystąpienie choroby u ludzi poprzez spożycie zarażonych/zakażonych patogenem tkanek i przetworów zwierzęcych (np. włośnica, TBEV). Ponadto, zwierzęta te biorą udział w poziomej transmisji patogenów, które wywołują choroby zwierząt hodowlanych, przyczyniając się w ten sposób do powstawania ogromnych szkód gospodarczych. (Fischer et al., 2000; Singla et al., 2008).

Biorąc pod uwagę wzmożoną ekspansję człowieka w środowisko naturalne oraz liczbę chorób wywoływanych przez patogeny odzwierzęce, kluczowym aspektem walki i prewencji powinna być zdolność wczesnego i szybkiego przewidywania ognisk wystąpienia choroby oraz identyfikacja dzikich rezerwuarów tych chorób (Karesh et al., 2012; Morse et al., 2012). Mając na uwadze najnowsze wytyczne Światowej Organizacji Zdrowia (WHO), konieczne jest proaktywne podejście do walki z chorobami odzwierzęcymi (Dupouy-Camet i Murrell, 2007; Han et al., 2015b; Morse et al., 2012). Dlatego istnieje potrzeba rozwoju oraz ukierunkowania skutecznych środków zapobiegawczych, które wymagają szczegółowej wiedzy z zakresu ekologii i epizootiologii gospodarza, potencjalnych żywicieli oraz wektorów zoonotycznych patogenów (Woolhouse and Gowtage-Sequeria, 2005).

Badanie dynamiki zarażeń/zakażeń zoonotycznymi patogenami w naturalnych populacjach żywicieli wymaga stosowania zróżnicowanych metod badawczych, umożliwiających: wykrycie kwasów nukleinowych patogenów, ocenę odpowiedzi immunologicznej gospodarza oraz szczegółową charakterystykę filogenetyczną badanego mikro- lub makropasożyta (Meerburg et al., 2009). Identyfikacja gatunków dzikich zwierząt,

które przypuszczalnie będą służyć lub już służą jako rezerwuary chorób odzwierzęcych oraz regionów, w których najprawdopodobniej wystąpią nowe ogniska, to niezbędne kroki w kierunku zapobiegawczego podejścia do minimalizacji ryzyka chorób odzwierzęcych u ludzi.

Głównymi założeniami przedstawionego do oceny osiągnięcia naukowego były:

- Określenie roli często występujących w lasach Europy gatunków gryzoni (*Myodes glareolus* i *Microtus* spp.) jako wektorów i rezerwuarów zoonotycznych patogenów ludzi i zwierząt.
- Długoterminowa analiza seroprewalencji zoonotycznych wirusów (arenawirusów, hantawirusów i wirusa krowianki) u nornicy rudej z terenów północno-wschodniej Polski.
- Analiza seroprewalencji wirusa kleszczowego zapalenia mózgu (TBEV) u nornicy rudej i trzech gatunków norników z rodzaju *Microtus* spp.
- Długoterminowa analiza występowania przeciwciał przeciwko *Trichinella* spp. u nornicy rudej.

Zagadnienie 1. Występowanie przeciwciał przeciwko zoonotycznym wirusom u nornic rudych (*Myodes glareolus*)

Publikacja nr 1: Grzybek, M., Sironen, T., Mäki, S., Tołkacz, K., Alsarraf, M., Strachecka, A., Paleolog, J., Biernat, B., Szczepaniak, K., Behnke-Borowczyk, J., Vaheri, A., Henttonen, H., Behnke, J.M., Bajer, A., 2019. Zoonotic Virus Seroprevalence among Bank Voles, Poland, 2002–2010. *Emerg. Infect. Dis.* 25, 1607–1609. <https://doi.org/10.3201/eid2508.190217>

1.1. Wprowadzenie

Do najbardziej rozpowszechnionych wirusów odzwierzęcych przenoszonych przez europejskie gryzonie należą hantawirusy, wirus limfocytowego zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych (LCMV), wirus ospy krowiej (CPXV) i wirus Ljungan (LV) (Jääskeläinen et al., 2013; Kallio-Kokko et al., 2005; Kinnunen et al., 2011; Olsson et al., 2010; Tonteri et al., 2013).

Hantawirusy występujące na terenie Europy to: Puumala (PUUV), Dobrava (DOBV) i Saaremaa (SAAV). Zakażenia hantawirusami mogą prowadzić do wystąpienia gorączek krwotocznych z zespołem nerkowym (ang. *hemorrhagic fever with renal syndrome*; HFRS) oraz hantawirusowego zespołu płucnego (ang. *hantavirus pulmonary syndrome*; HPS) (Schmaljohn and Hjelle, 1997). Zachorowania spowodowane zarażeniem PUUV charakteryzują się łagodniejszym przebiegiem (śmiertelność 0,1%), podczas gdy śmiertelność dla zachorowań wywołanych wirusem Dobrava wynosi 12% (Linderholm i Elgh, 2000; Plyusnin et al., 2006).

PUUV jest szeroko rozpowszechniony w populacjach nornicy rudej (*Myodes glareolus*) (Brunner-Korvenkontio et al., 1982; Olsson et al., 2010; Vapalahti et al., 2003). Zakażenie ma charakter przewlekły i dlatego replikacja wirusa jest trwała (Kallio et al., 2007). W konsekwencji gryzonie mogą być nosicielami wirusa przez cały okres życia (Meyer i Schmaljohn, 2000).

CPXV jest jedynym znanym wirusem z rodzaju *Orthopoxvirus* (OPV), przenoszonym przez dzikie zwierzęta w Europie (Kinnunen et al., 2011). Za jego rezerwuary uznawane są nornice

rude oraz inne gatunki gryzoni, takie jak *Apodemus* spp. i *Microtus* spp. (Chantrey et al., 1999; Crouch et al., 1995; Kaplan et al., 1980; Kinnunen et al., 2011).

LCMV, jedyny wirus z rodziny Arenaviridae w Europie, występuje przede wszystkim u myszy domowych (*Mus musculus*) (Blasdell et al., 2008). Jednak dalsze badania wykazały, że jest on obecny również u innych gatunków gryzoni (myszowatych i norników) (Blasdell et al., 2008; Kallio-Kokko et al., 2006; Laakkonen et al., 2006; Tagliapietra et al., 2009). Ledesma i wsp. (2009) zidentyfikowali niezależną linię genetyczną LCMV u myszarki zaroślowej (*A. sylvaticus*), co sugeruje możliwość rozprzestrzeniania się oraz krążenia wielu pokrewnych i reagujących krzyżowo arenawirusów.

Choroby wirusowe przenoszone przez gryzonie są utrzymywane w naturze poprzez bezpośrednie przenoszenie wewnątrzgatunkowe lub międzygatunkowe z gryzoni na gryzonie bez udziału wektorów. Zakażenie wirusowe jest zwykle trwałe. Transmisja wirusa następuje przez kontakt z płynami ustrojowymi lub kałem (Carroll et al., 2015; Charrel i de Lamballerie, 2010; Vapalahti et al., 2003).

1.2. Obecny stan wiedzy

W 2016 r., w 18 krajach Europy odnotowano 2190 przypadków zarażeń hantawirusami, głównie spowodowanych przez PUUV. W Polsce występowanie chorób wirusowych przenoszonych przez gryzonie jest jeszcze niedostatecznie zbadane (Sadkowska-Todys et al., 2007), a raporty przekazywane do Państwowego Zakładu Higieny najprawdopodobniej są cząstkowe.

Pierwsze ognisko zakażeń hantawirusami u ludzi w naszym kraju pojawiło się w 2007 r. i obejmowało 9 przypadków. Pomiędzy 2012 i 2016 r. odnotowano 79 przypadków, z czego aż 55 wystąpiło w woj. podkarpackim w 2014 r. (ECDC, 2018). Jeden przypadek zakażenia wirusem krowianki został opisany w 2014 r. w Warszawie, u 15 letniej pacjentki, po zadrapaniu przez kota (Świtaj et al., 2015).

Większość dotychczasowych opracowań, opisujących występowanie chorób przenoszonych przez gryzonie, obejmuje krótkoterminowe badania, które pokazują występowanie patogenów w jednym miejscu i tylko w krótkim okresie czasu. Jedynie w nielicznych najnowszych badaniach analizowano dynamikę hanta- i arenowirusów u dzikich gryzoni w Europie (Forbes et al., 2014; Sadkowska-Todys et al., 2015; Tagliapietra et al., 2009), a tylko w kilku analizowano dane długoterminowe (Abbott et al., 1999; Kallio et al., 2009).

1.3. Cel badania:

- 1) oszacowanie seroprewalencji LCMV, CPVX i PUUV w trzech populacjach nornic rudych, z ekologicznie podobnych, lecz izolowanych siedlisk w północno-wschodniej Polsce;
- 2) analiza czynników wewnętrznych (płeć i wiek żywiciela) i zewnętrznych (rok badania, teren badań), które mogą wpływać na seroprewalencję wirusów w tych populacjach gryzoni.

1.4. Materiał i metody

Nornice rude odławiano w północno-wschodniej Polsce, na terenie Krainy Wielkich Jezior Mazurskich w latach 2002, 2006 i 2010, w ramach projektu PolVole (Behnke et al., 2008, 2001; Grzybek et al., 2015b). Surowicę gryzoni badano w kierunku obecności przeciwciał przeciwko PUUV, CPXV i LCMV przy użyciu immunofluorescencji pośredniej (ang. *immunofluorescency assay*; IFA) (Kallio-Kokko et al., 2006; Pelkonen et al., 2003). Próby rozcieńczano 1:10 w soli fizjologicznej (0,9 NaCl), buforowanej fosforanem. Następnie sprawdzono ich reaktywność na hantawirusy, wirusy ospy krowiej i arenawirusy za pomocą testów, odpowiednio: PUUV IFA, CPXV IFA i LCMV IFA (Hedman et al., 1991).

1.5. Wyniki

Ogółem przebadano 652 osobniki i wykryto przeciwciała przeciwko wszystkim trzem wirusom. Całkowita seroprewalencja wyniosła 25,9% [23,0–29,1]. Największy odsetek stanowiły osobniki, u których wykryto przeciwciała przeciwko CPXV. Przeciwciała przeciwko LCMV stwierdzono tylko u dwóch nornic (0,3% [0,2-0,9]), a przeciwko PUUV (0,76% [0,4-1,6]) u 5 osobników.

Seroprewalencja była 2,7 razy wyższa wśród nornic odłowionych w 2010 r. (36,1% [31,7%–40,7%]) niż u odłowionych w 2002 r. (13,1% [7,4%–21,0%]). Seroprewalencja CPXV wśród nornic z trzech badanych siedlisk znacznie się różniła i była najwyższa u gryzoni z Urwitału, a niższa u nornic z Tałt i Pilch. Na występowanie przeciwciał przeciw CPXV istotny wpływ miała także płeć gospodarza. Ich poziom był 1,5 razy wyższy u samców niż u samic. Wzrastał także wraz z wiekiem żywiciela.

1.6. Wnioski i wpływ na obecny stan wiedzy

Przedstawione wyniki badań są pierwszym w Polsce i centralno-wschodniej Europie długoterminowym seromonitoringiem zoonotycznych wirusów występujących u gryzoni. Dostarczają nowe informacje, dotyczące krążenia zoonotycznych wirusów wśród tych drobnych ssaków. Wykrycie obecności przeciwciał przeciwko PUUV, CPXV i LCMV świadczy o istotnej roli, jaką nornice rude mogą ogrywać jako rezerwuary tych patogenów. Biorąc pod uwagę fakt, iż zwierzęta te są najczęściej i licznie występującymi gryzoniami w polskich i europejskich lasach oraz ogólną seroprewalencję na poziomie 25,9% można stwierdzić, że **przedstawione badania mają nie tylko duże znaczenie dla zdrowia publicznego w regionie, ale są cenne także dla innych części Europy zasiedlonych przez *M. glareolus*.**

Identyfikacja gatunków gryzoni, które mogą służyć jako rezerwuary chorób odzwierzęcych jest kluczowym procesem w zapobieganiu i minimalizowaniu zasięgu chorób odzwierzęcych u ludzi (Han et al., 2015b). **Prezentowane wyniki wnoszą zatem znaczący wkład w zrozumienie roli nornic rudyh w utrzymywaniu i rozprzestrzenianiu się niebezpiecznych patogenów wirusowych oraz w identyfikacji kluczowych czynników, które wpływają na seroprewalencję w określonych populacjach gryzoni.** Należy podkreślić, że chociaż krótkoterminowe badania są niezwykle przydatne jako punkt wyjścia, to w celu uzyskania pełnego obrazu epizootologicznego, bardzo ważne jest monitorowanie

gryzoni pod kątem infekcji wirusowych za pomocą długoterminowego i obejmującego różne siedliska podejścia.

Przedstawione wyniki mają kluczowe znaczenie przy ocenie możliwości wystąpienia ogniska zarażenia zoonotycznymi wirusami i mogą posłużyć do działań prewencyjnych oraz edukacyjnych dla lekarzy, lekarzy weterynarii czy pracowników leśnych.

Zagadnienie 2. Rola nornicy rudej jako rezerwuaru nicieni z rodzaju *Trichinella*.

Publikacja nr 2: Grzybek, M., Cybulska, A., Tołkacz, K., Alsarraf, M., Behnke-Borowczyk, J., Szczepaniak, K., Strachecka, A., Paleolog, J., Moskwa, B., Behnke, J.M., Bajer, A., 2019. Seroprevalence of *Trichinella* spp. infection in bank voles (*Myodes glareolus*) – A long term study. *Int. J. Parasitol. Parasites Wildl.* 9, 144–148.
<https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2019.03.005>

1.1. Wprowadzenie

Nicienie z rodzaju *Trichinella* odpowiedzialne są za rozwój włośnicy (trichinellozy), jednostki chorobowej występującej u zwierząt i ludzi. Do zarażenia dochodzi drogą *per os*, przez spożycie mięsa pochodzącego od zarażonych zwierząt, zawierającego żywe larwy włośni. Nicienie te można podzielić na dwie grupy: gatunki z larwami otorbionymi, tj. zamkniętymi w mięśniach żywiciela w komórkach piastunkach (*T. spiralis*, *T. nativa*, *T. britovi*, *T. murrelli* i *T. nelsoni*) oraz gatunki z larwami nieotorbionymi w mięśniach żywiciela (*T. pseudospiralis*, *T. papuae* i *T. zimbabwensis*) (Gottstein et al., 2009). Włośień kręty występuje w Ameryce Północnej, Środkowej i Południowej, w Europie, Azji, Afryce (Egipt), Indonezji i Nowej Zelandii, gdzie w 2001 r. odnotowano dwa pierwsze kliniczne przypadki zarażenia u ludzi (Pozio, 2005).

Po spożyciu mięsa zawierającego larwy *Trichinella* spp., w jelicie cienkim, pod wpływem enzymów trawiennych, dochodzi do ich uwolnienia z torebek. W ciągu 2-3 dni osiągają one dojrzałość płciową. Dorosłe nicienie rozmnażają się w ścianie jelita zarażonej osoby (faza jelitowa). Po kopulacji samice rodzą larwy (od 5 dnia po zarażeniu), które drogą krwionośną wędrują do mięśni. Część z nich rozprzestrzenia się w organizmie żywiciela wraz z limfą. Każda samica włośni kilkukrotnie rodzi larwy, od 200 do 1500, zależnie od gatunku *Trichinella* (Dimzas et al., 2020). Od 10 dnia po zarażeniu, larwy osiedlają się w komórkach mięśni poprzecznie prążkowanych. Ta, tzw. mięśniowa faza inwazji trwa 5-6 tygodni. Stadia larwalne preferują stale aktywne, dobrze ukrwione mięśnie (przepony, międzyżebrowe, kończyn i języka). Do mięśni trafia wielokrotnie więcej larw, niż zostało spożytych wraz z zarażonym mięsem. Stan pacjenta zależy od ilości zjedzonego zarażonego pokarmu, indywidualnej podatności na chorobę i gatunku *Trichinella*. W Polsce stwierdzono występowanie 4 gatunków włośni (*T. spiralis*, *T. pseudospiralis*, *T. nativa* i *T. britovi*) (Cybulska et al., 2016). Zrażone osoby niejednokrotnie nie są świadome rozwijającej się włośnicy. Pierwsze objawy są bowiem nietypowe, mogą przypominać grypę, występują bóle brzucha, wymioty, biegunka i gorączka (Shimoni i Froom, 2015). Charakterystyczne dla włośnicy są obrzęki powiek i twarzy oraz przekrwienie spojówek. Jest to wynik reakcji alergicznej na antygeny pasożytów. W ciężkich przypadkach zarażenia rozwija się zapalenie

płuc, zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych, może dojść do uszkodzenia nerek i mięśnia sercowego. Choroba nie jest wyleczalna. Larwy, które trafiły do komórek mięśniowych pozostają w nich do końca życia osoby zarażonej, będąc przyczyną bólów i sztywności mięśni. Występowanie niespecyficznych objawów na początku choroby sprawia, że osoby zarażone najczęściej zbyt późno zgłaszają się do lekarza, w momencie, gdy występuje już faza mięśniowa włośnicy (Ozdemir et al., 2005).

1.2. Obecny stan wiedzy

W 2017 r. 15 krajów UE/ EOG zgłosiło ogółem 224 przypadki włośnicy, z czego 168 potwierdzonych, a 56 prawdopodobnych. Wskaźnik zgłoszeń w UE / EOG wyniósł 0,03 przypadków na 100 000 mieszkańców. Większość (73,8%) potwierdzonych przypadków pochodziła z Bułgarii, Chorwacji i Rumunii (ECDC, 2019b). Według danych zawartych w meldunkach epidemiologicznych Narodowego Instytutu Zdrowia Publicznego – Państwowego Zakładu Higieny, na przestrzeni lat 2000–2015 w Polsce odnotowano 1004 przypadki włośnicy, przy czym w pięcioleciu 2011–2015 było ich zaledwie 79 (1–32 osoby rocznie) (NIPH – NIH, 2018). Ich przyczyną było spożycie wyrobów z mięsa zarażonych dzików, które, wobec sporadycznie występującej włośnicy u świń, są głównym źródłem zarażenia dla ludzi. Analiza retrospektywna wskazuje, że najwięcej zachorowań wystąpiło na terenie czterech województw: zachodniopomorskiego, pomorskiego, kujawsko-pomorskiego i wielkopolskiego, które stanowią 26,7% terytorium Polski (NIPH – NIH, 2018).

Włośnie należą do pasożytów poliksenicznych i występują u ok. 150 gatunków zwierząt, ssaków, ptaków i gadów. Zarażenia *Trichinella* występują zarówno w środowisku sylwaticznym (leśnym), jak i synantropijnym (przydomowym). W sprzyjających warunkach dochodzi do przyniesienia pasożyta z jednego środowiska do drugiego. W Europie Środkowej, w tym w Polsce, na obszarach leśnych główną rolę w krążeniu włośni odgrywiają wszystkożerne dziki oraz zwierzęta mięsożerne, wśród których lisy rude (*Vulpes vulpes*) są najważniejszymi rezerwuarami tych nicieni (Cabaj et al., 2000; Chmurzyńska et al., 2013; Cybulska et al., 2016; Moskwa et al., 2013). Znaczna część diety lisów i innych drapieżników (Dell'Arte et al., 2007) składa się z nornic rudych i innych gatunków małych gryzoni (Hutterer et al., 2016; Tenseth, 1985; Wilson and Reeder, 2005). Nornice rude są ogólnie uważane za wszystkożerne i mogą czasami zjadać tkanki napotkanych martwych kręgowców (Gębczyńska, 1976; Watts, 1968). Dlatego, jeżeli w ich środowisku będzie dostępna padlina zarażona *Trichinella* spp., potencjalnie mogą brać udział w utrzymaniu sylwaticznego cyklu życiowego tego nicienia.

Wiedza na temat występowania *Trichinella* spp. u gryzoni w Polsce i Europie jest cząstkowa (Bilska-Zajac et al., 2018). Badania obejmują zazwyczaj monitoring szczurów odłowionych z chlewni i gospodarstw (Leiby et al., 1990). W piśmiennictwie brakuje natomiast dokładnych danych wskazujących, które gatunki gryzoni mogą odgrywać rolę w rozprzestrzenianiu tej pasożyty. W danym siedlisku może być bowiem dostępnych wiele gatunków dzikich zwierząt podatnych na zarażenie pasożytem, prawdopodobnie jednak nie wszystkie z nich będą równie ważne w utrzymaniu jego krążenia (Schmitt et al., 1978). Rozróżnienie między gatunkami żywicieli, którzy pomagają utrzymać cykl życiowy a gatunkami, które nie odgrywiają istotnej roli w przenoszeniu patogenu jest ważne dla wdrożenia strategii monitorowania i opracowania ukierunkowanych środków kontroli (Haydon et al., 2002) w celu ograniczenia włośnicy u zwierząt domowych i w populacji ludzkiej.

1.3. Cel badania

- 1) ocena rozpowszechnienia (oszacowanie ekstensywności występowania) przeciwciał przeciwko *Trichinella* spp. u *M. glareolus* w trzech geograficznie oddzielonych, ale ekologicznie podobnych obszarach leśnych w Polsce
- 2) identyfikacja czynników wewnętrznych i zewnętrznych, mogących przyczynić się do zmienności seroprewalencji *Trichinella* spp. u tego gatunku gryzoni.

1.4. Materiał i metody

Zwierzęta odławiano, jak opisano wcześniej w publikacji nr [1] i w Grzybek et al. 2014 i 2015. Surowice nornic rudych były badane z wykorzystaniem komercyjnego testu ELISA ID Screen® *Trichinella* Indirect Multi-species, wykrywającego przeciwciała przeciwko *Trichinella* spp. Test ten bazuje na antygenie ES otorbionych larw *T. spiralis* (ang. *excretory-secretory antigens of Trichinella spiralis muscle larvae*).

1.5. Wyniki

Całkowita seroprewalencja *Trichinella* spp. dla wszystkich badanych zwierząt (2002–2010 i 2018; n=668) wynosiła 1,52% (0,9–2,7). Najniższą odnotowano w 2002 r., a najwyższą w 2006 r., ale różnica między poszczególnymi latami nie była statystycznie istotna, a zatem można przyjąć, że była ona w tym okresie względnie stabilna. Istniała natomiast znacząca różnica między analizowanymi siedliskami, utrzymująca się przez cały okres badania. Nornice rude odłowione w Urwiłałcie wykazywały 3,3-krotnie wyższą seroprewalencję aniżeli w Tałtach. W Pilchach natomiast nie stwierdzono gryzoni, u których występowały przeciwciała przeciwko *Trichinella* spp.

Odsetek osobników z przeciwciałami przeciwko *Trichinella* spp. wzrastał wraz z wiekiem żywiciela. Nie wykazano różnicy pomiędzy występowaniem przeciwciał a płcią zwierząt. Analiza post-hoc osobników pochodzących z Urwiłałtu (w tej grupie występował największy odsetek seropozytywnych zwierząt) potwierdziła znaczący wpływ wieku na seroprewalencję *Trichinella* spp. Obecność przeciwciał przeciwko włosniom potwierdzono również u jednej samicy na 12 (8,3% [0,4–37,0]) badanych ozimków (osobniki zimujące), które odłowiono w 2018 r.

1.6. Wnioski i wpływ na obecny stan wiedzy

Po raz pierwszy przeprowadzono kompleksowy i długoterminowy monitoring występowania przeciwciał przeciwko *Trichinella* spp. u gryzoni w centralno-wschodniej części Europy. Wyniki stanowią znaczące uzupełnienie wiedzy o roli tych drobnych ssaków w sylvatycznym cyklu włosnia krętego. Pomimo niewielkiego odsetka zwierząt seropozytywnych (1,52%), powyższe badania dowodzą, że nornice rude mogą uczestniczyć w krążeniu *Trichinella* spp. w środowisku, jednak nie ogrywają znaczącej roli jako rezerwuar tej pasożytozy. Choć rzeczywista liczba gryzoni, które mogą być nosicielami włosni jest trudna do obliczenia, można w prosty sposób oszacować skalę problemu. Polskie lasy zajmują około 29,4% terytorium Polski (9177,2 tys. ha) (State Forests Information Center, 2014), a liczba nornic w szczycie sezonu może sięgać setek osobników na hektar (Hansson and Henttonen, 1985; Mazurkiewicz, 1991; Verhagen et al., 2000) oraz wiele milionów w skali

kraju. Jeśli przedstawione dane odzwierciedlają ogólnokrajowe trendy, liczba nornic rudych faktycznie zainfestowanych może być w Polsce ogromna. Oczywiście, dalsze długoterminowe monitorowanie w innych regionach kraju i w całej Europie jest niezbędne w celu wyjaśnienia sytuacji. Światowa Organizacja Zdrowia Zwierząt zaleca badania i ocenę zarażenia dzikich gryzoni, w celu zmniejszenia narażenia zwierząt domowych i ludzi na inwazję włośni (Dupouy-Camet and Murrell, 2007). Należy to jednak prowadzić z troską i szacunkiem dla środowiska. **Dlatego powyższe badania mają duże znaczenie dla rozwoju dziedzin takich jak parazytologia czy zdrowie środowiskowe. Co więcej, przedstawione wyniki są cenne dla służby weterynaryjnej i ochrony zdrowia publicznego w Polsce, jak również dla innych regionów europejskich, w których populacja *M. glareolus* jest bardzo liczna.**

Zagadnienie 3. Rola gryzoni jako rezerwuarów wirusa kleszczowego zapalenia mózgu

Publikacja nr 3: Grzybek, M., Tołkacz, K., Alsarraf, M., Dwużnik, D., Szczepaniak, K., Tomczuk, K., Biernat, B., Behnke, J.M., Bajer, A. 2019. Seroprevalence of TBEV in three voles species (*Microtus* spp.) from NE Poland. *J. Wildl. Dis.* <https://doi.org/10.7589/2019-02-048>

Publikacja nr 4: Grzybek, M., Alsarraf, M., Tołkacz, K., Behnke-Borowczyk, J., Biernat, B., Stańczak, J., Strachecka, A., Guz, L., Szczepaniak, K., Paleolog, J., Behnke, J.M., Bajer, A. 2018. Seroprevalence of TBEV in bank voles from Poland – a long-term approach. *Emerg. Microbes Infect.* 7, 145. <https://doi.org/10.1038/s41426-018-0149-3>

3.1. Wprowadzenie

Wirus kleszczowego zapalenia mózgu (ang. *tick-borne encephalitis virus*; TBEV) należy do rodziny Flaviviridae (rodzaj *Flavivirus*). Występuje w całej północnej Palearktyce, obejmującej obszar Europy środkowej i północnej, przez Syberię aż do Japonii (Lindquist i Vapalahti, 2008).

Głównym wektorem i zarazem rezerwuarem TBEV w Europie, w tym i w Polsce, są kleszcze *Ixodes ricinus* (Karbowski i Biernat, 2016; Suss, 2011). W ich populacji wirus utrzymywany jest dzięki transmisji transstadialnej i transowarialnej, co powoduje, że raz zakażony kleszcz pozostaje zainfekowany do końca życia i może przekazać wirusa poprzez zakażone jaja na następne pokolenie. Małe gryzonie są natomiast najważniejszymi żywicielami dla młodocianych (larw i nimf) postaci *I. ricinus* (Mihalca and Sándor, 2013). Uważa się, że odgrywają one zasadniczą rolę w utrzymaniu i krążeniu TBEV w naturze, poprzez przenoszenie utajonych infekcji (Michelitsch et al., 2019; Tonteri et al., 2011; Zöldi et al., 2015).

Wywoływane przez TBEV kleszczowe zapalenie mózgu (*encephalitis ixodica*) jest wirusową chorobą ośrodkowego układu nerwowego. Jest to druga po boreliozie choroba odkleszczowa diagnozowana w Polsce. Do transmisji wirusa dochodzi na drodze ukłucia przez zakażonego kleszcza. Możliwa jest również infekcja wskutek spożycia niepasteryzowanych produktów mlecznych (Suss, 2011). Choroba przebiega w dwóch fazach. Pierwsza następuje po 1-2 tygodniach od zakażenia, kiedy pojawia się gorączka i inne objawy grypopodobne, utrzymujące się przez około 7 dni (Riccardi et al., 2019). Po kilkudniowym okresie poprawy

stanu ogólnego osoby zarażonej, rozpoczyna się druga faza choroby, przebiegająca z gorączką, bólami głowy, nudnościami, wymiotami, utratą przytomności i innymi objawami zapalenia mózgu i/lub opon mózgowo-rdzeniowych (objawy mózgowo-mózdkowe lub rdzeniowe), które mogą po przechorowaniu utrzymywać się u 10-20% pacjentów przez okres wielu miesięcy lub stale (pod postacią niedowładów, zaników mięśniowych, przewlekłego bólu głowy, stanów depresyjnych) (Ruzek et al., 2019). W przypadkach niepowikłanych neurologicznie, objawy ustępują po 2-3 tygodniach.

Zachorowalność na KZM znacznie wzrosła w ciągu ostatnich dziesięcioleci. Spowodowane jest to ekspansją człowieka w środowisko naturalne (Amicizia et al., 2013; Jaenson et al., 2012). Dlatego niezbędna jest identyfikacja obszarów endemicznych i monitoring dynamiki rozprzestrzeniania się wirusa. Są to kluczowe etapy do zapewnienia odpowiednich środków profilaktycznych dla społeczności ludzi zamieszkujących regiony endemiczne.

3.2. Obecny stan wiedzy

W 2018 r. w krajach UE/EOG zgłoszono 3 092 potwierdzonych przypadków KZM, z czego 16 z nich zakończyło się zgonem. Najwięcej potwierdzonych przypadków odnotowano w Republice Czeskiej (n = 712), Niemczech (n = 583) i na Litwie (n = 384) (ECDC, 2019c). W Polsce, w ostatniej dekadzie XX w., doszło do niewyjaśnionego wzrostu zachorowalności na KZM. W 1993 r. odnotowano średnio 250 przypadków TBE, ze średnią zapadalnością na poziomie 0,75 zachorowań / 100 000 osób (Zabicka, 1996). Największa zachorowalność występuje w północno-wschodnich regionach Polski, które uważane są za obszar hiperendemiczny (11,53 przypadki / 100 000 mieszkańców) (Zajkowska et al., 2013).

W przeciwieństwie do innych części Europy, w Polsce wciąż brak jest badań nad występowaniem TBEV u gryzoni i w związku z tym nie jest znany poziom ich naturalnego zakażenia. Ponieważ nornice rude (*M. graleolus*) i norniki (*Microtus* spp.) są jednymi z najbardziej rozpowszechnionych gatunków gryzoni w Europie (Morand et al., 2015; Tonteri et al., 2011), poznanie ich roli w krążeniu wirusa jest niezbędne do planowania działań prewencyjnych oraz zapobiegania możliwym epidemiom.

3.3. Cel badania

- 1) oszacowanie występowania przeciwciał przeciwko TBEV u czterech gatunków gryzoni z północno-wschodniej Polski
- 2) ocena wpływu czynników wewnętrznych (wiek i płeć żywiciela) i zewnętrznych (rok i miejsce badania) na seroprevalencję TBEV u tych gatunków gryzoni.

3.4. Materiał i metody

Gryzonie odławiano, jak opisano wcześniej w publikacji nr [1] i przez Tołkacz i wsp. (2018, 2017). Surowice gryzoni były badane z użyciem komercyjnego testu ELISA do ilościowego oznaczenia przeciwciał przeciw TBE-IgG IMMUNOZYM® FSME (TBE) *all species* (PROGEN Biotechnik GmbH, Niemcy), zgodnie z zaleceniami producenta. Wszystkie próby o granicznym wyniku testowano dwukrotnie, a jeśli drugi test potwierdził wynik graniczny dla danej próby, był on następnie traktowany jako wynik ujemny.

3.5. Wyniki

Ogółem przebadano 745 gryzoni, w tym 668 nornic rudych i 77 norników. Obecność przeciwciał przeciw TBEV stwierdzono u 102 z nich (13,7% [11,3,-16,5]).

W przypadku nornic, przeciwciała występowały u 14,8% (12,5–17,5) zbadanych osobników, przy czym seroprewalencja różniła się w kolejnych latach badawczych. U nornic odłowionych w 2006 i 2010 roku odsetek seropozytywnych osobników był 2- do 2,5-krotnie wyższy niż u odłowionych w 2002 r. (2002 = 5,4% [3,7-7,8]; 2006=18,1% [14,7-21,9]; 2010= 9,7% [16,2-23,8]. Biorąc pod uwagę teren odłowu, w Pilchach odsetek nornic z przeciwciałami przeciwko TBEV był znacząco wyższy (28,1% [20,2–37,5]) w porównaniu do Urwitałtu (7,8% [5,5–10,8]) i Tałt (11,3% [8,6–14,6]). O ile u nornic z Tałt wskaźniki seroprewalencji były bardzo podobne i stabilne przez cały okres badania, to w przypadku pozostałych dwóch siedlisk, wykazywały zmienną dynamikę. W Urwitałcie odsetek seropozytywnych gryzoni zwiększał się powoli, ale stale z 0% w 2002 r. do 16,3% w 2010 r. W Pilchach odnotowano 6,4-krotny wzrost wskaźnika seroprewalencji, który wynosił 46,3% w 2006 r. i 32,1% w 2010 r. w porównaniu do 7,25% w 2002 roku. Częstość występowania przeciwciał wzrastała wraz z wiekiem żywiciela. Nie znaleziono różnic pomiędzy samcami i samicami.

Ogólna seroprewalencja TBEV u *Microtus* spp. wyniosła 3,9% (1,0-11,8). Przeciwciała wykryto u dorosłych gryzoni, jednego samca i jednej samicy *M. arvalis* oraz jednego samca *M. oeconomus*. Nie stwierdzono natomiast przeciwciał u *M. agrestis*.

3.6. Wnioski i wpływ na obecny stan wiedzy

Przedstawione wyniki stanowią znaczący i nowatorski wkład w zrozumienie krążenia TBEV w populacjach gryzoni. Badania stanowiły jeden z najszerzej prowadzonych monitoringów TBEV u tych drobnych ssaków w kraju i w centralno-wschodniej Europie. Pojezierze Mazurskie jest wysoce endemicznym regionem kleszczowego zapalenia mózgu w Polsce. W latach 2010-2016 średnia zapadalność wyniosła tam 3,17 przypadków/100 000 mieszkańców (NIPH – NIH, 2018), a odsetek seropozytywnych pacjentów z objawami neurologicznymi wynosił w tym regionie 15,5 % (12,9-18,9) (Kubiak et al., 2011).

Za najważniejszy rezerwuwar TBEV uważane są gryzonie z rodzaju *Apodemus* (Michelitsch et al., 2019). **Wyniki naszych badań potwierdziły jednak, że zarówno *M. glareolus*, *M. arvalis*, jak i *M. oeconomus* mogą uczestniczyć w krążeniu TBEV w przyrodzie.** Wysoka całkowita seroprewalencja przeciwciał TBEV (14,8%) u *M. glareolus* sugeruje istotną rolę tego gatunku jako rezerwuaru wirusa KZM.

Prezentowane badania mają nie tylko duże znaczenie dla zdrowia publicznego w regionie przeprowadzania badania, ale mogą być również ważne dla innych części Europy, gdzie występują *M. glareolus* i *Myodes* spp. (Achazi et al., 2011; Knap et al., 2012; Tonteri et al., 2011; Weidmann et al., 2006; Zöldi et al., 2015).

Otrzymane dane pokazują, że dynamika transmisji TBEV zmienia się znacząco w czasie, ale nie zawsze w tym samym stopniu, w miejscach znajdujących się w bliskiej odległości od siebie. Niejednolity rozkład seropozytywności wśród gryzoni z lokalnych subpopulacji, odzwierciedlony w stwierdzonych przez nas różnicach w seroprewalencji między lokalizacjami, ma zasadnicze znaczenie i obejmuje szerszy zasięg geograficzny. Podobnie, stosunkowo niewielka częstość występowania wirusa w populacji *I. ricinus*, w porównaniu

z niektórymi innymi patogenami, przenoszonymi przez kleszcze (tj. *Anaplasma phagocytophilum* i *Borrelia burgdorferi*) jest zagadkowa, biorąc pod uwagę częstość ich występowania u ssaków. Przyszłe badania powinny koncentrować się na wytłumaczeniu, w jaki sposób wirus KZM jest utrzymywany przez długi czas w środowisku, pomimo tak niskiej częstości występowania u *I. ricinus*.

Wysoka seroprewalencja TBEV wśród nornic stanowi poważne zagrożenie dla zdrowia publicznego. Zdolność do przewidywania czasu oraz miejsc wysokiego ryzyka wystąpienia epidemii może pomóc w zapobieganiu przypadkom KZM u ludzi, a tym samym znacznie przyczynić się do ochrony zdrowia lokalnych mieszkańców oraz turystów.

Wnioski:

- 1) Gryzonie występujące na terenie Polski uczestniczą w krążeniu zoonotycznych patogenów, stanowiących zagrożenie dla zdrowia i życia ludzi.
- 2) Należy prowadzić szeroki monitoring gryzoni aby umożliwić przewidywanie wystąpienia zarażeń u ludzi.
- 3) Biorąc pod uwagę dynamikę występowania badanych przeciwciał, należy prowadzić monitoring gryzoni w wielu siedliskach oraz w trybie długoterminowym.
- 4) Należy dbać o bioasekurację i rygor sanitarny w miejscach hodowli zwierząt gospodarczych (izolacja od gryzoni, odpowiednia pasza) oraz w domostwach i budynkach gospodarczych, gdyż kontakt człowieka i zwierząt hodowlanych z gryzoniami może być przyczyną wystąpienia zoonozy.
- 5) Sprzątanie pomieszczeń gdzie mogą znajdować się odchody (kał i mocz) gryzoni należy prowadzić w maskach twarzowych, rękawicach i okularach aby uniknąć kontaktu z wydzielinami gryzoni.
- 6) Osoby prowadzące aktywny tryb życia, spędzające dużo czasu w lesie oraz w miejscach bytowania gryzoni podczas choroby, powinny zgłaszać ten fakt lekarzowi.

Konkluzja

Rozpoznanie gatunków zwierząt, mogących brać udział w rozprzestrzenianiu i cyklu życiowym patogenów, stanowi olbrzymie wyzwanie dla epizootiologii i medycyny. Poznanie czynników ekologicznych, mogących wpływać na występowanie i dynamikę zoonotycznych patogenów w dzikich rezerwuarach / wektorach/ jest kluczowym elementem prewencji oraz przewidywania możliwych ognisk chorób.

Bibliografia:

- Abbott, K.D., Ksiazek, T.G., Mills, J.N., 1999. Long-Term Hantavirus Persistence in Rodent Populations in Central Arizona. *Emerg. Infect. Dis.* 5, 102–112.
<https://doi.org/10.3201/eid0501.990112>
- Achazi, K., Růžek, D., Donoso-Mantke, O., Schlegel, M., Ali, H.S., Wenk, M., Schmidt-

- Chanasit, J., Ohlmeyer, L., Rühle, F., Vor, T., Kiffner, C., Kallies, R., Ulrich, R.G., Niedrig, M., 2011. Rodents as Sentinels for the Prevalence of Tick-Borne Encephalitis Virus. *Vector-Borne Zoonotic Dis.* 11, 641–647. <https://doi.org/10.1089/vbz.2010.0236>
- Alexander, K.A., McNutt, J.W., 2010. Human behavior influences infectious disease emergence at the human-animal interface. *Front. Ecol. Environ.* <https://doi.org/10.1890/090057>
- Amicizia, D., Domnich, A., Panatto, D., Lai, P.L., Cristina, M.L., Avio, U., Gasparini, R., 2013. Epidemiology of tick-borne encephalitis (TBE) in Europe and its prevention by available vaccines. *Hum. Vaccines Immunother.* <https://doi.org/10.4161/hv.23802>
- Behnke, J.M., Bajer, A., Harris, P.D., Newington, L., Pidgeon, E., Rowlands, G., Sheriff, C., Kuliś-Malkowska, K., Siński, E., Gilbert, F.S., Barnard, C.J., 2008. Temporal and between-site variation in helminth communities of bank voles (*Myodes glareolus*) from N.E. Poland. 1. Regional fauna and component community levels. *Parasitology* 135, 985–997. <https://doi.org/10.1017/S0031182008004484>
- Behnke, J.M., Barnard, C.J., Bajer, A., Bray, D., Dinmore, J., Frake, K., Osmond, J., Race, T., Sinski, E., 2001. Variation in the helminth community structure in bank voles (*Clethrionomys glareolus*) from three comparable localities in the mazury lake istrict region of Poland. *Parasitology* 123, 401–414. <https://doi.org/10.1017/S0031182001008605>
- Behnke, J.M., Stewart, A., Bajer A, Grzybek, M., Harris, P.D., Lowe, A., Ribas, A., Smales, L., Vandegrift, K.J., 2015. Bank voles (*Myodes glareolus*) and house mice (*Mus musculus musculus*; *M. m. domesticus*) in Europe are each parasitized by their own distinct species of *Aspicularis* (Nematoda, Oxyurida). *Parasitology* 142, 1493–1505. <https://doi.org/10.1017/S0031182015000864>
- Belay, E.D., Kile, J.C., Hall, A.J., Barton-Behravesh, C., Parsons, M.B., Salyer, S., Walke, H., 2017. Zoonotic Disease Programs for Enhancing Global Health Security. *Emerg. Infect. Dis.* 23. <https://doi.org/10.3201/eid2313.170544>
- Bilska-Zajac, E., Różycki, M., Antolak, E., Belcik, A., Grądziel - Krukowska, K., Karamon, J., Sroka, J., Zdybel, J., Cencek, T., 2018. Occurrence of *Trichinella* spp. in rats on pig farms. *Ann. Agric. Environ. Med.* 25, 698–700. <https://doi.org/10.26444/aaem/99555>
- Bird, B.H., Mazet, J.A.K., 2018. Detection of Emerging Zoonotic Pathogens: An Integrated One Health Approach. *Annu. Rev. Anim. Biosci.* 6, 121–139. <https://doi.org/10.1146/annurev-animal-030117-014628>
- Blasdell, K.R., Becker, S.D., Hurst, J., Begon, M., Bennett, M., 2008. Host Range and Genetic Diversity of Arenaviruses in Rodents, United Kingdom. *Emerg. Infect. Dis.* 14, 1455–1458. <https://doi.org/10.3201/eid1409.080209>
- Brummer-Korvenkontio, M., Henttonen, H., Vaheri, A., 1982. Hemorrhagic fever with renal syndrome in Finland: ecology and virology of nephropathia epidemica. *Scand. J. Infect. Dis. Suppl.* 36, 88–91.

- Bryan, R.T., Pinner, R.W., Berkelman, R.L., 1994. Emerging Infectious Diseases in the United States: Improved Surveillance, a Requisite for Prevention. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 740, 346–361. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1994.tb19892.x>
- Cabaj, W., Pozio, E., Moskwa, B., Malczewski, A., 2000. *Trichinella britovi* and *T. spiralis* in red foxes (*Vulpes vulpes*) in Poland. *Acta Parasitol.* 45, 340–344.
- Carroll, K., Hobden, J., Miller, S., Morse, S., Mietzner, T., Detrick, B., Mitchell, T., McKerrow, J., Sakanari, J., 2015. Arthropod-Borne and Rodent-Borne Viral Diseases, in: Jawetz Melnick & Adelbergs Medical Microbiology. McGraw-Hill, New York.
- Chantrey, J., Meyer, H., Baxby, D., Begon, M., Bown, K.J., Hazel, S.M., Jones, T., Montgomery, W.I., Bennett, M., 1999. Cowpox: reservoir hosts and geographic range. *Epidemiol. Infect.* 122, 455–60.
- Charrel, R.N., de Lamballerie, X., 2010. Zoonotic aspects of arenavirus infections. *Vet. Microbiol.* 140, 213–220. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2009.08.027>
- Childs, J.E., 2007. Pre-spillover prevention of emerging zoonotic diseases: what are the targets and what are the tools? *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 315, 389–443. https://doi.org/10.1007/978-3-540-70962-6_16
- Chmurzyńska, E., Różycki, M., Bilaska-Zajac, E., Nöckler, K., Mayer-Scholl, A., Pozio, E., Cencek, T., Karamon, J., 2013. *Trichinella nativa* in red foxes (*Vulpes vulpes*) of Germany and Poland: Possible different origins. *Vet. Parasitol.* 198, 254–257. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.07.034>
- Crouch, A.C., Baxby, D., McCracken, C.M., Gaskell, R.M., Bennett, M., 1995. Serological evidence for the reservoir hosts of cowpox virus in British wildlife. *Epidemiol. Infect.* <https://doi.org/10.1017/S0950268800058258>
- Cutler, S.J., Fooks, A.R., Van Der Poel, W.H.M., 2010. Public health threat of new, reemerging, and neglected zoonoses in the industrialized world. *Emerg. Infect. Dis.* <https://doi.org/10.3201/eid1601.081467>
- Cybulska, A., Kornacka, A., Bień, J., Goździk, K., Kalisińska, E., Łanocha-Arendarczyk, N., Budis, H., Pilarczyk, B., Cabaj, W., Moskwa, B., 2016. The Occurrence of *Trichinella* spp. in Red Foxes (*Vulpes vulpes*) in Different Regions of Poland: Current Data. *Vector-Borne Zoonotic Dis.* 16, 717–721. <https://doi.org/10.1089/vbz.2016.1996>
- Daszak, P., Cunningham, A.A., Hyatt, A.D., 2001. Anthropogenic environmental change and the emergence of infectious diseases in wildlife, in: *Acta Tropica*. [https://doi.org/10.1016/S0001-706X\(00\)00179-0](https://doi.org/10.1016/S0001-706X(00)00179-0)
- Dell'Arte, G.L., Laaksonen, T., Norrdahl, K., Korpimäki, E., 2007. Variation in the diet composition of a generalist predator, the red fox, in relation to season and density of main prey. *Acta Oecologica* 31, 276–281. <https://doi.org/10.1016/j.actao.2006.12.007>
- Dimzas, D., Diakou, A., Koutras, C., Gómez Morales, M.A., Psalla, D., Keryttopoulos, P., Deligianni, D., Kontotasios, K., Pozio, E., 2020. Human trichinellosis caused by

- Trichinella britovi* in Greece, and literature review. *J. Helminthol.* 94, e33.
<https://doi.org/10.1017/S0022149X19000075>
- Dudko, P., Junkuszew, A., Bojar, W., Milerski, M., Szczepaniak, K., Le Scouarnec, J., Schmidová, J., Tomczuk, K., Grzybek, M., 2018. Effect of dietary supplementation with preparation comprising the blend of essential oil from *Origanum vulgare* (lamiaceae) and *Citrus* spp. (citraceae) on coccidia invasion and lamb growth. *Ital. J. Anim. Sci.* 17, 57–65. <https://doi.org/10.1080/1828051X.2017.1346965>
- Dupouy-Camet, J., Murrell, K.D., 2007. *FAO/WHO/OIE Guidelines for the surveillance, management, prevention and control of trichinellosis.* Paris.
- ECDC, 2019a. Scientific report on the European Union One Health 2018 Zoonoses Report, EFSA Journal. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2019.5926>
- ECDC, 2019b. Trichinellosis. In: ECDC. Annual epidemiological report for 2017. Stockholm.
- ECDC, 2019c. Tick-borne encephalitis. In: ECDC. Annual epidemiological report for 2018. Stockholm.
- ECDC, 2018. Hantavirus infection. In: ECDC. Annual epidemiological report for 2016. Stockholm.
- Fischer, O., Mátlová, L., Bartl, J., Dvorská, L., Melichárek, I., Pavlík, I., 2000. Findings of *Mycobacteria* in insectivores and small rodents. *Folia Microbiol. (Praha)*.
<https://doi.org/10.1007/bf02817414>
- Forbes, K.M., Voutilainen, L., Jääskeläinen, A., Sironen, T., Kinnunen, P.M., Stuart, P., Vapalahti, O., Henttonen, H., Huitu, O., 2014. Serological Survey of Rodent-Borne Viruses in Finnish Field Voles. *Vector-Borne Zoonotic Dis.* 14, 278–283.
<https://doi.org/10.1089/vbz.2013.1526>
- Gębczyńska, Z., 1976. Food habits of the bank vole and phenological phases of plants in an oak-hornbeam forest. *Acta Theriol. (Warsz)*. 21, 223–236.
- Gottstein, B., Pozio, E., Nockler, K., 2009. Epidemiology, Diagnosis, Treatment, and Control of Trichinellosis. *Clin. Microbiol. Rev.* 22, 127–145.
<https://doi.org/10.1128/CMR.00026-08>
- Grzybek, M., Bajer, A., Alsarraf, M., Behnke, J.M., 2014a. Female host sex-biased parasitism with *Mastophorus muris* in wild bank voles (*Myodes glareolus*), in: British Society for Parasitology 52nd Annual Spring Meeting. Cambridge.
- Grzybek, M., Bajer, A., Bednarska, M., Al-Sarraf, M., Behnke-Borowczyk, J., Harris, P.D., Price, S.J., Brown, G.S., Osborne, S.-J., Siński, E., Behnke, J.M., 2015a. Long-term spatiotemporal stability and dynamic changes in helminth infracommunities of bank voles (*Myodes glareolus*) in NE Poland. *Parasitology* 142, 1722–1743.
<https://doi.org/10.1017/S0031182015001225>
- Grzybek, M., Bajer, A., Bednarska, M.M., Al-Sarraf, M., Behnke-Borowczyk, J., Harris, P.D., Price, S.J., Brown, G.S., Osborne, S.-J., Siński, E., Behnke, J.M., Osborn, S.-J.,

- Sinski, E.E., Behnke, J.M., Osborne, S.-J., Sinski, E.E., Behnke, J.M., 2015b. Long-term spatiotemporal stability and dynamic changes in helminth infracommunities of bank voles (*Myodes glareolus*) in NE Poland. *Parasitology* 142, 1722–1743. <https://doi.org/10.1017/S0031182015001225>
- Grzybek, M., Bajer, A., Behnke-Borowczyk, J., Al-Sarraf, M., Behnke, J.M., 2014b. Female host sex-biased parasitism with the rodent stomach nematode *Mastophorus muris* in wild bank voles (*Myodes glareolus*). *Parasitol. Res.* 114, 523–533. <https://doi.org/10.1007/s00436-014-4214-0>
- Grzybek, M., Bajer, A., Behnke, J.M., Harris, P., Siński, E., 2011. Analysis of the relative importance in long-term studies of the factors regulating the prevalence and abundance of the dominant nematode parasites of bank voles (*Myodes glareolus*) in N.E. Poland, in: *British Society for Parasitology Annual Spring Meeting 2011*. Nottingham.
- Grzybek, M., Flisikowski, K., Walczak, M., Gasperowicz, P., Ploski, R., Emes, R., Giles, T., Schnieke, A., Lisowski, P., 2016a. High and low SCNT efficiency swine AMSCs show differences in DNA methylation, in: *V Polski Kongres Genetyki*. Łódź.
- Grzybek, M., Golonko, A., Walczak, M., Lisowski, P., 2017. Epigenetics of cell fate reprogramming and its implications for neurological disorders modelling. *Neurobiol. Dis.* 99, 84–120. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2016.11.007>
- Grzybek, M., Kukula-Koch, W., Strachecka, A., Jaworska, A., Phiri, A., Paleolog, J., Tomczuk, K., 2016b. Evaluation of Anthelmintic Activity and Composition of Pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) Seed Extracts—In Vitro and in Vivo Studies. *Int. J. Mol. Sci.* 17, 1456. <https://doi.org/10.3390/ijms17091456>
- Grzybek, M., Stojcecki, K., Kostro, K., 2015c. De novo sequencing of *B. canis* genome as a first step in development of vaccine against canine babesiosis, in: *British Society for Parasitology Autumn Symposium*. London.
- Han, B.A., Schmidt, J.P., Bowden, S.E., Drake, J.M., 2015a. Rodent reservoirs of future zoonotic diseases. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 112, 7039–44. <https://doi.org/10.1073/pnas.1501598112>
- Han, B.A., Schmidt, J.P., Bowden, S.E., Drake, J.M., 2015b. Rodent reservoirs of future zoonotic diseases. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 112, 7039–44. <https://doi.org/10.1073/pnas.1501598112>
- Hansson, L., Henttonen, H., 1985. Regional differences in cyclicity and reproduction in *Clethrionomys* species: Are they related? *Ann. Zool. Fennici* 22, 277–288.
- Haydon, D.T., Cleaveland, S., Taylor, L.H., Laurenson, M.K., 2002. Identifying reservoirs of infection: A conceptual and practical challenge. *Emerg. Infect. Dis.* 8, 1468–1473. <https://doi.org/10.3201/eid0812.010317>
- Hedman, K., Vaheri, A., Brummer-Korvenkontio, M., 1991. Rapid diagnosis of hantavirus disease with an IgG-avidity assay. *Lancet (London, England)* 338, 1353–6.

- Hutterer, R., Kryštufek, B., Yigit, N., Mitsain, G., Palomo, L.J., Henttonen, H., Vohralík, V., Zagorodnyuk, I., Juškaitis, R., Meinig, H., Bertolino, S., 2016. *Myodes glareolus* (errata version published in 2017). The IUCN Red List of Threatened Species 2016: e.T4973A115070929.
- Jääskeläinen, A.J., Kolehmainen, P., Voutilainen, L., Hauffe, H.C., Kallio-Kokko, H., Lappalainen, M., Tolf, C., Lindberg, A.M., Henttonen, H., Vaehri, A., Tauriainen, S., Vapalahti, O., 2013. Evidence of Ljungan Virus specific antibodies in humans and rodents, Finland. *J. Med. Virol.* <https://doi.org/10.1002/jmv.23681>
- Jaenson, T.G.T., Hjertqvist, M., Bergström, T., Lundkvist, A., 2012. Why is tick-borne encephalitis increasing? A review of the key factors causing the increasing incidence of human TBE in Sweden. *Parasit. Vectors* 5, 184–196. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-5-184>
- Jones, K.E., Patel, N.G., Levy, M.A., Storeygard, A., Balk, D., Gittleman, J.L., Daszak, P., 2008. Global trends in emerging infectious diseases. *Nature* 451, 990–3. <https://doi.org/10.1038/nature06536>
- Kallio-Kokko, H., Laakkonen, J., Rizzoli, A., Tagliapietra, V., Cattadori, I., Perkins, S.E., Hudson, P.J., Cristofolini, A., Versini, W., Vapalahti, O., Vaehri, A., Henttonen, H., 2006. Hantavirus and arenavirus antibody prevalence in rodents and humans in Trentino, Northern Italy. *Epidemiol. Infect.* 134, 830–836. <https://doi.org/10.1017/S0950268805005431>
- Kallio-Kokko, H., Uzcategui, N., Vapalahti, O., Vaehri, A., 2005. Viral zoonoses in Europe. *FEMS Microbiol. Rev.* 29, 1051–1077. <https://doi.org/10.1016/j.femsre.2005.04.012>
- Kallio, E.R., Begon, M., Henttonen, H., Koskela, E., Mappes, T., Vaehri, A., Vapalahti, O., 2009. Cyclic hantavirus epidemics in humans--predicted by rodent host dynamics. *Epidemics* 1, 101–7. <https://doi.org/10.1016/j.epidem.2009.03.002>
- Kallio, E.R., Voutilainen, L., Vapalahti, O., Vaehri, A., Henttonen, H., Koskela, E., Mappes, T., 2007. Endemic hantavirus infection impairs the winter survival of its rodent host. *Ecology.* <https://doi.org/10.1890/06-1620.1>
- Kaplan, C., Healing, T.D., Evans, N., Healing, L., Prior, A., 1980. Evidence of infection by viruses in small British field rodents. *J. Hyg. (Lond).* <https://doi.org/10.1017/S0022172400026784>
- Karbowiak, G., Biernat, B., 2016. The role of particular tick developmental stages in the circulation of tick-borne pathogens affecting humans in Central Europe. 2. Tick-borne encephalitis virus. *Ann. Parasitol.* 62, 3–9.
- Karesh, W.B., Dobson, A., Lloyd-Smith, J.O., Lubroth, J., Dixon, M.A., Bennett, M., Aldrich, S., Harrington, T., Formenty, P., Loh, E.H., MacHalaba, C.C., Thomas, M.J., Heymann, D.L., 2012. Ecology of zoonoses: Natural and unnatural histories. *Lancet.* [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(12\)61678-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)61678-X)
- Kinnunen, P.M., Henttonen, H., Hoffmann, B., Kallio, E.R., Korthase, C., Laakkonen, J.,

- Niemimaa, J., Palva, A., Schlegel, M., Ali, H.S., Suominen, P., Ulrich, R.G., Vaheri, A., Vapalahti, O., 2011. Orthopox Virus Infections in Eurasian Wild Rodents. *Vector-Borne Zoonotic Dis.* 11, 1133–1140. <https://doi.org/10.1089/vbz.2010.0170>
- Knap, N., Korva, M., Dolinšek, V., Sekirnik, M., Trilar, T., Avšič-Županc, T., 2012. Patterns of Tick-Borne Encephalitis Virus Infection in Rodents in Slovenia. *Vector-Borne Zoonotic Dis.* 12, 236–242. <https://doi.org/10.1089/vbz.2011.0728>
- Kostro, K., Stojceki, K., Grzybek, M., Tomczuk, K., 2015. Characteristics, immunological events, and diagnostics of *Babesia* spp. infection, with emphasis on *Babesia canis*. *Bull. Vet. Inst. Pulawy* 59, 495–504. <https://doi.org/10.1515/bvip-2015-0074>
- Kubiak, K., Dzika, E., Równiak, J., Dziedziech, M., Dzisko, J., Dzikowiec, M., 2011. Serological confirmation of the prevalence of tick-borne encephalitis virus among patients with neurological infections in the Warmia- Masuria province in 2006-2010. *Przegl. Epidemiol.* 65, 587–591.
- Kukula-Koch, W., Grzybek, M., Strachecka, A., Jaworska, A., Ludwiczuk, A., 2018. ATR-FTIR-based fingerprinting of some Cucurbitaceae extracts: a preliminary study. *Acta Soc. Bot. Pol.* 87, 3579. <https://doi.org/10.5586/asbp.3579>
- Laakkonen, J., Kallio-Kokko, H., Öktem, M.A., Blasdell, K., Plyusnina, A., Niemimaa, J., Karataş, A., Plyusnin, A., Vaheri, A., Henttonen, H., 2006. Serological Survey for Viral Pathogens in Turkish Rodents. *J. Wildl. Dis.* 42, 672–676. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-42.3.672>
- Lacey, E.A., Solomon, N.G., 2003. SOCIAL BIOLOGY OF RODENTS: TRENDS, CHALLENGES, AND FUTURE DIRECTIONS. *J. Mammal.* 84, 1135–1140. <https://doi.org/10.1644/BLe-016>
- Leiby, D.A., Duffy, C.H., Murrell, K.D., Schad, G.A., 1990. *Trichinella spiralis* in an agricultural ecosystem: transmission in the rat population. *J. Parasitol.* 76, 360–4.
- Linderholm, M., Elgh, F., 2000. Clinical characteristics of hantavirus infections on the Eurasian continent. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* https://doi.org/10.1007/978-3-642-56753-7_8
- Lindquist, L., Vapalahti, O., 2008. Tick-borne encephalitis. *Lancet* 371, 1861–1871. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(08\)60800-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(08)60800-4)
- Lloyd-Smith, J.O., George, D., Pepin, K.M., Pitzer, V.E., Pulliam, J.R.C., Dobson, A.P., Hudson, P.J., Grenfell, B.T., 2009. Epidemic dynamics at the human-animal interface. *Science* (80-.). <https://doi.org/10.1126/science.1177345>
- Mazet, J.A.K., Clifford, D.L., Coppolillo, P.B., Deolalikar, A.B., Erickson, J.D., Kazwala, R.R., 2009. A “One Health” Approach to Address Emerging Zoonoses: The HALI Project in Tanzania. *PLoS Med.* 6, e1000190. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1000190>
- Mazurkiewicz, M., 1991. Population dynamics and demography of the bank vole in different

- tree stands. *Acta Theriol. (Warsz)*. 36, 207–227.
- Meerburg, B.G., Singleton, G.R., Kijlstra, A., 2009. Rodent-borne diseases and their risks for public health. *Crit. Rev. Microbiol.* 35, 221–270.
<https://doi.org/10.1080/10408410902989837>
- Meyer, B.J., Schmaljohn, C.S., 2000. Persistent hantavirus infections: characteristics and mechanisms. *Trends Microbiol.* 8, 61–7.
- Michelitsch, A., Wernike, K., Klaus, C., Dobler, G., Beer, M., 2019. Exploring the Reservoir Hosts of Tick-Borne Encephalitis Virus. *Viruses* 11, 669.
<https://doi.org/10.3390/v11070669>
- Mihalca, A.D., Sándor, A.D., 2013. The role of rodents in the ecology of *Ixodes ricinus* and associated pathogens in Central and Eastern Europe. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 3.
<https://doi.org/10.3389/fcimb.2013.00056>
- Morand, S., Jittapalpong, S., Kosoy, M., 2015. Rodents as Hosts of Infectious Diseases: Biological and Ecological Characteristics. *Vector-Borne Zoonotic Dis.* 15, 1–2.
<https://doi.org/10.1089/vbz.2015.15.1.intro>
- Morse, S.S., 1995. Factors in the emergence of infectious diseases. *Emerg. Infect. Dis.*
<https://doi.org/10.3201/eid0101.950102>
- Morse, S.S., Mazet, J.A.K., Woolhouse, M., Parrish, C.R., Carroll, D., Karesh, W.B., Zambrana-Torrel, C., Lipkin, W.I., Daszak, P., 2012. Prediction and prevention of the next pandemic zoonosis. *Lancet*. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(12\)61684-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)61684-5)
- Moskwa, B., Goździk, K., Bień, J., Borecka, A., Gawor, J., Cabaj, W., 2013. First report of *Trichinella pseudospiralis* in Poland, in red foxes (*Vulpes vulpes*). *Acta Parasitol.* 58.
<https://doi.org/10.2478/s11686-013-0121-2>
- NIPH – NIH, 2018. National Institute of Public Health – National Institute of Hygiene in Poland [WWW Document]. URL
http://wwwold.pzh.gov.pl/oldpage/epimeld/index_p.html (accessed 2.26.18).
- Nowak, R.M., 1999. Walker's mammals of the world, 6th ed. Johns Hopkins University Press, Baltimore, Maryland.
- Olsson, G.E., Leirs, H., Henttonen, H., 2010. Hantaviruses and Their Hosts in Europe: Reservoirs Here and There, But Not Everywhere? *Vector-Borne Zoonotic Dis.*
<https://doi.org/10.1089/vbz.2009.0138>
- Ozdemir, D., Ozkan, H., Akkoc, N., Onen, F., Gurler, O., Sari, I., Akar, S., Birlik, M., Kargi, A., Ozer, E., Pozio, E., 2005. Acute trichinellosis in children compared with adults. *Pediatr. Infect. Dis. J.* <https://doi.org/10.1097/01.inf.0000180514.46871.65>
- Pelkonen, P.M., Tarvainen, K., Hynninen, A., Kallio, E.R.K., Henttonen, H., Palva, A., Vaheri, A., Vapalahti, O., 2003. Cowpox with Severe Generalized Eruption, Finland. *Emerg. Infect. Dis.* 9, 1458–1461. <https://doi.org/10.3201/eid0911.020814>

- Plowright, R.K., Parrish, C.R., McCallum, H., Hudson, P.J., Ko, A.I., Graham, A.L., Lloyd-Smith, J.O., 2017. Pathways to zoonotic spillover. *Nat. Rev. Microbiol.* 15, 502–510. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2017.45>
- Plyusnin, A., Vaheri, A., Lundkvist, A., Klempa, B., Meisel, H., Kruger, D.H., Ulrich, R., Stanko, M., Labuda, M., 2006. Saaremaa Hantavirus Should Not Be Confused with Its Dangerous Relative, Dobrava Virus. *J. Clin. Microbiol.* 44, 1608–1611. <https://doi.org/10.1128/JCM.44.4.1608-1611.2006>
- Pojmańska, T., 2016. *Leksykon parazytologiczny*. Polskie Towarzystwo Parazytologiczne, Warszawa.
- Rabiu, S., Rose, R.K., 2004. Crop damage and yield loss caused by two species of rodents in irrigated fields in northern Nigeria. *Int. J. Pest Manag.* 50, 323–326. <https://doi.org/10.1080/09670870400000374>
- Riccardi, N., Antonello, R.M., Luzzati, R., Zajkowska, J., Di Bella, S., Giacobbe, D.R., 2019. Tick-borne encephalitis in Europe: a brief update on epidemiology, diagnosis, prevention, and treatment. *Eur. J. Intern. Med.* 62, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.ejim.2019.01.004>
- Ruzek, D., Avšič Županc, T., Borde, J., Chrdle, A., Eyer, L., Karganova, G., Kholodilov, I., Knap, N., Kozlovskaya, L., Matveev, A., Miller, A.D., Osolodkin, D.I., Överby, A.K., Tikunova, N., Tkachev, S., Zajkowska, J., 2019. Tick-borne encephalitis in Europe and Russia: Review of pathogenesis, clinical features, therapy, and vaccines. *Antiviral Res.* 164, 23–51. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2019.01.014>
- Sadkowska-Todys, M., Dudek-Godeau, D., Kamińska, S., Baumann-Popczyk, A., Czerwiński, M., Kucharczyk, B., Zieliński, A., 2015. Occurrence and maintenance of hantavirus infections among rodent populations in their natural habitat - results of a field study from Podkarpackie province, Poland 2010-2012. *Przegl. Epidemiol.* 69, 283–288.
- Sadkowska-Todys, M., Gut, W., Baumann, A., Siennicka, J., Litwińska, B., Zieliński, A., 2007. Ocena problemu występowania zakażeń ludzi Hantawirusami na terenie Polski, ze szczególnym uwzględnieniem wirusa Puumala. *Przegl. Epidemiol.* 61, 497–503.
- Schmaljohn, C., Hjelle, B., 1997. Hantaviruses: a global disease problem. *Emerg. Infect. Dis.* 3, 95–104. <https://doi.org/10.3201/eid0302.970202>
- Schmitt, N., Saville, J.M., Greenway, J.A., Stovell, P.L., Friis, L., Hole, L., 1978. Sylvatic trichinosis in British Columbia: potential threat to human health from an independent cycle. *Public Health Rep.* 93, 189–93.
- Schulz, M., Łoś, A., Grzybek, M., Ścibior, R., Strachecka, A., 2019. Piperine as a new natural supplement with beneficial effects on the life-span and defence system of honeybees. *J. Agric. Sci.* 157, 140–149. <https://doi.org/10.1017/S0021859619000431>
- Schulz, Michał, Ścibior, R., Grzybek, M., Łoś, A., Paleolog, J., Strachecka, A., 2019. A New Case of Honeybee *Apis mellifera* Infection with Bumblebee Parasite *Apicystis bombi* (Apicomplexa: Neogregarinorida). *Comp. Parasitol.* 86, 65–67.

<https://doi.org/10.1654/1525-2647-86.1.65>

- Sherman, P.W., Jarvis, J.U.M., Alexander, R.D., 1991. The biology of the naked mole-rat. Princeton University Press, Princeton, New Jersey.
- Shimoni, Z., Froom, P., 2015. Uncertainties in diagnosis, treatment and prevention of trichinellosis. *Expert Rev. Anti. Infect. Ther.* 13, 1279–1288. <https://doi.org/10.1586/14787210.2015.1075394>
- Singla, L.D., Singla, N., Parshad, V.R., Juyal, P.D., Sood, N.K., 2008. Rodents as reservoirs of parasites in India. *Integr. Zool.* 3, 21–26. <https://doi.org/10.1111/j.1749-4877.2008.00071.x>
- Sokolow, S.H., Nova, N., Pepin, K.M., Peel, A.J., Pulliam, J.R.C., Manlove, K., Cross, P.C., Becker, D.J., Plowright, R.K., McCallum, H., De Leo, G.A., 2019. Ecological interventions to prevent and manage zoonotic pathogen spillover. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* 374, 20180342. <https://doi.org/10.1098/rstb.2018.0342>
- State Forests Information Center, 2014. Forests in Poland. Warsaw.
- Strachecka, A., Grzybek, M., Ptaszynska, A.A., Los, A., Chobotow, J., Rowinski, R., 2019. Comparison of Lactate Dehydrogenase Activity in Hive and Forager Honeybees May Indicate Delayed Onset Muscle Soreness – Preliminary Studies. *Biochem.* 84, 435–440. <https://doi.org/10.1134/S0006297919040114>
- Strachecka, A., Hull, J.J., Chobotow, J., Paleolog, J., Łoś, A., Schulz, M., Teper, D., Kucharczyk, H., Grzybek, M., 2017. Insights into the biochemical defence and methylation of the solitary bee *Osmia rufa* L: A foundation for examining eusociality development. *PLoS One* 12, e0176539. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0176539>
- Suss, J., 2011. Tick-borne encephalitis 2010: Epidemiology, risk areas, and virus strains in Europe and Asia-An overview. *Ticks Tick. Borne. Dis.* 2, 2–15. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2010.10.007>
- Świtaj, K., Kajfasz, P., Kurth, A., Nitsche, A., 2015. Cowpox after a cat scratch – case report from Poland. *Ann. Agric. Environ. Med.* 22, 456–458. <https://doi.org/10.5604/12321966.1167713>
- Tagliapietra, V., Rosà, R., Hauffe, H.C., Laakkonen, J., Voutilainen, L., Vapalahti, O., Vaheri, A., Henttonen, H., Rizzoli, A., 2009. Spatial and temporal dynamics of lymphocytic choriomeningitis virus in wild rodents, northern Italy. *Emerg. Infect. Dis.* 15, 1019–25. <https://doi.org/10.3201/eid1507.081524>
- Taylor, L.H., Latham, S.M., Woolhouse, M.E.J., 2001. Risk factors for human disease emergence. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* <https://doi.org/10.1098/rstb.2001.0888>
- Tenseth, N.C., 1985. Geographical distribution of *Clethrionomys* species. *Ann. Zool. Fennici* 22, 215–219.
- Tołkacz, K., Alsarraf, M., Kowalec, M., Dwużnik, D., Grzybek, M., Behnke, J.M., Bajer, A., 2018. Bartonella infections in three species of *Microtus*: prevalence and genetic

- diversity, vertical transmission and the effect of concurrent *Babesia microti* infection on its success. *Parasit. Vectors* 11, 491. <https://doi.org/10.1186/s13071-018-3047-6>
- Tołkacz, K., Bednarska, M., Alsarraf, M., Dwużnik, D., Grzybek, M., Welc-Falęciak, R., Behnke, J.M., Bajer, A., 2017. Prevalence, genetic identity and vertical transmission of *Babesia microti* in three naturally infected species of vole, *Microtus* spp. (Cricetidae). *Parasites and Vectors* 10, 1–12. <https://doi.org/10.1186/s13071-017-2007-x>
- Tomczuk, K., Grzybek, M., Szczepaniak, K., Studzińska, M., Demkowska-Kutrzepa, M., Roczeń-Karczmarz, M., Abbass, Z.A., Kostro, K., Junkuszew, A., 2017. Factors affecting prevalence and abundance of *A.perfoliata* infections in horses from south-eastern Poland. *Vet. Parasitol.* 246, 19–24. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2017.08.027>
- Tomczuk, K., Grzybek, M., Szczepaniak, K., Studzińska, M., Demkowska-Kutrzepa, M., Roczeń-Karczmarz, M., Klockiewicz, M., 2015a. Analysis of intrinsic and extrinsic factors influencing the dynamics of bovine *Eimeria* spp. from central–eastern Poland. *Vet. Parasitol.* 214, 22–28. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2015.09.027>
- Tomczuk, K., Kostro, K., Grzybek, M., Szczepaniak, K., Studzińska, M., Demkowska-Kutrzepa, M., Roczeń-Karczmarz, M., 2015b. Seasonal changes of diagnostic potential in the detection of *Anoplocephala perfoliata* equine infections in the climate of Central Europe. *Parasitol. Res.* 114, 767–772. <https://doi.org/10.1007/s00436-014-4279-9>
- Tomczuk, K., Kostro, K., Szczepaniak, K., Grzybek, M., Studzińska, M., Demkowska-Kutrzepa, M., Roczeń-Karczmarz, M., 2014. Comparison of the sensitivity of coprological methods in detecting *Anoplocephala perfoliata* invasions. *Parasitol. Res.* 113, 2401–2406. <https://doi.org/10.1007/s00436-014-4214-0>
- Tomczuk, K., Studzińska, M., Szczepaniak, K., Grzybek, M., Demkowska-Kutrzepa, M., Roczeń-Karczmarz, M., Abbass, Z.A., Junkuszew, A., Bojar, W., 2017. Endoparasites in carrier and fancy pigeons in south-western Poland. *Med. Weter.* 73, 731–735. <https://doi.org/10.21521/mw.5798>
- Tomczuk, Krzysztof, Szczepaniak, K., Grzybek, M., Studzińska, M., Demkowska-Kutrzepa, M., Roczeń-Karczmarz, M., Lopuszynski, W., Junkuszew, A., Gruszecki, T., Dudko, P., Bojar, W., 2017. Internal parasites in roe deer of the Lubartow Forest Division in postmortem studies. *Med. Weter. Med. Pract.* 73, 726–730. <https://doi.org/10.21521/mw.5799>
- Tonteri, E., Jääskeläinen, A.E., Tikkakoski, T., Voutilainen, L., Niemimaa, J., Henttonen, H., Vaheri, A., Vapalahti, O., 2011. Tick-borne encephalitis virus in wild rodents in winter, Finland, 2008-2009. *Emerg. Infect. Dis.* 17, 72–75. <https://doi.org/10.3201/eid1701.100051>
- Tonteri, E., Kipar, A., Voutilainen, L., Vene, S., Vaheri, A., Vapalahti, O., Lundkvist, Å., 2013. The three subtypes of tick-borne encephalitis virus induce encephalitis in a natural host, the bank vole (*Myodes glareolus*). *PLoS One* 8, e81214. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0081214>

- Vapalahti, O., Mustonen, J., Lundkvist, A., Henttonen, H., Plyusnin, A., Vaheri, A., 2003. Hantavirus infections in Europe. *Lancet. Infect. Dis.* 3, 653–61.
- Verhagen, R., Leirs, H., Verheyen, W., 2000. Demography of *Clethrionomys glareolus* in Belgium. *Polish J. Ecol.* 48, 113–123.
- Watts, C.H.S., 1968. The Foods Eaten by Wood Mice (*Apodemus sylvaticus*) and Bank Voles (*Clethrionomys glareolus*) in Wytham Woods, Berkshire. *J. Anim. Ecol.* 37, 25.
<https://doi.org/10.2307/2709>
- Weidmann, M., Schmidt, P., Hufert, F.T., Krivanec, K., Meyer, H., 2006. Tick-borne encephalitis virus in *Clethrionomys glareolus* in the Czech Republic. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 6, 379–81. <https://doi.org/10.1089/vbz.2006.6.379>
- WHO, 2019. Zoonotic disease: emerging public health threats in the Region. Soixante-sixième session du Comité régional de l’OMS pour la Méditerranée orientale, Téhéran (République islamique d’Iran), 14-17 octobre 2019. Téhéran.
- Wilson, D.E., Reeder, D.M., 2005. *Mammal Species of the World. A Taxonomic and Geographic Reference* (3rd ed), Society. <https://doi.org/10.1644/06-MAMM-R-422.1>
- Wojas-Krawczyk, K., Krawczyk, P., Biernacka, B., Grzybek, M., Kołodziej, P., Kucharczyk, T., Mlak, R., Milanowski, J., 2012. The polymorphism of the CHRNA5 gene and the strength of nicotine addiction in lung cancer and COPD patients. *Eur. J. Cancer Prev.* <https://doi.org/10.1097/CEJ.0b013e32834c9b40>
- Wood, A.E., 1955. A Revised Classification of the Rodents. *J. Mammal.* <https://doi.org/10.2307/1375874>
- Woolhouse, M.E.J., Gowtage-Sequeria, S., 2005. Host range and emerging and reemerging pathogens. *Emerg. Infect. Dis.* <https://doi.org/10.3201/eid1112.050997>
- Zabicka, J., 1996. Epidemiology of tick-borne encephalitis in Poland. *Rocz. Akad. Med. Białymst.* 41, 20–7.
- Zaborowski, T., Wojas-Krawczyk, K., Krawczyk, P., Jankowska, O., Siwiec, J., Kucharczyk, T., Grzybek, M., Milanowski, J., 2011. The Effect of CD14 and TLR4 Gene Polymorphisms on the Occurrence of Atopic and Non-Atopic Asthma. *Adv. Clin. Exp. Med.* 20, 413.
- Zajkowska, J., Moniuszko, A., Czupryna, P., Drozdowski, W., Krupa, W., Guziejko, K., Kondrusik, M., Grygorczuk, S., Pancewicz, S., 2013. Chorea and tick-borne encephalitis, Poland. *Emerg. Infect. Dis.* <https://doi.org/10.3201/eid1909.130804>
- Zöldi, V., Papp, T., Reiczigel, J.J., Egyed, L., 2015. Bank voles show high seropositivity rates in a natural TBEV focus in Hungary. *Infect. Dis. (Auckl).* 47, 178–181.
<https://doi.org/10.3109/00365548.2014.975743>

5. INFORMACJA O WYKAZYWANIU SIĘ ISTOTNĄ AKTYWNOŚCIĄ NAUKOWĄ ALBO ARTYSTYCZNĄ, REALIZOWANĄ W WIĘCEJ NIŻ JEDNEJ UCZELNI, INSTYTUCJI NAUKOWEJ LUB INSTYTUCJI KULTURY, W SZCZEGÓLNOŚCI ZAGRANICZNEJ

a. Działalność naukowo-badawcza przed uzyskaniem stopnia doktora

Swoją działalność naukową rozpocząłem po ukończeniu 3-letnich studiów licencjackich na University of Nottingham, Wlk. Brytania (2009 r.), uczestnicząc jako wolontariusz w pracach badawczych prowadzonych przez Pracownię Immunologii i Genetyki, Katedry i Kliniki Pneumonologii, Onkologii i Alergologii Uniwersytetu Medycznego w Lublinie. W trakcie rocznego wolontariatu brałem udział w badaniach dotyczących wpływu polimorfizmu genu receptora acetyloholinowego (*CHRNA5*) na uzależnienie od nikotyny. W ich wyniku dowiedziono po raz pierwszy, że zmiany w jego obrębie mogą predysponować do uzależnienia od nikotyny, co wzbogaciło wiedzę o fizjologii uzależnień (Wojas-Krawczyk et al., 2012). Współpraca z Pracownią Immunologii i Genetyki umożliwiła mi także udział w badaniach nad wpływem polimorfizmu genów TLR4 i CD14 na występowanie atopowej i nieatopowej astmy. Wykazano, że obie formy astmy różnią się etiologią na poziomie molekularnym oraz, że ekspozycja na endotoksyny u pacjentów z charakterystycznymi polimorfizmami genów dla receptorów LPS może przeciwdziałać rozwojowi astmy atopowej (Zaborowski et al., 2011).

We wrześniu 2010 r. rozpocząłem studia magisterskie na University of Nottingham, Wlk. Brytania. W ich toku, w ramach międzynarodowego projektu badawczego „*PolVole – biomonitoring of Polish bank voles*”, mającego na celu długoterminową ocenę czynników ekologicznych wpływających na parazytofaunę nornicy rudej, brałem udział zarówno w badaniach terenowych, jak i laboratoryjnych. Projekt ten, rozpoczęty w 1999 r. przez prof. Jerzego M. Behnke z University of Nottingham, jest najdłużej prowadzonym biomonitorem gryzoni i przenoszonych przez nie chorobotwórczych patogenów w centralno-wschodniej Europie. Studia pod opieką prof. J.M. Behnke wzbogaciły moje umiejętności o: techniki odłowu gryzoni, wykonywanie ich sekcji parazytologicznej, gatunkową identyfikację pasożytów, konserwację materiału badawczego, techniki mikroskopowe i statystyczną analizę uzyskanych wyników. W ramach współpracy z Cardiff University odbyłem również krótki staż badawczy w School of Biosciences, gdzie pod kierunkiem dr Sarah Perkins prowadziłem badania taksonomiczne helmintów występujących u gryzoni i brałem udział w statystycznym opracowaniu otrzymanych wyników. Podczas tego stażu nawiązałem cenne kontakty naukowe, które owocują do dziś. W 2011 r. zostałem członkiem British Society for Parasitology (BSP), co umożliwiło mi przedstawienie wstępnych wyników mojej pracy magisterskiej na międzynarodowej konferencji BSP Annual Spring Meeting (Grzybek et al., 2011).

W 2011 r. obroniłem pracę magisterską i uzyskałem tytuł magistra z parazytologii z najwyższym wyróżnieniem (MRes in Parasitology with Distinction), które otrzymuje jedynie 5% studentów University of Nottingham. Jej wyniki były podsumowaniem 11 lat badań nad wpływem czynników wewnętrznych (wiek żywiciela, płeć żywiciela) i zewnętrznych (czas badania i miejsce badania) na helmintofaunę nornicy rudej, prowadzonych w ramach

wspomnianego już projektu „*PolVole – biomonitoring of Polish bank voles*”. Wykazałem, że czas i środowisko bytowania odgrywają kluczową rolę w kształtowaniu dynamiki inwazji helmintów. Ponadto, cechy gospodarza (wiek i płeć) wpływają na intensywność i ekstensywność inwazji wybranych gatunków nicieni i tasiemców. Uzyskane wyniki, wzbogacające istniejącą wiedzę z zakresu ekologii pasożytów oraz czynników determinujących zarażenie pasożytami u nornicy, przedstawiłem jako pierwszy autor w publikacji (Grzybek et al., 2015a).

W latach 2011-2013 realizowałem dodatkowo, w trybie indywidualnym, program studiów magisterskich na Wydziale Biologii i Hodowli Zwierząt na Uniwersytecie Przyrodniczym w Lublinie, na kierunku biologia. Odbyłem wówczas miesięczny staż naukowy w Instytucie Genetyki i Hodowli Zwierząt PAN w Jastrzębcu, gdzie doskonałem swoje umiejętności w zakresie technik molekularnych. Odbycie stażu i nawiązanie kontaktów umożliwiło mi późniejszą współpracę z Zakładem Biologii Molekularnej IGHZ PAN i aplikowanie o grant badawczy.

Po ukończeniu studiów na Uniwersytecie w Nottingham, w 2012 r. rozpocząłem pracę jako asystent w Zakładzie Parazytologii i Chorób Inwazyjnych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie. Byłem tam zaangażowany w realizację prac prowadzonych w ramach czterech różnych zagadnień badawczych, których wiodącym tematem była analiza czynników mogących wpływać na struktury społeczności pasożytów o znaczeniu weterynaryjnym, co ugruntowało moje zainteresowanie parazytologią.

W ramach pierwszego z nich badano występowanie i dynamikę inwazji tasiemca końskiego *Anoplocephala perfoliata*. Monitoringiem objęto największą wówczas liczbę koni w Polsce i Europie wschodniej. Dowiedziono, że zarażenie *A. perfoliata* utrzymuje się na stabilnym poziomie w czasie. Na ekstensywność jego inwazji wpływał natomiast znacząco wiek żywiciela, z tendencją do częstszego zarażania starszych osobników. Na dynamikę zarażenia istotny wpływ miał również typ chowu koni i rodzaj pastwiska (Tomczuk et al., 2017). Badania miały ponadto ważny aspekt praktyczny. Otrzymane dane wskazują bowiem, że najkorzystniejszym okresem do wykrywania *A. perfoliata* u koni, jest pierwszy kwartał roku, co można traktować jako wytyczne dla lekarzy weterynarii (Tomczuk et al., 2015b, 2014).

Drugie zagadnienie badawcze obejmowało dynamikę inwazji pierwotniaków układu pokarmowego z rodzaju *Eimeria* spp. u krów. Analizowano wpływ czynników wewnętrznych (wiek gospodarza) i zewnętrznych (wielkość stada i system zarządzania) na zarażenie tym pasożytem cieląt z centralno-wschodniej Polski. Wykazano, że kokcydioza w tej grupie zwierząt jest poważnym problemem zdrowotnym, narastającym wraz z intensyfikacją chowu bydła. Wykryto osiem gatunków kokcydiów, wśród których dominowała wysoce patogenna *E. bovis*. Wykazano, że występowanie i przebieg inwazji kokcydiów zależały w dużej mierze od wieku zwierząt. Najbardziej dotknięte chorobą były cielęta w wieku od 3 do 13 miesięcy. Indywidualny system utrzymania cieląt zmniejszał ryzyko zarażenia kokcydiozą, które rosło wraz z wielkością stada (Tomczuk et al., 2015a). Otrzymane wyniki znacząco przyczyniły się do lepszego zrozumienia inwazji kokcydiozy u bydła i stanowią cenne źródło wiedzy dla lekarzy weterynarii i hodowców.

Zainteresowanie patogenicznymi pierwotniakami spowodowało, że kiedy w 2015 r. zostałem laureatem programu organizowanego przez Urząd Marszałkowski Województwa Lubelskiego „Stypendium naukowe dla doktorantów pracujących w ramach zespołów badawczych”, nawiązałem współpracę z lubelskim przedsiębiorstwem Vet Agro i włączyłem się w prowadzenie badań nad stworzeniem i produkcją szczepionki zapobiegającej psiej babeszjozie (Kostro et al., 2015). W Europie Środkowej i Wschodniej za większość przypadków tej odkleszczowej pasożytozy odpowiada pierwotniak z gatunku *Babesia canis*. U zarażonych nim psów występuje trombocytopenia o nasileniu łagodnym do ciężkiego, hiperfibrinogenemia, niedokrwistość nieregeneracyjna, hemoglobinuria, hemoliza i neutropenia. Projekt składał się z dwóch etapów, a ja uczestniczyłem jedynie w pierwszym z nich, którego celem było przeprowadzenie sekwencjonowania *de novo* całego genomu *B. canis* przy użyciu sekwencjonowania nowej generacji (NGS). We wrześniu 2015r. za uzyskane wyniki otrzymałem Nagrodę British Society for Parasitology Student Travel Award i przedstawiłem założenia projektu i jego wstępne wyniki na konferencji British Society for Parasitology w Londynie (Grzybek et al., 2015c). Zaprezentowałem tam sposób pobierania i przygotowania materiału do badań nad *B. canis*, metody identyfikacji molekularnej i hodowli aksenicznych tych pierwotniaków.

Trzecie i zarazem główne zagadnienie badawcze dotyczyło pasożytów nornicy rudej (*M. glareolus*) i było realizowane w Zakładzie Parazytologii i Chorób Inwazyjnych UP w Lublinie we współpracy z University of Nottingham oraz Zakładem Parazytologii Uniwersytetu Warszawskiego. Badania, rozpoczęte przeze mnie jeszcze w czasie studiów magisterskich w ramach projektu „*PolVole – biomonitoring of Polish bank voles*”, obejmowały filogenetykę owsików z rodzaju *Aspicularis* oraz wpływ laktacji i ciąży na zarażenie nornicy rudej nicieniami żołądkowo-jelitowymi (*Mastophorus* sp.). Dowiedziono, że owsiki z tego rodzaju występujące w populacji *M. glareolus* z północno-wschodniej Polski nie należą, jak dotychczas przyjmowano, do gatunku *A. tetraptera* lecz do *A. tjaninensis* (Behnke et al., 2015). Zaobserwowano, że ciężarne lub karmiące samice nornic rudych wykazywały większą intensywność zarażenia nicieniami z rodzaju *Mastophorus* spp., niż samce (Grzybek et al., 2014b). Obserwacje te były istotne dla istniejącego stanu wiedzy, gdyż pozostają w sprzeczności z dotychczasową hipotezą głoszącą, że u ssaków to właśnie samce są bardziej predysponowane do zarażenia pasożytami, co tłumaczone jest „hipotezą rozmiaru ciała i testosteronu”. Należy nadmienić, że w piśmiennictwie opisano dotychczas niewiele gatunków ssaków, u których samica jest bardziej podatna na inwazję pasożytniczą niż samce. Ponadto wykazano, że okres laktacji u nornic jest czynnikiem mogącym również wpływać na zwiększone zarażenie *M. muris*. W cyklu życiowym tego nicienia występują żywicieli pośredni, tj. żuk wiosenny (*Trypocoprpris vernalis*) i żuk leśny (*Anoplotrupes stercorosus*), które są koprofagami i zarażają się, spożywając odchody gryzoni zanieczyszczone jajami pasożyta. Ponieważ nornice w trakcie okresu laktacji wykazują zwiększone zapotrzebowanie energetyczne, a stawonogi stanowią bogate źródło białka, te żuki często padają łupem gryzoni. Gdy nornica zje zarażonego osobnika, dochodzi do zamknięcia cyklu rozwojowego *M. muris*. Dzięki uzyskanym wynikom, stanowiącym znaczący wkład do wiedzy z zakresu parazytologii, ponownie otrzymałem Nagrodę British Society for Parasitology Student Travel Award (2014 r.). Ponadto przedstawiłem je na British Society for Parasitology 52nd Annual Spring Meeting na University of Cambridge (Grzybek et al., 2014a).

W sierpniu 2014 r., jako główny wykonawca projektu „*PolVole – biomonitoring of Polish bank voles*”, uczestniczyłem w badaniach terenowych w północno wschodniej Polsce, w trakcie których zebrałem materiał do dalszych badań nad ekologią pasożytów nornicy rudej. W listopadzie 2015 r., na zaproszenie prof. Celi V. Holland, konsultanta WHO ds. parazytologii, wygłosiłem wykład w School of Life Sciences na Trinity College of Dublin. Przedstawiłem tam najnowsze wyniki prowadzonego monitoringu, dotyczące wpływu czynników wewnętrznych i zewnętrznych na struktury populacji helmintów nornicy. Pracując z prof. C.V. Holland udoskonaliłem swój warsztat naukowy w zakresie metod analizy statystycznej wyników i przygotowania manuskryptu do publikacji w czasopiśmie naukowym.

W ramach czwartego zagadnienia badawczego, realizowanego w Zakładzie Parazytologii i Chorób Inwazyjnych UP w Lublinie, badałem wpływ ekstraktów z pestek dyni (*Cucurbita pepo* L.) na inwazje nicieni żołądkowo-jelitowych (2013-2016). Projekt obejmował badania biochemiczne i doświadczenia *in vitro* oraz *in vivo* na modelu mysim. Po raz pierwszy w ww. ekstraktach wykryto obecność berberyny i palmatyny, co podważyło dotychczasowe hipotezy wskazujące na kukurbitynę i kukurbitacynę, jako jedyne substancje czynne w pestkach dyni. Poszerzyło to znacznie wiedzę o mechanizmach przeciwpasożytniczego działania pestek tej rośliny, od dawna stosowanej w terapii przeciw helmintom. Odkrycie to miało również znaczenie praktyczne, jako że w przyszłości może być podstawą do wytworzenia suplementu diety lub paraleku zwalczającego helminty u ludzi i zwierząt (Grzybek et al., 2016b). Ww. badania były przedmiotem mojej pracy doktorskiej.

W ramach ich kontynuacji przeanalizowano następnie dokładny skład ekstraktów, używając spektroskopii ATR-FITR. Ekstrakt etanolowy z nasion *C. pepo* różnił się od innych (ekstraktu ciepłowodnego i zimnowodnego) tym, że oprócz estrów zawierał wolne kwasy tłuszczowe, które mogłyby wpływać na jego aktywność farmakologiczną. Badania te przyczyniły się do dokładnego ilościowego i jakościowego poznania ekstraktów z pestek dyni i zostały opublikowane we współpracy z Uniwersytetem Medycznym w Lublinie (Kukula-Koch et al., 2018).

Aby prowadzić zaawansowane badania parazytologiczne, niezbędny jest również zaawansowany warsztat do badań molekularnych. Dlatego skierowałem swe zainteresowania w tym kierunku. Rezultatem były badania z zakresu epigenetyki komórek macierzystych. W 2013 r. byłem laureatem konkursu NCN PRELUDIUM 2012/07/N/NZ9/02060 i zostałem zatrudniony w Instytucie Genetyki i Hodowli Zwierząt Polskiej Akademii Nauk w Jastrzębcu, na stanowisku kierownika pozyskanego przeze mnie projektu pt. „*Identyfikacja nowych regionów metylacji DMRs w wybranych genach świni przy użyciu analizy metylomu (MeDIP) oraz sekwencjonowania nowej generacji (NGS) w celu poprawy wydajności transferu somatycznego jąder komórkowych (SCNT)*”. Mając na uwadze wykorzystanie świń w badaniach biomedycznych, analizowałem poziom metylacji kluczowych genów odpowiedzialnych za prawidłowy rozwój embrionalny u świń, identyfikując nowe regiony metylacji, odpowiedzialne za wydajność klonalną mezenchymalnych komórek macierzystych (*Adipose Mezenchymal Stem Cells*, AMSC) do transferu somatycznego jąder komórkowych (*Somatic Cell Nuclear Transfer*, SCNT). Poszerzyło to wiedzę o metodach klonowania świni, jako modelu raka jelita grubego i trzustki dla potrzeb medycznych. Badania z wykorzystaniem genomowego sekwencjonowania metylacyjnego (Reduced Representation Bisulfate Sequencing, RRBS) przeprowadzono w Zakładzie Genetyki Medycznej

Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego. Komórki AMS klasyfikowano na podstawie wysokiej i niskiej wydajności do SCNT w dwu grupach: *high-efficiency somatic cell nuclear transfer* (HNT) oraz *low-efficiency somatic cell nuclear transfer* (LNT). Wykazano, że metylacja głównych genów ulegających imprintingowi nie odgrywa roli w wydajności klonalnej komórek AMSC, w stosunku do SCNT dokumentując, że do przyczyn niższej wydajności AMSC w stosunku do SCNT można zaliczyć utratę pluripotencji i zwiększenie metylacji dinukleotydów CpG, CHH i CHG w pobliżu miejsc startu transkrypcji genów odpowiedzialnych za różnicowanie i priming komórek macierzystych. Otrzymane wyniki są także ważne dla rozwoju inżynierii genetycznej, umożliwiając lepszy dobór komórek do klonowania przez SCNT. Badania te podsumowuje praca (Grzybek et al., 2017), dotycząca zmian epigenetycznych w programowaniu komórek macierzystych do modelowania chorób neurodegeneracyjnych, tak powszechnych w starzejących się społeczeństwach oraz doniesienie na międzynarodowej konferencji w Łodzi (Grzybek et al., 2016a).

b. Działalność naukowo-badawcza po uzyskaniu stopnia doktora

Po uzyskaniu stopnia doktora w 2016 r., kontynuowałem pracę badawczą na stanowisku adiunkta w Zakładzie Parazytologii i Chorób Inwazyjnych UP w Lublinie. W tym czasie realizowałem badania statutowe prowadzone w Zakładzie oraz własny projekt, dotowany przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego w ramach działań dla młodych naukowców (WCZ-MN12). Dotyczyły one inwazji pasożytów wewnętrznych u saren odstrzelonych podczas polowań w okolicach Lublina i wykazały wysoką ekstensywność oraz intensywność ich występowania w badanej grupie, przy czym najwyższe współczynniki inwazji obserwowano dla kokcydii z rodzaju *Eimeria* spp. (Krzysztof Tomczuk et al., 2017). Wyniki mogą być przydatne nie tylko dla lekarzy weterynarii, ale także dla myśliwych i pracowników administracji lasów, gdyż znajomość dobrostanu zwierzyny można przełożyć na poprawę jakości łowisk oraz sposobu zarządzania łowiskami i zasobami leśnymi.

Badano również ekstensywność i intensywność inwazji pasożytniczych u gołębi pocztowych oraz ozdobnych i odnotowano, że pasożyty występowały częściej w tej drugiej grupie (Tomczuk et al., 2017).

Doświadczenie zdobyte podczas realizacji pracy doktorskiej umożliwiło mi uczestnictwo w badaniu dotyczącym oceny skuteczności suplementacji diety olejkami uzyskanymi z lebidki pospolitej *Origanum vulgare* (Lamiaceae) i owoców cytrusowych *Citrus* spp. (Citraceae) w przypadku kokcydiozy owiec. Dietę ciężarnych zwierząt uzupełniono o ekstrakty roślinne z *O. vulgare* i *Citrus* spp., co spowodowało spadek zarówno intensywności i rozpowszechnienia zarażenia kokcydami w stadzie, jak również wpłynęło na wzrost masy jagniąt. Otrzymane wyniki mogą przyczynić się do poprawy opłacalności hodowli owiec poprzez zwiększenie wydajności produkcji i produkcję mięsa wyższej jakości (Dudko et al., 2018).

Od 2016 r. włączyłem się także w realizację badań zależności pomiędzy pasożytami owadów zapylających a ich żywicielami i nad niektórymi aspektami fizjologii pszczół *Apoidea*. Prace prowadzono w Katedrze Biologicznych Podstaw Produkcji Zwierzęcej Wydziału Biologii i Hodowli Zwierząt UP w Lublinie. W konsekwencji wzbogaciłem mój warsztat

badawczy o metody biochemiczne. Wykazano zależne od wieku zmiany biochemiczne jak również histologiczne w tkankach tłuszczowych oraz hemolimfie samców i samic murarki ogrodowej *Osmia rufa*. Globalny poziom metylacji DNA wzrastał wraz z wiekiem murarki i różnił się pomiędzy płciami. Wyniki wnoszą do istniejącej wiedzy nowe treści, pozwalające na lepsze zrozumienie ewolucji pszczół, co będzie użyteczne w ochronie i zarządzaniu samotnymi pszczołami, przynosząc korzyści środowisku naturalnemu i rolnictwu (Strachecka et al., 2017). Kolejne badania, już *stricte* parazytologiczne, dotyczyły wykrycia neogregaryny *Apicystis bombi*, pasożytniczych pierwotniaków z typu Apicomplexa, u pszczoły miodnej *Apis mellifera*. Przy pomocy diagnostyki molekularnej wykryto *A. bombi* w jednej z 10 badanych pasiek. *Apicystis bombi* były obecne w hemolimfie i przewodach pokarmowych, ale nie w ciałach tłuszczowych robotnic. Pszczoła miodna jest dziś przypadkowym żywicielem *A. bombi*, jednak poczynione obserwacje wskazują, że w przyszłości może stać się ona typowym żywicielem dla tych neogregaryn (Michał Schulz et al., 2019). Ponadto określono aktywność i stężenia związków, które mogą uczestniczyć w cyklu kwasu mlekowego u pszczół robotnic. Badano mięśnie, ciała tłuszczowe i hemolimfę z jedno- i 14-dniowych robotnic i zbieraczek, aby określić stężenia białka, mleczanu, glukozy, NAD⁺ i NADH oraz aktywności dehydrogenazy mleczanowej (LDH). Stężenie mleczanu i aktywność LDH w hemolimfie, mięśniach i ciałach tłuszczowych wzrastały wraz z wiekiem. Wyniki ww. prac wskazują, że podczas analizowania dynamiki lotu, masy transportowanego ładunku i zachowania się pszczół zbieraczek warto uwzględniać zmiany stężeń/aktywności tych związków cyklu kwasu mlekowego (Strachecka et al., 2019).

Kolejne badania, tym razem z zakresu parazytologii pszczół, a szczególnie funkcjonowania ich systemów obronnych przeciw patogenom, dotyczyły wykorzystania piperyny jako suplementu diety pszczół. Pszczoły w grupie kontrolnej karmiono cukrem rozpuszczonym w wodzie, podczas gdy drugą grupę karmiono syropem cukrowym (1:1) uzupełnionym piperyną (3 µg / mL) *ad libitum*. W obu grupach oceniano stężenie białek i aktywność enzymów przeciwutleniających oraz poziom metylacji DNA. Po 10 dniach całkowity poziom zdolności przeciwutleniającej był znacznie wyższy w hemolimfie pszczół dokarmianych piperyną. Piperyna znacznie obniżyła poziomy metylacji DNA u starszych pszczół. Wykazano zatem, że związek ten może być naturalnym suplementem diety zwiększającym odporność pszczół na czynniki stresowe (M. Schulz et al., 2019).

W grudniu 2017 r. zostałem zatrudniony na stanowisku adiunkta w Zakładzie Parazytologii Tropikalnej Wydziału Nauk o Zdrowiu z Oddziałem Pielęgniarstwa i Instytutem Medycyny Morskiej i Tropikalnej (obecnie WNoZ z IMMiT) Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego, gdzie włączyłem się w realizację badań statutowych „Wybrane aspekty epidemiologii chorób transmisyjnych i pasożytów człowieka”.

Kontynuowałem ponadto główny temat moich badań dotyczących relacji żywiciel – pasożyt i parazytofauny gryzoni. W lutym 2018 r. odbyłem wyjazd naukowy do Finlandii, gdzie w Department of Virology, Helsinki University badałem seroprewelencję zoonotycznych wirusów u nornicy rudej. Wyjazd zaowocował dalszą współpracą, a otrzymane wyniki stanowią część przedstawionego do oceny osiągnięcia naukowego, omówionego w pierwszej części Autoreferatu.

W 2018 r., jako główny wykonawca i kierownik badań terenowych, kontynuowałam projekt „*PolVole – biomonitoring of Polish bank voles*”, prowadząc badania terenowe

w północno-wschodniej Polsce, podczas których zebrałem materiał biologiczny do dalszych badań laboratoryjnych.

W styczniu 2020 r. otrzymałem promesę finansowania międzynarodowego projektu w ramach konkursu BiodivERsA pt: „Managing biodiversity in forests and urban green spaces: Dilution and amplification effects on rodent microbiomes and rodent-borne diseases”, którego polską częścią będę kierował. Konsorcjum składa się z partnerów pochodzących z Francji, Niemiec, Irlandii, Belgii. Odławiając gryzonie i prowadząc kompleksowe badania czynników odzwierzęcych i mikrobiomu, zostanie utworzona aktualna, otwarta baza danych oraz mapy występowania patogenów przenoszonych przez gryzonie żyjące w środkowo-zachodniej Europie. Założeniem projektu jest dostarczenie dowodu na to, że wspólne strategie między programami zdrowia publicznego i ochrony przyrody mogą pomóc w zapobieganiu występowania i szerzenia się patogenów odzwierzęcych. Kierowana przeze mnie część projektu otrzymała finansowanie w wysokości 933 848 zł, a łączna suma projektu to 1 123 930 Euro.

W styczniu 2020 roku zostałem laureatem w Programie im. Bekkera Narodowej Agencji Wymiany Akademickiej co umożliwi mi odbycie 4 miesięcznego stażu podoktorskiego w Department of Virology, Helsinki University i realizację projektu pt:” Bank voles (*Myodes glareolus*) as reservoirs of zoonotic viruses - analysis of viremia and genetic diversity”. Projekt ma na celu: a) analizę poziomów wirerii TBEV, LCMV, CPXV i PUUV u nornic rudych; b) analizę ekologicznych czynników wewnętrznych i zewnętrznych, które mogą wpływać na wiramię; c) określenie historii ewolucyjnej i rozprzestrzeniania się wirusów za pomocą analizy filogenetycznej. Identyfikacja gatunków gryzoni, które mogą służyć jako rezerwuary chorób odzwierzęcych i przewidywanie regionów ognisk zarażeń, to kluczowe kroki w zapobieganiu chorobom odzwierzęcym.

6. INFORMACJA O OSIĄGNIĘCIACH DYDAKTYCZNYCH, ORGANIZACYJNYCH ORAZ POPULARYZUJĄCYCH NAUKĘ LUB SZTUKĘ

A) Międzynarodowe i krajowe nagrody za działalność naukową albo artystyczną

- 12.2019 Nagroda Zespołowa naukowa II stopnia Rektora GUMed
- 10.2016 Stypendium MNiSW dla młodych wybitnych naukowców
- 09. 2015 Nagroda British Society for Parasitology Student Travel Award
- 07. 2015 Stypendium doktoranckie dla 10 najlepszych doktorantów Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie
- 02. 2015 Stypendium naukowe dla doktorantów, pracujących w ramach zespołów badawczych – Urząd Marszałkowski Województwa Lubelskiego w Lublinie
- 04. 2014 Nagroda British Society for Parasitology Student Travel Award

B) Pozostała współpraca z naukowcami z innych ośrodków

Uniwersytet Warszawski – Wydział Biologii – Prof. dr hab. Anna Bajer

Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu – Wydział Biologii – prof. dr hab. Jacek Radwan

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu – Wydział Leśny – dr hab. Jolanta Behnke-Borowczyk

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie – Wydział Medycyny Weterynaryjnej – prof. dr hab. Krzysztof Tomczuk

C) Opieka naukowa nad studentami i lekarzami w toku specjalizacji

Opiekun Studenckiego Koła Naukowego Parazytologii i Medycyny Tropikalnej – od 11.2019

D) Opieka naukowa nad doktorantami w charakterze opiekuna naukowego lub promotora pomocniczego

1. Promotor pomocniczy w przewodzie doktorskim mgr Michała Schulza; temat roboczy pracy doktorskiej: „Wpływ pasożyta *Nosema ceranae* na biochemiczne mechanizmy odporności oraz zmiany morfologiczne w kluczowych tkankach matek pszczoły miodnej”. Wszczęcie przewodu doktorskiego dnia 25.04.2019 uchwałą Rady Wydziału Biologii, Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie.

E) Działalność organizacyjna

17 lutego 2020 zostałem powołany do pełnienia funkcji Pełnomocnika Rektora GUMed ds. Opracowania Strategii Rozwoju Instytutu Medycyny Morskiej i Tropikalnej i Uniwersyteckiego Centrum Medycyny Morskiej i Tropikalnej.

Kierownik kursu „Diagnostyka parazytologiczna wybranych inwazji pasożytniczych” Gdynia 27.05.2019 – 31.05.2019 dla lekarzy i diagnostów laboratoryjnych.

Organizator i kierownik kursu „Biologia i znaczenie medyczne komarów” Gdynia 11.12.2018 - 13.12.2018 dla Centrum Reagowania Epidemiologicznego Sił Zbrojnych RP.

F) Działalność dydaktyczna

Od początku kariery naukowej uczestniczyłem w zajęciach dydaktycznych na Uniwersytecie Przyrodniczym w Lublinie i Gdańskim Uniwersytecie Medycznym w wymiarze pełnego etatu. Prowadziłem wykłady, ćwiczenia, zajęcia laboratoryjne, staże laboratoryjne oraz seminaria.

| | |
|-------------------------------------|--|
| Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie | Parazytologia i Inwazjologia Weterynaryjna – dla studentów kierunku medycyna weterynaryjna |
| | Parazytologia – dla studentów kierunku dietetyka |
| | Parasitology – dla studentów Programu Erasmus |
| | Genomika i proteomika – dla doktorantów Wydziału Medycyny Weterynaryjnej |
| Gdański Uniwersytet Medyczny | Mikrobiologia z parazytologią – dla studentów kierunku lekarskiego |
| | Parazytologia - dla studentów kierunku dietetyka |
| | Diagnostyka parazytologiczna – dla studentów kierunku analityka medyczna |
| | Microbiology with parasitology – dla studentów kierunku lekarskiego English Division |
| | Parasitology – dla studentów kierunku pielęgniarstwo English Division |
| | Parazytologia – dla studentów kierunku zdrowie środowiskowe |

7. Bibliografia

- Behnke, J.M., Stewart, A., Bajer A, Grzybek, M., Harris, P.D., Lowe, A., Ribas, A., Smales, L., Vandegrift, K.J., 2015. Bank voles (*Myodes glareolus*) and house mice (*Mus musculus musculus*; *M. m. domesticus*) in Europe are each parasitized by their own distinct species of *Aspiculuris* (Nematoda, Oxyurida). *Parasitology* 142, 1493–1505. <https://doi.org/10.1017/S0031182015000864>
- Dudko, P., Junkuszew, A., Bojar, W., Milerski, M., Szczepaniak, K., Le Scouarnec, J., Schmidová, J., Tomczuk, K., Grzybek, M., 2018. Effect of dietary supplementation with preparation comprising the blend of essential oil from *Origanum vulgare* (lamiaceae) and *Citrus* spp. (citraceae) on coccidia invasion and lamb growth. *Ital. J. Anim. Sci.* 17, 57–65. <https://doi.org/10.1080/1828051X.2017.1346965>
- Grzybek, M., Bajer, A., Alsarraf, M., Behnke, J.M., 2014a. Female host sex-biased parasitism with *Mastophorus muris* in wild bank voles (*Myodes glareolus*), in: British Society for Parasitology 52nd Annual Spring Meeting. Cambridge.
- Grzybek, M., Bajer, A., Bednarska, M., Al-Sarraf, M., Behnke-Borowczyk, J., Harris, P.D., Price, S.J., Brown, G.S., Osborne, S.-J., Siński, E., Behnke, J.M., 2015a. Long-term spatiotemporal stability and dynamic changes in helminth infracommunities of bank

- voles (*Myodes glareolus*) in NE Poland. *Parasitology* 142, 1722–1743.
<https://doi.org/10.1017/S0031182015001225>
- Grzybek, M., Bajer, A., Behnke-Borowczyk, J., Al-Sarraf, M., Behnke, J.M., 2014b. Female host sex-biased parasitism with the rodent stomach nematode *Mastophorus muris* in wild bank voles (*Myodes glareolus*). *Parasitol. Res.* 114, 523–533.
<https://doi.org/10.1007/s00436-014-4214-0>
- Grzybek, M., Bajer, A., Behnke, J.M., Harris, P., Siński, E., 2011. Analysis of the relative importance in long-term studies of the factors regulating the prevalence and abundance of the dominant nematode parasites of bank voles (*Myodes glareolus*) in N.E. Poland, in: *British Society for Parasitology Annual Spring Meeting 2011*. Nottingham.
- Grzybek, M., Flisikowski, K., Walczak, M., Gasperowicz, P., Ploski, R., Emes, R., Giles, T., Schnieke, A., Lisowski, P., 2016a. High and low SCNT efficiency swine AMSCs show differences in DNA methylation, in: *V Polski Kongres Genetyki*. Łódź.
- Grzybek, M., Golonko, A., Walczak, M., Lisowski, P., 2017. Epigenetics of cell fate reprogramming and its implications for neurological disorders modelling. *Neurobiol. Dis.* 99, 84–120. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2016.11.007>
- Grzybek, M., Kukula-Koch, W., Strachecka, A., Jaworska, A., Phiri, A., Paleolog, J., Tomczuk, K., 2016b. Evaluation of Anthelmintic Activity and Composition of Pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) Seed Extracts—In Vitro and in Vivo Studies. *Int. J. Mol. Sci.* 17, 1456. <https://doi.org/10.3390/ijms17091456>
- Grzybek, M., Stojcecki, K., Kostro, K., 2015b. De novo sequencing of *B. canis* genome as a first step in development of vaccine against canine babesiosis, in: *British Society for Parasitology Autumn Symposium*. London.
- Kostro, K., Stojcecki, K., Grzybek, M., Tomczuk, K., 2015. Characteristics, immunological events, and diagnostics of *Babesia* spp. infection, with emphasis on *Babesia canis*. *Bull. Vet. Inst. Pulawy* 59, 495–504. <https://doi.org/10.1515/bvip-2015-0074>
- Kukula-Koch, W., Grzybek, M., Strachecka, A., Jaworska, A., Ludwiczuk, A., 2018. ATR-FTIR-based fingerprinting of some Cucurbitaceae extracts: a preliminary study. *Acta Soc. Bot. Pol.* 87, 3579. <https://doi.org/10.5586/asbp.3579>
- Schulz, M., Łoś, A., Grzybek, M., Ścibior, R., Strachecka, A., 2019. Piperine as a new natural supplement with beneficial effects on the life-span and defence system of honeybees. *J. Agric. Sci.* 157, 140–149. <https://doi.org/10.1017/S0021859619000431>
- Schulz, Michał, Ścibior, R., Grzybek, M., Łoś, A., Paleolog, J., Strachecka, A., 2019. A New Case of Honeybee *Apis mellifera* Infection with Bumblebee Parasite *Apicystis bombi* (Apicomplexa: Neogregarinorida). *Comp. Parasitol.* 86, 65–67.
<https://doi.org/10.1654/1525-2647-86.1.65>
- Strachecka, A., Grzybek, M., Ptaszynska, A.A., Los, A., Chobotow, J., Rowinski, R., 2019. Comparison of Lactate Dehydrogenase Activity in Hive and Forager Honeybees May Indicate Delayed Onset Muscle Soreness – Preliminary Studies. *Biochem.* 84, 435–440.
<https://doi.org/10.1134/S0006297919040114>
- Strachecka, A., Hull, J.J., Chobotow, J., Paleolog, J., Łoś, A., Schulz, M., Teper, D., Kucharczyk, H., Grzybek, M., 2017. Insights into the biochemical defence and methylation of the solitary bee *Osmia rufa* L: A foundation for examining eusociality development. *PLoS One* 12, e0176539. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0176539>

- Tomczuk, K., Grzybek, M., Szczepaniak, K., Studzińska, M., Demkowska-Kutrzepa, M., Roczeń-Karczmarz, M., Abbass, Z.A., Kostro, K., Junkuszew, A., 2017. Factors affecting prevalence and abundance of *A.perfoliata* infections in horses from south-eastern Poland. *Vet. Parasitol.* 246, 19–24. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2017.08.027>
- Tomczuk, K., Grzybek, M., Szczepaniak, K., Studzińska, M., Demkowska-Kutrzepa, M., Roczeń-Karczmarz, M., Klockiewicz, M., 2015a. Analysis of intrinsic and extrinsic factors influencing the dynamics of bovine *Eimeria* spp. from central–eastern Poland. *Vet. Parasitol.* 214, 22–28. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2015.09.027>
- Tomczuk, K., Kostro, K., Grzybek, M., Szczepaniak, K., Studzińska, M., Demkowska-Kutrzepa, M., Roczeń-Karczmarz, M., 2015b. Seasonal changes of diagnostic potential in the detection of *Anoplocephala perfoliata* equine infections in the climate of Central Europe. *Parasitol. Res.* 114, 767–772. <https://doi.org/10.1007/s00436-014-4279-9>
- Tomczuk, K., Kostro, K., Szczepaniak, K., Grzybek, M., Studzińska, M., Demkowska-Kutrzepa, M., Roczeń-Karczmarz, M., 2014. Comparison of the sensitivity of coprological methods in detecting *Anoplocephala perfoliata* invasions. *Parasitol. Res.* 113, 2401–2406. <https://doi.org/10.1007/s00436-014-4214-0>
- Tomczuk, K., Studzińska, M., Szczepaniak, K., Grzybek, M., Demkowska-Kutrzepa, M., Roczeń-Karczmarz, M., Abbass, Z.A., Junkuszew, A., Bojar, W., 2017. Endoparasites in carrier and fancy pigeons in south-western Poland. *Med. Weter.* 73, 731–735. <https://doi.org/10.21521/mw.5798>
- Tomczuk, Krzysztof, Szczepaniak, K., Grzybek, M., Studzińska, M., Demkowska-Kutrzepa, M., Roczeń-Karczmarz, M., Lopuszynski, W., Junkuszew, A., Gruszecki, T., Dudko, P., Bojar, W., 2017. Internal parasites in roe deer of the Lubartow Forest Division in postmortem studies. *Med. Weter. Med. Pract.* 73, 726–730. <https://doi.org/10.21521/mw.5799>
- Wojas-Krawczyk, K., Krawczyk, P., Biernacka, B., Grzybek, M., Kołodziej, P., Kucharczyk, T., Mlak, R., Milanowski, J., 2012. The polymorphism of the *CHRNA5* gene and the strength of nicotine addiction in lung cancer and COPD patients. *Eur. J. Cancer Prev.* <https://doi.org/10.1097/CEJ.0b013e32834c9b40>
- Zaborowski, T., Wojas-Krawczyk, K., Krawczyk, P., Jankowska, O., Siwiec, J., Kucharczyk, T., Grzybek, M., Milanowski, J., 2011. The Effect of *CD14* and *TLR4* Gene Polymorphisms on the Occurrence of Atopic and Non-Atopic Asthma. *Adv. Clin. Exp. Med.* 20, 413.