

## Występowanie *Borrelia burgdorferi* s.l. w wybranych populacjach kleszczy *Ixodes ricinus* na terenie Nadbużańskiego Parku Krajobrazowego

### Occurrence of *Borrelia burgdorferi* s.l. in selected *Ixodes ricinus* populations within Nadbużański Landscape Park

Tomasz Komoń<sup>1</sup> i Hubert Sytykiewicz<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin, Oddział Naukowy w Młochowie, ul. Platanowa 19, 05-831 Młochów; E-mail: t.komon@ihar.edu.pl

<sup>2</sup>Katedra Biochemii i Biologii Molekularnej, Akademia Podlaska, ul. B. Prusa 12, 08-110 Siedlce

Adres do korespondencji: Tomasz Komoń, Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin, Oddział Naukowy w Młochowie, ul. Platanowa 19, 05-831 Młochów; E-mail: t.komon@ihar.edu.pl

**ABSTRACT. Background.** The aim of this study was to determine the prevalence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in *Ixodes ricinus* ticks within Nadbużański Landscape Park (central-eastern Mazovian province, Poland). **Material and methods.** A total of 685 of ticks (187 adults, 393 nymphs and 105 larvae) were collected in the surroundings of seven places: Korczew, Sterdyń, Ceranów, Miedza, Stoczek, Sadowne, Łochów. **Results.** The spirochetes DNA was detected by polymerase chain reaction (PCR) in 60 samples of DNA (8.8%) of the total number of tested ticks (taking into consideration minimal infection rate in pool by 5 nymphs or larvae). The infection rate in females, males, nymphs and larvae was 18.8%, 13.8%, 6.1% and 3.8%, respectively. The highest percentage of spirochete infection (14.1%) was detected in ticks occurring within the Łochów, while the lowest (2.7%) from Stoczek.

**Key words:** *Borrelia burgdorferi* sensu lato, *Ixodes ricinus*, PCR.

#### Wstęp

Jedną z najważniejszych chorób przenoszonych przez kleszcze jest borelioza (choroba z Lyme), przewlekła infekcja bakteryjna o złożonej patologii, w przebiegu której dochodzi do zajęcia procesem chorobowym skóry i/lub wielu organów oraz układów narządów wewnętrznych. Czynnikiem etiologicznym tej jednostki chorobowej jest krętek *Borrelia burgdorferi* sensu lato, spiralnie skręcona, Gram-ujemna bakteria o długości 20-30  $\mu\text{m}$  oraz szerokości 0,2-0,5  $\mu\text{m}$  z peryplazmatycznymi wiciami, na-

leżąca do rodziny *Spirochaetaceae*. W Polsce głównym wektorem tej bakterii są wszystkie stadia rozwojowe, tj. larwy, nimfy, samce i samice kleszcza pospolitego *Ixodes ricinus* (L.), natomiast rezerwuar krętka stanowią zwierzęta wolno żyjące, szczególnie drobne gryzonie [1].

Kleszcz pospolity występuje w całym kraju, głównie na terenach wilgotnych lasów mieszanych i liściastych oraz na ich obrzeżach, łąkach śródleśnych, pastwiskach, na rozrośniętej trawie i krzewach. Największe skupiska osobników głodnych znajdują się w miejscach gdzie prawdopodobieństwo spotkania żywiciela-krę-

gowca jest najwyższe; są to przeważnie szlaki częstego przechodzenia zwierząt, trawiaste i zakrzewione drogi, ścieżki oraz przecinki leśne oraz ich pobrzeża [2].

Obecnie na świecie, a także w kraju, w ciągu kilku ostatnich lat obserwuje się narastający problem zdrowotny i epidemiologiczny, jakim jest choroba z Lyme. Wzrost zachorowań jest skorelowany bezpośrednio ze zwiększającą się liczebnością kleszcza pospolitego, na którą poza zmianami klimatycznymi (wzrost średnich temperatur) wpływa szereg czynników antropogenicznych. Człowiek zmieniając środowisko (np. zalesiając nieuprawne tereny rolnicze, osuszając bagna), stwarza dogodne warunki dla nasilania się inwazji *I. ricinus*. Rekonstrukcje zwierząt (np. żubrów w Białowieskim Parku Narodowym) zwiększają rezerwuar *B. burgdorferi* sensu lato oraz umożliwiają przetrwanie kleszczy. Ponadto sama zmiana socjalno-bytowa wśród ludzi wpływa na wzrost zachorowań na boreliozę. Z jednej strony bogacenie się części społeczeństwa powoduje wzrost zainteresowania aktywnym wypoczynkiem na obszarach atrakcyjnych przyrodniczo, z drugiej natomiast pogłębiające się bezrobocie sprawia, że nasila się zarobkowanie dorywcze w postaci zbierania owoców runa leśnego. Zachorowania wśród ludzi są jednak tylko fragmentarycznym obrazem tego co się dzieje w ekosystemach, ponieważ człowiek zakażony jest przypadkowo i nie bierze udziału w naturalnym krążeniu *B. burgdorferi* sensu lato [3–5]. Uzasadniona jest więc kompleksowa ocena stopnia występowania *B. burgdorferi* sensu lato w populacjach *I. ricinus* oraz środowiskowych uwarunkowań pojawiania się boreliozy na określonych terenach. W związku z tym w wielu ośrodkach naukowych prowadzone są badania nad rozprzestrzenianiem się oraz liczebnością kleszcza pospolitego, a także stopniem ich zakażenia przez krętki [6–10].

Celem przedstawionej pracy była ocena występowania *B. burgdorferi* sensu lato w wybranych populacjach kleszcza pospolitego na terenie Nadbużańskiego Parku Krajobrazowego, który stanowi jeden z najcenniejszych terenów

przyrodniczych i turystycznych Podlasia oraz części Mazowsza.

### **Materiał i metody**

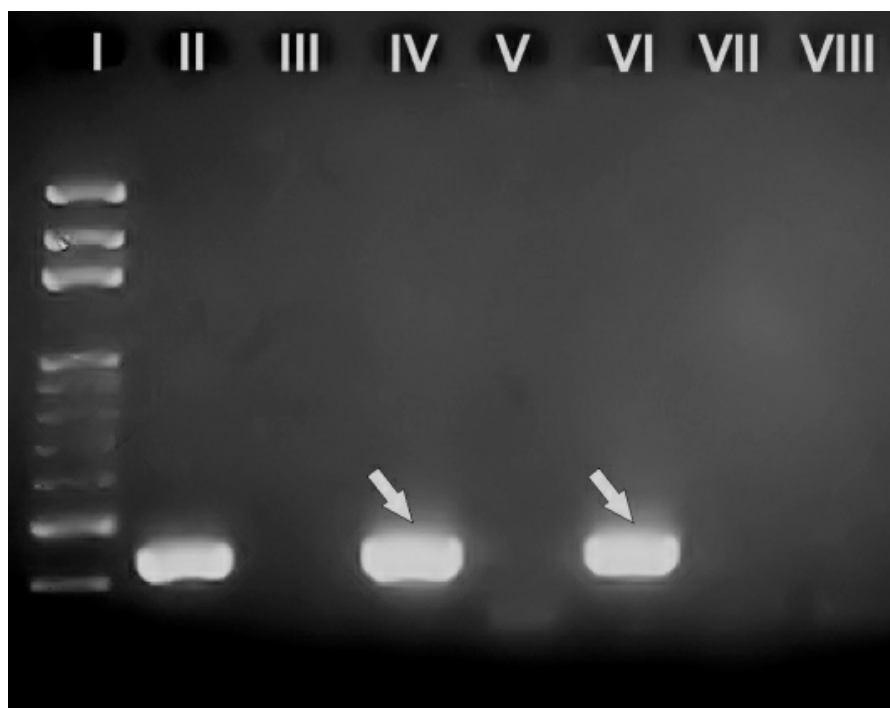
Obszar badań obejmował Nadbużański Park Krajobrazowy, który położony jest w środkowo-wschodniej części województwa mazowieckiego. Odłowu kleszczy dokonano w pobliżu następujących miejscowości: Karczew, Sterdyń, Ceranów, Miedza, Stoczek, Sadowne, Łochów. Są to tereny atrakcyjne pod względem przyrodniczym, w lasach liściastych i mieszanych, w miejscach często odwiedzanych w celach rekreacyjno-turystycznych oraz zawodowych, gdzie kontakt między kleszczami a ludźmi jest wysoce prawdopodobny.

Osobniki kleszcza pospolitego odławiano z wybranych stanowisk na przełomie lipca i sierpnia 2005 roku metodą flagowania poprzez omiatanie krzewów, traw oraz poszycia leśnego białą flanelową flagą o wymiarach 100×50 cm. Osobniki dorosłe, nimfy oraz larwy zbierano między godziną 9 a 16, przenoszono do szklanych pojemników zawierających 70% alkohol etylowy i przechowywano do dalszych analiz laboratoryjnych.

Do wykrywania krętków *B. burgdorferi* sensu lato w zebranych kleszczach zastosowano reakcję łańcuchową polimerazy (PCR, ang. polymerase chain reaction).

Izolacji DNA genomowego z odłowionych osobników *I. ricinus* dokonano, stosując zestaw QIAamp® DNA Mini Kit (Qiagen GmbH, Niemcy) zgodnie z protokołem producenta. Samce i samice analizowano pojedynczo, natomiast nimfy i larwy w pulach po 5 osobników.

Amplifikację DNA analizowanych krętków przeprowadzono, stosując zestaw PCR Borrelia firmy DNA Gdańsk II. Użyto primerów komplementarnych do wysoce konserwatywnej sekwencji fragmentu genu *fla* w genomowym DNA *B. burgdorferi* sensu lato. Gen ten jest odpowiedzialny za kodowanie białka wici bakterii, tzw. flageliny. Mieszanina reakcyjna dla jednej próbki składała się z: 20 mm<sup>3</sup> roztworu Master mix (primery, woda dejonizowana, chlorek magnezu (MgCl<sub>2</sub>), 2,5 mm<sup>3</sup> 8 mM mieszaniny



Rys. 1. Elektroferogram produktów amplifikacji DNA izolowanego z badanych kleszczy: I — marker ciężaru cząsteczkowego DNA, II — kontrola pozytywna, III — kontrola negatywna, IV–VIII — próby badane. Strzałkami oznaczono położenie prążków DNA stanowiących amplicony genu *fla* (442pz) potwierdzające występowanie *B. burgdorferi* sensu lato w analizowanych kleszczach

Fig. 1. Electropherogram of DNA amplification products isolated from ticks: I — DNA molecular weight marker, II — positive control, III — negative control, IV–VIII — tested samples. The position of gene *fla* amplicons (442 bp) confirming the occurrence of *B. burgdorferi* sensu lato in analysed samples were marked by white arrows

deoksyrybonukleotydów (dNTPs), 0,5 mm<sup>3</sup> termostabilnej polimerazy Delta 2, 2,0 mm<sup>3</sup> DNA wyizolowanego z kleszczy. Dla każdej serii przeprowadzanych amplifikacji wykonano kontrolę pozytywną z DNA *B. burgdorferi* sensu lato (DNA Gdańsk II) oraz negatywną, którą stanowiła sterylna woda dejonizowana. Reakcję prowadzono w termocyklerze Hot Shot 12 (DNA Gdańsk II) w warunkach, które obejmowały denaturację wstępną — 120 s, 93°C; 40 cykli: denaturacji właściwej — 30 s, 93°C, przyłączenia primerów — 60 s, 52°C i elongacji primerów — 60 s, 72°C oraz wydłużanie końcowe — 60 s, 72°C.

Rozdział elektroforetyczny produktów amplifikacji DNA przeprowadzano w 2% żelu agarozowym z bromkiem etydyny. Wzorzec mas cząsteczkowych stanowił marker wielkości DNA Molecular Weight Marker 100 bp Ladder (Amresco, USA). Wynik rozdzielania elektroforetycznego odczytywano na transiluminatorze

UV oraz fotografowano. Za wynik dodatni uznawano prążki o długości 442 pz (Rys. 1).

## Wyniki

Na terenie Nadbużańskiego Parku Krajobrazowego odłowiono ogółem 685 kleszczy *I. ricinus*. Wśród zebranych kleszczy dominującym stadium rozwojowym były nimfy — 393 osobniki (57,5%). Najmniejszy udział procentowy w populacji stanowiły samce — 9,5%. Liczba zebranych larw (105) i samic (122) była zbliżona do siebie, co odpowiednio stanowi 15,2% oraz 17,8% badanej populacji.

Krętki *B. burgdorferi* sensu lato na obszarze Nadbużańskiego Parku Krajobrazowego wykryto w 60 próbach DNA *I. ricinus*, co stanowi 8,8% wszystkich pobranych prób z uwzględnieniem minimalnego wskaźnika zakażenia w puli dla 5 nimf lub larw. W analizowanej populacji kleszczy w odniesieniu do poszczególnych sta-

Tabela 1. Zakażenie różnych stadiów rozwojowych *Ixodes ricinus* krętkami *B. burgdorferi* sensu lato  
 Table 1. Infection rates of *Ixodes ricinus* different developmental stages with *Borrelia burgdorferi* sensu lato

Stadium rozwojowe Development stage	Liczba kleszczy zebranych Numer of collected ticks	Liczba kleszczy zakażonych Numer of infected ticks	Prewalencja (%) Prevalence (%)
Samice Females	122	23	18,8
Samce Males	65	9	13,8
Nimfy Nymphs	393	24 <sup>1</sup>	6,1 <sup>2</sup>
Larwy Larvae	105	4 <sup>1</sup>	3,8 <sup>2</sup>
Ogółem Total	685	60	8,8

<sup>1</sup>minimalna liczba osobników zakażonych w pulach po 5 osobników (minimal number of infected ticks)

<sup>2</sup>minimalny wskaźnik zakażenia w pulach po 5 osobników (minimum infected rate pooled by 5 specimens)

diów rozwojowych stwierdzono zróżnicowany poziom ekstensywności, który dla larw, nimf, samców i samic wyniósł odpowiednio 3,8%, 6,1%, 13,8% oraz 18,8%, przy czym wartości dla stadiów młodocianych wyrażone są przez minimalny wskaźnik zakażenia (w pulach po 5 kleszczy) obliczony według Kahla i wsp. [11] (Tabela 1).

Na wszystkich badanych obszarach wykryto DNA analizowanych krętków w odłowionych kleszczach. Najwięcej zakażonych osobników zebrano w okolicach Łochowa — 18 (14,1%), natomiast najmniej z leśnych terenów Stoczka — 2 (2,7%). Na pozostałych stanowiskach odsetek ten oscylował w granicach 6,7–8,2% (Tabela 2). W poszczególnych stadiach rozwojowych rozpatrywanej populacji *I. ricinus* stwierdzono duże różnice w zakażeniu krętkami *B. burgdorferi* sensu lato. Prewalencja u samic wahała się od 7,7% (Stoczek) do 23,5% (Miedzna). Pośród larw, nimf i samców najczęściej zakażonych osobników odnotowano na terenie Łochowa, odpowiednio 5,3%, 10,3% oraz 21,4%. Natomiast okolice Stoczka charakteryzowały się najniższym wskaźnikiem zakażenia nimf (2,1%) oraz brakiem występowania badanych bakterii w samcach i larwach. DNA krętków nie wykryto również w larwach z obszaru Sterdyni, Ceranowa i Karczewa (Rys 2).

## Dyskusja

W przedstawionej pracy wykorzystując reakcję PCR, DNA analizowanej bakterii wykryto we wszystkich badanych populacjach kleszcza pospolitego na terenie Nadbużańskiego Parku Krajobrazowego. Średni odsetek zakażonych osobników wyniósł 8,8%, przy czym na poszczególnych stanowiskach wahał się pomiędzy 2,7–14,1%. W badaniach prowadzonych tą samą metodą na obszarach leśnych Warszawy stwierdzono dużo wyższy stopień zakażenia *I. ricinus* krętkami, wynoszący 31,0% [12]. Humiczewska [9], badając pobrażone wybranych jezior Szczecina i okolic podała, że prewalencja krętków kleszcza oscyluje w granicach 26,4–29,6%. Jenek i Głazaczow [13] posługując się metodą PCR wykazali na terenie Wielkopolski bardzo wysoką ekstensywność kleszczy badaną bakterią na poziomie 24,5%. Nowosad i wsp. [14] podali, że w Poznaniu 22,6% populacji *I. ricinus* jest zakażona tymi krętkami. Na terenie powiatu tarnogórskiego prewalencja krętków wynosiła 16,5% [15]. W zacytowanej pracy został ponadto użyty identyczny jak w badaniach własnych zestaw PCR *Borrelia* firmy DNA Gdańsk II. W kleszczach zebranych na obszarze Trójmiasta i analizowanych metodą reakcji łańcuchowej polimerazy, DNA *B. burgdorferi* sensu lato wykryto u 12,4% osobników, najmniej-

Tabela 2. Częstość występowania *Borrelia burgdorferi* sensu lato w kleszczach *Ixodes ricinus* w poszczególnych obszarach badań na terenie Nadbużańskiego Parku KrajobrazowegoTable 2. Prevalence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in *Ixodes ricinus* ticks from particular collection sites of the Nadbużański Landscape Park

Obszar badań Collection sites	Liczba kleszczy odłowionych Numer of collected ticks	Liczba kleszczy zakażonych Numer of infected ticks	Prewalencja (%) Prevalence (%)
Łochów	127	18	14,1
Miedzna	111	12	12,1
Sterdyń	101	8	8,2
Sadowne	99	8	7,2
Ceranów	97	7	6,9
Korczew	75	5	6,7
Stoczek	75	2	2,7
Ogółem Total	685	60	8,8

szym stopniem ekstensywności zakażenia kleszczy charakteryzował się Sopot (5,1%), a największym Gdynia (13,7%) [10]. Cisak i wsp. [16] donoszą o 11,6% prewalencji na obszarze Roztoczańskiego Parku Narodowego. Z najnowszych prac na uwagę zasługują badania Hajdul i wsp. [17], którzy podają, że w biotopach leśnych okolic Warszawy ekstensywność zakażenia bakterią *B. burgdorferi* s.l. wśród kleszczy wynosiła 15,9% i waha się od 10,7% w pobliżu Kabat do 20,0% w Lasku Bielańskim. Stosując metodę PCR podobny rezultat (8,6%) do wyników przedstawionych w niniejszej pracy uzyskała Skotarczak [18] w badaniach na terenie Szczecina. Wodecka i Skotarczak [19] w północno-zachodniej Polsce wykryły analizowane krętki u 8,9% osobników *I. ricinus*, gdzie terenem o największej ekstensywności (17,0%) był Park Leśny Dąbie, a najmniejszej (3,2%) Puszcza Goleniowska. W późniejszych badaniach na tym samym obszarze Skotarczak i wsp. [20] potwierdziła występowanie *B. burgdorferi* sensu lato u 7,4% kleszczy, zaś odsetek osobników zakażonych wahał się od 2,8% w Pobierowie do 17,0% w Parku Leśnym Dąbie. W badaniach prowadzonych na Lubelszczyźnie za pomocą zestawu PCR *Borrelia* ekstensywność była na ogół mniejsza i dla Włodawy oraz Lublina wynosiła odpowiednio 2,4% i 4,7%. Jedynie okolice Zamościa charakteryzowały się wysoką prewalencją, której wartość osiągnęła poziom 9,6% [21]. Wyniki uzyskane rok później przez Chmielew-

ską-Badorę i wsp. [22], również przy zastosowaniu identycznego zestawu firmy DNA Gdańsk II, były bardzo zbliżone i przedstawiały się następująco: powiat włodawski — 5,0%, lubelski — 5,3%, zamojski — 8,2%, chełmski — 8,4% i lubartowski — 13,3%. W pracy ponownie obejmującej północno-zachodnią Polskę DNA *B. burgdorferi* sensu lato wykryto tylko u 4,4% osobników kleszcza pospolitego, co świadczy o dużym zróżnicowaniu występowania czynnika etiologicznego choroby z Lyme na obszarach Pomorza Zachodniego [23].

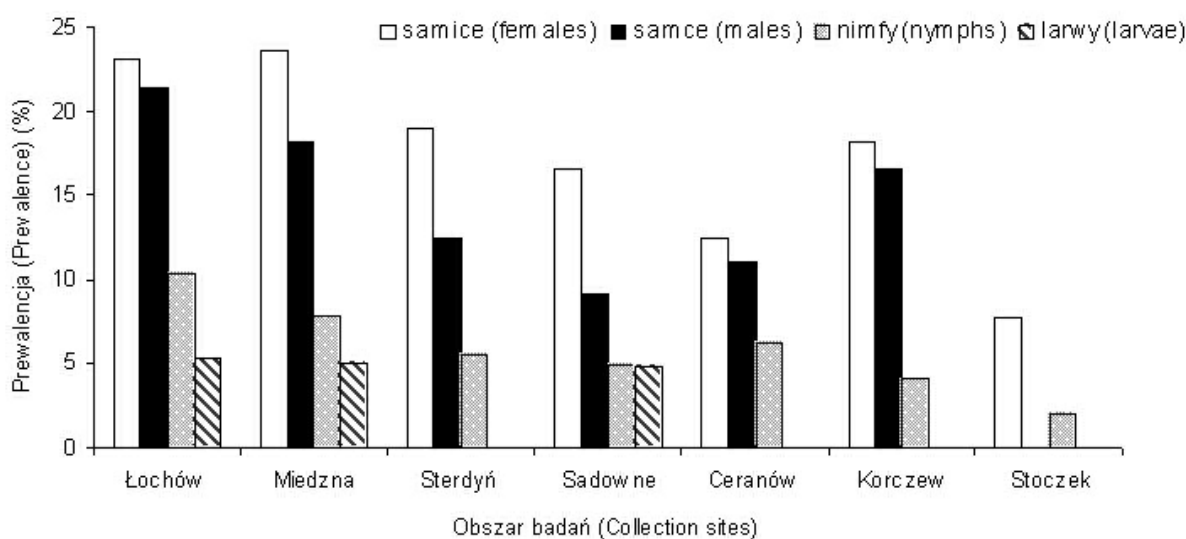
Niektórzy autorzy w swoich pracach wykorzystywali jednocześnie dwie różne metody wykrywania *B. burgdorferi* sensu lato w osobnikach kleszcza pospolitego na danym terenie. Cisak i wsp. [21] do części badań nad oceną stopnia zainfekowania osobników tego gatunku roztocza przez badaną bakterię w rejonie Lubelszczyzny, oprócz metody PCR zastosowali mikroskopię w ciemnym polu widzenia (DFM, ang. dark field microscopy), a najwyższy otrzymany wskaźnik zakażenia wyniósł 8,8% dla DFM, zaś dla reakcji łańcuchowej polimerazy 9,6%. Stańczak i wsp. [24] w swojej pracy nad poziomem ekstensywności zarażenia badanym gatunkiem bakterii populacji kleszcza pospolitego niektórych miast Polski wykorzystali również dwie metody, PCR oraz IFA (immunofluorescencja pośrednia, ang. immunofluorescence assay). W Białymstoku, Olsztynie oraz Elblągu przy zastosowaniu immunofluorescencji pośredniej wykryto odpowiednio 4,1%, 10,3% oraz

13,2% osobników zainfekowanych rozpatrywanym krętkiem. Detekcja DNA *B. burgdorferi* sensu lato w oparciu o amplifikację genu *fla* wykorzystana została do analizy kleszczy zebranych z leśnych terenów Bydgoszczy, Słupska, Lublina, Krakowa i Katowic. W przypadku 4 pierwszych miast poziom zarażenia roztoczy wyniósł odpowiednio 7,4%, 9,1%, 11,3% oraz 15,5%. Natomiast odsetek zakażonych osobników w Katowicach osiągnął bardzo wysoką wartość 37,5%. Na Mazurach, w Urwiłacie k/Mikołajek Pawełczyk i Siński [25], stosując metodę PCR, uzyskali ponad 3-krotnie niższy procent zainfekowanych kleszczy pospolitych (2,0%) niż w przypadku IFA (7,0%). Należy jednak nadmienić, że autorzy analizowali osobniki zebrane z występujących tam gryzoni leśnych. Praca ta jednocześnie potwierdza ogromną rolę gryzoni jako zoonotycznego rezerwuaru krętków w środowisku.

Wyniki uzyskiwane przez autorów badań prowadzonych w tym zakresie w różnych ośrodkach naukowych w Europie kształtują się na porównywalnym poziomie co w Polsce. Z nowszych badań o wyższych odsetkach zainfekowanych kleszczy donoszą Masuzawa i wsp. [26] (Moskwa, Rosja — 13,3%, w oparciu o metodę hodowli na podłożu Barbour-Sto-

enner-Kellyego), Maetzel i wsp. [7] (Bonn, Niemcy — 17,9%, za pomocą techniki PCR). Również w okolicach Monachium w Niemczech przy użyciu metody PCR potwierdzono wysoki poziom ekstensywności zarażenia badanych populacji *I. ricinus* kształtujący się w granicach 10,0–26,0% [27] w Szwajcarii, 15,0–32,6% [28], a w Koszycach na Słowacji 38,3% [29]. Według innych autorów [6, 30] odsetek zakażonych osobników był zbliżony do przedstawionych w niniejszej pracy wyników. Natomiast dużo niższą prevalencję krętka w kleszczach, 1,82% i 3,3% opisują odpowiednio w Hiszpanii Barral i wsp. [31] oraz we Francji Halos i wsp. [8].

W badanej populacji kleszcza pospolitego ogólny odsetek zainfekowanych samic (18,8%) i samców (13,8%) był wyższy niż nimf (6,1%) oraz larw (3,8%). Jest to zgodne z doniesieniami większości autorów z Polski. Inne proporcje w zainfekowaniu poszczególnych stadiów rozwojowych podane są w pracy Nowosada i wsp. [14], gdzie ekstensywność nimf i samców była największa (odpowiednio 25,6% i 27,3%). W pracy Jeneki i Siudy [32] najwyższy udział w zakażeniu muzealnej kolekcji *I. ricinus* zebranych w Wielkopolsce w latach 1948–1987 miały nimfy (21,4%). Wodecka [23] potwier-



Rys. 2. Prewalencja krętków *B. burgdorferi* sensu lato w poszczególnych stadiach rozwojowych kleszcza pospolitego na badanych obszarach Nadbużańskiego Parku Krajobrazowego

Fig. 2. Prevalence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato within analysed ticks at different sampling sites

dziła występowanie *B. burgdorferi* sensu lato u 9,4% samic, zaś u nimf odsetek ten był wyższy (3,8%) niż pośród samców (2,5%). W swojej pracy Humiczewska [9] podała, że najbardziej zainfekowane były nimfy (56,4%) i samice (20,1%), najmniej samce i larwy, odpowiednio 5,4% oraz 8,0%.

Przedstawione rezultaty badań własnych, jak i innych autorów wskazują na duże zróżnicowanie w odsetkach zakażenia krętkami *B. burgdorferi* sensu lato w poszczególnych populacjach *I. ricinus*. Krążenie patogenów chorób transmisyjnych w przyrodzie, w tym przypadku boreliozy, warunkuje liczebność właściwego wektora (kleszcza pospolitego) oraz obecność w danym ekosystemie zwierząt stanowiących naturalne źródło (rezerwuar) czynnika etiologicznego choroby z Lyme (drobne gryzonie, zwierzyna płowa i ptaki), a także bezpośrednio związane z tym geograficzne rozmieszczenie i stopień zagęszczenia kleszczy oraz zagęszczenie populacji ptaków i ssaków zakażonych krętkami oraz lokalne właściwości samych biotopów [33, 34]. Uzyskane rezultaty powstały w oparciu o analizę 685 osobników badanego roztocza, odłowionych na przełomie lipca i sierpnia, czyli poza szczytem jego aktywności sezonowej, inaczej niż w pracach cytowanych autorów, którzy w większości prowadzili badania na większej liczbie kleszczy (ponad 1000), zbieranych w czasie gdy są one najbardziej aktywne w swoim cyklu życiowym (maj-czerwiec). Czas odłowu *I. ricinus* w badaniach własnych podyktowany był największą intensywnością ruchu turystycznego na terenie Nadbużańskiego Parku Krajobrazowego, przypadającą na okres wakacji letnich. Stopień zakażenia analizowanych kleszczy jest jednak porównywalny z cytowanymi powyżej danymi pochodzącymi z sąsiednich terenów Polski północno-wschodniej.

## Wnioski

Przeprowadzone badania pozwalają na sformułowanie następujących wniosków:

(1) Populacja kleszcza pospolitego występującego na terenie Nadbużańskiego Parku Krajo-

brazowego jest nosicielem krętków *B. burgdorferi* sensu lato, co stwarza realne zagrożenie przekazania tej bakterii osobom tam przebywającym.

(2) Największe zagrożenie zakażenia chorobą z Lyme występowało w okolicach Łochowa.

(3) Odsetki zakażenia krętkami poszczególnych stadiów rozwojowych różniły się i były znacznie wyższe dla form dorosłych niż dla nimf i larw.

(4) Zastosowana metoda reakcji łańcuchowej polimerazy (PCR) pozwala na skuteczne wykrycie DNA *B. burgdorferi* sensu lato w odławianych kleszczach, a otrzymane wyniki mogą zostać wykorzystane w skutecznym zapobieganiu rozprzestrzenienia się boreliozy.

## Literatura

- [1] Barbour A.G., Hayes S.F. 1986. Biology of *Borrelia* species. *Microbiology Review* 50: 381-400.
- [2] Prokopowicz D. 1995. Choroby przenoszone przez kleszcze. Wydawnictwo Fundacji Buchnera, Warszawa.
- [3] Hayes E.B., Piesman J. 2003. How can we prevent Lyme disease? *New England Journal of Medicine* 348: 2424-2430.
- [4] Mrozek-Budzyn D. 1999. Borelioza z Lyme. *Przeгляд Epidemiologiczny* 53: 325-330.
- [5] Zajkowska J., Kondrusik M., Malzahn E., Pancewicz S., Grygorczuk S., Kuśmierczyk J., Czupryna P., Hermanowska-Szapakowicz T. 2006. Zmiany środowiskowe a zachorowania na choroby odkleszczowe. W: Stawonogi. Znaczenie epidemiologiczne (Red. A. Buczek, C. Błaszak). Koliber, Lublin: 233-239.
- [6] Janouskovicová E., Zákorská A., Halouzka J., Dendis M. 2004. Occurrence of *Borrelia afzelii* and *Borrelia garinii* in *Ixodes ricinus* ticks from Southern Moravia, Czech Republic. *Vector-Borne Zoonotic Diseases* 4: 43-52.
- [7] Maetzel D., Maier W.A., Kampen H. 2005. *Borrelia burgdorferi* infection prevalences in questing *Ixodes ricinus* ticks (Acari: Ixodidae) in urban and suburban Bonn, western Germany. *Parasitology Research* 95: 5-12.
- [8] Halos L., Jamala T., Maillarda R., Beugnet F., Le Menachd A., Boulouisa H.-J., Vayssier-Taussata M. 2005. Evidence of *Bartonella* sp. in questing adult and nymphal *Ixodes ricinus* ticks from France and coinfection with *Borrelia burgdorferi* sensu lato and *Babesia* sp. *Veterinary Research* 36: 79-87.
- [9] Humiczewska M. 2001. Aktywność sezonowa kleszczy *Ixodes ricinus* w biotopach nadwodnych i lęśnych Szczecina i okolic oraz ich zakażenie krętkami

- Borrelia burgdorferi*. *Wiadomości Parazytologiczne* 47: 389-393.
- [10] Stańczak J., Gabre R.M., Kruminis-Łozowska W., Racewicz M., Kubica-Biernat B. 2004. *Ixodes ricinus* as a vector of *Borrelia burgdorferi* sensu lato, *Anaplasma phagocytophilum* and *Babesia microti* in urban and suburban forests. *Annals of Agriculture and Environmental Medicine* 11: 109-114.
- [11] Kahl O., Schmidt K., Schonberg A., Laukamm-Josten U., Knulle W., Bienzle U. 1989. Prevalence of *Borrelia burgdorferi* in *Ixodes ricinus* ticks in Berlin (West.). *Zentralblatt für Bakteriologie* 270: 434-440.
- [12] Siński E., Rijpkema S.G.T. 1997. *Borrelia burgdorferi* s.l. infection in *Ixodes ricinus* at urban and suburban forest habitats. *Przegląd Epidemiologiczny* 51: 431-435.
- [13] Jenek J., Głazaczow A. 1996. Ocena występowania krętków *Borrelia burgdorferi* sensu lato w kleszczach *Ixodes ricinus* w wybranych regionach Wielkopolski metodą łańcuchowej reakcji polimerazy (PCR). *Przegląd Epidemiologiczny* 50: 383-386.
- [14] Nowosad A., Jenek J., Głazaczow A., Wal M. 1999. Kleszcze pospolite *Ixodes ricinus* (Linnaeus, 1758) z wybranych lasów komunalnych Poznania oraz ich zakażenie krętkami *Borrelia burgdorferi* sensu lato. *Przegląd Epidemiologiczny* 53: 299-308.
- [15] Spausta G., Wiczowski A., Ciarkowska J., Strzelczyk J., Trapp G., Adamek B., Zalewska-Ziob M. 2003. Częstość występowania *Borrelia burgdorferi* sensu lato u kleszczy *Ixodes ricinus* z okolic Tarnowskich Gór. *Wiadomości Parazytologiczne* 49: 39-45.
- [16] Cisak E., Chmielewska-Badora J., Zwoliński J., Wójcik-Fatla A., Polak J., Dutkiewicz J. 2005. Risk of tick-borne bacterial diseases among workers of Roztocze National Park (south-eastern Poland). *Annals of Agriculture and Environmental Medicine* 12: 127-132.
- [17] Hajdul M., Zaremba M., Karbowski G., Siński E. 2006. Ryzyko zakażenia krętkami *Borrelia burgdorferi* s.l. w biotopach leśnych okolic Warszawy. W: Stawonogi. Znaczenie epidemiologiczne (Red. A. Buczek, C. Błaszak). Koliber, Lublin: 195-203.
- [18] Skotarczak B. 2000. Wykrywanie *Borrelia burgdorferi* sensu lato w kleszczach *Ixodes ricinus* metodą łańcuchowej reakcji polimerazy (PCR). *Wiadomości Parazytologiczne* 46: 93-99.
- [19] Wodecka B., Skotarczak B. 2000. Genetyczna zmienność *Borrelia burgdorferi* s.l. u kleszczy *Ixodes ricinus* zebranych w północno-zachodniej Polsce. *Wiadomości Parazytologiczne* 46: 475-485.
- [20] Skotarczak B., Wodecka B., Cichocka A. 2002. Coexistence DNA of *Borrelia burgdorferi* sensu lato and *Babesia microti* in *Ixodes ricinus* ticks from north-western Poland. *Annals of Agriculture and Environmental Medicine* 9: 25-28.
- [21] Cisak E., Chmielewska-Badora J., Rajtar B., Zwoliński J., Jabłoński L., Dutkiewicz J. 2002. Study on the occurrence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato and tick-borne encephalitis virus (TBEV) in ticks collected in Lublin region (eastern Poland). *Annals of Agriculture and Environmental Medicine* 9: 105-110.
- [22] Chmielewska-Badora J., Cisak E., Zwoliński J., Dutkiewicz J. 2003. Ocena występowania krętków *Borrelia burgdorferi* sensu lato w kleszczach *Ixodes ricinus* na terenie wybranych rejonów Lubelszczyzny przy zastosowaniu metody łańcuchowej reakcji polimerazy (PCR). *Wiadomości Parazytologiczne* 49: 165-171.
- [23] Wodecka B. 2003. Detection of *Borrelia burgdorferi* sensu lato DNA in *Ixodes ricinus* ticks in north-western Poland. *Annals of Agriculture and Environmental Medicine* 10: 171-178.
- [24] Stańczak J., Racewicz M., Kubica-Biernat B., Kruminis-Łozowska W., Dąbrowski J., Adamczyk A., Markowska M. 1999. Prevalence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in *Ixodes ricinus* (Acari, Ixodidae) in different Polish woodlands. *Annals of Agriculture and Environmental Medicine* 6: 127-132.
- [25] Pawełczyk A., Siński E. 2001. Współwystępowanie *Borrelia garini* i *Borrelia afzelii* wśród populacji gryzoni leśnych. *Wiadomości Parazytologiczne* 47: 741-746.
- [26] Masuzawa T., Kharitononkov I.G., Kadosaka T., Hashimoto N., Kudeken M., Takada N., Kaneda K., Imai Y. 2005. Characterization of *Borrelia burgdorferi* sensu lato isolated in Moscow province — a sympatric region for *Ixodes ricinus* and *Ixodes persulcatus*. *International Journal of Medicine Microbiology* 294: 455-464.
- [27] Michel H., Wilske B., Hettche G., Göttner G., Heimerl C., Reischl U., Schulte-Spechtel U., Fingerle V. 2003. An *ospA* — polymerase chain reaction/restriction fragment length polymorphism — based method for sensitive detection and reliable differentiation of all European *Borrelia burgdorferi* sensu lato species and OspA types. *Medicine Microbiology and Immunology* 193: 219-22.
- [28] Casati S., Bernasconi M.V., Gern L., Piffaretti J.C. 2004. Diversity within *Borrelia burgdorferi* sensu lato genospecies in Switzerland by *recA* gene sequence. *FEMS Microbiology Letters* 238: 115-123.
- [29] Derdákóvá M., Halánová M., Stanko M., Štefančíková., Čisláková L., Pet'ko B. 2003. Molecular evidence for *Anaplasma phagocytophilum* and *Borrelia burgdorferi* sensu lato in *Ixodes ricinus* ticks from eastern Slovakia. *Annals of Agriculture and Environmental Medicine* 10: 269-271.
- [30] Hildebrandt A., Schmidt K.H., Wilske B., Dorn W., Straube E., Fingerle V. 2003. Prevalence of four species of *Borrelia burgdorferi* sensu lato and coinfection with *Anaplasma phagocytophilum* in *Ixodes ricinus* ticks in central Germany. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 22: 364-367.



- [31] Barral M., García-Pérez A.L., Juste R.A., Hurtado A., Escudero R., Sellek R.E., Anda P. 2002. Distribution of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae) ticks from the Basque Country, Spain. *Journal of Medicine Entomology* 39: 177-184.
- [32] Jenek J., Siuda K. 1997. Występowanie krętków *Borrelia burgdorferi* sensu lato w kleszczach *Ixodes ricinus* w muzealnej kolekcji kleszczy ocenione metodą łańcuchowej reakcji polimerazy (PCR). *Przegląd Epidemiologiczny* 51: 437-440.
- [33] Fish D. 1995. Environmental risk and prevention of Lyme Disease. *American Journal of Medicine* 98 (Supl. 4A): 2-9.
- [34] Randolph S.E., Storey K. 1999. Impact of microclimate on immature tick-rodent host interaction (Acari: Ixodidae): implications for parasite transmission. *Journal of Medicine Entomology* 36: 741-748.

Wpłynęło 2 kwietnia 2007

Zaakceptowano 18 czerwca 2007