

# Występowanie krętków *Borrelia* spp. w kleszczach *Ixodes ricinus* z terenów endemicznych województwa kujawsko-pomorskiego

## Occurrence of *Borrelia* spp. spirochetes in *Ixodes ricinus* ticks from endemic areas in Kuyavian-Pomeranian province

JERZY KASPRZAK<sup>1/</sup>, ALEKSANDRA BROCHOCKA<sup>1/</sup>, ANETA KLIMBERG<sup>2/</sup>

<sup>1/</sup> Wojewódzka Stacja Sanitarno-Epidemiologiczna w Bydgoszczy

<sup>2/</sup> Zakład Higieny, Katedra Medycyny Społecznej, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

**Wprowadzenie.** Kleszcze stanowią zagrożenie dla ludzi, jak i dla zwierząt. Oprócz mechanicznego i chemicznego oddziaływania na organizm żywiciela, są one szczególnie niebezpieczne ze względu na przenoszone patogeny. Zainfekowane osobniki podczas wysysania krwi przenoszą m.in. wirusy zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych i mózgu (KZM – kleszczowego zapalenia mózgu), a także bakterie wywołujące boreliozę.

**Cel.** Ocena stopnia zakażenia kleszczy krętkami *Borrelia* spp. z terenów endemicznych woj. kujawsko-pomorskiego.

**Materiał i metody.** Odłowione metodą flagowania kleszcze, poddano badaniu na obecność DNA *Borrelia* metodą łańcuchowej reakcji polimerazy Real-Time PCR w obecności starterów komplementarnych do fragmentów genomu *Borrelia burgdorferi sensu stricto*, *Borrelia garinii* i *Borrelia afzelii*.

**Wyniki i wnioski.** Łącznie odłowiono 415 kleszczy. W zbiorze dominowały nimfy (74,2%). Krętki *Borrelia* stwierdzono u 52 osobników. W analizowanym materiale genetycznym oznaczono 3 genogatunki krętków *Borrelia*: dominowała *B. afzelii* – 75,0%, *B. burgdorferi sensu stricto* stwierdzono w 15,4% zakażonych osobnikach oraz *B. garinii* – 9,6%.

**Słowa kluczowe:** *Ixodes ricinus*, *Borrelia* spp., borelioza

**Introduction.** Ticks pose a threat to humans and animals. In addition to mechanical and chemical impact on the body of the host they are especially dangerous because of the pathogens they transmit. While sucking blood, infected ticks transfer among others the meningitis and encephalitis viruses (tick-borne encephalitis) and bacteria that cause Lyme disease.

**Aim.** The evaluation of the tick infection with *Borrelia* spp. spirochetes from endemic areas in the Kuyavian-Pomeranian province.

**Material & Methods.** The ticks caught by the flagging method were tested for the presence of the *Borrelia* DNA using the Real-Time PCR polymerase chain reaction in the presence of primers complementary to the genome fragments of *Borrelia burgdorferi sensu stricto*, *Borrelia garinii* and *Borrelia afzelii*.

**Results and conclusions.** A total of 415 ticks were collected. The collection was dominated by nymphs (74.2%). The *Borrelia* spp. spirochetes were found in 52 individuals. In the analyzed genetic material 3 species of *Borrelia* spp. Spirochetes were designated; *B. afzelii* dominated – 75.0%, *B. burgdorferi sensu stricto* were found in 15.4% of the infected individuals, and *B. garinii* – in 9.6%.

**Key words:** *Ixodes ricinus*, *Borrelia* spp., Lyme disease

© Probl Hig Epidemiol 2016, 97(4): 363-370

www.phie.pl

Nadesłano: 01.05.2016

Zakwalifikowano do druku: 04.11.2016

**Adres do korespondencji / Address for correspondence**

dr inż. Aleksandra Brochocka

Wojewódzka Stacja Sanitarno-Epidemiologiczna w Bydgoszczy

ul. Kujawska 4, 85-031 Bydgoszcz

tel. 52 376 18 70, e-mail: a.brochocka83@wp.pl

## Wprowadzenie

Kleszcze to pajęczaki, które ze względu na znaczenie epidemiologiczne, a także bezpośrednią szkodliwość zyskały opinię wyjątkowo groźnych pasożytów zwierząt i człowieka. Zagrożenia wynikają z bezpośredniego oddziaływania na organizm żywiciela, jak również mogą być spowodowane przekazaniem patogenów chorób zakaźnych bytujących w organizmie kleszcza. Podczas żerowania kleszcz wydziela duże ilości śliny zawierającej substancje drażniące skórę oraz wywołujące rozpad okolicznych tkanek. Bardzo często wkluciu kleszcza towarzyszy początkowo małe

ognisko zapalne, powiększające się szybko na skutek zmian martwiczych, w tym również uszkodzeń włókien nerwowych i ścianek pobliskich naczyń krwionośnych. Niekiedy obserwuje się oznaki ostrej reakcji z zespołem krwotocznym [1]. Dłuższe żerowanie może powodować zatrucia organizmu oraz ogólne reakcje alergiczne i stresowe. Jednak najgroźniejszym dla ludzi następstwem pasożytowania tych pajęczaków są przenoszone przez nie patogeny. Zainfekowane kleszcze podczas wysysania krwi mogą przenosić m.in. wirusy zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych i mózgu

(KZM – kleszczowego zapalenia mózgu; *encephalitis ixodica*), a także bakterie wywołujące boreliozę (*Borrelia burgdorferi sensu stricto*, *Borrelia garinii*, *Borrelia afzelii*), anaplazmozę czy pierwotniaki *Babesia* spp. [1-6].

Ryzyko zakażenia ludzi zależy od regionu geograficznego i częstości występowania patogenów w rezerwuarze zwierząt. Rozprzestrzenianie i liczebność kleszczy występujących w Europie ulega systematycznemu zwiększaniu. Wpływ na to mają niewątpliwie zmiany zachodzące w klimacie. Istotne są także czynniki antropogeniczne, tj. osuszanie bagien, zalesianie nieuprawianych terenów rolniczych, które stanowią dogodny stanowisko dla rozwoju kleszczy oraz czynniki socjalne w postaci wzmożonego kontaktu ludzi z naturą, który staje się coraz modniejszą formą rekreacji i wypoczynku [7]. Najwięcej kleszczy spotyka się nadal w wilgotnych lasach liściastych lub mieszanych. Coraz częściej jednak pojawiają się one także na terenach zurbanizowanych, tj. działki, ogródki przydomowe czy wśród zieleni miejskiej [8]. Ludzie zakażają się krętkami *Borrelia* najczęściej późną wiosną lub latem, jednak przypadki zachorowań na boreliozę notuje się w ciągu całego roku [4]. Szacuje się, że ryzyko zachorowania na boreliozę po jednorazowym pokłuciu przez kleszcza wynosi poniżej 1%, a klinicznie jawna choroba powstaje tylko po 0,3-1,4% pokłuc przez kleszcze [9]. Od kilku jednak lat obserwuje się w Polsce wzrost liczby zachorowań na boreliozę z Lyme, co wynika z prezentowanych opracowań Głównego Inspektoratu Sanitarnego (GIS) w Warszawie i Narodowego Instytutu Zdrowia Publicznego – Państwowego Zakładu Higieny (NIZP-PZH) w Warszawie [7].

## Cel

Ponieważ choroba ta staje się narastającym problemem zdrowotnym i epidemiologicznym, dotyczącym również woj. kujawsko-pomorskiego, podjęto próbę wstępnej oceny zakażenia kleszczy na tym terenie.

## Materiał i metody

### *Charakterystyka terenu badań*

Przed przystąpieniem do odławiania kleszczy, przeanalizowano przypadki zachorowań na boreliozę z Lyme zgłoszone do Wojewódzkiej Stacji Sanitarno-Epidemiologicznej (WSSE) w Bydgoszczy w latach 2010-2015 z terenu woj. kujawsko-pomorskiego. Zwrócono szczególną uwagę na miejsce, w którym doszło do pokłucia (ekspozycja) [10]. Na tej podstawie wyznaczono tereny endemiczne – Leśny Park Kultury i Wypoczynku (LPKiW) w Mysłęcinku oraz lasy w okolicy Rudzkiego Mostu w Tucholi, w których przeprowadzono odławianie kleszczy.

### *Leśny Park Kultury i Wypoczynku w Mysłęcinku*

Leśny Park Kultury i Wypoczynku usytuowany jest w północnej części Bydgoszczy, w odległości 5 km od centrum miasta. Część terytorium parku mieści się w granicach Parku Krajobrazowego Doliny Dolnej Wisły, a pozostała w obszarze krajobrazu chronionego Północny Pas Rekreacyjny Bydgoszczy [11]. Jest to największy park miejski w Polsce, liczący 830 ha powierzchni. Teren ten ma ogromną wartość zarówno z punktu widzenia przyrodniczego, jak i krajobrazowego. Największą jego część zajmują lasy oraz tereny zieleni. Zorganizowane siedliska roślinne mieszczą się na obszarze 90 ha; lasy stanowią aż 470 ha. Drzewostan parku tworzą głównie lasy mieszane, występują fragmenty grądu z lipą, dębem i grabem, łęgi z olchą i jesionem oraz buczyna. Można tu wyróżnić trzy główne leśne strefy siedliskowe. W części południowej dominują siedliska boru świeżego, część centralną do podnóża zbocza wysoczyzny zajmują siedliska lasu mieszane, a w strefie zboczowej na wysoczyźnie przeważają siedliska grądowe. Rzadziej mamy do czynienia z terenami bezleśnymi porośniętymi roślinnością trawiastą, jak ma to miejsce np. przy Zaciszu. Wśród drzew liściastych dominują: buk pospolity, dąb czerwony, grab pospolity, lipa drobnolistna i szerokolistna oraz jesion wyniosły. Z drzew iglastych największy udział ma sosna (92%), a w domieszkach występują także: świerk pospolity, jodła biała i modrzew (1%) [12]. Krzewy i krzewinki są reprezentowane głównie przez tarninę, czeremchę, berberys zwyczajny, dereń świdwę i wiele innych gatunków. Do charakterystycznych gatunków runa możemy zaliczyć mchy. Wśród nich najczęściej spotykane są płaty rokitnika pospolitego oraz gajnika łśniącego. Oprócz tego w runie występują różne gatunki traw, a także trzcinnik leśny, konwalia majowa i konwalijka dwulistna. W parku występuje także wiele roślin zielnych (w tym gatunki kserotermiczne). Zbiorowiska łąkowe zajmują ok. 80 ha obszaru parku. W miejscu dawnych lasów łągowych występują łąki okresowo wilgotne, a w miejscu grądów łąki świeże (umiarkowanie wilgotne). W centralnej części Ogrodu Botanicznego występują łąki rajgrasowe, zaś pozostałe siedliska porastają łąki ubogie i wrzosowiska [12]. Zbiorniki wodne stanowią 18,5 ha (2% powierzchni parku). Wody powierzchniowe płynące są ciekami naturalnymi, zaś zbiorniki wód stojących powstały w wyniku działalności człowieka [11]. Fauna zwierząt kręgowych na terenie Parku obejmuje przede wszystkim drobne ssaki, zwłaszcza gryzonie, owadożerne i zającokształtne [12]. Wszystkie te zwierzęta są potencjalnymi żywicielami kleszczy. Leśny Park Kultury i Wypoczynku, to nie tylko piękna przyroda, ale coraz bogatsza oferta rekreacyjno-sportowa. Do ciekawych obiektów należy Ogród Fauny Polskiej, Ogród Botaniczny, Ośrodek Rekreacji Konnej oraz Kujawsko-Pomorskie Centrum Edukacji. Badania prowadzone były w obrębie Parku Botanicznego, Cen-

trum Edukacji Ekologicznej oraz Polany Różopole – na terenie często uczęszczanym przez ludzi z licznymi ścieżkami parkowymi. Wszystkie te obiekty oraz ogólny plan LPKiW wraz z zaznaczonym obszarem odławiania kleszczy przedstawiono na rycinie 1.

### Las Rudzki

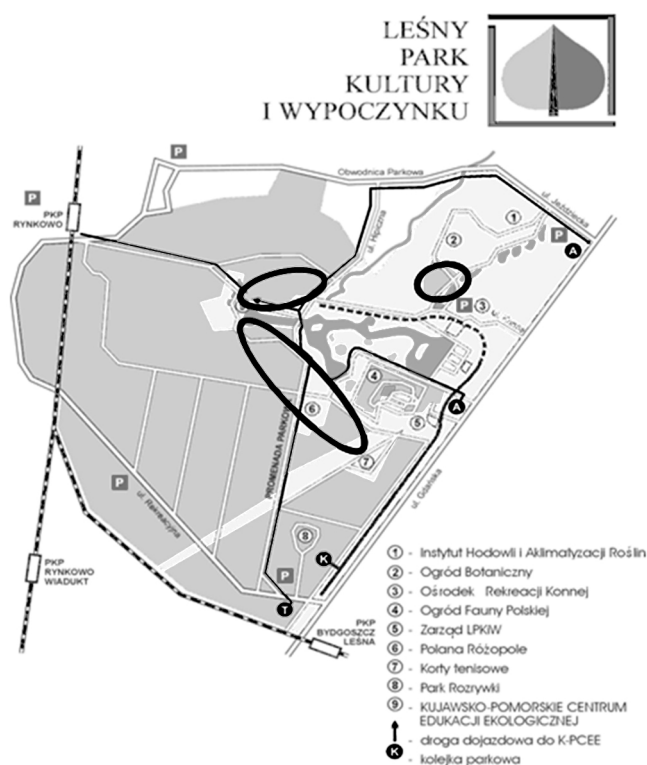
Las Rudzki, to osiedle Tucholi położone nad zachodnim brzegiem Brdy na skraju Tucholskiego Parku Krajobrazowego (ryc. 2). Niedaleko osiedla płynie rzeka Brda z punktem etapowym spływów kajakowych [13]. Wzdłuż koryta Brdy występują zróżnicowane zbiorowiska leśne. Teren badań stanowił odcinek lasu liściastego mieszanego znajdujący się na skraju osiedla. W drzewostanie dominują: buk i dąb, domieszkę stanowi klon zwyczajny, jesion wyniosły oraz jodła pospolita. Blżej koryta rzeki zbiorowisko przechodzi w las łąkowy. W drzewostanie tym wyróżnić można m.in.: olchę, wiąz, topolę. Dno lasu jest silnie zacienione, występują w nim rośliny cieniulubne (przytulia wonna, rosnący na skraju lasu glistnik jaskółcze ziele). Z innych roślin typowych wyróżnić można: trzcinnika leśnego, podagrycznika pospolitego, pokrzywę zwyczajną, wiązówkę błotną, kostrzewę olbrzymią oraz przedstawiciela paproci – nerecznicę samczą. Dzięki przepływającej rzece, pomimo wysokiej temperatury otoczenia, w lesie odczuwalna była duża wilgotność powietrza – co niewątpliwie stwarza dogodny warunki

do występowania kleszczy. Teren ten jest miejscem częstych spacerów, wycieczek rowerowych oraz biwaków na trasie spływów kajakowych.

Obiektem badań były kleszcze (*Ixodidae*) odławiane w okresie od czerwca do lipca 2015 r. Wszystkie stanowiska znajdowały się w bliskiej odległości od osad ludzkich lub też były to obszary często odwiedzane przez ludzi ze względu na swoje walory krajobrazowe i przyrodnicze. Zbiór odbywał się w godzinach od 8:00 do 14:00.

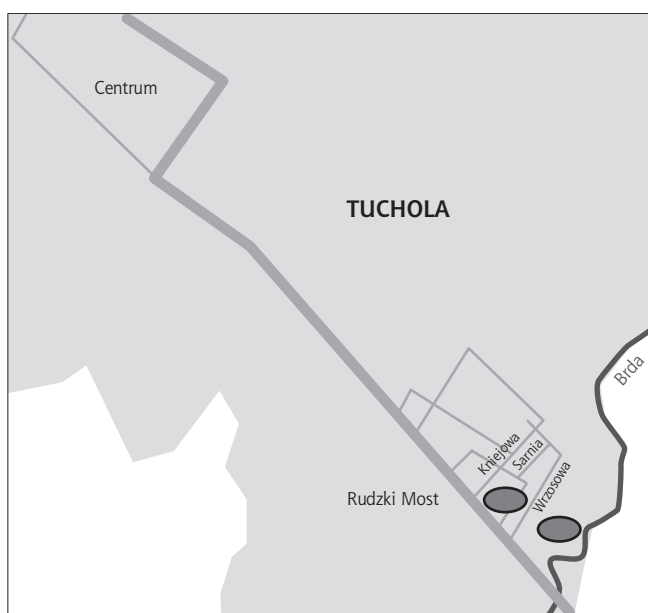
Do odłowu stosowano metodę flagowania (ryc. 3), która polegała na omiataniu krzewów, traw oraz poszycia leśnego flanelową, białą płachtą przymocowaną do listewki ze sznurkiem. Następnie co jakiś czas oglądano płachtę w poszukiwaniu przyczepionych lub chodzących po niej kleszczy. Przy sprawdzaniu często posługiwano się lupą, która pomagała w znalezieniu larw. Okazy ręcznie lub za pomocą pęsety przenoszono do próbek. Zebrane kleszcze przewieziono do WSSE w Bydgoszczy, gdzie rozdzielono je na poszczególne stadia rozwojowe.

W Oddziale Mikrobiologii i Parazytologii Lekarskiej kleszcze poddano badaniu na obecność DNA *Borrelia* metodą łańcuchowej reakcji polimerazy Real-Time PCR. W tym celu każdego kleszcza poddano lizie (inkubacja w 55°C). Po strawieniu materiału przystąpiono do izolacji kwasu nukleinowego z wykorzystaniem zestawu High Pure PCR Template Preparation Kit firmy Roche, zgodnie z procedurą badawczą PB-25/LEP Oddziału Mikrobiologii i Parazytologii Lekarskiej WSSE. W ostatnim etapie izolacji otrzymany eluat przechowywano do dalszej diagnostyki w próbkach typu Eppendorf w temp.



Ryc. 1. Plan Leśnego Parku Kultury i Wypoczynku w Myślecinku wraz z zaznaczonym terenem badań (<http://www.myslecinek.pl>)

Fig. 1. Map of Forest Park of Culture and Recreation in Myślecinek with marked research area (<http://www.myslecinek.pl>)



Ryc. 2. Tuchola wraz z zaznaczonym terenem badań w obrębie Rudzkiego Mostu

Fig. 2. Town of Tuchola with marked research area within Rudzki Bridge



Ryc. 3. Metoda flagowania (fot. M. Masłowska; ze zbiorów WSSE)

Fig. 3. Flagging method (fot. M. Masłowska; from PSES collection)

+2 do +8°C (lub do późniejszej analizy w temp. -15 do -25°C). Wyniki izolacji DNA opracowywano za pomocą zestawu komputerowego z programem Light-Cycler Software.

## Wyniki

Obiektem badań były kleszcze odłowione w 2015 r. na terenie powiatu bydgoskiego i tucholskiego. Z 4 stanowisk badawczych uzyskano łącznie 415 kleszczy, wśród których wyróżniono osobniki w trzech stadiach rozwojowych: larwy, nimfy i adults. Wszystkie odłowione pajęczaki należały do gatunku *Ixodes ricinus*.

Formą dominującą były nimfy, których ogólna liczba wyniosła 308 osobników, co stanowiło 74,2% zbioru. Liczba postaci dorosłych (*adults*) była znacznie niższa (71 kleszczy – 17,1%), w tym 43 samice (10,4% całości zbioru) i 28 samców (6,7%). Najmniejszy udział miały larwy (36 – 8,7%) (tab. I).

Biorąc pod uwagę tereny, na których odławiano kleszcze, najwięcej osobników ogółem pochodziło ze stanowiska zlokalizowanego w obrębie polany Różopole w Myślęcinku (46,3%) oraz z terenu Lasu Rudzkiego (34,2%). Analizując występowanie form rozwojowych w odniesieniu do poszczególnych stanowisk badawczych stwierdzono, iż na prawie wszystkich terenach dominowały nimfy. Wyjątek stanowił Ogród Botaniczny, gdzie zaobserwowano przewagę postaci dorosłych. Osobniki te odławiano wzdłuż ścieżek spa-

cerowych, na otwartych, miejscami nasłonecznionych obszarach. Natomiast postacie larwalne i nimfy w większej liczbie występowały na terenach osłoniętych. Ogółem najwięcej postaci dorosłych (64,8%) pochodziło z terenu Rudzkiego Mostu, a najmniej (4,2%) odłowiono wzdłuż polany Różopole (wszystkie zebrane osobniki z tego terenu oznaczono jako samice). Wyraźną przewagę nimf odnotowano na terenie polany Różopole. Odłowiono tam 56,2% wszystkich nimf, a w odniesieniu do ogółu kleszczy zebranych z tego stanowiska, ich liczba stanowiła 90,1% całości zbioru z powyższego terenu. Udział procentowy larw był znacznie mniejszy. Na terenie Ogrodu Botanicznego nie zebrano ani jednego kleszcza w stadium larwalnym (tab. I).

Wszystkie odłowione kleszcze przebadano metodą łańcuchowej reakcji polimerazy (Real-Time PCR) na obecność DNA *Borrelia*. Na 415 okazów, wynik dodatni uzyskano u 52 kleszczy (12,5%). Analizując poszczególne stadia rozwojowe zauważono, że wyniki dodatnie pochodziły wyłącznie od nimf (73,1%) oraz postaci dorosłych: 15,4% u samic i 11,5% u samców (tab. I).

Następnie analizie poddano wyniki badań kleszczy w odniesieniu do lokalizacji odłowu. Krętki *Borrelia* oznaczono u kleszczy zebranych na każdym badanym stanowisku. Najwięcej wyników dodatnich stwierdzono u osobników odłowionych na terenie polany Różopole (53,8%); na stanowisku Centrum Ekologicznego oraz Rudzkiego Mostu stopień zakażenia kleszczy wyniósł po 21,2%; w obrębie Ogrodu Botanicznego zaledwie u 2 samców (3,5%) stwierdzono obecność krętków *Borrelia* (tab. I).

Analiza z wykorzystaniem tabel wieloznacznych oraz testu  $\chi^2$  wykazała, że różnica między lokalizacją odłowu a liczbą zakażonych kleszczy była nieistotna statystycznie ( $\chi^2$  Pearsona=5,505342;  $df=3$ ;  $p=0,13832$ ;  $\chi^2$  NW=5,713362;  $df=3$ ;  $p=0,12642$ ).

W analizowanym materiale genetycznym pozyskanym z kleszczy oznaczono 3 genogatunki krętków *Borrelia*; dominowała *B. afzelii* w 39 próbkach, *B. burgdorferi sensu stricto* stwierdzono w 8 próbkach oraz *B. garinii* w 5 próbkach.

Tabela I. Liczby odłowionych kleszczy z uwzględnieniem poszczególnych stadiów rozwojowych – ogółem i zakażonych  
Table I. Number of collected ticks, taking into account different stages of development – in total and infected

Powiat /County	Stanowisko /Position	Larwa /Larva		Nimfa /Nymph		Samica /Female		Samiec /Male		Razem /Total	
		Ogółem /Total	Zakażonych /Infected	Ogółem /Total	Zakażonych /Infected	Ogółem /Total	Zakażonych /Infected	Ogółem /Total	Zakażonych /Infected	Ogółem /Total	Zakażonych /Infected
	Ogród Botaniczny /Botanic Garden			4		7		9	2	20	2
bydgoski	Centrum Ekologiczne /Ecological Center	15	40	8		5	3	1		61	11
	Różopole	16	173	26		3	2			192	28
tucholski	Rudzki Most /Rudzki Bridge	5	91	4		28	3	18	4	142	11
	Ogółem /Total	36	308	38		43	8	28	6	415	52

## Dyskusja

W literaturze istnieją liczne doniesienia na temat prac faunistycznych dotyczących rozmieszczenia kleszczy w różnych rejonach Polski. W 1996 r. Głazaczow [14] odłowił z 7 wybranych stanowisk na terenie Wielkopolski 298 osobników *Ixodes ricinus*. Zbioru dokonywano przez omiatanie flanelową płachtą krzewów i poszycia leśnego. Następnie w latach 1996-1997 Humiczewska [15] prowadziła badania nad liczebnością kleszczy w biotypach leśnych i nadwodnych z terenu byłych województw: szczecińskiego, koszalińskiego i gorzowskiego. Z 30 stanowisk uzyskała 8519 osobników. Na terenie woj. szczecińskiego odłowu kleszczy prowadziły również Skotarczak i Wodecka [16], które w 1997 r. z 4 stanowisk badawczych zebrały 311 okazów. Rok później te same badaczki [17] podały wyniki odłowu kleszczy z 10 obszarów z tego samego województwa. Z każdego stanowiska uzyskano średnio 200 osobników, co łącznie dało wynik 2055 kleszczy. Strzelczyk i wsp. [18] podała, że w badaniach z lat 2001-2003 na terenie lasów liściastych i mieszanych woj. śląskiego, należących do powiatu tarnogórskiego oraz na terenie kompleksu leśnego Gliwice odłowiła na 8 stanowiskach 233 kleszcze. W tych samych latach swoje badania przeprowadzili Pawełczyk oraz Siński [19]. Odłowu dokonywano w okolicach Wrocławia na terenie Masywu Ślęży. W trakcie 3 sezonów zebrano łącznie 4743 kleszcze. Chmielewska-Badora w 2005 r. [20] dokonała analizy kleszczy na terenie 6 obszarów leśnych położonych w powiatach: Lublin, Puławy, Kraśnik, Lubartów, Zamość i Włodawa. Łącznie od kwietnia do września odłowiono 684 *Ixodes ricinus*. W tym samym czasie Cisak i wsp. [21] przeprowadzili badania dotyczące występowania kleszcza pospolitego, jako głównego wektora *B. burgdorferi*. Pajęczaki zbierano w sezonie wiosenno-letnim w latach 2005-2006 z terenu 7 powiatów woj. lubelskiego. Łącznie odłowiono wówczas aż 1813 kleszczy. Na terenie woj. kujawsko-pomorskiego badania nad fauną kleszczy jak dotychczas prowadziły jedynie Kaniewska [22] oraz Brochocka [23]. Pierwsza z nich analizowała liczebność kleszczy na terenie Leśnego Parku Kultury i Wypoczynku w Myślicinku, a także na stanowisku wchodzącym w skład Nadleśnictwa Różana. W okresie od maja do września 2007 r. odłowiła na obszarach boru mieszanego zaledwie 37 okazów. Przyczyna tak małej liczby zebranych kleszczy nie została wyjaśniona. Natomiast Brochocka badała liczebność kleszczy w Bydgoszczy i okolicach w okresie od lipca do września 2009 r., gdzie z 3 stanowisk uzyskała 161 kleszczy. W 2011 r. badania powtórzono z dodaniem dwóch nowych stanowisk w centrum Bydgoszczy [24]; łącznie odłowiono wówczas 213 osobników. W niniejszych badaniach z 4 stanowisk zlokalizowanych na terenie dwóch powiatów (bydgoskiego i tucholskiego) odłowiono łącznie 415 osobników z gatunku *Ixodes ricinus*.

Z dostępnej literatury wynika, że badania prowadzone nad występowaniem kleszczy na terenie Polski w znacznej mierze dotyczą jednego gatunku – kleszcza pospolitego: Głazaczow [14], Skotarczak i Wodecka [16], Humiczewska [15], Strzelczyk i wsp. [18], Pawełczyk i Siński [19], Chmielewska-Badora [20], Cisak i wsp. [21], Brochocka [23], Błażejwicz-Zawadziska i wsp. [24], Kubiak i Dziekońska-Rynko [25]. Występowanie i rozprzestrzenienie *I. ricinus* było dokładniej analizowane w Ojcowskim Parku Narodowym. Jak podają Siuda i Nowak [26] pod koniec XX w. występowanie tego gatunku kleszcza notowano na całym obszarze tego parku. Średnia liczebność aktywnych w poszukiwaniu żywiciela kleszczy wynosiła na większości obszarów od 1 do 4 okazów/100 m<sup>2</sup>. Najliczniej kleszcze występowały w Dolinie Zachwytu, średnio 19 okazów/100 m<sup>2</sup>. Badania nad występowaniem kleszcza pospolitego prowadzono także w Krakowie [26]. Gatunek ten pojawiał się głównie na obrzeżach Krakowa, w siedliskach z zachowanymi partiami naturalnych lasów. Najliczniejsze miejsca stwierdzono w okolicach Skały Kmity, w Podgórzu-Skotnikach i Rżące – średnio 8,6 okazów/100 m<sup>2</sup>. W Lesie Wolskim i w Tyńcu średnia liczba kleszczy wynosiła 3,5 okazów/100 m<sup>2</sup>, obok kempingu w Borku Fałęckim 5,3 okazów/100 m<sup>2</sup>.

Biorąc pod uwagę poszczególne stadia rozwojowe odłowionych kleszczy, wyraźną dominacją w badaniach własnych odznaczały się nimfy, których udział wyniósł 74,2% całego zbioru. Wynik ten również pokrywa się z rezultatami badań innych autorów. W badaniach Chmielewskiej-Badory [20] przewaga nimf nie była może tak duża; stanowiła 46,9% zbioru, ale postać ta dominowała nad pozostałymi. Podobnie w wynikach opublikowanych przez Pawełczyka i Sińskiego [19] nimfy stanowiły 60% odłowionych osobników. Błażejwicz-Zawadziska i wsp. [24] uzyskała 64,3% kleszczy w drugiej fazie rozwojowej; natomiast w badaniach Brochockiej [23] oznaczono 70,8% nimf w zbiorze. Skotarczak i Wodecka [16] w jednej ze swoich publikacji podały, że nimfy stanowiły aż 84% zebranych okazów. Jeszcze więcej stadium nimf odłowiła Humiczewska [15] – aż 86%. Odmienne dane dotyczące form rozwojowych kleszczy przedstawiła Strzelczyk i wsp. [18]. W jej badaniach nimfy stanowiły zaledwie 12% całego zbioru. Analizując wyniki tamtejszych badań można jednak zauważyć, że autorka nie brała wcale pod uwagę larw. Niewielki udział nimf w swojej pracy podała również Kaniewska [22]. W jej zbiorze dominowały postacie dojrzałe, które stanowiły przeszło 59% odłowionych osobników, natomiast udział nimf układał się na poziomie 29%.

W badaniach własnych postacie dorosłe stanowiły 17,1% całego zbioru. Analizując jednak płęć poszczególnych osobników dostrzec można kolejne podobieństwo do wyników badań innych autorów.

Zauważa się dominację osobników żeńskich nad męskimi: 43 samice (60,6%) vs. 28 samców (39,4%). Podobne spostrzeżenie miała również w swojej pracy Kaniewska [22], u której udział samic wynosił aż 76%. Mniej wyraźna dominacja samic widoczna jest również w pracy Skotarczak i Wodeckiej [16], gdzie wśród 2055 odłowionych okazów 13,9% stanowiły samice, a 11,3% samce. Podobna relacja osobników żeńskich do męskich widoczna jest w badaniach Strzelczyk i wsp. [18]: wśród 233 odłowionych kleszczy było 129 samic i 76 samców. Dominację osobników żeńskich ukazuje również praca Janka i Głazaczowa [14], gdzie odłowiono 156 samic i 112 samców. Odmienne wyniki zaprezentowała Chmielewska-Badora [20], gdzie procent udziału obu płci był do siebie bardzo zbliżony (samce 26,9%, samice 26,2%). Przewagę samców przedstawili w swoich badaniach Pawełczyk i Siński [19]: na 4743 odłowionych kleszczy było 200 samców i 187 samic.

Odłowione w niniejszej pracy kleszcze poddano badaniu na obecność DNA *Borrelia* metodą łańcuchowej reakcji polimerazy, w obecności starterów komplementarnych do fragmentów genomu *Borrelia burgdorferi sensu stricto*, *Borrelia garinii* i *Borrelia afzelii*. Osobniki zakażone krętkami *Borrelia* stanowiły prawie 12,5% całego zbioru. Badania nad obecnością krętków *Borrelia* w kleszczach prowadził także Wegner i wsp. [27]. Określili oni częstość zakażenia kleszczy krętkiem *B. burgdorferi* w woj. olsztyńskim na średnim poziomie (11,5%), zaznaczając jednak, że na niektórych stanowiskach dochodził do 35,7%. Prowadzone przez ten sam zespół badania na terenie woj. białostockiego [28] wykazały obecność krętków u 8,8% kleszczy. Natomiast Siński i wsp. [28] stwierdzili w obrębie kilku stanowisk w woj. zamojskim, krakowskim, suwałskim i katowickim, odsetek zakażonych kleszczy wynoszący 15,1%. Janek i Siuda [30] przeprowadzili ciekawą analizę kleszczy należących do muzealnej kolekcji znajdującej się w Katedrze Biologii i Parazytologii Śląskiej Akademii Medycznej w Katowicach. Osobniki te pochodziły z rejonu woj. wielkopolskiego. Na 51 badanych roztoczy, obecność patogenu stwierdzono w 3 kleszczach (3,56%). Badania te są o tyle ciekawe, gdyż analizowana grupa kleszczy pochodziła z odłowu prowadzonego w latach 1948-1987. Z innych autorów zajmujących się tą tematyką wymienić można także Stańczaka i wsp. [31-33], Nowosada i wsp. [34]. Badali oni obecność krętków w kleszczach z obszaru różnych miast Polski, wśród nich znalazła się także Bydgoszcz. Poziom ekstensywności zakażenia odłowionych kleszczy oceniono na 7,4% [32].

Niskie wyniki zakażonych kleszczy otrzymała w swoich badaniach Tylewska-Wierzbanowska i wsp. [35]. Analizując metodą PCR obecność krętków *B. burgdorferi* w 1580 kleszczach zebranych na terenie całej Polski stwierdziła obecność patogenów u 12

osobników, co stanowiło jedynie 0,76% zbioru. Przyczyną tak małej liczby wyników dodatnich, mogło być ograniczenie analizy produktu PCR tylko do techniki elektroforetycznej. Ponieważ, jak podaje Janek i Siuda [30], produkt PCR nie zawsze występuje w ilościach dających się uwidocznić w żelu agarozowym i niezbędną jest jego detekcja przez hybrydyzację ze swoistą sondą. W kolejnych latach obecność krętków *Borrelia* w kleszczach wykazali także: Hajdul i wsp. [36] – ekstensywność zakażenia roztoczy w biotypach leśnych okolic Warszawy wynosiła 15,9%, Komoń i Sytykiewicz [37] – w odłowionych z terenu Nadbużańskiego Parku Krajobrazowego 685 kleszczach, krętka *B. burgdorferi* wykryto u 60 osobników.

Wśród wyizolowanych w badaniach własnych z kleszczy krętków stwierdzono 3 genogatunki: *B. afzelii* – w 39 próbkach, *B. burgdorferi sensu stricto* – w 8 próbkach oraz *B. garinii* – w 5 próbkach. Podobne wyniki przedstawili w swojej pracy Siński i wsp. [38]. Odłowili oni kleszcze z rejonu Białowieży, Urwitałtu, Trzebieża i Dziekanowa Leśnego. Metodą PCR wykazano zakażenie grupy kleszczy 4 genogatunkami *Borrelia*: *B. burgdorferi sensu stricto*, *B. afzelii*, *B. garinii* oraz genogatunkiem określonym jako VS116. Co ciekawe, wśród kleszczy notowano także zakażenia mieszane.

Mimo wzrostu zainteresowania tematyką kleszczy i przenoszonych przez nie chorób, nadal najczęściej doniesień pochodzi z terenów Lubelszczyzny, okolic Gdańska, Warmii i Mazur, z Puszczy Białowieskiej, Poznania, Wrocławia, Krakowa oraz Katowic i w dużej mierze są to informacje niepełne. Prowadzone prace faunistyczne nad wstępowaniem kleszczy skupiają się głównie na obszarach zalesionych kraju. Natomiast badania nad chorobami odkleszczowymi dotyczą najczęściej ludzi, dużo rzadziej zwierząt domowych i gospodarskich [6]. 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 krętków *Borrelia* czy innych patogenów przenoszonych przez kleszcze [39-41].

W nawiązaniu do niniejszej pracy, z pewnością brakuje również doniesień z zakresu prac faunistycznych, jak i epidemicznych, dotyczących kleszczy i przenoszonych przez nie patogenów w rejonie woj. kujawsko-pomorskiego. Szczególną uwagę należy poświęcić obecności kleszczy na stanowiskach dotychczas uznawanych za wolne od tych pajęczaków, tj. parki, skwery oraz ogródki przydomowe. Jak wynika z danych dostępnych w literaturze przedmiotu, problem chorób odkleszczowych w Polsce narasta. Dlatego też dokładniejsze poznanie behawioru kleszczy, być może pozwoliłoby ograniczyć stopień ich inwazji a tym samym ryzyko zachorowania w wyniku przenoszonych przez nie patogenów.

Istotne wydaje się również, przeprowadzenie ponownych badań mających na celu ocenę stopnia zakażenia kleszczy z rejonu woj. kujawsko-pomorskiego krętkami *Borrelia* (i innych patogenów). Jak dotychczas badania takie z obszaru powiatu bydgoskiego, tucholskiego prowadzone były jedynie w Pracowni Mikrobiologii i Parazytologii Lekarskiej WSSE w Bydgoszczy. Ocena stopnia zakażonych kleszczy na danym terenie jest bardzo ważna, ponieważ daje podstawę do uznania tego obszaru, w razie wykrycia podwyższonej wartości patogenów w kleszczach, za region endemiczny. Równie istotne jest określenie odsetka zakażonych kleszczy, jednego z parametrów indeksu ekologicznego pozwalającego określić ryzyko nabycia infekcji na danym terenie.

## Wnioski

Wśród odłowionych 415 kleszczy oznaczono tylko jeden gatunek (*Ixodes ricinus*); najliczniej odławianym stadium rozwojowym były nimfy, wśród postaci dorosłych dominowały samice; odsetek zakażenia krętkami poszczególnych stadiów rozwojowych różnił się i był najwyższy dla nimf.

Populacja kleszczy występujących na terenie woj. kujawsko-pomorskiego jest nosicielem krętków *Borrelia burgdorferi sensu stricte*, *Borrelia afzelii* i *Borrelia garinii*, co stwarza realne zagrożenie przekazania tych patogenów.

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

## Piśmiennictwo / References

1. Siuda K. Subclass: Acari Latreille, 1795 – Podgromada: Roztocze. *Ixodes ricinus* (Linnaeus, 1758) – Kleszcz pospolity, kleszcz europejski leśny. [w:] Parazytologia i akarontomologia medyczna. Deryło A (red). PWN, Warszawa 2002: 303-311.
2. Siuda K. Stawonogia choroby transmisyjne. [w:] Parazytologia i akarontomologia medyczna. Deryło A (red). PWN, Warszawa 2002: 425-444.
3. Tylewska Wierzbanowska S, Chmielewski T. Borelioza z Lyme. [w:] Choroby zakaźne i pasożytnicze – epidemiologia i profilaktyka. Bauman-Popczyk A, Sadkowska-Todys M, Zieliński A. *α-medica*, Bielsko Biała 2014: 40-43.
4. Brochocka A, Błażejewicz-Zawadzińska M, Kasprzak J i wsp. Przypadki zachorowań na boreliozę z Lyme w województwie kujawsko-pomorskim w latach 2000-2005. *Probl Hig Epidemiol* 2014, 95(1): 143-148.
5. Błażejewicz-Zawadzińska M, Brochocka A, Lisińska J, Borowiecki M. Retrospektywna analiza objawów klinicznych 973 osób chorych na boreliozę w województwie kujawsko-pomorskim w latach 2000-2005. *Przegl Epidemiol* 2012, 66(4): 581-586.
6. Brochocka A. Występowanie chorób odkleszczowych u zwierząt gospodarskich na terenie województwa kujawsko-pomorskiego. Rozprawa doktorska. UT-P, Bydgoszcz 2016.
7. Kasprzak J, Marcinkowski JT. Badanie wpływu warunków meteorologicznych oraz stopnia zalesienia województwa kujawsko-pomorskiego na zapadalność mieszkańców na boreliozę z Lyme w latach 2006-2013. *Probl Hig i Epidemiol* 2015, 96(3): 586-593.
8. Biaduń W. Preferencje siedliskowe kleszcza pospolitego *Ixodes ricinus* L. na Lubelszczyźnie. *Wiad Parazytol* 2008, 54(2): 117-122.
9. Pancewicz SA, Garlicki AM, Moniuszko-Malinowska A i wsp. Diagnostyka i leczenie chorób przenoszonych przez kleszcze. Rekomendacje Polskiego Towarzystwa Epidemiologów i Lekarzy Chorób Zakaźnych. *Przegl Epidemiol* 2015, 69(2): 421-428.
10. Kasprzak J. Analiza zgłoszeń zachorowań na boreliozę w województwie kujawsko-pomorskim w latach 2006-2010. Rozprawa doktorska. UMP, Poznań 2012.
11. Dysarz R, Wiśniewski H. Przyrodnicze i edukacyjne walory Leśnego Parku Kultury i Wypoczynku w Myślicinku. WSP, Bydgoszcz 1999.
12. Wiśniewski H. Różnorodność biologiczna Leśnego Parku Kultury i Wypoczynku w Myślicinku i jej uwarunkowania. [w:] Przyroda Bydgoszczy. Banaszak J (red). UKW, Bydgoszcz 2004: 179-210.
13. Dudek K. Brda i Kanał Bydgoski: monografia mostów województwa kujawsko-pomorskiego. Związek Mostowców RP, Grudziądz-Bydgoszcz 2012.
14. Jenek J, Głazaczow A. Ocena występowania krętków *Borrelia burgdorferi sensu lato* w kleszczach *Ixodes ricinus* w wybranych rejonach wielkopolski metodą łańcuchowej reakcji polimerazy (PCR). *Przegl Epidemiol* 1996, 50(4): 383-386.
15. Humiczewska M. Aktywność sezonowa kleszczy *Ixodes ricinus* w biotopach nadwodnych i leśnych Szczecina i okolic oraz ich zakażenie krętkami *Borrelia burgdorferi*. *Wiad Parazytol* 2001, 47(3): 389-393.
16. Skotarczak B, Wodecka B. Występowanie krętków *Borrelia burgdorferi* s.l. u kleszczy *Ixodes ricinus* w lasach województwa szczecińskiego. *Wiad Parazytol* 1998, 44(2): 227-232.
17. Skotarczak B, Wodecka B. Występowanie *Ixodes ricinus* na wybranych terenach rekreacyjnych b. województwa szczecińskiego. Cz. 2. *Wiad Parazytol* 2000, 46(2): 265-272.
18. Strzelczyk JK, Wiczkowski A, Spausta G i wsp. Obecność krętków *Borrelia burgdorferi sensu lato* u kleszczy *Ixodes ricinus* na terenach rekreacyjnych okolic Tarnowskich Gór i Zabrza w latach 2001-2003. *Przegl Epidemiol* 2006, 60(3): 589-595.
19. Pawełczyk A, Siński E. Prewalencja zakażenia kleszczy *Ixodes ricinus* krętkami *Borrelia burgdorferi sensu lato*: sezonowe i roczne zmiany. *Wiad Parazytol* 2004, 50(2): 253-258.
20. Chmielewska-Badora J. Identyfikacja *Anaplasma phagocytophilum* w kleszczach *Ixodes ricinus* na podstawie amplifikacji fragmentów genu 16 SR DNA i Epank 1 w aspekcie zakażeń pracowników leśnictwa. IMW, Lublin 2006.

21. Cisak E, Chmielewska-Badora J, Wójcik-Fatla A. Badania nad lokalnym zróżnicowaniem gatunków genomowych *Borrelia burgdorferi* w kleszczach zebranych z różnych regionów Lubelszczyzny. *Przeegl Epidemiol* 2006, suppl 1: 195.
22. Kaniowska M. Kleszcze (Ixodidae) zasiedlające wybrane siedliska leśne. Praca dyplomowa. UT-P, Bydgoszcz 2007.
23. Brochocka A. Dynamika liczebności kleszczy (Acari: Ixodidae) Bydgoszczy i okolic. Praca dyplomowa. UT-P, Bydgoszcz 2010.
24. Błażejowicz-Zawadziska M, Brochocka A, Żelazna E. Dynamic of the tick (Acari: Ixodidae) abundance in Bydgoszcz city and the surrounding area. [in:] *Urban fauna: Studies of animal biology, ecology and conservation in European Cities*. Indykiewicz P, Jerzak L, Böhner J, Kavanagh B (eds). UT-P, Bydgoszcz 2011: 43-49.
25. Kubiak K, Dziekońska-Rynko J. Seasonal activity of the common European tick, *Ixodes ricinus* (Linnaeus, 1758), in the forested areas of the city of Olsztyn and its surroundings. *Wiad Parazytol* 2006, 52(1): 59-64.
26. Siuda K, Nowak M. Zagrożenia atakami kleszczy na szlakach turystycznych w województwie małopolskim. *Konспект* 2006, 26(2-3): 42-48.
27. Wegner Z, Stańczak J, Racewicz M i wsp. Pierwsze doniesienia o występowaniu krętków *Borrelia* w kleszczach na wybranych terenach Polski. *Bull Inst Mar Trop Med* 1994, 27: 67-68.
28. Wegner Z, Stańczak J, Racewicz M i wsp. Borelioza z Lyme i inne choroby przenoszone przez kleszcze. Materiały pokonferencyjne. Międzynarodowe Sympozjum pt. Borelioza z Lyme i inne choroby przenoszone przez kleszcze. Białystok 1995.
29. Siński E, Karbowski G, Siuda K i wsp. Zakażenie kleszczy *Borrelia burgdorferi* w wybranych rejonach Polski. *Przeegl Epidemiol* 1994, 48: 461-465.
30. Jenek J, Siuda K. Ocena występowania krętków *Borrelia burgdorferi* sensu lato w kleszczach *Ixodes ricinus* w muzealnej kolekcji kleszczy ocenione metodą łańcuchowej reakcji polimerazy (PCR). *Przeegl Epidemiol* 1997, 51(4): 437-440.
31. Stańczak J, Kur J, Kubicka-Biernat B i wsp. Wykrywanie *Borrelia burgdorferi* sensu lato w kleszczach *Ixodes ricinus* techniką PCR. XXIII Zjazd Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów, Łódź 1996: 522.
32. Stańczak J, Racewicz M, Kubicka-Biernat B, et al. Prevalence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in *Ixodes ricinus* ticks (Acari, Ixodidae) in different Polish woodlands. *Ann Agric Environ Med* 1999, 6(2): 127-132.
33. Stańczak J, Kubicka-Biernat B, Burkiewicz A i wsp. Wstępne badania nad zastosowaniem techniki reakcji łańcuchowej polimerazy (PCR) do wykrywania krętków *Borrelia burgdorferi* sensu lato w kleszczach *Ixodes ricinus* (Acari, Ixodidae). *Probl Hig* 1997, 54: 122-126.
34. Nowosad A, Jenek J, Głazaczow A, Wal M. Kleszcze pospolite *Ixodes ricinus* (Linnaeus, 1758) z wybranych lasów komunalnych Poznania oraz ich zakażenie krętkami *Borrelia burgdorferi* sensu lato. *Przeegl Epidemiol* 1999, 53(3-4): 299-308.
35. Tylewska-Wierzbanowska S, Żabicka J. Borelioza z Lyme. [w:] *Choroby zakaźne i ich zwalczanie na ziemiach polskich XX wieku*. Kostrzewski J, Magdzik W, Naruszewicz-Lesiuk D. PZW, Warszawa 2001: 153-159.
36. Hajdul M, Zaremba M, Karbowski G i wsp. Ryzyko zakażenia krętkami *Borrelia burgdorferi* s.l. w biotopach leśnych okolic Warszawy. [w:] *Stawonogi. Znaczenie epidemiologiczne*. Buczek A, Błaszak C (red). Koliber, Lublin 2006: 195-203.
37. Komoń T, Sytykiewicz H. Występowanie *Borrelia burgdorferi* s.l. w wybranych populacjach kleszczy *Ixodes ricinus* na terenie Nadbużańskiego Parku Krajobrazowego. *Wiad Parazytol* 2007, 53(4): 309-317.
38. Siński E, Karbowski G, Marciniak T i wsp. Kleszcze *Ixodes ricinus* w szerzeniu się zakażeń *Borrelia burgdorferi* sensu lato. *Probl Hig* 1997, 54: 116-121.
39. Mrożek-Budzyn D. Borelioza z Lyme. *Przeegl Epidemiol* 1999, 53(3-4): 325-330.
40. Hayes EB, Piesman J. How can we prevent Lyme disease? *N Engl J Med* 2003, 348(24): 2424-2430.
41. Zajkowska MJ, Kondrusik M, Malzahn E i wsp. Zmiany środowiskowe a zachorowania na choroby odkleszczowe. [w:] *Stawonogi. Znaczenie epidemiologiczne*. Buczek A, Błaszak C (red). Koliber, Lublin 2006: 233-239.