

Tomasz Chmielewski¹, Krystin Andrzejewski², Ilona Mączka¹, Beata Fiecek¹, Monika Radlińska³, Stanisława Tytlewska-Wierzbanowska¹

KLESZCZE ZAKAŻONE BAKTERIAMI CHOROBTWÓRCZYMI DLA CZŁOWIEKA NA TERENACH PARKÓW MIEJSKICH WARSZAWY

TICKS INFECTED WITH BACTERIA PATHOGENIC TO HUMANS IN MUNICIPAL PARKS IN WARSAW

1. Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego - Państwowy Zakład Higieny Warszawie Samodzielna Pracownia Riketsji Chlamydii i Krętków Odzwierzęcych
2. Instytut Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. M. Mossakowskiego PAN w Warszawie, Zakład Neurobiologii Oddychania
3. Wydział Biologii Uniwersytetu Warszawskiego Instytut Mikrobiologii, Zakład Wirusologii

STRESZCZENIE

Celem pracy było stwierdzenie, czy kleszcze występujące w parkach miejskich Warszawy są zakażone chorobotwórczymi dla człowieka bakteriami, takimi jak: *Borrelia burgdorferi* sensu lato, *Rickettsia* spp, i *Coxiella burnetii*. Zebrano 244 kleszcze *Ixodes ricinus* w Łazienkach Królewskich, w Parku Sowińskiego, Parku Ujazdowskim, Parku Fort Bema i na Polach Mokotowskich. W celu wykrycia poszukiwanych bakterii zastosowano technikę PCR. Wykazano, że 6,1% kleszczy z parków Warszawy jest zakażonych *B. burgdorferi* sensu lato i 2,9% *Rickettsia* spp. Analiza wyników sekwencjonowania wykazała w badanych kleszczach obecność bakterii *B. burgdorferi* sensu stricto i *R. helvetica*.

Słowa kluczowe: *Ixodes ricinus*, *Borrelia burgdorferi*, *Rickettsia* spp., *Coxiella burnetii*, parki miejskie Warszawy

ABSTRACT

The aim of the study was to detect bacteria pathogenic to humans, such as *Borrelia burgdorferi* sensu lato, *Rickettsia* spp, and *Coxiella burnetii* in ticks found in municipal parks in Warsaw, including The Royal Łazienki Park, Mokotów Fields, Józef Sowiński Park, Ujazdów Park and Fort Bema Park. To detect microorganisms PCR technique was used. It was shown that 6.1% of the ticks in Warsaw's parks are infected with *B. burgdorferi* sensu lato, and 2.9% with *Rickettsia* spp. Analysis of sequencing results revealed in examined ticks the presence of *B. burgdorferi* sensu stricto and *R. helvetica*.

Key words: *Ixodes ricinus*, *Borrelia burgdorferi*, *Rickettsia* spp., *Coxiella burnetii*, municipal parks in Warsaw

WSTĘP

W Polsce stwierdzono występowanie 19 gatunków kleszczy (1). Najbardziej rozpowszechnionym gatunkiem w Polsce jest *I. ricinus*. Preferuje on stanowiska o średniej i dużej względnej wilgotności powietrza od 80 do 100% w lasach liściastych, mieszanych z silnie rozwiniętym podszyciem i runem, obrzeżach lasów, łąkach śródleśnych i pastwiskach w pobliżu lasów. Ze względu na niewielką ruchliwość obserwuje się ich koncentrację w okolicach ścieżek, którymi podążają potencjalni żywicieli. Młodociane formy *I. ricinus* występują w miejscach dużego zagęszczenie drobnych kręgowców, głównie myszy leśnych i nornic. Coraz

częściej notuje się ich obecność w obrębie miast (parki, prywatne ogrody) i terenów uprzemysłowionych gdzie ryzyko zakażenia poszczególnymi patogenami staje się porównywalne do biotopów leśnych (2). Są one potencjalnym wektorem i źródłem zakażenia takimi drobnoustrojami chorobotwórczymi dla człowieka jak: *Borrelia burgdorferi* sensu lato, *Rickettsia* spp., *Coxiella burnetii*, *Anaplasma phagocytophilum*, *Bartonella* spp., *Francisella tularensis*, *Babusia microti*, wirus należący do rodziny *Flaviviridae* (2, 3).

Najczęstszą zoonozą przenoszoną przez kleszcze jest borelioza z Lyme. Według danych NIZP-PZH zapadalność w 2009 roku na tę chorobę w Polsce wynosiła 27,1 na 100 000 mieszkańców (4). Czynnikiem etiolo-

gicznym zakażenia jest gatunek *B. burgdorferi* sensu lato, w obrębie którego wyróżniono 7 genogatunków chorobotwórczych dla człowieka: *B. burgdorferi* sensu stricto, *B. afzelii*, *B. garinii*, *B. bissetti*, *B. spielmanii*, *B. lusitaniae*, *B. valaisiana* (5).

Bakterie *Rickettsia* sp. to obligatoryjne wewnątrzkomórkowe pasożyty, wywołujące choroby nazywane gorączkami plamistymi (ang *spotted fever group* SFG). Na terenie Polski wykrywane są *R. raoultii* występujące w kleszczach *I. ricinus* i *Dermacentor reticulatus*, *R. helvetica* w *I. ricinus* oraz *R. slovaca* w *D. reticulatus* (6). W badaniach przeprowadzonych u pracowników leśnych przeciwciała dla riketsji przenoszonych przez kleszcze wykryto u 14,7% badanych (7).

C. burnetii jest czynnikiem etiologicznym gorączki Q. Jest to zoonoza występująca we wszystkich strefach geograficznych i klimatycznych (8). Badanie przeprowadzone w Polsce w roku 1996 wykazało obecność *C. burnetii* u 0,19% kleszczy *Ixodes ricinus* z województw kieleckiego i tarnobrzesckiego (9).

Celem niniejszej pracy było określenie gatunków kleszczy występujących w parkach miejskich Warszawy oraz wykrycie w nich bakterii chorobotwórczych dla człowieka, takich jak: *B. burgdorferi* sensu lato, *Rickettsia* sp. z grupy gorączek plamistych oraz *C. burnetii*.

MATERIAŁ I METODY

Wybrano 5 parków w lewobrzeżnej części Warszawy: Łazienki Królewskie (powierzchnia 76 ha), Pola Mokotowskie (68 ha), Park Sowińskiego (8,3 ha), Park Ujazdowski (5,7 ha) oraz Park Fort Bema (22 ha). Wybrane miejsca są oddalone od siebie o około 4 km, oprócz Łazienek Królewskich i Parku Ujazdowskiego, które dzieli odległość 1 km. Kleszcze zbierano z roślinności metodą flagowania na losowo wyznaczonych

obszarach parków miejskich w okresie od kwietnia do połowy października 2009 i 2010 roku.

Na podstawie cech morfologicznych oznaczano gatunek, stadium rozwojowe i płeć poszczególnych osobników. Do czasu dalszych analiz przechowywano je zamrożone w -18°C.

Po rozmrożeniu, kleszcze osuszano na ligninie, następnie cięto i inkubowano w 120 µl 0,7 M NH₄OH, w temperaturze 100°C, w termomikserze (Comfort, Eppendorf AG, Hamburg) przez 20 minut. Po inkubacji, obniżano temperaturę do 70°C i odparowywano amoniak. Po odparowaniu uzupełniano zawiesinę do 50 µl sterylną wodą i mieszano przez 5 minut. Następnie wirowano w wirówce (Eppendorf 5415R) przez 10 min przy obrotach 13,5 g. Po wirowaniu około 50 µl supernatantu przenoszono do jałowych probówek. Materiał zamrażano do czasu dalszych analiz (10, 11).

Łańcuchową reakcją polimeryzacji (PCR) przeprowadzano w termocyklerze (MiniCycler MJ Research) przy użyciu odpowiednich starterów (tabela I). W celu wykrycia obecności DNA *Borrelia burgdorferi* w kleszczach, wykorzystano pary starterów OA149, OA319 oraz R1, R2. Kontrolę dodatnią stanowiło DNA *B. burgdorferi* sensu stricto. Do wykrycia obecności DNA *Rickettsia* spp. wykorzystano startery RpCS.409d, RpCS.1258n. Różnicowanie gatunków, w próbach, z których uzyskano amplifikaty, przeprowadzono z wykorzystaniem starterów Rr190-70, Rr190-701 oraz Rr17.61p, Rr17.492n. Kontrole dodatnie reakcji stanowiło DNA *R. conori*, *R. slovaca* i *R. helvetica* (szczepy z kolekcji NIZP-PZH). Obecność DNA *C. burnetii* wykrywano stosując parę starterów COX-F, COX-R. Kontrolę dodatnią stanowiło DNA *C. burnetii* szczep Henzerling.

Rozdział produktów reakcji PCR prowadzono na 2,5% żelu agarozowym przez 40 minut przy napięciu 110 V i natężeniu 400A. Po rozdziale elektrofore-

Tabela I. Wykrywanie bakterii chorobotwórczych dla człowieka w kleszczach z parków miejskich Warszawy techniką PCR. Sekwencje starterów reakcji PCR stosowanych w wykrywaniu *B. burgdorferi*, *Rickettsia* spp. i *Coxiella burnetii*
Table I. Detection of bacteria pathogenic for human in municipal parks in Warsaw by PCR strategy. Sequences of PCR primers used to detect *B. burgdorferi*, *Rickettsia* spp. and *Coxiella burnetii*

Bakteria	Fragment amplifikowanego genu	Wielkość produktu	Nazwa startera	Sekwencja nukleotydowa startera	Pozycja literatury
<i>Borrelia burgdorferi</i> sensu lato	OspA - gen białka błony zewnętrznej	170 pz	OA 149	5'-TTATGAAAAATATTATTGGGAAT-3'	(12)
			OA 319	5'-CTTTAAGCTCAAGCTTGCTACTGT-3'	
	rfl(5S)-rrl(23S) 5S/23S rRNA	250 pz	Rrf	5'-CTG CGA GTT CGC GGG AGA-3'	(13)
<i>Rickettsia</i> spp.	gltA- gen syntazy cytrynianu	850 pz	RpCS.409d	5'-CCT ATG GCT ATT ATG CTT GC-3'	(14)
			RpCS.1258n	5'-ATT GCA AAA AGT ACA GTG AAC A-3'	
	OmpA – gen białka błony zewnętrznej	630 pz	Rr190-70	5'- ATG GCG AAT ATT TCT CCA AAA -3'	(15)
			Rr190-701	5'- GTT CCG TTA ATG GCA GCA TCT -3'	
	17 kDa białko	435 pz	Rr17.61p	5'- GCT CTT GCA ACT TCT ATG TT -3'	(16)
Rr17.492n			5'- CAT TGT TCG TCA GGT TGG CG -3'		
<i>Coxiella burnetii</i>	ls1111a – gen transpozonu	295 pz	COX-F	5'- GTC TTA AGG TGG GCT GCG TG -3'	(17)
			COX-R	5'- CCC CGA ATC TCA TTG ATC AGC -3'	

tycznym, żel barwiono w roztworze bromku etydyny. Wyniki odczytywano przy wykorzystaniu systemu do dokumentacji żeli firmy Kucharczyk.

Produkty reakcji PCR sekwencjonowano na sekwencjonatorze ABI Prism 377 DNA Sequencer (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). Otrzymane sekwencje odczytywano przy pomocy programu FinchTV, a następnie sprawdzano chromatogramy w celu ich ewentualnego skorygowania. Porównywano je z sekwencjami znajdującymi się w bazie danych GenBank poprzez zastosowanie algorytmu BLAST (ang. *Best Local Alignment Searching Tool*). Za pomocą programu ClustalX 2.0 porównywano sekwencje (ang. *alignment*), w celu stwierdzenia ewentualnych różnic (polimorfizmy).

WYNIKI

Łącznie zebrano 244 kleszcze w 4 z 5 badanych parków miejskich. Nie znaleziono kleszczy na terenie Parku Fort Bema (tab. II i III). Wszystkie kleszcze należały do gatunku *I. ricinus*. Największą liczbę 228 kleszczy zebrano w Łazienkach Królewskich. Dorosłe osobniki stanowiły 82,8% z wszystkich stadiów rozwojowych zebranych kleszczy na obszarze parków.

DNA *B. burgdorferi* sensu lato wykryto u 15 (6,1%) dorosłych kleszczy, w tym u 13 (5,7%) na terenie Łazienek Królewskich, u jednego na Polach Mokotowskich i u jednego w Parku Ujazdowskim (tab. II). Nie stwierdzono zakażonych larw i nimf. Ze względu na małą ilość

produktu PCR (słabe prążki) zsekwencjonowano tylko jeden fragment zamplifikowanego genu 5S/23S rRNA kleszcza z terenu Łazienek Królewskich. Otrzymana sekwencja nukleotydowa wykazała 100% zgodności z sekwencją *B. burgdorferi* sensu stricto szczepu CA8 (accesion no. GQ247742).

DNA *Rickettsia* spp. (fragment genu *gltA*) wykryto u 7 (%) kleszczy, w tym u 3 nimf i 4 dorosłych osobników zebranych w Łazienkach Królewskich. Fragment genu kodującego antygen 17 kDa uzyskano w 4 próbkach, z czego 2 zsekwencjonowano. Uzyskane sekwencje *Rickettsia* spp. pochodzą z 2 kleszczy w stadium nimfy. Sekwencje nukleotydowe z otrzymanych produktów PCR wykazały 100% identyczność z sekwencją GU292313 *R. helvetica*.

Nie stwierdzono zakażenia kleszczy bakterią *C. burnetii* oraz zakażeń mieszanych, tj. więcej niż jednym mikroorganizmem.

DYSKUSJA

Stwierdzono występowanie tylko jednego gatunku kleszczy *I. ricinus* na terenach czterech z pięciu badanych parków miejskich. Najbardziej reprezentatywna była grupa 228 kleszczy zebranych w Łazienkach Królewskich. Zaobserwowano wyraźne skupisko kleszczy w części parku przylegającej do ulicy Aleje Ujazdowskie. Łazienki Królewskie wg wcześniej opracowanej skali zagrożeń atakami kleszczy na miejskich terenach

Tabela II Kleszcze zakażone *Borrelia burgdorferi* s.l. wykryte na terenach parków miejskich Warszawy
Table II. Ticks infected with *Borrelia burgdorferi* s.l. detected in municipal parks of Warsaw

Park	Liczba odłowionych kleszczy					Liczba (%) zakażonych kleszczy				
	Wszystkie stadia	Larwy	Nimfy	Dorosłe		Wszystkie stadia	Larwy	Nimfy	Dorosłe	
				Samce	Samice				Samce	Samice
Łazienki Królewskie	228	1	28	121	78	13 (5,7)	0	0	6 (5,0)	7 (9,0)
Park Sowińskiego	4	2	2	0	0	0	0	0	0	0
Pola Mokotowskie	2	0	0	0	2	1 (50,0)	0	0	0	1 (50,0)
Park Ujazdowski	10	6	3	0	1	1 (10,0)	0	0	0	1 (100)
Fort Bema	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Razem	244	9	33	121	81	15 (6,1)	0	0	6 (5,0)	9 (11,1)

Tabela III Kleszcze zakażone *Rickettsia* spp. wykryte na terenach parków miejskich Warszawy
Table III. Ticks infected with *Rickettsia* spp. detected in municipal parks of Warsaw

Park	Liczba odłowionych kleszczy					Liczba (%) zakażonych kleszczy				
	Wszystkie stadia	Larwy	Nimfy	Dorosłe		Wszystkie stadia	Larwy	Nimfy	Dorosłe	
				Samce	Samice				Samice	Samice
Łazienki Królewskie	228	1	28	121	78	7 (3,1)	0	3 (10,7)	3 (2,5)	1 (1,3)
Park Sowińskiego	4	2	2	0	0	0	0	0	0	0
Pola Mokotowskie	2	0	0	0	2	0	0	0	0	0
Park Ujazdowski	10	6	3	0	1	0	0	0	0	0
Fort Bema	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Razem	244	9	33	121	81	7 (2,9)	0	3 (9,1)	3 (2,5)	1 (1,2)

rekreacyjnych zostały sklasyfikowane jako obszar, na którym nie występują kleszcze (18). Znacząca różnica między poprzednimi i aktualnymi wynikami może być spowodowana przez to, że badający ten park skupili się na innych jego częściach. Nie można też wykluczyć, że kleszcze pojawiły się na tym terenie później, po czasie pierwszych badań. Uzyskane wyniki należałoby weryfikować powtarzając badania w kolejnych latach.

Odsetek kleszczy zakażonych *B. burgdorferi* sensu lato w parkach Warszawy wyniósł 6,1%. Nie stwierdzono zakażeń larw czy nimf. Uzyskane wyniki są zbliżone do otrzymywanych przez innych badaczy, w innych rejonach Polski. W badaniach w miejscowościach Dąbrowa i Zwierzyniec stwierdzono, że 4,3 % kleszczy *I. ricinus* zakażonych było tymi krętkami, w Puławach 3,4%, w Parczewie 11,4% (21). W badaniach z okolic Tarnowskich Gór i Zabrze stwierdzono, iż największy odsetek kleszczy zakażonych *B. burgdorferi* sensu lato był wśród samic (16,3%), nieco niższy u samców (13,2%), a najniższy u nimf (7,1%) (22). W lesie Osobowickim we Wrocławiu 12,5% nimf, 29,41% samic i 20% samców kleszczy gatunku *I. ricinus* zakażonych było *B. burgdorferi* sensu lato (20). Odsetek kleszczy *I. ricinus* zakażonych *B. burgdorferi* sensu lato zebranych w Trójmieście wynosił odpowiednio 12,9% w Gdańsku, 5,1% w Sopocie i 13,7% w Gdyni. Średnie zakażenie samic kleszczy w Trójmieście wynosiło 24,3%, samców 13,7% a nimf 7% (23). W warszawskim Lasku Bielańskim średnie zakażenie *B. burgdorferi* sensu lato wynosiło 19,2%, a w Dziekanowie Leśnym 31% (24). W badaniu tym stwierdzono występowanie czterech genogatunków: *B. burgdorferi* sensu stricto (14,2%), *B. afzelii* (14,2%), *B. garinii* (28,6%) oraz grupę krętków VS116 (42%).

Różnicowanie gatunków *Rickettsia* spp. wykazało w parkach Warszawy obecność w kleszczach *R. helvetica*. Nie stwierdzono natomiast *R. raoultii*. We wcześniejszych badaniach kleszczy zebranych z okolic Warszawy stwierdzono, że 23,4% osobników zakażonych było *R. raoultii*, a 2,8% *R. helvetica*. *R. helvetica* wykryta została również w województwie pomorskim, gdzie 2,9% kleszczy było zakażonych, w województwie świętokrzyskim - 8,5% kleszczy i w Białowieży - 2,8% kleszczy (25, 6).

Na terenach parków miejskich Warszawy około 9% kleszczy jest zakażonych różnymi drobnoustrojami chorobotwórczymi.

PODSUMOWANIE I WYNIKI

Prezentowane wyniki oraz wcześniej uzyskane przez innych badaczy wskazują, że *I. ricinus* będący najpospolitszym gatunkiem kleszcza w Polsce może mieć istotne znaczenie w szerzeniu się zakażeń *B.*

burgdorferi sensu lato i *Rickettsia* spp. na terenach miejskich. Badania monitorujące krążenie tych bakterii w środowisku oraz rozprzestrzenienie ich rezerwuaru i wektora na terenach miejskich powinny być okresowo powtarzane, w celu określenia zagrożenia tymi chorobami mieszkańców miasta, a zwłaszcza określonych grup zawodowych. Należy zwrócić uwagę na udział w tych procesach człowieka, wpływającego na środowisko poprzez pielęgnację zieleni miejskiej, gospodarkę odpadami i zagospodarowanie przestrzenne. Odpowiednie działania mogą doprowadzić do ograniczenia wzrostu populacji kleszczy i gryzoni, które stanowią ważny element w procesie szerzenia się chorób przenoszonych przez kleszcze, co spowoduje zmniejszenie ryzyka zakażenia i zachorowania na choroby przenoszone przez kleszcze.

PIŚMIENNICTWO

1. Siuda K, Majszyk A, Nowak M. Ticks (*Acari: Ixodida*) parasitizing birds (*Aves*) in Poland. *Biological Lett* 2006;43:147-151
2. Wójcik-Fatla A, Szymańska J, Buczek A. Choroby przenoszone przez kleszcze. Część I: *Ixodes ricinus* jako wektor i rezerwuar patogenów. *Zdr Publ* 2009;119:216-231.
3. Otranto D, Wall R. New strategies for the control of arthropod vectors of disease in dogs and cats. *Med Vet Entomol* 2008;22:291-302
4. Czarkowski MP, Cielebąk E, Kondej B, i in. Borelioza z Lyme/Krętkowica kleszczowa. W: Choroby zakaźne i zatrucia w Polsce w 2009 roku. NIZP- PZH – Zakład Epidemiologii, GIS – Departament Przeciwdemiczny. Warszawa 2010, str. 47.
5. Stanek G, Strle F. Lyme borreliosis: a european perspective on diagnosis and clinical management. *Curr Opin Infect Dis* 2009;22:450-454
6. Chmielewski T, Podsiadły E, Karbowski G, i in. *Rickettsia* spp. in ticks, Poland. *Emerg Infect Dis* 2009;15:486-8.
7. Podsiadły E, Chmielewski T, Karbowski G, i in. The Occurrence of Spotted Fever Rickettsioses and Other Tick-Borne Infections in Forest Workers in Poland. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2011;11:985-9
8. Kazar J. *Coxiella burnetii* infection. *Ann N Y Acad Sci* 2005;1063:105-14.
9. Tylewska – Wierzbanowska S, Kruszewska D, Chmielewski T, i in. Kleszcze jako rezerwuar *Borrelia burgdorferi* i *Coxiella burnetii* na terenie Polski. *Przeegl Epidemiol* 1996;50:245-51
10. Rijpkema S, Golubić D, Molkenboer M, i in. Identification of four genomic groups of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in *Ixodes ricinus* ticks collected in a Lyme borreliosis endemic region of northern Croatia. *Exp Appl Acarol* 1996;20:23-30.
11. Guy EC, Stanek G. Detection of *Borrelia burgdorferi* in patients with Lyme disease by the polymerase chain reaction. *J Clin Pathol* 1991;44:610-1.

12. Nocton JJ, Dressler F, Rutledge BJ, i in. Detection of *Borrelia burgdorferi* DNA by polymerase chain reaction in synovial fluid from patients with Lyme arthritis. *Engl J Med* 1994;330:229-34.
 13. Postic D, Assous MV, Grimont PAD, i in. Diversity of *Borrelia burgdorferi* sensu lato evidenced by restriction fragment length polymorphism of rrf (5S)-rrl (23S) intergenic spacer amplicons. *Int J Syst Bacteriol* 1994;44:743-752
 14. Roux V, Rydkina, E, Ereemeeva M, i in. Citrate synthase gene comparison, a new tool for phylogenetic analysis, and its application for the rickettsiae. *Int J Syst Bacteriol* 1997;47:252-261
 15. Roux V, Fournier PE, Raoult D. Differentiation of spotted fever group rickettsiae by sequencing and analysis of restriction fragment length polymorphism of PCR-amplified DNA of the gene encoding the protein rOmpA. *J Clin Microbiol* 1996;34:2058-65.
 16. Webb L, Carl M, Malloy DC, i in. Detection of murine typhus infection in fleas by using the polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* 1990;28:530-4.
 17. Klee S. R., Tyczka J., Ellerbrok H., i in. Highly sensitive real-time PCR for specific detection and quantification of *Coxiella burnetii*. *BMC Microbiology*. 2006; 6: 2
 18. Supergan M, Karbowski G. Skala zagrożeń atakami kleszczy na miejskich terenach rekreacyjnych. *Przeegl Epidemiol* 2009;63:67 -71
 19. Siuda K. Kleszcze (Acari, Ixodida) Polski. Część I zagadnienia ogólne. Warszawa: Wydawnictwo Naukowe PWN; 1991
 20. Buczek A, Błaszak C. Stawonogi, Środowisko, patogeny i żywicieli. Lublin: KOLIBER; 2007
 21. Wojcik - Fatla A., Szymańska J., Wdowiak L., i in. Coincidence of three pathogens (*Borrelia burgdorferi* sensu lato, *Anaplasma phagocytophilum*, *Babesia microti*) in *Ixodes ricinus* ticks in the Lublin makroregion. *Ann Agric Environ Med* 2009;16:151-158
 22. Strzelczyk JK, Wiczowski A, Spausta G, i in. Obecność krętków *Borrelia burgdorferi* sensu lato u kleszczy *Ixodes ricinus* na terenach rekreacyjnych Okolic Tarnowskich Gór i Zabrze w latach 2001-2003. *Przeegl Epidemiol* 2006;60:589- 595
 23. Stańczak J, Gabre RM, Kruminis-Łozowska W, i in. *Ixodes ricinus* as a vector of *Borrelia burgdorferi* sensu lato, *Anaplasma phagocytophilum* and *Babesia microti* in urban and suburban forests. *Ann Agric Environ Med* 2004;11:109-14.
 24. Siński E, Rijpkema SGT. Występowanie zakażeń *Borrelia burgdorferi* s.l. u kleszczy *Ixodes ricinus* w miejskim i podmiejskim biotopie leśnym. *Przeegl Epidemiol* 1997;51:431- 435
 25. Stańczak J. The occurrence of Spotted Fever Group (SFG) Rickettsiae in *Ixodes ricinus* ticks (Acari: Ixodidae) in northern Poland. *Ann NY Acad Sci* 2006;1078:512-514.
- Otrzymano: 6.09.2011 r.
Zaakceptowano do druku: 29.09.2011 r.
- Adres do korespondencji:**
- Tomasz Chmielewski
Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego-PZH
Samodzielna Pracownia Riketsji, Chlamydii
i Prątków Odzwierzęcych
ul.Chocimska 24, 00-791 Warszawa
e-mail:Chmielewski@pzh.gov.pl