

Instytut Biologii  
Uniwersytet Szczeciński  
Katedra Genetyki i Genomiki

**Urbanizacja a patogeny przenoszone przez kleszcze: studium porównawcze  
występowania bakterii z rodzaju *Rickettsia* w kleszczach w środowisku  
miejskim i naturalnym**

Urbanization and tick-borne pathogens: a comparative study of *Rickettsia* bacteria occurrence  
in ticks in urban and natural environments

**mgr Mariusz Piotrowski**

Promotor  
dr hab. Anna Rymaszewska, prof. US

Szczecin 2023

*Składam bezgraniczne wyrazy wdzięczności*

*dr hab. Annie Rymaszewskiej  
za nieocenione wsparcie i niewyczerpaną cierpliwość,  
za wiarę we mnie i moje pomysły. Dziękuję za bycie  
częścią moich "skrzydeł", które pozwoliły mi wyruszyć  
w drogę, o której marzyłem. Dziękuję za bycie  
mentorem i przewodnikiem na mojej naukowej drodze.  
Dziękuję za rady, wskazówki i inspirujące dyskusje.  
Dziękuję za poświęcony czas i gotowość do pomocy w  
każdym momencie. Dziękuję za przekazaną mądrość i  
niezwykłą osobowość. Dziękuję za życzliwość i  
serdeczność. To dzięki Pani wszystko stało się możliwe.  
DZIĘKUJĘ!*

Pracę dedykuję moim Dzieciom,  
Marcelinie i Leonowi,  
którzy są dla mnie źródłem motywacji  
do stawiania każdego kolejnego kroku.

---

**SPIS TREŚCI**

Wykaz skrótów.....	6
1. Wstęp.....	7
1.1. Riketsjozy jako nowo pojawiające się choroby zakaźne.....	7
1.2. Charakterystyka kleszczy.....	9
1.2.1. Morfologia kleszczy.....	12
1.2.2. Cykl rozwojowy kleszczy.....	15
1.2.3. Żerowanie kleszczy.....	17
1.2.4. Kleszcze jako wektory patogenów chorobotwórczych.....	19
1.2.5. Występowanie kleszczy.....	21
1.3. Charakterystyka bakterii z rodzaju <i>Rickettsia</i> .....	22
1.3.1. Biologia bakterii z rodzaju <i>Rickettsia</i> .....	24
1.3.2. Budowa genomu bakterii z rodzaju <i>Rickettsia</i> .....	28
1.3.3. Patogeneza bakterii z rodzaju <i>Rickettsia</i> .....	31
1.3.4. Epidemiologia bakterii z rodzaju <i>Rickettsia</i> .....	35
1.3.5. Rozmieszczenie geograficzne bakterii z rodzaju <i>Rickettsia</i> .....	39
2. Cel pracy.....	41
3. Materiały i metody.....	42
3.1. Teren badań.....	42
3.2. Zbiór kleszczy.....	46
3.3. Izolacja DNA z kleszczy.....	47
3.4. Detekcja bakterii z rodzaju <i>Rickettsia</i> .....	47
3.5. Sekwencjonowanie.....	48
3.6. Analiza statystyczna.....	49
4. Wyniki.....	50
4.1. Sezonowa aktywność kleszczy.....	50
4.1.1. Występowanie kleszczy w zależności od terenu odłowu.....	51
4.1.2. Występowanie kleszczy w zależności od stadium rozwojowego.....	53



---

4.1.3. Występowanie kleszczy w czasie i przestrzeni.....	56
4.1.4. Występowanie kleszczy w zależności od warunków środowiskowych.....	73
4.2. Molekularna identyfikacja bakterii z rodzaju <i>Rickettsia</i> .....	85
4.2.1. Występowanie bakterii z rodzaju <i>Rickettsia</i> w zależności od terenu odłowu kleszczy.....	86
4.2.2. Występowanie bakterii z rodzaju <i>Rickettsia</i> w zależności od stadium rozwojowego kleszczy.....	88
4.2.3. Występowanie bakterii z rodzaju <i>Rickettsia</i> w kleszczach w czasie i przestrzeni.....	91
4.2.4. Gatunki bakterii z rodzaju <i>Rickettsia</i> występujące w kleszczach.....	104
5. Dyskusja.....	117
5.1. Występowanie kleszczy.....	117
5.1.1. Zmiany w rozmieszczeniu kleszczy.....	118
5.1.2. Zmiany w sezonowej aktywności kleszczy.....	123
5.1.3. Występowanie kleszczy w środowisku miejskim i naturalnym.....	130
5.2. Obecność bakterii z rodzaju <i>Rickettsia</i> w populacjach kleszczy.....	145
5.2.1. Występowanie bakterii z rodzaju <i>Rickettsia</i> w środowisku miejskim i naturalnym.....	146
5.2.2. Identyfikacja molekularna bakterii z rodzaju <i>Rickettsia</i> .....	152
5.3. Zagrożenia zdrowotne występowania bakterii z rodzaju <i>Rickettsia</i> .....	154
6. Wnioski.....	158
7. Streszczenie.....	160
8. Summary.....	161
9. Wykaz prac naukowych powstałych podczas realizacji pracy doktorskiej.....	162
10. Literatura.....	163

## Wykaz skrótów

<b>AG</b>	- (ang. <i>Ancestral Group</i> ) grupa przodków
<b>ARP</b>	- (ang. <i>Actin-Related Proteins</i> ) białka powiązane z aktyną
<b>ATBF</b>	- (ang. <i>African tick bite fever</i> ) afrykańska gorączka kleszczowa
<b>DEBONEL</b>	- (ang. <i>Dermacentor-Borne Necrosis Erythema Lymphadenopathy</i> )
<b>DEET</b>	- N,N-dietylo-3-metylobenzamid
<b>EBAAP</b>	- etylo-butyloacetyloaminopropionian
<b>ECDC</b>	- (ang. <i>European Centre for Disease Prevention and Control</i> ) Europejskie Centrum ds. Zapobiegania i Kontroli Chorób
<b>EMF</b>	- (ang. <i>ElectroMagnetic Field</i> ) pole elektromagnetyczne
<b>FISF</b>	- (ang. <i>Flinders Island Spotted Fever</i> ) gorączka plamista Wyspy Flindersa
<b>IMGW</b>	- Instytut Meteorologii i Gospodarki Wodnej
<b>ISF</b>	- (ang. <i>Israeli Spotted Fever</i> ) izraelska gorączka plamista
<b>ITS</b>	- (ang. <i>Internal Transcribed Spacer</i> )
<b>JSF</b>	- (ang. <i>Japanese Spotted Fever</i> ) japońska gorączka plamista
<b>LAR</b>	- (ang. <i>Lymphangitis-Associated Rickettsiosis</i> )
<b>MSF</b>	- (ang. <i>Mediterranean Spotted Fever</i> ) śródziemnomorska gorączka plamista
<b>PCR</b>	- (ang. <i>Polymerase Chain Reaction</i> ) łańcuchowa reakcja polimerazy
<b>QTT</b>	- (ang. <i>Queensland Tick Typhus</i> ) dur kleszczowy z Queensland
<b>RMSF</b>	- (ang. <i>Rocky Mountain Spotted Fever</i> ) gorączka plamista Gór Skalistych - (ang. <i>Scalp Eschar and Neck Lymph Adenopathy</i> ) zespół chorobowy charakteryzujący się strupem na skórze głowy i powiększeniem węzłów chłonnych szyi
<b>SENLAT</b>	
<b>SFG</b>	- (ang. <i>Spotted Fever Group</i> ) grupa gorączek plamistych
<b>STT</b>	- (ang. <i>Siberian Tick Typhus</i> ) syberyjski dur kleszczowy
<b>TBEV</b>	- (ang. <i>Tick-Borne Encephalitis Virus</i> ) wirus kleszczowego zapalenia mózgu
<b>TG</b>	- (ang. <i>Typhus Group</i> ) grupa tyfusowa
<b>TIBOLA</b>	- (ang. <i>Tick-Borne Lymphadenitis</i> ) limfadenopatia odkleszczowa
<b>TRG</b>	- (ang. <i>Transitional Group</i> ) grupa przejściowa

## 1. Wstęp

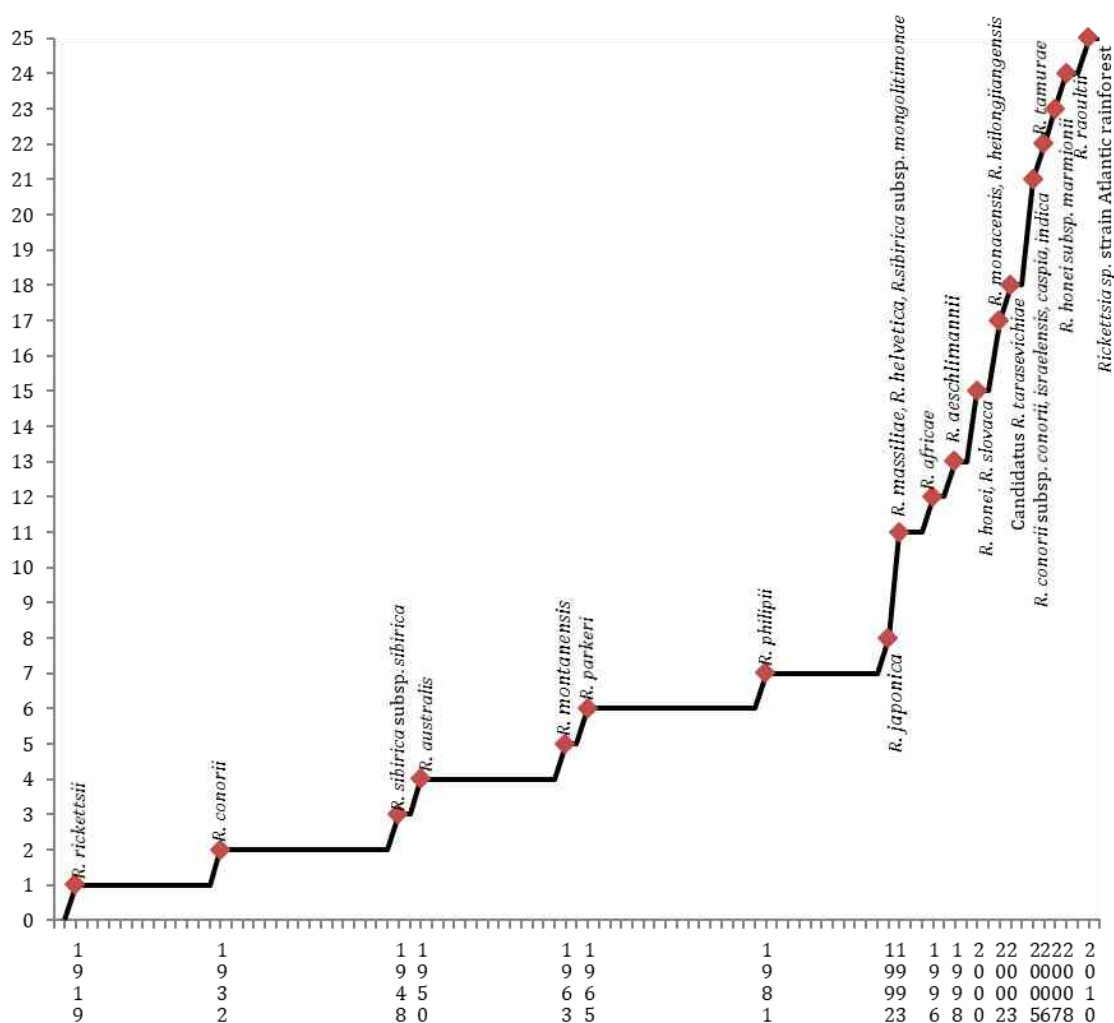
### 1.1. Riketsjozy jako nowo pojawiające się choroby zakaźne

Riketsjozy odkleszczowe wywoływane są przez obligatoryjne wewnątrzkomórkowe Gram-ujemne bakterie należące do grupy gorączek plamistych (SFG, *Spotted Fever Group*) rodzaju *Rickettsia*. Infekcje te zalicza się do najstarszych znanych chorób przenoszonych przez wektory (Parola i wsp. 2013). W ciągu ostatnich trzech dekad zaobserwowano dynamiczny wzrost rozpoznawalności tego kompleksu chorobowego. Tak wyjątkowe rozszerzenie wiedzy wynika w dużej mierze z postępującego rozwoju technik molekularnych w diagnostyce, które umożliwiły identyfikację zarówno nowych, jak i wcześniej rozpoznawanych riketsji. Wiele znanych obecnie bakterii z rodzaju *Rickettsia* przez lata uznawane były za niepatogenne. Co więcej, odkryto wiele nowych gatunków o nieznanym jeszcze potencjale patogennym. Również wiele riketsjoz, które przypisywane były jednemu gatunkowi kleszcza lub jednemu obszarowi geograficznemu obecnie identyfikowane są u wielu wektorów i w różnych rejonach świata (Merhej i Raoult 2011, Parola i wsp. 2013, Gillespie i wsp. 2015, Blanton 2019).

Rodzaj *Rickettsia* podzielony jest na 4 grupy: AG (ang. *ancestral group*), SFG (ang. *spotted fever group*), TG (ang. *typhus group*) oraz TRG (ang. *transitional group*) (Merhej i Raoult 2011, Parola i wsp. 2013, Gillespie i wsp. 2015, Blanton 2019).

Obecnie zidentyfikowano łącznie 26 patogennych gatunków bakterii należących do rodzaju *Rickettsia*, z czego większość została po raz pierwszy opisana w ostatnich trzydziestu latach (Ryc. 1). Głównym wektorem riketsji są kleszcze należące do rodzaju *Ixodes* (Parola i wsp. 2013). Nowo odkryte riketsje wpłynęły na nasze zrozumienie cech klinicznych i epidemiologii tych bakterii. Oprócz klasycznej triady objawowej, obejmującej gorączkę, wysypkę i ból głowy, wykazano, że każda riketsjoza charakteryzuje się specyficznymi cechami, w tym stopniem nasilenia i szybkości inokulacji. W odróżnieniu od Śródziemnomorskiej Gorączki Plamistej, która manifestuje się poprzez wystąpienie jednego strupa w miejscu ukłucia przez kleszcza, pacjenci z Afrykańską Gorączką Kleszczową mogą mieć kilka takich zmian. Zespół SENLAT (ang. *Scalp Eschar and Neck Lymphadenopathy*) charakteryzuje się natomiast powstawaniem strupa na skórze głowy z jednoczesnym powiększeniem szyjnych węzłów chłonnych. W przypadku Gorączki Plamistej Gór Skalistych, wysypka występuje na całym ciele, w tym również na skórze dłoni i podszwach stóp (Merhej i wsp. 2014). Wysypka może mieć charakter plamisto-grudkowy, podobnie jak w przypadku Gorączki Plamistej Gór Skalistych (RMSF, ang. *Rocky Mountain Spotted*

*Fever*) czy Śródziemnomorskiej Gorączki Plamistej. Może być również pęcherzykowa, co często obserwuje się w przypadkach Afrykańskiej Gorączki Kleszczowej, purpurowa w ciężkich przypadkach czy też w ogóle nieobecna. Tworzenie się strupów w miejscu ukłucia przez kleszcza stanowi charakterystyczny objaw dla wielu riketsjoz z grupy SFG, ale w niektórych przypadkach może nie występować, jak w przypadku RMSF. Riketsjozy mogą przebiegać łagodnie, ciężko, a nawet prowadzić do śmierci (Kernif i wsp. 2016).



**Ryc. 1.** Liczba patogennych gatunków bakterii należących do rodzaju *Rickettsia* poznawanych w kolejnych latach. Data odpowiada pierwszemu opisowi gatunku w literaturze (Piotrowski i Rymaszewska 2020).

Globalizacja oraz zmiany klimatyczne stanowią czynniki, które potencjalnie przyczyniają się do wzrostu transmisji riketsjoz przez kleszcze. Wzrastające temperatury wpływają zarówno na zwiększoną agresywność kleszczy, skłaniających się do częstszych ataków na ludzi, jak i na rejestrację infekcji w okresach nietypowych dla tych schorzeń

(Pfaffle i wsp. 2013, Merhej i wsp. 2014). Ponadto, rosnąca tendencja do podróżowania na odległe i egzotyczne obszary świata przyczynia się do zwiększonego ryzyka ekspozycji na kleszcze przenoszące choroby w tym riketsjozy (Pfaffle i wsp. 2013, Delord i wsp. 2014).

Epidemiologia każdej riketsjozy przenoszonej przez kleszcze odzwierciedla dystrybucję geograficzną i sezonową aktywność wektorów kleszczowych oraz ich żywicieli zaangażowanych w przekazywanie tych patogenów. Dodatkową rolę odgrywają ludzkie zachowania, które narażają jednostki na ryzyko ekspozycji na kleszcze, a następnie przyczepiania się ich i infekcji. Dystrybucja riketsjoz odkleszczowych różni się w zależności od regionu geograficznego i jest zbliżona do pierwotnego rozmieszczenia wektorów kleszczowych. Z tego powodu istotne jest, aby lekarze posiadali wiedzę na temat obszarów, gdzie często występują riketsje przenoszone przez kleszcze. Opieka zdrowotna oraz specjaliści weterynarii powinni być świadomi zmian w rozmieszczeniu wektorów i być informowani o zidentyfikowanych i nowo pojawiających się patogenach przenoszonych przez kleszcze (Biggs i wsp. 2016).

## 1.2. Charakterystyka kleszczy

Największą liczbę chorób zakaźnych i pasożytniczych o istotnym znaczeniu medycznym przenoszą pajęczaki z rzędu *Ixodida*, czyli kleszcze. W ramach tego taksonu wyróżniamy cztery rodziny: *Argasidae*, *Nuttalliellidae*, *Amblyommidae* oraz *Ixodidae*. Najważniejszą rolę w przenoszeniu chorób odgrywają kleszcze z rodziny *Ixodidae* (Tab. 1) (Siuda 1993, Barker i Murrell 2004).

Kleszcze z rodziny *Ixodidae* pełnią ważną rolę w podtrzymywaniu naturalnych ognisk chorób transmisyjnych zarówno u ludzi, jak i zwierząt. Przedstawiciele tej rodziny występują w różnorodnych środowiskach lądowych, od obszarów polarnych aż po strefy międzyzwrotnikowe. Skuteczność kleszczy w przenoszeniu chorób i utrzymywaniu ich naturalnych ognisk zależy głównie od czynników biologicznych, takich jak ich cykl rozwojowy, sposób pobierania pokarmu, funkcje wydzielanej przez nie śliny, długość życia oraz liczba składanych jaj (Siuda 1993).

Na całym świecie istnieje około 900 różnych gatunków kleszczy, z czego 77 można znaleźć w Europie. W Polsce zaobserwowano trwale występowanie 19 gatunków kleszczy, ale okazjonalnie na zwierzętach migrujących naturalnie lub sprowadzanych przez hodowców, odnotowano dodatkowe 15 gatunków (Tab. 2) (Nowak-Chmura 2013).

**Tab. 1.** Systematyka rzędu *Ixodida*. W nawiasach podano liczbę opisanych gatunków kleszczy należących do danego rodzaju (Nowak-Chmura 2013).

Kategoria systematyczna	Takson
Typ:	<i>Arthropoda</i>
Podtyp:	<i>Chelicerata</i>
Gromada:	<i>Arachnida</i>
Podgromada:	<i>Acari</i>
Nadrząd:	<i>Anactinotrichida</i>
Rząd:	<i>Ixodida</i>
Podrząd:	<i>Argasina</i>
<b>Rodzina:</b>	<i>Argasidae</i>
Podrodzina:	<i>Argasinae</i>
Rodzaj:	<i>Argas</i> (57)
Podrodzina:	<i>Ornithodorinae</i>
Rodzaj:	<i>Carios</i> (88)
Rodzaj:	<i>Ornithodoros</i> (37)
Rodzaj:	<i>Otobius Banks</i> (3)
Podrząd:	<i>Ixodina</i>
<b>Rodzina:</b>	<i>Nuttalliellidae</i>
Podrodzina:	<i>Nuttalliellinae</i>
Rodzaj:	<i>Nuttalliella</i> (1)
<b>Rodzina:</b>	<i>Ixodidae</i>
Podrodzina:	<i>Ixodinae</i>
Rodzaj:	<i>Ixodes</i> (249)
<b>Rodzina:</b>	<i>Amblyommidae</i>
Podrodzina:	<i>Amblyomminae</i>
Rodzaj:	<i>Amblyomma</i> (142)
Rodzaj:	<i>Cornupalpatum</i> (1)
Podrodzina:	<i>Bothriocrotoninae</i>
Rodzaj:	<i>Bothriocroton</i> (5)
Podrodzina:	<i>Haemaphysalinae</i>
Rodzaj:	<i>Haemaphysalis</i> (166)
Podrodzina:	<i>Hyalomminae</i>
Rodzaj:	<i>Hyalomma</i> (25)
Rodzaj:	<i>Nosomma</i> (1)
Podrodzina:	<i>Rhipicephalinae</i>
Rodzaj:	<i>Anomalohimalaya</i> (3)
Rodzaj:	<i>Cosmiomma</i> (1)
Rodzaj:	<i>Dermacentor</i> (36)
Rodzaj:	<i>Margaropus</i> (3)
Rodzaj:	<i>Rhipicentor</i> (2)
Rodzaj:	<i>Rhipicephalus</i> (79)

Przyjmuje się, że wszystkie gatunki kleszczy, które na stałe występują na obszarze Polski zostały już zidentyfikowane. Niemniej jednak, wciąż istnieje brak wystarczającej wiedzy na temat większości tych gatunków. Potwierdzono, że większość kleszczy w Polsce jest zdolna do przenoszenia chorobotwórczych patogenów. Jednak w przypadku pięciu gatunków - *A. polonius*, *I. rugicollis*, *I. caledonicus*, *I. simplex*, *I. vespertilionis* - nie stwierdzono dotychczas ich potencjału medycznego (Nowak-Chmura i Siuda 2012).

Największa liczba kleszczy obcych gatunków, które nie są rodzime dla Polski, jest przynoszona przez migrujące zwierzęta, przede wszystkim ptaki, a także coraz częściej przez sprowadzane zwierzęta terraryjne. Chociaż obecne warunki klimatyczne w Polsce nie sprzyjają przetrwaniu i rozprzestrzenianiu się tych obcych gatunków kleszczy, ogólna tendencja globalnego ocieplania może prowadzić do przystosowania kleszczy pochodzących z cieplejszych obszarów świata. W efekcie może wystąpić ryzyko transmisji nowych chorób, które dotąd nie były obserwowane w Polsce (Nowak-Chmura i Siuda 2012).

**Tab. 2.** Kleszcze występujące w Polsce (Nowak-Chmura i Siuda 2012).

Rodzina	Gatunek
<i>Ixodidae</i>	kleszcz gryzoni, <i>Ixodes trianguliceps</i>
	kleszcz sikorczy, <i>Ixodes arboricola</i>
	kleszcz lisi, <i>Ixodes crenulatus</i>
	kleszcz jeżowy, <i>Ixodes hexagonus</i>
	kleszcz jaskółczy, <i>Ixodes lividus</i>
	kleszcz kuni, <i>Ixodes rugicollis</i>
	kleszcz skalny, <i>Ixodes caledonicus</i>
	kleszcz ptasi, <i>Ixodes frontalis</i>
	kleszcz włochaty, <i>Ixodes simplex</i>
	kleszcz nietoperzowy, <i>Ixodes vespertilionis</i>
	kleszcz moczarowy, <i>Ixodes apronophorus</i>
	kleszcz tajgowy, <i>Ixodes persulcatus</i>
kleszcz pospolity, <i>Ixodes ricinus</i>	
<i>Argasidae</i>	obrzeżek polski, <i>Argas polonius</i>
	obrzeżek gołębi, <i>Argas reflexus</i>
	obrzeżek nietoperzowy, <i>Carios vespertilionis</i>
<i>Amblyommidae</i>	<i>Haemaphysalis punctata</i>
	<i>Haemaphysalis concinna</i>
	kleszcz łąkowy, <i>Dermacentor reticulatus</i>

Żaden gatunek kleszczy nie atakuje wyłącznie człowieka. Zazwyczaj człowiek staje się przypadkowym żywicielem, ponieważ kleszcze często żerują na różnych gatunkach zwierząt. Ważne jest także to, że dostępne badania naukowe sugerują, iż nie wszystkie gatunki kleszczy obecne w Polsce wykazują tendencję do atakowania ludzi. Spośród kleszczy, które pasożytują na człowieku, można wymienić 10 gatunków: *A. reflexus*, *A. polonius*, *A. vespertilionis*, *I. crenulatus*, *I. hexagonus*, *I. persulcatus*, *H. punctata*, *H. concinna*, a zwłaszcza *I. ricinus* i *D. reticulatus* (Nowak-Chmura i Siuda 2012).

Najbardziej rozpowszechnionym gatunkiem kleszczy w Polsce, jak i całej Europie jest *I. ricinus*. Jego obszar występowania obejmuje terytorium całego kraju niezależnie od wysokości nad poziomem morza oraz rodzaju środowiska. Kleszcz pospolity występuje zarówno w górach jak i na terenach nizinnych, w lasach, na polanach, w parkach oraz na miejskich trawnikach, na terenach niezamieszkałych jak i w dużych aglomeracjach miejskich (Siuda 1993, Jongejan i Uilenberg 2004, Gray i wsp. 2009, Nowak-Chmura i Siuda 2012, Parola i wsp. 2013, Piotrowski i Rymaszewska 2020).

Kleszcz pospolity jest również gatunkiem istotnym z medycznego i weterynaryjnego punktu widzenia, gdyż stanowi wektor przenoszący różnorodne patogeny chorobotwórcze, takie jak wirusy, bakterie i pierwotniaki. Drugim pod względem liczebności gatunkiem jest kleszcz łąkowy, *D. reticulatus*. W Polsce większość udokumentowanych lokalizacji tego gatunku znajduje się głównie w północno-wschodniej i wschodniej części kraju (Siuda 1993, Nowak-Chmura i Siuda 2012), ale od niedawna jest również rejestrowany w zachodniej części Polski (Karbowiak i Kiewra 2010, Nowak 2011). W Poznaniu i w Wielkopolskim Parku Narodowym obecność *D. reticulatus* została po raz pierwszy udokumentowana w ramach prowadzonych badań do niniejszej pracy.

### 1.2.1. Morfologia kleszczy

U kleszczy z rzędu *Ixodida* nastąpił wyraźny zanik segmentacji ciała. Wtórnie można wyróżnić u nich idiosomę oraz gnatosomę, która zawiera narządy gębowe. U nienasyconych kleszczy, gnatosoma jest umieszczona na końcu idiosomy, co nadaje ciału kształt grzbietowo-brzusznie spłaszczony, o zarysie owalnym lub czasami okrągłym, z lekkim zwężeniem ku przodowi. W przypadku nasyconych larw, nimf oraz samic gnatosoma nagina się ku stronie brzusznej, przyjmując przednio-brzuszne położenie, a ciało przyjmuje kształt soczewkowaty, jajowaty lub kulisty. Pomimo wspólnego planu budowy, morfologia gnatosomy kleszczy pospolitych ulega znacznym zmianom w zależności od stadium

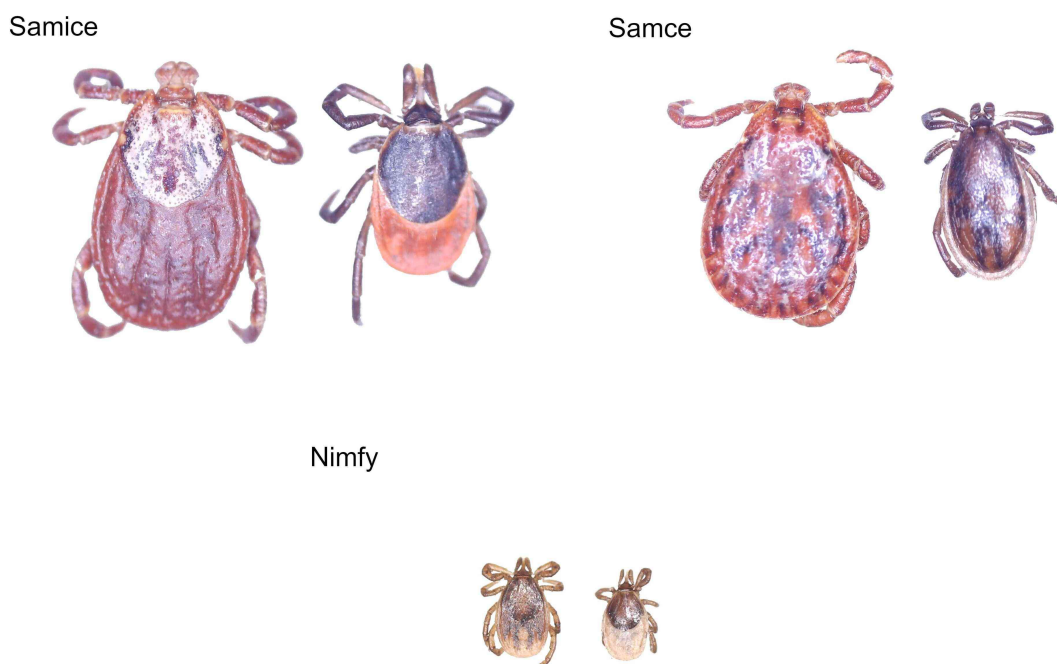


rozwojowego i płci. Idiosoma larw, nimf i samic jest w dużej części pokryta rozciągliwym oskórkiem, co pozwala na zwiększenie rozmiarów ciała podczas żerowania. Na przedniej stronie grzbietowej występuje owalna tarczka grzbietowa, składająca się z twardych, sklerotyzowanych tarczek. U samców tarczka grzbietowa pokrywa całą powierzchnię grzbietową, podczas gdy naskórek rozciągliwy pokrywa jedynie boczne obszary idiosomy. Z kolei na powierzchni brzusznej idiosomy larw, nimf i samic przeważnie obecny jest rozciągliwy i pofałdowany oskórek. U samców, brzuszna część idiosomy w całości jest pokryta sklerotyzowanymi tarczkami (Siuda 1993, Nowak-Chmura 2013).

Gnatosoma, szczególnie u kleszczy z rodziny *Ixodidae* i *Amblyommidae*, zbudowana jest z wysoce sklerotyzowanych elementów. Jej główną rolą jest zakotwiczenie kleszcza na ciele żywiciela i pobieranie pożywienia. Gnatosoma u kleszczy z rodziny *Ixodida* składa się z pary głaszczków, pary chelicery oraz pojedynczego hypostomu, które spoczywają na spłaszczonym pierścieniowatym podłożu gnatosomy. Głaszczki stanowią ruchome narządy gębowe, składające się z czterech segmentów, pozostające na zewnątrz skóry żywiciela podczas procesu żerowania kleszcza. Chelicery składają się z dwóch segmentów, z których jeden wyposażony jest w ząbki. Hypostom to uzębiony element gnatosomy, który przenika przez skórę żywiciela. Morfologia i rozmiar tych elementów, choć oparte na wspólnym planie budowy, wykazują znaczną różnorodność w zależności od stadium rozwojowego, płci i przynależności systematycznej (Siuda 1993, Nowak-Chmura 2013).

Kleszcze są dużymi roztocznymi, a ich wielkość zależy od gatunku, stadium rozwojowego, płci oraz stopnia nasycenia pokarmem (Ryc. 2). Rozmiary ciała kleszczy obejmują zakres od małych ułamków milimetra do około 30 mm u najedzonych samic reprezentujących większe gatunki. Przykładowo, wymiary ciała nienasyconych osobników najbardziej powszechnego kleszcza w Europie Środkowej, czyli *Ixodes ricinus*, prezentują się następująco: larwy mają długość ciała między 0,72 a 0,86 mm oraz szerokość między 0,44 a 0,53 mm; nimfy mają długość ciała w przedziale od 1,24 do 1,42 mm oraz szerokość od 0,71 do 0,77 mm; samce osiągają długość między 2,26 a 2,67 mm oraz szerokość między 1,21 a 1,52 mm; zaś samice mają długość ciała od 2,93 do 3,45 mm oraz szerokość między 1,59 a 1,93 mm. Natomiast nasycone samice mogą osiągać około 12 mm długości, 9 mm szerokości i 7 mm wysokości (Ryc. 3). Jeśli chodzi o wymiary drugiego co do liczby gatunku kleszcza, jakim jest *Dermacentor reticulatus*, to larwy mają długość ciała między 0,49 a 0,53 mm oraz szerokość od 0,40 do 0,42 mm; nimfy osiągają długość od 0,92 do 1,13 mm i szerokość od 0,63 do 0,89 mm; samce prezentują długość między 3,45 a 5,15 mm i szerokość od 2,2 do 3,1 mm, a samice mają długość od 2,75 do 4,75 mm i szerokość od 1,75 do 3,2 mm. Nasycone

samice *D. reticulatus* osiągają około 13 mm długości, 9 mm szerokości i 7 mm wysokości (Siuda 1993, Nowak-Chmura 2013).



**Ryc. 2.** Zestawienie porównawcze par odpowiednich stadiów rozwojowych gatunków *I. ricinus* i *D. reticulatus*. Z lewej strony: *D. reticulatus*, z prawej strony: *I. ricinus* (fot. Mariusz Piotrowski).

Ubarwienie ciała kleszczy zróżnicowane jest w zależności od gatunku, stadium rozwojowego oraz stopnia nasycenia pokarmem. Przedstawiciele tych pajęczaków mogą mieć ciało o różnych odcieniach, takich jak brudnobiałe, szare, bliskie fioletowemu, czerwone, brązowe, a nawet ciemnobrunatne, przy czym najczęstsze jest brązowo-czerwone ubarwienie. U niektórych kleszczy z rodziny Amblyomidae można zauważyć barwne wzory na ich wyraźnie zesklerotyzowanych częściach ciała oraz na segmentach nóg. Na przykład, kleszcze z rodzaju *Dermacentor* cechuje biały rysunek, podczas gdy tropikalne kleszcze z rodzaju *Amblyomma* wyróżniają się wielobarwnymi wzorami wielobarwnym wzorem (Siuda 1993, Nowak-Chmura 2013).



Ryc. 3. Nasycone samice *I. ricinus* (fot. Mariusz Piotrowski).

### 1.2.2. Cykl rozwojowy kleszczy

W cyklu życiowym kleszczy można wyodrębnić trzy stadia rozwojowe: larwa, nimfa i postać dorosła (Ryc. 4). Przekształcenie z jednego stadium rozwojowego do kolejnego oraz składanie jaj przez samice jest możliwe tylko po uprzednim pobraniu pokarmu. Każde ze stadiów kleszczy żeruje tylko raz, a okres żerowania trwa od kilku do kilkunastu dni, w zależności od gatunku. Ze względu na liczbę żywicieli w cyklu życiowym Ixodida wyróżnia się kleszcze jednożywicielowe, dwużywicielowe oraz trójżywicielowe (Siuda 1991, Prokopowicz 1995, Zygner i Wędrychowicz 2008).

Cykl życiowy kleszczy trzyżywicielowych jest najczęstszym i jednocześnie najstarszym ewolucyjnie modelem rozwoju. W tym cyklu każde stadium rozwojowe pasożytuje na innym, zazwyczaj większym od poprzedniego gospodarzu, a przekształcenie się w kolejne stadium oraz składanie jaj zachodzi poza organizmem gospodarza (Siuda 1991). Larwy i nimfy zazwyczaj pasożytują na płazach, gadach, ptakach i mniejszych ssakach, podczas gdy osobniki dorosłe wybierają ptaki lub większe ssaki w porównaniu do swoich poprzednich żywicieli. W cyklu trójżywicielowym mogą wystąpić wyjątki od tej reguły, a przykładem może być kleszcz *I. ricinus*, którego zarówno larwy, nimfy jak i osobniki dorosłe mogą pasożytować u przedstawicieli tego samego gatunku (Siuda 1995,

Buczek i wsp. 2004). Długość cyklu rozwojowego znacząco różni się w zależności od gatunku i tak na przykład dla *I. ricinus* może wynosić od 2 do 4 lat (Prokopowicz 1995).



Ryc. 4. Stadia rozwojowe kleszczy *I. ricinus*. Od lewej: samica, samiec, nimfa, larwa (fot. Mariusz Piotrowski).

Cykl życiowy kleszczy trójżywicielowych, ze względu na swoje unikalne cechy, odgrywa kluczową rolę w utrzymaniu krążenia patogenów w populacji dzikich zwierząt. W konsekwencji ma istotny wpływ na zdolność tych kleszczy do przekazywania chorób. Zarówno ludzie, jak i towarzyszące im zwierzęta, przypadkowo stają się gospodarzami podczas krążenia patogenów wśród populacji dzikich zwierząt. Sprzyja temu niska swoistość kleszczy trójżywicielowych względem żywiciela. Przykładowo, żywicielem dorosłych samic *I. ricinus* może być zarówno bydło, człowiek, jak i dzikie przeżuwacze, psy, lisy oraz inne lądowe kręgowce stałocieplne (Siuda 1993). Każde ze stadiów rozwojowych może zakazić się riketsjami podczas żerowania na żywicielu, u którego występują te bakterie. W populacji kleszczy natomiast riketsje mogą być rozpowszechniane drogą transtadialną, transowarialną i prawdopodobnie transspermalną. Ponadto riketsje mogą być również przenoszone między kleszczami podczas kopulacji na drodze kontaktu oralno-analnego (Ryc. 5). Nie wyklucza się także możliwości przenoszenia patogenów podczas bardzo rzadko obserwowanego zjawiska hiperparazytyzmu, w którym to nienasycone kleszcze żerują na osobnikach nasyconych (Buczek i wsp. 2020)



Ryc. 5. Kopulacja kleszczy *I. ricinus* (fot. Mariusz Piotrowski).

### 1.2.3. Żerowanie kleszczy

Większość gatunków kleszczy trójżywieliowych, biernie oczekuje na żywiciela na roślinach, zazwyczaj na wysokości odpowiedniej dla niego wysokości. Kluczową rolę w procesie identyfikacji żywiciela odgrywiają receptory zwane sensillami, które znajdują się w obrębie organu Hallera, głaszczkach, szczękach oraz na tarczce grzbietowej (Siuda 1991, Buczek i Magdoń 1999). Spośród tych receptorów szczególnie istotnym jest organ Hallera, umiejscowiony na górnej stronie stopy pierwszej pary nóg (Siuda 1991, Parola i Raoult 2001, Buczek i wsp. 2004). Organ ten pełni funkcję odbierania różnych rodzajów bodźców sensorycznych, takich jak mechaniczne, chemiczne i termiczne, ale przede wszystkim odgrywa istotną rolę jako narząd węchu (Siuda 1991).

Kleszcze wykrywają obecność swojego żywiciela za pomocą różnych bodźców, takich jak obecność dwutlenku węgla, zapach potu, wibracje podłoża oraz wyższa temperatura ciała żywiciela w porównaniu do otoczenia. Po zidentyfikowaniu swojego żywiciela, kleszcze wyprostowują pierwszą parę nóg, na których znajdują się receptory Hallera na stopach, i przyciągają się do niego, aktywnie przedostając się na jego ciało (Siuda 1991, Buczek i Magdoń 1999, Parola i Raoult 2001). Następnie rozpoczynają wędrówkę, która może trwać do kilku godzin, w poszukiwaniu odpowiednich miejsc do przyczepienia. Kleszcze preferują obszary silnie unaczynione, o delikatnej skórze, zacienione, o stałej temperaturze i wilgotności (Siuda 1991, Zygner i Wędrychowicz 2008). Takie obszary na ciele zwierząt obejmują między innymi małżowiny uszne, szyję, pachy, pachwiny, okolice odbytu oraz brzuszną stronę tułowia (Zygner i Wędrychowicz 2008).

Jednym z wyraźnych dostosowań kleszczy do pasożytnictwa jest budowa ich odnóży, w szczególności układu mięśniowego i struktury na ich powierzchni, takie jak szpony, kolce, szczecinki i przyłgi. Długie przyłgi, które sięgają do wierzchołka wygiętych brzusznie

pazurów u kleszczy *I. ricinus*, umożliwiając przyczepianie się do sierści zwierząt, piór ptaków czy do odzieży ludzi podczas poszukiwania odpowiedniego miejsca do żerowania (Buczek i wsp. 2004).

W miejscu przyczepu, kleszcze wbijają swoje szczęki w skórę żywiciela, a następnie wprowadzają hypostom. Hypostom jest wyposażony w zęby i pełni kluczową rolę w przytwierdzeniu się kleszcza do skóry żywiciela (Siuda 1991, Buczek i wsp. 2004). W procesie tym towarzyszy intensywne wydzielanie śliny, która szybko twardnieje, tworząc swoisty "futorialik cementowy". Struktura ta wzmacnia przyczepność kleszcza do skóry żywiciela, co umożliwia długotrwałe pobieranie pokarmu (Siuda 1991, Zygner i Wędrychowicz 2008). Proces tworzenia futorialika trwa zazwyczaj od 48 do 72 godzin (Siuda 1991, Nuttall i Labuda 2004, Wikel 2018).

Pobieranie pokarmu przez kleszcze odbywa się dzięki ssąco-tłoczącemu działaniu gardzieli, co skutkuje naprzemiennym zasysaniem płynnego pokarmu oraz wstrzykiwaniem śliny do rany w skórze żywiciela. Faza wstrzykiwania śliny trwa krótko, zazwyczaj mniej niż 1 sekundę, podczas gdy etap ssania pokarmu trwa od 1 do 30 sekund. Pomiędzy tymi okresami występują przerwy, trwające od kilku sekund do kilku minut (Siuda 1991, Nuttall i Labuda 2004). U niektórych gatunków kleszczy może wystąpić zjawisko zwane regurgitacją, które polega na zwracaniu płynnej treści pokarmowej do rany w skórze żywiciela. Proces naprzemiennego wstrzykiwania śliny i zasysania krwi połączony z regurgitacją sprzyja wprowadzaniu patogenów do organizmu żywiciela. Duża objętość jednorazowo pobranej krwi jest kluczowym czynnikiem wpływającym na zakażenie kleszczy, które żerują na żywicielach będących nosicielami chorób odkleszczowych. Jednocześnie nadmierna ilość pobieranej wody i jonów zwiększa wydzielanie śliny, co również zwiększa ryzyko wprowadzenia patogenów do organizmu żywiciela (Nuttall i Labuda 2004, Francischetti i wsp. 2009).

W trakcie tworzenia futorialika cementowego, kleszcze jednocześnie wytwarzają drugi rodzaj śliny zawierający substancje o właściwościach antykoagulacyjnych. Ten proces powoduje zahamowanie krzepnięcia krwi w miejscu przyczepienia kleszcza. W ślinie kleszczy znajdują się także składniki o właściwościach znieczulających, co sprawia, że żerowanie kleszcza nie wywołuje bólu. Dzięki tym mechanizmom, kleszcz często pozostaje niezauważony przez swojego żywiciela, co pozwala mu żerować przez długi okres czasu (Nuttall i Labuda 2004, Zygner i Wędrychowicz 2008).

Długotrwały proces pobierania pokarmu, który trwa od kilku do kilkunastu dni, sprzyja przenoszeniu patogenów zarówno z kleszcza na żywiciela, jak i zakażenia samego

kleszcza. Prawdopodobnie istotny wpływ na transmisję chorób zakaźnych i pasożytniczych ma dłuższy, w porównaniu z innymi krwio pijnymi pasożytami zewnętrznymi, okres pobierania pokarmu przez kleszcze właściwe (Wikel 2018).

Zarówno larwa, nimfa, jak i samica żerują tylko jeden raz. Samce niektórych gatunków nie odżywiają się krwią. Dla larw, nimf oraz samic pełne nasycenie pokarmem jest niezbędne do przejścia do kolejnego stadium rozwojowego, a dla samic do złożenia jaj. Czas trwania procesu żerowania jest zróżnicowany i zależy od stadium rozwojowego oraz gatunku kleszcza. Na przykład larwy i nimfy z rodzaju *Ixodes* żerują przez około 3-4 dni, a dorosłe osobniki przez 6-12 dni. Kilkudniowy okres żerowania każdego ze stadiów rozwojowych w połączeniu ze zmianą żywiciela sprzyja przenoszeniu chorób przez kleszcze właściwe z jednych gatunków zwierząt na inne, a także ze zwierząt na człowieka. Warto zaznaczyć, że istotnym zjawiskiem w tym kontekście jest transstadialne przenoszenia patogenów w organizmie wektora, które zachodzi podczas metamorfozy i linienia pomiędzy kolejnymi stadiami rozwojowymi (Zygner i Wędrychowicz 2008, Wikel 2018).

#### **1.2.4. Kleszcze jako wektory patogenów chorobotwórczych**

Kleszcze są bezwzględnyimi pasożytami kręgowców. Dwie rodziny kleszczy mogą przenosić szeroką gamę patogenów. Zalicza się do nich *Ixodidae* (kleszcze twarde) obejmujące obecnie ponad 700 gatunków na całym świecie (Guglielmone i Nava 2014) oraz *Argasidae* (kleszcze miękkie) obejmujące w przybliżeniu 200 gatunków (Horak i wsp. 2002). Kleszcze są najważniejszymi wektorami oraz rezerwuarami riketsji prawie w każdym regionie świata. Właściwości wektorowe kleszczy są zwiększone poprzez: zdolność wykorzystania wielu żywicieli, żerowanie przez różne stadia rozwojowe (larwa, nimfa, imago) oraz długą żywotność (czasem dłuższa niż gospodarza). Niektóre gatunki riketsji są szczególnie powiązane z określonym gatunkiem kleszcza, podczas gdy inne występują w różnych gatunkach tych stawonogów (Tab. 3). Ryzyko występowania riketsjoz w danym regionie może zależeć od obecności konkretnych gatunków kleszczy, ich liczebności, czasu przyczepiania się do gospodarza, działalności człowieka oraz warunków geograficznych i klimatycznych (Merhej i wsp. 2014). Kleszcze charakteryzują się ograniczoną mobilnością w porównaniu do latających pasożytów, co wiąże się z mniejszym nakładem energetycznym na znalezienie żywiciela. Pozwala im to przetrwać długi okres, w niektórych przypadkach nawet wiele lat. Porównując je do innych wektorów, pobierają znacznie więcej pokarmu, co również zwiększa ich potencjał jako wektorów. Każde stadium rozwojowe zazwyczaj żywi

się tylko raz przed linieniem, ale za to przez długi okres, który w skrajnych przypadkach może wynosić nawet 14 dni (Pfaffle i wsp. 2013).

**Tab. 3.** Wykaz patogennych gatunków bakterii z rodzaju *Rickettsia* przenoszonych przez kleszcze *I. ricinus* i *D. reticulatus* (Piotrowski i Rymaszewska 2020).

Patogeny gatunek <i>Rickettsia</i>	Gatunek kleszcza zidentyfikowany jako wektor
<i>Rickettsia aeschlimannii</i>	<i>Amblyomma tigrinum</i> , <i>A. variegatum</i> , <i>Dermacentor marginatus</i> , <i>D. nuttalli</i> , <i>Haemaphysalis concinna</i> , <i>H. japonica</i> , <i>H. punctata</i> , <i>Hyalomma aegyptium</i> , <i>H. anatolicum excavatum</i> , <i>H. detritum detritum</i> , <i>H. detritum</i> , <i>H. dromedari</i> , <i>H. excavatum</i> , <i>H. impeltatum</i> , <i>H.</i> <i>lusitanicum</i> , <i>H. marginatum marginatum</i> , <i>H. marginatum rufipes</i> , <i>H.</i> <i>marginatum</i> , <i>H. truncatum</i> , <b><i>Ixodes ricinus</i></b> , <i>Rhipicephalus annulatus</i> , <i>R. appendiculatus</i> , <i>R. bursa</i> , <i>R. evertsi evertsi</i> , <i>R. sanguineus</i> , <i>R. turanicus</i> ,
<i>Rickettsia helvetica</i>	<b><i>Dermacentor reticulatus</i></b> , <i>Ixodes arboricola</i> , <i>I. festai</i> , <i>I. hexagonus</i> , <i>I. persulcatus</i> , <b><i>I. ricinus</i></b> , <i>I.</i> <i>trianguliceps</i> ,
<i>Rickettsia honei</i>	<i>Bothriocroton hydrosauri</i> , <i>Haemaphysalis novaeguineae</i> , <b><i>Ixodes sp.</i></b> ,
<i>Rickettsia massiliae</i>	<i>Amblyomma sylvaticum</i> , <i>Dermacentor variabilis</i> , <i>Haemaphysalis paraleachi</i> , <b><i>Ixodes ricinus</i></b> , <i>Rhipicephalus bursa</i> , <i>R. evertsi</i> , <i>R. guilhoni</i> , <i>R. lunulatus</i> , <i>R. muhsamae</i> , <i>R. praetextatus</i> , <i>R. pusillus</i> , <i>R. sanguineus</i> , <i>R. senegalensis</i> , <i>R. sulcatus</i> , <i>R. turanicus</i> ,
<i>Rickettsia monacensis</i>	<i>Amblyomma dissimile</i> , <i>Dermacentor variabilis</i> , <i>Ixodes boliviensis</i> , <i>I. persulcatus</i> , <b><i>I. ricinus</i></b> , <i>I. sinensis</i> , <i>Rhipicephalus sanguineus</i>
<i>Rickettsia raoultii</i>	<i>Amblyomma testudinarium</i> , <i>Dermacentor everstani</i> , <i>D. marginatus</i> , <i>D. niveus</i> , <i>D. nuttalli</i> , <b><i>D.</i></b> <b><i>reticulatus</i></b> , <i>D. silvarum</i> , <i>Haemaphysalis concinna</i> , <i>H. japonica</i> , <i>H. lagrangei</i> , <i>H. longicornis</i> , <i>H.</i> <i>ornithophila</i> , <i>H. shimoga</i> , <i>H. verticalis</i> , <i>Hyalomma asiaticum</i> , <i>H. marginatum</i> , <i>Ixodes persulcatus</i> , <b><i>I. ricinus</i></b> , <i>Rhipicephalus sanguineus</i>
<i>Rickettsia sibirica</i> subsp. <i>mongolitimonae</i>	<i>Dermacentor marginatus</i> , <i>D. nuttalli</i> , <b><i>D. reticulatus</i></b> , <i>D. silvarum</i> , <i>D.</i> <i>sinicus</i> , <i>Haemaphysalis concinna</i> , <i>H. erinacei</i> , <i>H. yeni</i> , <i>Hyalomma aegyptium</i> , <i>H. anatolicum excavatum</i> , <i>H. asiaticum</i> , <i>H.</i> <i>truncatum</i> , <i>Ixodes persulcatus</i> , <i>Rhipicephalus pusillus</i> , <i>R. turanicus</i>
<i>Rickettsia slovaca</i>	<i>Dermacentor marginatus</i> , <i>D. nuttalli</i> , <b><i>D. reticulatus</i></b> , <i>Hyalomma aegyptium</i> , <i>Rhipicephalus sanguineus</i> ,
Candidatus <i>Rickettsia tarasevichiae</i>	<b><i>Dermacentor reticulatus</i></b> , <i>Haemaphysalis concinna</i> <i>Ixodes persulcatus</i> , <b><i>I. ricinus</i></b> ,



Uważa się, że wiele gatunków bakterii z rodzaju *Rickettsia* transmitowanych jest wertykalnie wśród kleszczy co sugeruje, że kleszcze pełnią nie tylko rolę wektorów, ale stanowią również rezerwar rickettsji w przyrodzie (Socolovschi i wsp. 2009a, Socolovschi i wsp. 2009b). Wertykalna transmisja rickettsji w stawonogach przyczynia się do utrzymywania infekcji w przyrodzie; jednak dla niektórych gatunków rickettsji cykl życiowy zakażonego stawonoga wraz z transmisją infekcji do jednego lub kilku kręgowców stanowi istotny mechanizm przetrwania bakterii w środowisku (Parola i wsp. 2013). Uważa się, że ludzie jako okazjonalni nosiciele kleszczy nie odgrywają znaczącej roli w krążeniu rickettsji w przyrodzie (Socolovschi i wsp. 2009c).

### 1.2.5. Występowanie kleszczy

Rozmieszczenie kleszczy w dużej mierze uzależnione jest od ich preferowanych biotopów i tylko nieliczne gatunki kleszczy występują globalnie. Kleszcze charakteryzują się ograniczoną zdolnością ruchu, a ich rozprzestrzenianie się związane jest przede wszystkim z migracją zwierząt żywicielskich, zwłaszcza ptaków, które przemierzają tysiące kilometrów, często pomiędzy kontynentami (Merhej i wsp. 2014). Ogólna tolerancja na skrajne temperatury oraz warunki suszy u kleszczy różni się w zależności od gatunku, stadium rozwojowego, płci, wieku oraz stanu fizjologicznego, co sprawia, że trudno jest ustalić jednolite wytyczne przetrwania dla wszystkich kleszczy. W praktyce niemal wszystkie kleszcze wykazują sezonową zmienność aktywności, różniącą się między gatunkami i stadiami rozwojowymi. Większość kleszczy z rodziny Ixodidae spędza 99% swojego życia poza żywicielem, z wyjątkiem kleszczy jedno- lub dwużywicielskich, które żyją w suchych, trudnych warunkach i dla których przetrwanie poza gospodarzem byłoby trudne (Pfaffle i wsp. 2013).

Dla występowania kleszczy decydujące znaczenie mają dwa główne czynniki: odpowiednie warunki środowiskowe i dostępność odpowiednich żywicieli. Istnieje kilka trendów w rozwoju miast europejskich, wpływających na oba powyższe czynniki. Rozwijająca się tendencja do zachowania terenów zielonych w miastach jest pozytywnym aspektem zarówno dla życia człowieka, jak i życia kleszczy. W wielu miastach występują tereny zielone, takie jak lasy miejskie, parki, szerokie bulwary i stare cmentarze, a także duże prywatne nieruchomości na obszarach podmiejskich. Skoncentrowanie się na ochronie środowiska, promowanie ekologicznych standardów rozwoju miast oraz tworzeniu osiedli mieszkaniowych na granicy z naturalnymi obszarami stwarza korzystne warunki dla

utrzymywania się populacji kleszczy. Wraz ze wzrostem urbanizacji i ekspansją obszarów miejskich, wzrasta również liczba zwierząt domowych zamieszkujących tereny miejskie, a także liczba zwierząt dzikich migrujących w granice miast. Zjawisko to sprzyja utrzymywaniu się kleszczy w bezpośrednim sąsiedztwie ludzkich gospodarstw (Uspensky 2014).

Siedliska ludzi, zwierząt i kleszczy nachodzą na siebie. Zrozumienie siedlisk, w których można napotkać kleszcze, jest kluczowe dla prewencji chorób przez nie przenoszonych. Miejsca występowania tych wektorów mogą istotnie się różnić w zależności od biologii kleszczy, jak i ich gospodarzy. Kleszcze cechują się zróżnicowaną zdolnością na przesuszenie. Gatunki z rodzaju *Ixodes* sp. wymagają środowisk wilgotnych, podczas gdy kleszcze *Rhipicephalus sanguineus* mogą przetrwać wysokie temperatury i niską wilgotność. *D. variabilis* występuje na zalesionych łąkach, podczas gdy *Amblyomma americanum* może żyć w suchych lasach. Kleszcze *R. sanguineus* są powszechnie spotykane w okolicach ludzkich domostw. Niektóre kleszcze szukają swoich gospodarzy czekając na trawie lub roślinności liściastej, podczas gdy inne przebywają w ściółce lub opadniętym igliwiu. Niektóre kleszcze aktywnie poszukują swoich gospodarzy, a inne czekają, aż ich gospodarz przejdzie obok. Ogromna różnorodność siedlisk sprawia, że ich unikanie jest bardzo trudne (Biggs i wsp. 2016).

### 1.3. Charakterystyka bakterii z rodzaju *Rickettsia*

Bakterie z rodzaju *Rickettsia* to małe (0,8-2,0  $\mu\text{m}$  długości i 0,3-0,5  $\mu\text{m}$  szerokości), bezwzględnie wewnątrzkomórkowe Gram-ujemne pałeczki, które należą do klasy Alphaproteobacteria, rodziny Rickettsiaceae i rzędu Rickettsiales. Występują w cytozolu komórki gospodarza i charakteryzują się aktywnymi systemami transportowymi. Genomy tych mikroorganizmów są niewielkie, o rozmiarze 1,1–1,5 Mb, co jest wynikiem ewolucyjnej redukcji, pozwalającej na dostosowanie się do wewnątrzkomórkowego trybu życia (Merhej i wsp. 2014, Blanton 2019).

W oparciu o analizę filogenezy molekularnej, bakterie z rodzaju *Rickettsia* zostały sklasyfikowane do czterech głównych grup: AG (ang. *Ancestral Group*), SFG (ang. *Spotted Fever Group*), TG (ang. *Typhus Group*) oraz TRG (ang. *Transitional Group*) (Merhej i wsp. 2014, Blanton 2019). Grupy te wykazują odrębne wewnątrzkomórkowe cykle życiowe, które prawdopodobnie wynikają z różnic genetycznych, chociaż udokumentowanie tego pozostaje

przedmiotem badań, a znaczna część genomu riketsji nie została scharakteryzowana (McClure i wsp. 2017, Lamason i wsp. 2018, Narra i wsp. 2020).

Gatunki z rodzaju *Rickettsia* wykazują znaczący zróżnicowany zakres żywicieli. Większość z nich jest związana ze stawonogami, takim jak kleszcze, wszy, roztocza i pchły, jednakże niektóre gatunki są związane z pierwotniakami, glonami, roślinami i kręgowcami. Warto podkreślić, że wszystkie znane ludzkie patogeny z rodzaju *Rickettsia* przenoszone są przez stawonogi (Biggs i wsp. 2016, Blanton 2019). Poza grupą AG, wszystkie pozostałe klasy zawierają patogeny zdolne do wywoływania chorób u ludzi. Grupa SFG i TG to wyraźne linie rozwojowe w ewolucji riketsji, podczas gdy TRG obejmuje mikroorganizmy, które wykazują cechy charakterystyczne zarówno dla grupy SFG, jak i TG (Parola i wsp. 2013, Merhej i wsp. 2014). Wraz z pojawieniem się metod molekularnych w ciągu ostatnich dwóch dekad zaobserwowano znaczący wzrost w liczbie wykrywanych i identyfikowanych gatunków oraz potencjalnych kandydatów na nowe gatunki, szczególnie w ramach kompleksu SFG (Ryc. 1) (McGinn i Lamason 2021).

Obecnie do grupy SFG należy 26 gatunków wywołujących choroby. SFG są rozprzestrzenione na całym świecie i mogą powodować nawet 55% przypadków śmiertelności w sytuacji braku odpowiedniego leczenia, tak jak w przypadku gorączki plamistej Gór Skalistych (Narra i wsp. 2020). Nawet w dzisiejszych czasach, kiedy mamy do dyspozycji zaawansowane techniki terapeutyczne, gorączka plamista Gór Skalistych wciąż utrzymuje wskaźnik umieralności na poziomie 5-10% (Biggs i wsp. 2016). Kilku innych przedstawicieli SFG wywołuje poważne choroby, takie jak śródziemnomorska gorączka plamista (*R. conorii*) czy japońska gorączka plamista (*R. japonica*) (Parola i wsp. 2013, Blanton 2019).

Do grupy TG zalicza się bakterie *R. typhi* i *R. prowazekii*. Infekcja tymi riketsjami charakteryzuje się śmiertelnością dochodzącą nawet do 60% w przypadku braku odpowiedniego leczenia (Angelakis i wsp. 2016, Blanton 2019). Z kolei do grupy TRG należą *R. akari*, *R. australis* i *R. felis*. Ta ostatnia jest transmitowana przez pchły i cechuje się rozpowszechnieniem na całym świecie (Brown i Macaluso 2016).

Proces infekcji gatunkami z grupy SFG zachodzi podczas żerowania przez zakażonego kleszcza. Mikroorganizmy z grupy TG są przenoszone przez inokulację zakażonych wszy (*R. prowazekii*) lub odchodów pcheł (*R. typhi*) poprzez ranę po ugryzieniu lub błonę śluzową. *R. akari* jest przekazywana przez roztocza *Liponyssoides sanguineus*. Po wprowadzeniu do skóry, organizmy są fagocytowane przez komórki dendrytyczne i transportowane przez układ limfatyczny do lokalnych węzłów chłonnych, gdzie ulegają

replikacji. Następnie mikroorganizmy przedostają się do krwiobiegu i rozprzestrzeniają się infekując śródbłonek naczyń krwionośnych. Przy rozsianej infekcji śródbłonka dochodzi do dalszych uszkodzeń i zwiększonej przepuszczalności naczyń. W efekcie pojawiają się takie objawy jak wysypka, a w przypadkach poważnych może dojść do śródmiąższowego zapalenia płuc, zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych, ostrego uszkodzenia nerek, niewydolności wielonarządowej i zgonu (Mansueto i wsp. 2012).

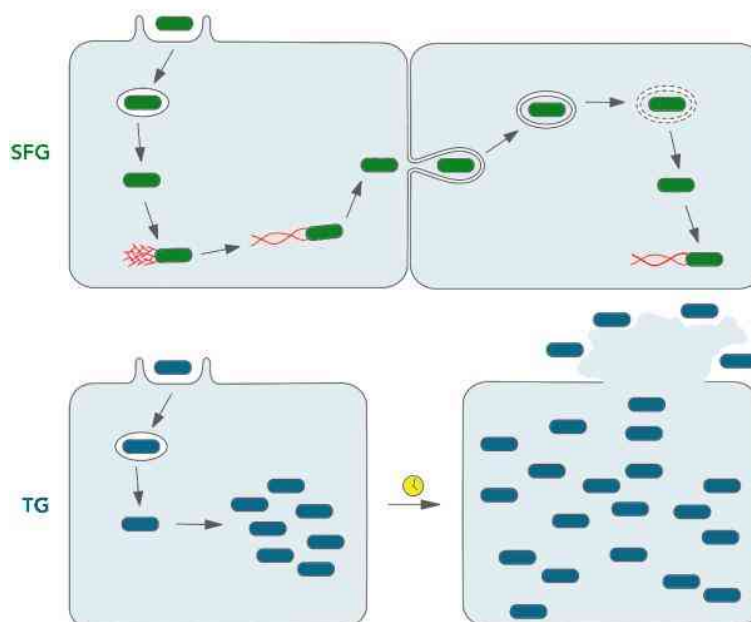
Mnogość gatunków należących do rodzaju *Rickettsia* może zaskakiwać, ale należy zaznaczyć iż taksonomia bakterii, a szczególnie *Rickettsia* spp. jest nadal tematem dyskusyjnym. Przyjętym jest, że nowy gatunek określa przynajmniej 1,3% różnicy w sekwencji nukleotydowej dla 16S rRNA (Tautz i wsp. 2003). Reguła ta nie sprawdza się jednak w przypadku riketsji należących do grupy SFG ponieważ ich podobieństwo wynosi 97,9 – 99,8%. W związku z tym do opisu nowych gatunków wykorzystuje się również sekwencje takich genów jak *gltA*, *ompA*, *ompB* czy *htrA*. Nie mniej mimo, że sekwencje te wykazują większą różnorodność między niektórymi gatunkami podobieństwo nadal wynosi ponad 99% (Fournier i wsp. 2003).

### 1.3.1. Biologia bakterii z rodzaju *Rickettsia*

Bakterie z rodzaju *Rickettsia* są całkowicie zależne od eukariotycznych komórek gospodarza. W procesie ewolucji opracowały złożone cykle życiowe, które pozwalają im na tworzenie nisz wewnątrzkomórkowych (Narra i wsp. 2020). Cykl życiowy riketsji rozpoczyna się od przylegania do komórki gospodarza, po czym dochodzi do wchłonięcia ich do wakuoli fagocytarnej. Po opuszczeniu fagosomu riketsje swobodnie przebywają w cytozolu żywiciela, przy czym niektóre gatunki wykazują zdolność do ruchu poprzez przyłączenie aktyny komórki gospodarza. Po replikacji w cytozolu gospodarza riketsje zdolne są do rozprzestrzeniania się na sąsiednie komórki. Proces ten może zachodzić w sposób pośredni poprzez lizę komórki gospodarza lub bezpośredni poprzez przechodzenie pomiędzy sąsiadującymi komórkami (Ryc. 6) (Narra i wsp. 2020, McGinn i Lamason 2021).

Po skutecznym wchłonięciu do komórki gospodarza, riketsje szybko opuszczają wakuole fagocytarne, przenikając do cytozolu gospodarza. W przypadku grup SFG i TG bakterie cytozolowe są wykrywalne już po 3 minutach od inwazji, zaś większość wewnątrzkomórkowych bakterii osiąga cytozol w ciągu 20 minut (Teyssere i wsp. 1995). Prędkość ucieczki z wakuoli w przypadku riketsji jest szybsza niż u innych patogenów cytozolowych, w tym *L. monocytogenes*, *Shigella flexneri* i *Francisella tularensis*, gdzie

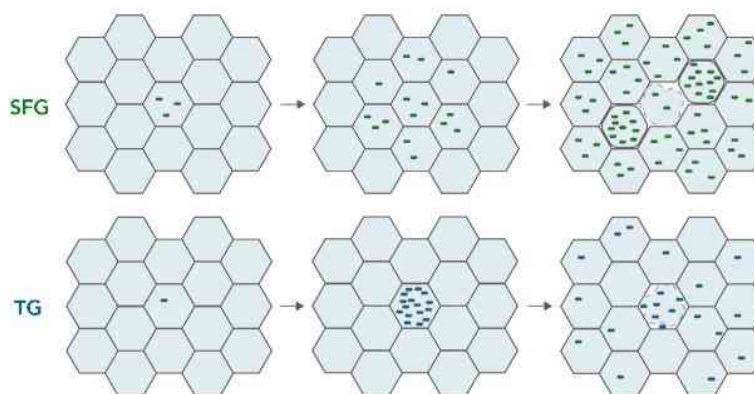
proces ten trwa od 15 do 60 minut (Fredlund i Enninga 2014). Dynamiczna kinetyka ucieczki z wakuoli wskazuje, że riketsje mogą wykorzystywać unikalne mechanizmy w porównaniu do innych bakterii przebywających w cytozolu (McGinn i Lamason 2021).



**Ryc. 6.** Wewnątrzkomórkowy cykl życiowy riketsji z grup SFG i TG. Cykl życiowy SFG rozpoczyna się od inwazji komórek gospodarza, podczas której riketsje wnikają do komórki gospodarza w wakuoli fagocytarnej. Po ucieczce z fagosomu riketsje SFG inicjują dwie fazy ruchliwości opartej na aktynie. Po około 8 godzinach od inwazji riketsje z grupy SFG rozpoczynają replikację w cytozolu gospodarza. Następnie bezpośrednio przechodzą z komórki do komórki przez połączenie między komórkami i wnikają do sąsiedniej komórki w wakuoli z podwójną błoną. Po ucieczce mogą ponownie rozpocząć cykl życia. Cykl życiowy TG rozpoczyna się podobnie jak SFG z inwazją, po której następuje szybka ucieczka z wakuoli fagocytarnej. Po intensywnej replikacji komórka gospodarza ulega lizie i TG wydostają się i rozprzestrzeniają się na sąsiednie komórki (schemat na podstawie McGinn i Lamason 2021).

Kilka gatunków *Rickettsia* wykazuje ruchliwość opartą na aktynie w procesie, w którym polimeryzują włókna aktynowe gospodarza na jednym biegunie powierzchni komórki bakteryjnej, umożliwiając przemieszczanie się w cytoplazmie gospodarza (Choe i Welch 2016, Lamason i Welch 2017). W przeciwieństwie do większości cytozolowych patogenów bakteryjnych, niektóre riketsje kodują dwa odrębne bakteryjne białka efektorowe odpowiedzialne za ruchliwość opartą na aktynie (Gouin i wsp. 2004, Jeng i wsp. 2004, Haglund i wsp. 2010, Kleba i wsp. 2010). Pierwsze z nich, RickA, występuje u prawie wszystkich gatunków SFG (z wyjątkiem *R. peacockii*), a także u członków AG i TRG (Jeng i wsp. 2004, Haglund i wsp. 2010, Choe i Welch 2016, Lamason i Welch 2017). Drugim białkiem zaangażowanym w ruchliwość opartą na aktynie jest Sca2, które występuje u gatunków należących do grup SFG, AG i TRG oraz *R. typhi* należącej do TG (Haglund i wsp. 2010, Kleba i wsp. 2010).

W przeciwieństwie do bakterii należących do grupy SFG, przedstawiciele grupy TG wykazują ograniczoną zdolność do ruchliwości opartej na aktynie i nie zaobserwowano bezpośredniego rozprzestrzeniania się z komórki do komórki (Teysseire i wsp. 1992; Haglund i wsp. 2010; Palmer i Azad 2012, Choe i Welch 2016). Przyczyną tego zjawiska jest prawdopodobnie utrata lub skrócenie białka Sca2 w przypadku mikroorganizmów z grupy TG. W rezultacie TG replikuje się wewnątrz komórek gospodarza, osiągając wysokie zagęszczenie (Wisseman i Waddell 1975, Palmer i Azad 2012). W momencie, gdy komórki gospodarza ulegają lizie, uwalniają znaczną ilość zakaźnych bakterii, które infekują nowe komórki gospodarza (Ryc. 7). Z tego powodu wzrost populacji riketsji TG w pojedynczych komórkach został porównany do wzrostu bakterii w warunkach laboratoryjnych, charakteryzując się krótką fazą opóźnienia, po której następuje wzrost wykładniczy (Palmer i Azad 2012). Przy wysokim zagęszczeniu komórek bakteryjnych TG wykazują zmienione rozmiary i morfologię (Wisseman i Waddell 1975, Silverman i wsp. 1980). Natomiast bakterie SFG utrzymują niskie zagęszczenie w komórkach gospodarza dzięki zdolności do przenoszenia się z komórki do komórki we wczesnych stadiach cyklu życiowego, co skutkuje stałym tempem replikacji podczas trwania infekcji (Wisseman i wsp. 1976).



**Ryc. 7.** Dynamika wzrostu riketsji z grup SFG i TG. Riketsje z grupy SFG, krótko po dostaniu się do wnętrza komórki gospodarza, rozpoczynają proces replikacji. Utrzymują stałe tempo wzrostu oraz niskie zagęszczenie bakterii w każdej z komórek, inicjując rozprzestrzenianie się między komórkami na wczesnym etapie infekcji. W późnej fazie infekcji następuje liza komórek gospodarza, uwalniając zakaźne bakterie do przestrzeni pozakomórkowej. Riketsje z grupy TG po krótkiej początkowej fazie opóźnienia replikują do dużego zagęszczenia w poszczególnych zakażonych komórkach. Gdy zakażona komórka zostanie nasycona bakteriami, komórka gospodarza ulega lizie i uwalnia duże ilości zakaźnych bakterii, które następnie atakują inne komórki gospodarza (schemat na podstawie McGinn i Lamason 2021).

Riketsje z grupy TG nie powodują istotnych zmian morfologicznych w komórce gospodarza w trakcie infekcji, aż do jej lizy (Silverman i wsp. 1980). W przypadku bakterii z grupy SFG, obserwuje się znaczne modyfikacje w strukturze komórek gospodarza. W ciągu 48-72 godzin po infekcji riketsje SFG wywołują rozszerzenie otoczki jądrowej i szorstkiej reticulum endoplazmatycznego (ER), dysocjację rybosomów z ER, degradację morfologii aparatu Golgiego i obrzęk mitochondriów (Walker i wsp. 1977, Silverman i Wisseman 1979, Walker i Cain 1980, Palmer i Azad 2012). Nie jest jednoznacznie poznane w jaki sposób zmiany strukturalne organelli żywiciela wpływają na dynamikę infekcji riketsjami SFG. Nie wiadomo również jakie czynniki pośredniczą w lizie komórek gospodarza w przypadku riketsji SFG lub TG (McGinn i Lamason 2021).

Oprócz niszy cytozolowej również w jądrze komórek gospodarza zaobserwowano kilka gatunków należących do grup SFG i AG (Wolbach 1919, Pinkerton i Hass 1932, Ogata i wsp. 2006). Co ciekawe, riketsje wewnątrzjądrowe wykazują wyższą częstotliwość występowania ogonków aktywnych z wyraźną dynamiką w stosunku do cytoplazmatycznych ogonków aktywnych (Heinzen i wsp. 1999, Ogata i wsp. 2006), co może wskazywać na wyspecjalizowany cykl życiowy w jądrze komórkowym lub reakcję na unikalne właściwości nukleoplazmy. Nie został jeszcze wyjaśniony mechanizm przenikania tych bakterii do jądra komórkowego ani ich wydostawania się z niego. Możliwe, że riketsje zostały uwięzione w otoczce jądrowej podczas podziału komórki gospodarza lub wykształciły wyspecjalizowane mechanizmy, które umożliwiają im aktywnie atakować jądro. Niemniej jednak, niejasne pozostaje, dlaczego inne gatunki *Rickettsia*, takie jak riketsje z grupy TG, nie są obserwowane w jądrze (McGinn i Lamason 2021).

Bakterie z rodzaju *Rickettsia*, przenoszone wertykalnie na kolejne pokolenia stawonogów, transmitowane są poprzez zainfekowaną cytoplazmę komórek jajowych (Socolovschi i wsp. 2009c, Weinert i wsp. 2009). W rezultacie niektóre gatunki *Rickettsia* wykształciły strategie zwiększania trwałości w liniach żywiciela poprzez manipulowanie jego zachowaniami rozrodczymi i fizjologią, głównie w celu zwiększenia liczby, żywotności i przystosowania osobników składających jaja w populacji. Strategie te obejmują zabijanie samców, indukcję partenogenezy, niezgodność cytoplazmatyczną i feminizację męskich żywicieli (Perlman i wsp. 2006, Weinert i wsp. 2009). Co ciekawe, symbioza na linii *Rickettsia* - stawonogi może wykraczać poza pasożytnictwo ewoluując w kierunku komensalizmu i mutualizmu. Niektóre dowody sugerują na istnienie obowiązkowego związku mutualistycznego (Perotti i wsp. 2006, Zchori-Fein i wsp. 2006). Niemniej jednak, ewolucyjne i molekularne podstawy tych symbioz nie są dobrze poznane, podobnie jak

częstotliwość i względna powszechność którejkolwiek z tych strategii wśród gatunków *Rickettsia* (McGinn i Lamason 2021). W toku ewolucji, niektóre gatunki wykształciły również strategie zwiększania swojej trwałości podczas transmisji wertykalnej u żywicieli stawonogów poprzez interferencję transowarialną (Macaluso i wsp. 2002, Wright i wsp. 2015, Gall i wsp. 2016, Tomasson i wsp. 2018). W tym procesie niektóre gatunki *Rickettsia* (SFG i AG) wykluczają wtórne zakażenie z innym endosymbiontem riketsji, choć dokładne mechanizmy molekularne tego zjawiska są nadal niejasne (McGinn i Lamason 2021).

### 1.3.2. Budowa genomu bakterii z rodzaju *Rickettsia*

Genom organizmów prokariotycznych wykazuje wyraźne różnice w porównaniu do genomu eukariotycznego, zwłaszcza pod względem struktury, organizacji materiału genetycznego w zespół chromosomów, obecnością intronów w obrębie genów oraz jego wielkością, które często są wynikiem istnienia niekodujących obszarów międzygenowych. Genom prokariotyczny składa się przede wszystkim z kodującego DNA, funkcjonalnego RNA oraz niewielkiej ilości DNA niekodującego, którego obecność ma jednak istotny wpływ na regulację replikacji i transkrypcji. Ilość sekwencji niefunkcjonalnych jest niewielka, a pseudogeny występują niezwykle rzadko (Koonin i Wolf 2008).

Życie wewnątrzkomórkowe ukształtowało genomy riketsji, aby stopniowo stawać się coraz bardziej zależne od żywiciela, przy jednoczesnym zachowaniu minimalnego zestawu genów wymaganych do infekcji i patogenezy. Genomy bakterii z rodzaju *Rickettsia* nie kodują już licznych szlaków biosyntezy, ponieważ przeszły na strategię pozyskiwania niezbędnych składników odżywczych bezpośrednio z wnętrza komórek gospodarza. W wyniku tej ewolucji utraciły geny odpowiedzialne za takie procesy jak glikoliza, glukoneogeneza, szlak pentozofosforanowy, syntezę witamin z grupy B, a także biosyntezę aminokwasów i nukleotydów (Blanc i wsp. 2007, Palmer i Azad 2012, Driscoll i wsp. 2017).

Szacuje się, że średnia zawartość kodującego DNA w bakteryjnych genomach wynosi średnio 91%, tj. od 87% w przypadku *Haemophilus influenzae* do 94% u *Aquifex aeolicus*. Jednak gatunki z rodzaju *Rickettsia* stanowią wyjątek od tej normy, gdzie sekwencje niekodujące DNA sięgają około 24%. Przypuszcza się, że te fragmenty razem z pseudogenami obecnymi w genomach są pozostałościami po genach, które w procesie ewolucji utraciły swoją funkcję (Andersson i wsp. 1998). W genomach bakteryjnych incydentalnie spotykane są ruchome elementy genetyczne oraz introny. Powszechne jest natomiast występowanie operonów, a więc ciągu genów, które podlegają wspólnej regulacji, i



których produkty stanowią elementy jednego szlaku metabolicznego (Koonin i Wolf 2008). Analiza porównawcza kompletnej sekwencji genomów bakteryjnych wykazała, że układ genów w genomie zmienia się dynamicznie. To sugeruje, że nacisk doboru naturalnego jest silniejszy w zakresie utrzymania sekwencji aminokwasów kodowanych przez dany gen niż utrzymania kolejności genów w genomie. Wyjątki od tej reguły to operony oraz białka rybosomalne, których układ genów jest konserwatywny ewolucyjnie i nie podlega zmianom (McGinn i Lamason 2021). Inaczej przedstawia się to u gatunków należących do rodzaju *Rickettsia*. Badania przeprowadzone przez Andersson i wsp. (1998) wykazały, że operon rybosomalny ponadto, że występuje w pojedynczej kopii to uległ rozdzieleniu na frakcje 16S i 23S-5S oddalone od siebie o około 500 kZ. Innym procesem, który znacząco wpływa na kształtowanie genomu prokariotycznego, jest horyzontalny transfer genów, polegający na przekazywaniu DNA pomiędzy organizmami, nawet daleko spokrewnionymi. Istnieją trzy główne mechanizmy tego transferu: pobranie nagiego DNA ze środowiska, transdukcja za pośrednictwem bakteriofagów oraz bezpośrednio przekazywanie materiału genetycznego między bakteriami poprzez proces koniugacji, zazwyczaj warunkowany przez obecność plazmidów koniugacyjnych (Lawrence i Hendrickson 2005, Thomas i Nielsen 2005).

Porównując bakterie wolno żyjące z tymi, które pasożytują wewnątrzkomórkowo, można zauważyć, że te drugie mają znacznie krótsze genomy. Zmniejszenie ilości genów, a więc i długości genomu jest wynikiem wykorzystywania przez bakterie wielu procesów metabolicznych komórek gospodarzy (Koonin i Wolf 2008). Bakterie pasożytujące wewnątrz komórek, w tym wszystkie gatunki z rodzaju *Rickettsia*, charakteryzują się stosunkowo małymi genomami, składającymi się z 1-1,5 miliona par nukleotydów i zawierającymi od 900 do 1500 genów. Taka redukcja liczby genów jest wynikiem adaptacji tych organizmów do pasożytniczego lub symbiotycznego stylu życia (Andersson i wsp. 1998, Blanc i wsp. 2007).

Całkowita liczba genów obecnych w genomach gatunków rodzaju *Rickettsia* zawiera się w granicach od 888 (*R. prowazekii*) do 1511 (*R. bellii*). Procentowa zawartość kodującego DNA wynosi od 69% (*R. massiliae*) do 83% (*R. felis*). Warto zaznaczyć, że genomy bakterii z grupy TG są znacznie mniejsze i zawierają mniej par G+C (guaniny i cytozyny) w porównaniu do genomów *R. bellii* i riketsji z grupy SFG (Andersson i wsp. 1998, Ogata i wsp. 2005, Blanc i wsp. 2007, Fournier i wsp. 2009). Według badań Blanc i wsp. (2007) wszystkie gatunki *Rickettsia*, dla których znane są sekwencje genomowe zawierają 704 ortologiczne, kodujące białka geny. Wszystkie te homologiczne sekwencje genów wykrywane u różnych gatunków *Rickettsia* spp. zawierają od 48% do 84% wszystkich

występujących w danym gatunku kodujących białka genów. Spośród 704 genów 546 jest dobrze znanych i opisanych. Pozostałe 158, do których należy 40 genów unikalnych dla rodzaju *Rickettsia* jest słabo poznanych lub nieznanymi. Niektóre z tych ortologicznych genów są związane z patogennością oraz pasożytniczym trybem życia bakterii z rodzaju *Rickettsia*. Do genów kodujących białka związanych ze zjadliwością riketsji zalicza się hemolizyny (TlyA, TlyC) (Radulovic i wsp. 1999, Whitworth i wsp. 2005), fosfolipazę D (Pld) (Renesto i wsp. 2003, Whitworth i wsp. 2005), białko zewnętrznej błony OmpB, peptydylo-proloio izomerazę (SurA) oraz elementy systemu wydzielniczego IV typu (VirB/D). Wśród podstawowych genów znajdują się również geny kodujące ATP/ADP translokazę, dysmutazę ponadtlenkową (sodB), uniwersalne białka stresowe (uspA) oraz białka szoku termicznego (cspA) (Blanc i wsp. 2007).

Blanc i wsp. (2007) sugerują, że wspólnym przodkiem całego rzędu Rickettsiales były prawdopodobnie komórkowe pasożyty, których potomkowie przystosowali się do obligatoryjnie wewnątrzkomórkowego trybu życia. Genom bezpośredniego przodka znanych obecnie gatunków riketsji był bardzo zredukowany (utrata od 134 do 423 genów), a ilość genów prawdopodobnie zawierała się w granicach od 1254 do 1700. Genom tej bakterii pozbawiony był istotnych szlaków biosyntezy, ale posiadał wiele genów związanych z pasożytniczym trybem życia.

Różnorodność obecnie obserwowana w genomach riketsji wskazuje, że proces redukcji genomu nadal trwa. Geny, które prawdopodobnie nie są już potrzebne do przetrwania w wewnątrzkomórkowym środowisku, ulegają degradacji (Andersson i wsp. 1998). Duża liczba utraconych w toku ewolucji genów nie jest natomiast balansowana przez nabywanie nowych. Nie odnotowuje się również poprzecznego transferu genów, który mógł występować u przodka obecnie znanych riketsji. Bezpośrednią tego przyczyną może być fakt, że bakterie występujące w specyficznych tkankach gospodarza mają ograniczony dostęp do obcego materiału genetycznego (Blanc i wsp. 2007).

Badania i analizy filogenetyczne sugerują, że bakterie z rodzaju *Rickettsia* oraz mitochondria obecne w organizmach eukariotycznych mają wspólnego przodka (Andersson i wsp. 1998, Williams i wsp. 2007). Ewolucja tych organizmów początkowo odbywała się w podobny, degeneratywny sposób, ale miała dwa różne przebiegi. W obu przypadkach doszło do redukcji autonomii symbionta, ale w przypadku mitochondriów związana była ona z transferem genów do jądra komórkowego gospodarza. Wszystkie bakterie z rodzaju *Rickettsia* utraciły geny kodujące enzymy odpowiedzialne za wczesne etapy beztlenowego katabolizmu związków organicznych, takie jak glikoliza. Również geny odpowiedzialne za

syntezę nukleotydów i aminokwasów zostały utracone. Można przypuszczać, że wczesne etapy prowadzące do powstania mitochondriów mogły przebiegać w podobny sposób (Andersson i Kurland 1998, Andersson i wsp. 1998).

### 1.3.3. Patogeneza bakterii z rodzaju *Rickettsia*

Infekcja bakteryjna stanowi wysoce złożony proces biologiczny, obejmujący dynamiczną interakcję między inwazyjnym mikroorganizmem a gospodarzem. W celu kolonizacji komórek gospodarza, patogeny wewnątrzkomórkowe przejmują kontrolę nad jego procesami komórkowymi, w tym dynamiką błon, cytoszkieletem aktynowym, metabolizmem fosfoinozytydów, transportem wewnątrzkomórkowym i mechanizmami obrony immunologicznej. Pomimo pozornego podobieństwa strategii infekcyjnych, różne gatunki *Rickettsia* wykorzystują różne mechanizmy kolonizacji gospodarza (Voss i Rahman 2021).

Inwazja komórek gospodarza przez bakterie z rodzaju *Rickettsia* jest procesem dynamicznym, który obejmuje złożoną interakcję między atakującymi patogenami a gospodarzem. Podczas inwazji, aby uzyskać dostęp do wnętrza komórki gospodarza i sprzyjać swojemu przetrwaniu oraz namnażaniu, bakterie wewnątrzkomórkowe manipulują regulacją komórek gospodarza poprzez modulację dynamiki błony, cytoszkieletu aktynowego, metabolizmu fosfoinozytydu, transportu wewnątrzkomórkowego i mechanizmów obrony immunologicznej (Ray i wsp. 2009, Pizarro-Cerda i wsp. 2015, Personnic i wsp. 2016, Lamason i Welch 2017). Po internalizacji, wewnątrzkomórkowe patogeny napotykać mechanizmy obrony nieswoistej gospodarza, aktywowane w odpowiedzi na wykrycie patogenu lub innych niebezpiecznych sygnałów w cytozolu gospodarza. Aby skutecznie skolonizować gospodarza bakterie chorobotwórcze wytworzyły wiele strategii wykorzystujących liczne efektory, które pozwalają na uniknięcie lub zahamowanie wrodzonej odporności gospodarza (Huang i Brumell 2014, Mitchell i Isberg 2017). Podobnie jak w przypadku innych bakterii wewnątrzcytozolowych, takich jak *Listeria*, *Shigella*, *Burkholderia* i *Francisella* (Ray i wsp. 2009, Personnic i wsp. 2016), internalizacja *Rickettsia* przez fagocytozę i późniejsza ucieczka patogenów do cytozolu gospodarza są niezbędne do przetrwania i ostatecznej kolonizacji komórka gospodarza (Hackstadt 1996, Hackstadt 1998, Gillespie i wsp. 2015, Sahni i wsp. 2019). Mimo pozornego podobieństwa strategii infekcyjnych, różne gatunki z rodzaju *Rickettsia* wykorzystują różnorodne mechanizmy biochemiczne, które umożliwiają im skuteczną

kolonizację komórek gospodarza (Sears i wsp. 2012, Gillespie i wsp. 2015, Rennoll-Bankert i wsp. 2015, Lamason i wsp. 2016, Sahni i wsp. 2019, Lehman i wsp. 2018, Engstrom i wsp. 2019, Voss i wsp. 2020, Aistleitner i wsp. 2020).

Bakterie z rodzaju *Rickettsia* infekują szeroki zakres komórek gospodarza. Ze względu na zredukowane genomy, które pozbawione są wielu szlaków metabolicznych, riketsje rozwijają się dzięki metabolitom obecnym w cytozolu gospodarza (Driscoll i wsp. 2017). Zakażenie gospodarza przez riketsje rozpoczyna się od ich wprowadzenia w skórę właściwej gospodarza przez zainfekowane wektory jakimi są krwio pijne stawonogi (kleszcze, roztocza, wszy i pchły). Po wnikięciu do organizmu gospodarza, patogenne riketsje napotykają na komórki układu odpornościowego. Badania przeprowadzone na ludziach i zwierzętach wykazały, że liczne komponenty układu odpornościowego, takie jak komórki dendrytyczne, wrodzona sygnalizacja immunologiczna, makrofagi, komórki NK, limfocyty T CD8, limfocyty T CD4, komórki śródbłonna, przeciwciała oraz zapalne cytokiny i chemokiny, odgrywają kluczową rolę w kontroli infekcji riketsjami, szczególnie poprzez mechanizmy ułatwiające wewnątrzkomórkowe zabijanie riketsji. Jeśli te elementy układu odpornościowego nieefektywnie reagują lub jeśli riketsje modyfikują/manipulują odpowiedzią tych elementów odpornościowych, choroba będzie postępowała ze zwiększonym nasileniem, prowadząc nawet do zgonu. Ponadto, inne składniki układu odpornościowego, takie jak indukowane komórki regulatorowe T, przyczyniają się do progresji i patogenezы riketsjoz (Sahni i wsp. 2019).

Biorąc pod uwagę, że przeżycie wewnątrzcytozolowe zależy od ucieczki z fagosomów oraz odwrócenia odpowiedzi cytozolowych gospodarza, w szczególności autofagii i inflammasomów, bakterie z rodzaju *Rickettsia* wypracowały zaawansowane strategie ułatwiające inwazję gospodarza i unikanie jego odporności immunologicznej (Ray i wsp. 2009, Personnic i wsp. 2016).

Pomimo zredukowanych genomów, riketsje są wysoce złożonymi organizmami, które kontrolują ekspresję wielu białek powierzchniowych w celu pomyślnego wejścia i ustanowienia niszy replikacyjnej w cytozolu komórek gospodarza bogatych w składniki odżywcze. Inwazja gospodarza przez bakterie z rodzaju *Rickettsia* wymaga zaangażowania ligandów dla określonych receptorów, a także przejścia określonych kaskad sygnałowych gospodarza, co ostatecznie skutkuje przegrupowaniem cytoszkieletu aktynowego i zmianą dynamiki błony. Kluczowymi cząsteczkami przyczyniającymi się do inwazji *Rickettsia* są antygeny komórek powierzchniowych (Scas), dla których prawie każdy przedstawiciel rodzaju *Rickettsia* koduje inny arsenał Sca (Chan i wsp. 2010, Gillespie i wsp. 2015). Analiza

genomów riketsji wykazała obecność 17 odrębnych genów kodujących białka rodziny Sca (Blanc i wsp. 2005), z których tylko 6 jest zakodowanych w większości genomów riketsji: Sca0 (rOmpA), Sca1, Sca2, Sca3, Sca4 i Sca5 (rOmpB) (Sears i wsp. 2012, Gillespie i wsp. 2015). Sca5 (rOmpB), konserwatywny we wszystkich gatunkach z rodziny Rickettsiae, odgrywa kluczową rolę w inwazji bakterii poprzez swoje powiązanie z receptorem Ku70 specyficznym dla komórki gospodarza (podjednostka PK zależnej od jądrowego DNA). Z kolei połączenie Ku70 z rOmpB skutkuje rekrutacją ligazy ubikwitynowej cCbl (powodującej ubikwitynację Ku70), klatryny i kaweoliny-2, co ułatwia wchłanianie bakterii (Martinez i wsp. 2005). Analiza genomu wykazała obecność pełnej długości Sca1 u wszystkich przedstawicieli *Rickettsia*, z wyjątkiem *R. prowazekii* i *R. canadensis* (Ngwamidiba i wsp. 2006). Antygen Sca2 komórek powierzchniowych jest konserwowany wśród większości riketsji z grup SFG i TRG i bierze udział w przyleganiu i wchłanianiu do komórek gospodarza (Ngwamidiba i wsp. 2006, Dreher-Lesnick i wsp. 2008, Cardwell i Martinez 2009). Natomiast białko Sca3 występuje wyłącznie u bakterii z grupy TG i *R. felis* z grupy TRG i jest uważane za największe białko powierzchniowe riketsji w rodzinie Sca. Jednak jego konkretna rola w przyleganiu i wnikanii do komórek docelowych pozostaje nieznana (Sears i wsp. 2012). Sca4 występuje we wszystkich grupach riketsji, z wyjątkiem *R. canadensis* i chociaż nie posiada domeny autotransportera, jest transportowany na powierzchnię bakterii przez nieznaną mechanizm, co aktywują winkulinę w ogniskowych miejscach adhezji i wspiera rolę Sca4 w ułatwianiu inwazji komórek docelowych (Sears i wsp. 2012, Gillespie i wsp. 2015).

Ponieważ rozprzestrzenianie się bakterii do sąsiednich komórek jest kluczowe dla pomyślnej kolonizacji gospodarza, inwazja riketsji obejmuje polimeryzację aktyny gospodarza, co prowadzi do powstania charakterystycznego „ogona komety” F-aktyny. Warto zauważyć, że tworzenie ogonów aktyny polarnej występuje wyłącznie u większości riketsji z grupy SFG, z wyjątkiem *R. peacockii*, podczas gdy u przedstawicieli grupy TG (*R. typhi* i *R. prowazekii*) tworzenie ogonów jest minimalne lub wręcz nieobecne (Teyssiere, Chiche-Portiche i Raoult 1992). W rezultacie infekcja riketsjami z grupy SGF inicjuje aktywację kaskady sygnalizacyjnej obejmującej Cdc42 (GTP-azę), 3-kinazy fosfoinozytydowe (PI3K), c-Src i prawdopodobnie dodatkowe białkowe kinazy tyrozynowe, co ostatecznie prowadzi do aktywacji kompleksu Arp2/3 (Martinez i Cossart 2004). Badania kultur komórkowych *in vitro* wykazały, że różne gatunki *Rickettsia*, zarówno z grupy SFG, jak i TRG (np. *R. conorii*, *R. rickettsii*, *R. montanensis*, *R. australis*, *R. parkeri* i *R. felis*), wykorzystują efektor RickA (nieobecny w grupie TG) oraz białko zespołu Wiskotta-Aldricha

(WASP), do promowania ruchliwości opartej na aktynie i rekrutacji kompleksu Arp2/3 (Gouin i wsp. 2004, Ogata i wsp. 2005, Balraj i wsp. 2008). Co ciekawe, nowsze odkrycia potwierdzają model dwufazowej ruchliwości riketsji, w którym we wczesnej fazie zakażenia (ok. 30 min) ruchliwość zależy od RickA i kompleksu Arp2/3, podczas gdy w późniejszych etapach infekcji (ok. 24-48 godz.) ruchliwość jest niezależna od kompleksu Arp2/3 i RickA i wykorzystują białko Sca2 (Reed i wsp. 2014). Sca2 powoduje polaryzację zespół linearnych filamentów aktynowych poprzez trzy domeny WH2 (Wiskott–Aldrich homology 2), co skutkuje wydłużeniem filamentu przez profilinę i hamowaniem aktywności białek kończących wzrost aktyny (Haglund i wsp. 2010, Kleba i wsp. 2010, Lamason i Welcha 2017). Uważa się, że większość SFG i TRG wykorzystuje eukariotyczne właściwości Sca2, podobne do forminy, jako kluczowy mechanizm rozprzestrzeniania się do sąsiednich komórek gospodarza (Kleba i wsp. 2010, Gillespie i wsp. 2015).

Białka zawierające powtórzenia aktynowe (ARP) odgrywają kluczową rolę w patogeniczności bakterii wewnątrzkomórkowych (Pan i wsp. 2008, Al-Khodori i wsp. 2010). Jednak każdy ARP zidentyfikowany u patogenów wewnątrzkomórkowych, takich jak *Anaplasma*, *Ehrlichia*, *Legionella* i *Orientia*, wydaje się pełnić zadania specyficzne dla danego szczepu, takie jak bezpośrednie modulowanie transkrypcji genów, manipulowanie ruchem pęcherzykowym, przerywanie szlaków sygnałowych lub zakłócanie organelli (Pan i wsp. 2008, Price i wsp. 2010, Yang i wsp. 2015). Wszystkie genomy bakterii z rodzaju *Rickettsia* kodują zmienną liczbę powtórzeń ARP, ale ich znaczenie funkcjonalne podczas patogenezы pozostaje słabo zdefiniowane. Najbardziej konserwatywnymi ARP są RARP-1 i RARP-2 (Gillespie i wsp. 2015), przy czym RARP-1 jest efektem sekrecyjnym Sec-TolC (Kaur i wsp. 2012), podczas gdy RARP-2 jest wydzielany przez układ sekrecyjny typu IV (T4SS) (Lehman i wsp. 2018). Chociaż dokładna rola RARP-1 u riketsji pozostaje do ustalenia, wykazano, że RARP-2 w *R. rickettsii* (SFG) celuje w sieć ER i sieć trans aparatu Golgiego po zakażeniu komórek gospodarza, sugerując rolę tego efektora w ułatwieniu kolonizacji gospodarza, prawdopodobnie w sposób specyficzny dla gatunku (Voss i Rahman 2021).

Chociaż patogenne riketsje są zdolne do infekowania i replikacji *in vitro* wielu różnych typów komórek, w trakcie infekcji *in vivo*, zarówno u ludzi, jak i w ustalonych eksperymentalnych modelach infekcji, patogeny najpierw infekują komórki fagocytarne w skórze, a następnie atakują i proliferują w komórkach śródbłonna naczyniowego wyściełających małe i średniej wielkości naczynia krwionośne (główne komórki docelowe infekcji riketsji) oraz w mniejszym stopniu, z komórkami okołonaczyniowymi (monocyty,

makrofagi i hepatocyty), niszcząc je i rozprzestrzeniając infekcję na śródbłonek naczyń krwionośnych. Po uszkodzeniu śródbłonek dochodzi do odpowiedzi ostrej fazy i zmiany w krzepnięciu i sieci cytokin, wraz z przejściową dysregulacją immunologiczną, charakteryzującą się zmniejszeniem liczby krążących obwodowych limfocytów T CD4+ i okołonaczyniowego nacieku przez limfocyty T CD4 i CD8, limfocyty B i makrofagi. Wszystkie te cechy określane są jako „riketsjowe zapalenie naczyń”. Mechanizmy obrony gospodarza nie są jeszcze w pełni poznane, chociaż uważa się, że kluczową rolę odgrywa odporność komórkowa (Manseuto i wsp. 2012).

Bakterie z rodzaju *Rickettsia* należące do grupy SFG mogą rozprzestrzeniać się z komórki do komórki, napędzane przez ruchliwość opartą na aktynie, bez niszczenia komórki (Hackstadt 1996, Osterloh 2020), natomiast uważa się, że riketsje należące do grupy TG gromadzą się w komórce aż do lizy (Hackstadt 1996). Po uwolnieniu, bakterie przedostają się do sąsiednich komórek i rozprzestrzeniają się w organizmie poprzez krwiobieg. Riketsje mogą następnie wnikać do prawie wszystkich tkanek i narządów i zakażać inne komórki, zwłaszcza monocyty/makrofagi (Manseuto i wsp 2012, Sahini 2009), które również mogą służyć jako nisza replikacyjna i jako nośnik transportu bakterii do rozprzestrzeniania się przez krew. Ponadto w warunkach *in vitro* riketsje mogą infekować hepatocyty, komórki mięśni gładkich, neurony i fibroblasty. Te ostatnie są również powszechnie wykorzystywane do hodowli bakterii *in vitro* w celach badawczych i diagnostycznych. Bakterie z rodzaju *Rickettsia* rozprzestrzeniają się układowo w organizmie i mogą powodować niewydolność wielonarządową ze skutkiem śmiertelnym. Powikłania często obserwowane w ciężkich przypadkach riketsjoz to śródmiąższowe zapalenie płuc, zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych, zapalenie mięśnia sercowego, zapalenie nerek czy martwica wątroby (Osterloh 2020).

#### 1.3.4. Epidemiologia bakterii z rodzaju *Rickettsia*

Większość zidentyfikowanych patogennych gatunków riketsji początkowo była rozpoznawana w kleszczach, a dopiero po latach wiązano je z objawami chorobowymi u ludzi i zwierząt. *R. parkeri* została po raz pierwszy odkryta w 1937 roku w kleszczach *A. maculatum* u wybrzeży Zatoki Meksykańskiej, a pierwszą infekcję wywołaną tą riketsją opisano dopiero prawie 70 lat później (Paddock i wsp. 2004). *R. slovaca* została po raz pierwszy wyizolowana w 1968 roku z kleszczy *D. marginatus*, w ówczesnej Czechosłowacji, a pierwszy udokumentowany przypadek zakażenia ludzi został zgłoszony kilkanaście lat

później (Raoult i wsp. 1997). Biorąc pod uwagę trudności w przewidywaniu patogenności nowo odkrytych gatunków riketsji izolowanych ze stawonogów, gatunki te należy traktować jako potencjalnie patogenne dla ludzi (Merhej i wsp. 2014).

Riketsjozy należą do najstarszych znanych chorób przenoszonych przez wektory. Jednak zakres i znaczenie uznanych patogenów z rodzaju *Rickettsia*, związanych z kleszczami, dramatycznie wzrosły w ciągu ostatnich 30 lat, czyniąc ten kompleks chorób idealnym paradygmatem do zrozumienia pojawiających się i nawracających infekcji (Delord i wsp. 2014). W poniższej tabeli przedstawiono wszystkie chorobotwórcze gatunki z rodzaju *Rickettsia* wraz z wywoływanymi przez nie objawami (Tab. 4).

**Tab. 4.** Patogenne gatunki z rodzaju *Rickettsia* oraz ich charakterystyka kliniczna (Piotrowski i Rymaszewska 2020).

Patogeny gatunek <i>Rickettsia</i> spp.	Charakterystyka kliniczna
<i>Rickettsia rickettsii</i>	Wywołuje chorobę zwaną Gorączką Plamistą Gór Skalistych (RMSF, <i>Rocky Mountain Spotted Fever</i> ). Objawia się nagłym wystąpieniem wysokiej gorączki, której towarzyszą bóle głowy, nudności, wymioty i bóle mięśni. Charakterystyczna wysypka pojawia się w ciągu 2-4 dni od wystąpienia gorączki. W ciężkich przypadkach może dojść do obrzęku płuc i krwotoku, obrzęku mózgu, zapalenia mięśnia sercowego, niewydolności nerek, gangreny i śmierci.
<i>Rickettsia conorii</i> subsp. <i>conorii</i>	Wywołuje Śródziemnomorską Gorączką Plamistą (MSF, <i>Mediterranean Spotted Fever</i> ). Przejawia się gorączką, objawami grypopodobnymi i skrajnym wyczerpaniem. Bardzo często w miejscu ukłucia przez kleszcza pojawia się strup oraz wysypka na dłoniach i stopach. Rejestrowano przypadki śmiertelne.
<i>Rickettsia conorii</i> subsp. <i>israelensis</i>	Wywołuje Izraelską Gorączką Plamistą lub Izraelskim Durem Kleszczowym (ISF, <i>Israeli Spotted Fever</i> ). Objawy kliniczne choroby są bardzo podobne do MSF. Zdecydowanie rzadziej w miejscu ukłucia przez kleszcza pojawia się strup. Częściej natomiast zgłaszane są problemy żołądkowo-jelitowe takie jak nudności i wymioty. Rejestrowano przypadki śmiertelne.
<i>Rickettsia conorii</i> subsp. <i>caspia</i>	Wywołuje gorączką Astrachańską. Objawy kliniczne choroby są bardzo podobne do przebiegu Śródziemnomorskiej Gorączki Plamistej. W szczycie gorączki odnotowywano wystąpienie krwawienia z nosa i krwawienia z miejsc wkłucia po podaniu leków.
<i>Rickettsia conorii</i> subsp. <i>indica</i>	Wywołuje chorobę zwaną Indyjskim Durem Kleszczowym. Klinicznie obraz choroby podobny jest do przebiegu MSF z tą różnicą, że często odnotowuje się wystąpienie purpurowej wysypki, a rzadko wystąpienie strupa w miejscu ukłucia przez kleszcza. Stwierdzono również powikłania w postaci gangreny.
<i>Rickettsia parkeri</i>	Większość przypadków chorobowych charakteryzuje się nekrotyczną wysypką pojawiającą po kilku dniach od ukłucia zakażonym kleszczem. Po kolejnych kilku dniach występuje gorączka o intensywności od niskiej po umiarkowaną. W miejscu iniekcji może wystąpić strup. Infekcja ma łagodniejszy przebieg niż RMSF i nie zarejestrowano



	śmiertelnych przypadków. Infekcje zostały również odnotowane u psów i krów
<i>Rickettsia massiliae</i>	Objawami klinicznymi jest gorączka i purpurowa wysypka na górnych i dolnych kończynach. Infekcje raportowane były przede wszystkim u psów, sporadycznie u ludzi.
<i>Rickettsia africae</i>	Wywołuje chorobę zwaną Afrykańską gorączką kleszczową (ATBF, <i>African tick bite fever</i> ). Objawy chorobowe pojawiają się po 5-7 dniach od ukłucia przez kleszcza z nagłym wystąpieniem gorączki, bólem głowy, uczuciem zmęczenia i bólami mięśni. Często odnotowuje się wiele strupów. Występuje również limfadenopatia, wysypka i sporadycznie aftowe zapalenie jamy ustnej. Z reguły choroba nie ma ciężkiego przebiegu. Afrykańska gorączka kleszczowa jest drugą po malarii chorobą rozpoznawaną wśród turystów powracających z podróży do Afryki Subsaharyjskiej.
<i>Rickettsia philipie</i>	Uważa się, że wiele przypadków mogło zostać mylnie zdiagnozowanych jako RMSF, a do charakterystycznych objawów tej infekcji należą wystąpienie strupa, gorączki, bólu głowy i mięśni oraz ogólnego zmęczenia.
<i>Rickettsia montanensis</i>	Nie odnotowano potwierdzonych przypadków infekcji u ludzi jednak dane opublikowane w 2012 roku informują, że u dziecka u którego objawami była wysypka w wywiadzie stwierdzono ukłucie kleszczem zakażonym <i>R. montanensis</i> . Przypadek ten wskazuje, że bakteria ta może powodować zachorowania o łagodnym przebiegu przypominające choroby z grupy gorączek plamistych.
<i>Rickettsia</i> sp. strain Atlantic rainforest (lub strain Bahia)	Odpowiedzialna za dwa przypadki chorobowe z objawami klinicznymi podobnymi do infekcji wywoływanych przez <i>R. parkeri</i> i które objawiały się stanem podgorączkowym, powiększeniem węzłów chłonnych i wystąpieniem strupa w miejscu ukłucia przez kleszcza.
<i>Rickettsia massiliae</i>	Objawy chorobowe przypominają przebiegu MSF. Ponadto odnotowano przypadek z utratą wzroku oraz zapaleniem naczyń i siatkówki oka.
<i>Rickettsia sibirica</i> subsp. <i>mongolitimonae</i>	Jednostka chorobowa, którą wywołuje została nazwana LAR (ang. <i>lymphangitis-associated rickettsiosis</i> ). Do typowych objawów zaliczamy gorączkę, bóle głowy, bóle mięśni, wysypkę, powiększenie węzłów chłonnych, zapalenie naczyń chłonnych oraz pojedynczy lub wielokrotny strup w miejscu iniekcji. Nie odnotowano przypadków śmiertelnych, ale zaobserwowano powikłania takie jak ostra niewydolność nerek, zapalenie naczyń siatkówki oraz letarg z hiponatremią.
<i>Rickettsia slovaca</i>	Wywołuje chorobę nazywaną TIBOLA ( <i>Tick-Borne Lymphadenitis</i> ) lub DEBONEL ( <i>Dermacentor-Borne Necrosis Erythema Lymphadenopathy</i> ). Po badaniach z 2010 i 2011 roku gdy potwierdzono podobne objawy chorobowe związane z infekcjami <i>Bartonella henselae</i> i <i>Francisella tularensis</i> zaproponowano ujednoczoną nazwę dla tej jednostki chorobowej – SENLAT ( <i>Scalp Eschar and Neck Lymph Adenopathy</i> ). Okres inkubacji choroby wynosi 1-15 dni. Objawy obejmują astenię, bóle głowy, bolesne powiększenie węzłów chłonnych, bolesny strup po ukłuciu na skórze głowy, podwyższoną temperaturę ciała, wysypkę, a także w nielicznych przypadkach obrzęk twarzy. Leczenie przebiega pomyślnie jednak bardzo często wokół

	strupa występuje łysienie utrzymujące się do kilku miesięcy oraz długotrwała astemia.
<i>Rickettsia raoultii</i>	Przypisuje się wywoływanie choroby nazywanej TIBOLA (Tick-Borne Lymphadenitis) lub DEBONEL (Dermacentor-Borne Necrosis Erythema Lymphadenopathy). Podobnie zatem jak <i>R. slovaca</i> jest odpowiedzialna za wywoływanie choroby nazywanej SENLAT. Objawy chorobowe są bardzo podobne do tych wywoływanych przez <i>R. slovaca</i> z tą różnicą, że nie występują przypadki łysienia.
<i>Rickettsia monacensis</i>	Oprócz objawów grypopodobnych i gorączki u części pacjentów stwierdzono pojawienie się strupa w miejscu ukłucia przez kleszcza, a także wysypkę obejmującą również dłonie i podeszwy stóp. Po leczeniu pacjenci wracali do zdrowia.
<i>Rickettsia aeschlimannii</i>	Objawy kliniczne podobne są do przebiegu MSF.
<i>Rickettsia helvetica</i>	Wywołuje infekcję o stosunkowo łagodnym przebiegu, z bólem głowy, mialgią czasem wysypką i strupem w miejscu ukłucia przez kleszcza.
<i>Rickettsia sibirica</i> subsp. <i>sibirica</i>	Wywołuje chorobę zwaną Syberyjskim dudem kleszczowym (STT, <i>Siberian tick typhus</i> ). Czas inkubacji choroby wynosi 4 dni, a objawy są charakterystyczne dla gorączek plamistych, a więc wysoka gorączka, strup w miejscu ukłucia przez kleszcza, limfadenopatia oraz grudkowata (rzadko wybroczynowa) wysypka. Choroba zwykle ma łagodny przebieg i rzadko jest związana z poważnymi komplikacjami.
<i>Rickettsia heilongjiangensis</i>	Wywołuje chorobę nazywaną dalekowschodnią gorączką plamistą. Typowymi objawami są gorączka, ból i zawroty głowy, dreszcze, bóle mięśni i stawów, utrata masy ciała oraz plamkowata lub grudkowato-plamkowata wysypka, powiększenie węzłów chłonnych i strup w miejscu ukłucia przez kleszcza.
<i>Rickettsia japonica</i>	Wywołuje chorobę zwaną Japońską gorączką plamistą (JSF, <i>Japanese spotted fever</i> ). Charakterystycznymi objawami są gorączka, ból głowy, wysypka i wystąpienie strupa w miejscu ukłucia przez kleszcza.
<i>Rickettsia honei</i>	Wywołuje chorobę zwaną Gorączką plamistą Wyspy Flindersa (FISF, <i>Flinders Island spotted fever</i> ). Ma ogólnie łagodny przebieg z objawami takimi jak gorączka, ból głowy i mięśni, kaszel oraz wysypka o charakterze plamkowo-grudkowatym bez oznak pęcherzykowości. W przebiegu zakażenia odnotowywano również zapalenie mózgu, zapalenie płuc, szum uszny i głuchota.
<i>Rickettsia tamurae</i>	Opisanymi objawami przebiegu zakażenia było lokalne zapalenie skóry z obrzękiem. Pomimo, że nie stwierdzono innych typowych objawów dla riketsjoz należy przyjąć, że bakteria ta wykazuje potencjał chorobotwórczy.
<i>Rickettsia australis</i>	Wywołuje chorobę nazwaną Dudem kleszczowym z Queensland (QTT, <i>Queensland tick typhus</i> ). Objawami QTT są gorączka, ból głowy, złe samopoczucie, dreszcze, grudkowato-plamista wysypka oraz strup powstający w miejscu ukłucia przez kleszcza. Przebieg chorobowy jest różny – od łagodnego do zagrażającego życiu.
<i>Rickettsia honei</i> strain <i>marmionii</i>	Chorobę, którą wywołuje nazwano Australijską gorączką plamistą. Obraz kliniczny jest podobny do tego w przebiegu FISF i charakteryzuje się gorączką, bólem głowy, bólem stawów, bólem mięśni, kaszlem, grudkowato-plamistą wysypką, nudnościami, zapaleniem gardła,

	powiększeniem węzłów chłonnych i strupem pojawiającym się w miejscu ukłucia przez kleszcza.
<b>Candidatus <i>Rickettsia tarasevichiae</i></b>	Do objawów infekcji należą gorączka, astenia, spadek masy ciała, nudności, ból głowy, powiększenie węzłów chłonnych oraz wystąpienie strupa w miejscu ukłucia przez kleszcza. Nie zaobserwowano natomiast wystąpienia wysypki. Odnotowano również przypadek śmiertelny u pacjenta po śpiączce, zaburzeniach czynności nerek i kwasicy oddechowej.

W wyżej przedstawionym zestawieniu uwzględniono bakterie z rodzaju *Rickettsia*, których patogenne właściwości zostały potwierdzone. Niemniej jednak istnieje liczna grupa gatunków lub „kandydatów” na nowe gatunki, które uważa się za potencjalnie patogenne. Do grupy tej zalicza się m.in.: Candidatus *R. barbariae*, Candidatus *R. amblyommii*, Candidatus *R. andeanae*, Candidatus *R. colombianensi*, Candidatus *R. cooleyi*, Candidatus *R. kellyi*, Candidatus *R. kotlanii*, Candidatus *R. kulagini*, Candidatus *R. liberiensis*, Candidatus *R. moreli*, Candidatus *R. principis*, Candidatus *R. rioja*, Candidatus *R. siciliensis*, Candidatus *R. vini*, *R. antechini*, *R. argasii*, *R. asiatica*, *R. derrickii*, *R. gravesii*, *R. guntherii*, *R. hoogstraalii*, *R. peacockii*, *R. sauri*, *R. sp. clone KVH-02-3H7*, *R. sp. COOPERI*, *R. sp. NOD*, *R. sp. strain Davousti*, *R. sp. strain DmS1*, *R. sp. strain IXL11*, *R. sp. strain Uilenbergi*, *R. tasmanensis*, *R. monteiroi*, Candidatus *R. wissemannii* (Piotrowski i Rymaszewska 2020).

### 1.3.5. Rozmieszczenie geograficzne bakterii z rodzaju *Rickettsia*

Kleszcze będąc drugim, zaraz po komarach, wektorem chorób transmisyjnych są odpowiedzialne za przenoszenie wirusów, bakterii, grzybów i pierwotniaków. Z medycznego i weterynaryjnego punktu widzenia większość z około stu infekcji przenoszonych przez stawonogi może być powiązana ze 116 gatunkami kleszczy (32 gatunki *Argasidae* i 84 gatunkami *Ixodidae*). Globalna dystrybucja kleszczy i zarazem riketsjoz odkleszczowych może wprowadzać nowe gatunki riketsji do nowych obszarów geograficznych (Brites-Neto i wsp. 2015). Testy molekularne wykazały, że bakterie z rodzaju *Rickettsia* występują na całym świecie. Wiele gatunków riketsji jest obecnych na kilku kontynentach. Geograficzne rozmieszczenie *Rickettsia* jest związane z ich wektorami. Dodatkowo na występowanie mogą mieć wpływ interakcje między gatunkami riketsji u tego samego gatunku kleszcza czy też osobnika. Niepatogenne riketsje lub takie, które wywołują łagodną postać choroby, mogą wywierać negatywny wpływ na zjadliwe gatunki, konkurując o ograniczone mikrosiedliska w gospodarzu (Merhej i wsp. 2014).

Nowe przypadki riketsjoz i nowe lokalizacje, w których rozpoznaje się obecność bakterii z rodzaju *Rickettsia* są wciąż identyfikowane. Różnorodność i szybka ewolucja rozmieszczenia i zagęszczenia kleszczy oraz chorób, które przenoszą ukazują nam skalę problemu. W pracy z 2020 roku (Piotrowski i Rymaszewska 2020) ukazano jak dużą geograficzną ekspansję dokonały chorobotwórcze bakterie z rodzaju *Rickettsia* na przestrzeni ostatnich 14 lat. W porównaniu do danych z początku XXI wieku obecny stan wiedzy powiększa się o liczbę patogennych gatunków *Rickettsia* z osiemnastu do aż dwudziestu sześciu. Trzeba zaznaczyć, że część tych nowych czynników chorobotwórczych była znana już w 2005 roku, ale nie uważano ich za patogenne (*R. monacensis*, *R. montanensis*, *R. conorii* subsp. *indica*), inne natomiast zostały odkryte i opisane dopiero w późniejszym okresie (*R. philipii*, Candidatus *R. tarasevichiae*, *R. tamurae*, *R. raoultii*, *Rickettsia* sp. strain Atlantic rainforest). Należy zauważyć, że żaden gatunek nie występuje na wszystkich sześciu kontynentach, nie licząc Antarktydy. Najbliżej tak dużego zasięgu występowania są *R. monacensis* i *R. massiliae*, które obecne są na całym globie za wyjątkiem Australii. Z kolei do gatunków zasiedlających jeszcze wyłącznie jeden kontynent lub nawet region należą: *R. sibirica* subsp. *sibirica*, *R. australis*, *R. montanensis*, *R. philipii*, *R. heilongjiangensis*, *R. tamurae*, *R. honei* strain *marmionii*, *R. sp.* strain Atlantic rainforest. W Polsce wykryto obecność 5 patogennych gatunków: *R. helvetica*, *R. massiliae*, *R. slovacca*, *R. monacensis*, *R. raoultii*. Biorąc jednak pod uwagę dynamikę rozprzestrzeniania należałoby jeszcze zwrócić uwagę na gatunki już obecne w Europie, a w Polsce jeszcze nie odnotowane. Zaliczamy do nich kolejne 8 gatunków: *R. conorii* subsp. *conorii*, *R. conorii* subsp. *caspia*, *R. conorii* subsp. *indica*, *R. conorii* subsp. *israelensis*, *R. sibirica* subsp. *mongolitimonae*, *R. africae*, *R. aeschlimannii*, Candidatus *R. tarasevichiae*.

## 2. Cel pracy

Głównym celem niniejszej pracy badawczej było porównanie różnic w występowaniu bakterii z rodzaju *Rickettsia* w populacjach kleszczy w środowisku miejskim, na przykładzie Poznania oraz w środowisku naturalnym, reprezentowanym przez obszar Wielkopolskiego Parku Narodowego. Analiza obejmowała ocenę wpływu wielu czynników na występowanie bakterii, w tym:

- stadium rozwojowe kleszcza, które może odgrywać istotną rolę w dostępności i wrażliwości na zakażenie patogenami,
- sezonowa aktywność kleszczy, istotna ze względu na potencjalne zmiany liczebności w populacjach kleszczy w różnych okresach roku,
- warunki środowiskowe, które mogą kształtować interakcje między kleszczem a patogenami,
- specyficzny teren występowania kleszczy, czyli środowisko miejskie i naturalne, które może znacząco wpływać na dynamikę zakażeń u ludzi i zwierząt.

Celem pośrednim badania była analiza potencjalnego ryzyka zdrowotnego związanego z obecnością chorobotwórczych bakterii z rodzaju *Rickettsia* w populacjach kleszczy. Przeanalizowanie tych zagadnień miało dostarczyć precyzyjnych informacji oraz praktycznych wskazówek, które mogły być wykorzystane w celu minimalizacji ryzyka zachorowań spowodowanych przez patogeny odkleszczowe.

Zakładaną hipotezą badawczą, którą poddano weryfikacji, była teza o braku zależności pomiędzy odsetkiem zakażonych kleszczy a badanymi czynnikami.

Ostatecznie, uzyskane wyniki analizy stanowią cenne źródło wiedzy, które może przyczynić się do bardziej wszechstronnego zrozumienia dynamiki i epidemiologii riketsjoz w kontekście polskiego środowiska. Sprecyzowane wnioski mogą również dostarczyć podstaw dla dalszych badań oraz skierowanych działań prewencyjnych, mających na celu kontrolę rozprzestrzeniania się chorób odkleszczowych.

### 3. Materiały i metody

#### 3.1. Teren badań

Zbiór kleszczy odbywał się każdego miesiąca od kwietnia 2018 roku do października 2019 roku łącznie w dziesięciu lokalizacjach. Jako punkty zbioru z obszaru miejskiego wybrano 5 miejsc rekreacyjnych o najczęstszej obecności ludzi na terenie miasta Poznania: Jezioro Rusalka, Jezioro Strzeszyńskie, Jezioro Maltańskie, Park Cytadela oraz tereny rekreacyjne nad rzeką Wartą (Tab. 5).

**Tab. 5.** Punkty zbioru kleszczy na terenie miasta Poznania.

Lokalizacja	Położenie geograficzne	Okres zbioru	Charakterystyka stanowiska
Jezioro Rusalka <b>(PO-1)</b>	52°25'54.7" N 16°52'36.3" E	04-12.2018/ 01-10.2019	Terenem, na którym przeprowadzano zbiórkę kleszczy było obrzeże jedyne parkingu położonego przy głównej plaży jeziora. Teren częstych spacerów, aktywnego wypoczynku, a także wybiegu dla psów. Kleszcze były zbierane wzdłuż linii parkingu porośniętej trawami i krzewami.
Jezioro Strzeszyńskie <b>(PO-2)</b>	52°27'49.1" N 16°49'42.1" E	04-12.2018/ 01-10.2019	Miejsce zbioru kleszczy stanowiła ścieżka prowadząca do głównej plaży jeziora. Kleszcze były zbierane wzdłuż ścieżki z ubogo występującą niską roślinnością.
Jezioro Maltańskie <b>(PO-3)</b>	52°24'11.3" N 16°59'23.0" E	04-12.2018/ 01-10.2019	Obszarem zbioru kleszczy było obrzeże parku graniczącego z bezpłatnym parkingiem, główną ścieżką prowadzącą do parku, drogą dojazdową do obiektów sportowych nad jeziorem oraz drogą dojazdową do ogrodu zoologicznego. Kleszcze były zbierane wzdłuż ścieżki i parkowej ławki stanowiącej częste miejsce wypoczynku.
Park Cytadela <b>(PO-4)</b>	52°25'15.3" N 16°56'34.3" E	04-12.2018/ 01-10.2019	Miejsce zbioru kleszczy stanowiła ścieżka w bardzo popularnym parku umiejscowiona przy jednym z głównych wejść graniczącą z osiedlem domów jednorodzinnych, placem zabaw dla dzieci i restauracją posiadającą leżaki usytuowane na trawie. Kleszcze były zbierane wzdłuż ścieżki porośniętej trawą i niskimi roślinami zielnymi.
Rzeka Warta <b>(PO-5)</b>	52°26'04.2" N 16°57'52.3" E	04-12.2018/ 01-10.2019	Miejszem, gdzie przeprowadzano zbiór kleszczy był brzeg rzeki będący miejscem popularnym wśród wędkarzy, amatorów letniego wypoczynku, a także osób aktywnie spędzających czas na wolnym powietrzu: spacerowiczów, biegaczy i rowerzystów. Kleszcze były zbierane ze ścieżek i placów wypoczynku porośniętych trawą.

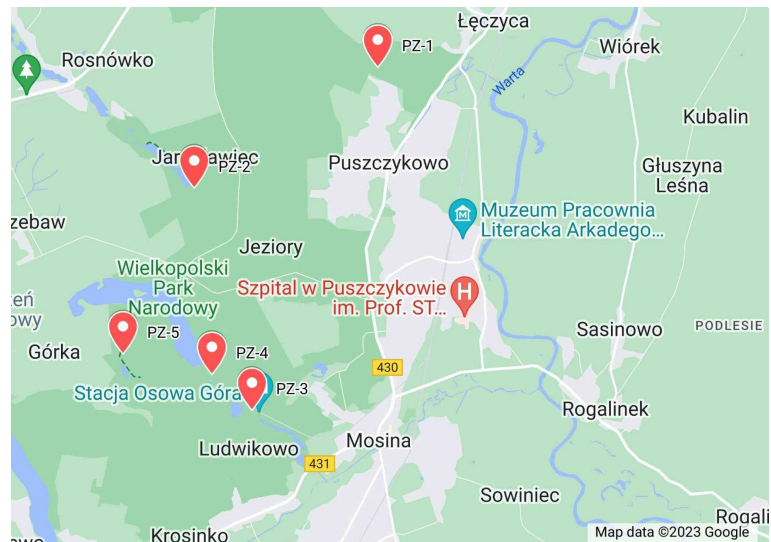
Dla uzyskania danych porównawczych wybrano 5 miejsc na terenie Wielkopolskiego Parku Narodowego, który jest terenem naturalnym, o bardzo małym stopniu antropopresji, a jednocześnie jest obszarem o wyjątkowej popularności rekreacyjnej dla mieszkańców aglomeracji poznańskiej i okolic. Punktami zbioru na terenie Wielkopolskiego Parku Narodowego są miejsca przecięcia kilku szlaków turystycznych jednocześnie (Tab. 6).

**Tab. 6.** Punkty zbioru kleszczy na terenie Wielkopolskiego Parku Narodowego.

Lokalizacja	Położenie geograficzne	Okres zbioru	Charakterystyka stanowiska
<b>PZ-1</b>	52°18'02.0" N 16°50'48.5" E	04-12.2018/ 01-10.2019	Miejsce zbioru kleszczy stanowiło przecięcie dwóch ścieżek na terenie Wielkopolskiego Parku Narodowego. Stanowisko położone było pomiędzy położonym na skraju lasu osiedlem domów jednorodzinnych, a Rezerwatem Las Mieszany Na Morenie.
<b>PZ-2</b>	52°16'57.5" N 16°48'08.7" E	04-12.2018/ 01-10.2019	Terenem, na którym przeprowadzono zbieranie kleszczy było obrzeże ścieżki prowadzącej do plaży nad Jeziorem Jarosławieckim.
<b>PZ-3</b>	52°14'58.9" N 16°48'59.1" E	04-12.2018/ 01-10.2019	Miejsce zbioru kleszczy stanowiło przecięcie ścieżek prowadzących do bardzo popularnych turystycznie miejsc jakimi są Jezioro Kociołek, Jezioro Budzyńskie czy nadal czynna stacja drezynowa Osowa Góra. Bezpośrednie sąsiedztwo punktu zbioru stanowił Głaz poświęcony prof. Adamowi Wodziczce.
<b>PZ-4</b>	52°15'18.1" N 16°48'24.0" E	04-12.2018/ 01-10.2019	Miejscem, gdzie przeprowadzono zbieranie kleszczy, było obrzeże głównego szlaku prowadzącego do najpopularniejszego celu wycieczek turystycznych w Parku jakim jest Jezioro Góreckie.
<b>PZ-5</b>	52°15'29.9" N 16°47'05.3" E	04-12.2018/ 01-10.2019	Miejsce zbioru kleszczy stanowiło przecięcie szlaków turystycznych prowadzących do dwóch największych jezior Parku, a więc Jeziora Góreckiego i Jeziora Dymaczewskiego. Nieopodal miejsca zbioru znajdowało się małe Jezioro Skrzyńka.

W większości stanowisk kleszcze były zbierane wzdłuż dróg i ścieżek z niskiej roślinności lub opadłych na ziemię liści. Powierzchnia zbioru kleszczy wynosiła 100 m<sup>2</sup> precyzyjnie wyznaczonych za pomocą miary i specjalnie w tym celu wykonanych znaczników. Położenie geograficzne poszczególnych miejsc odłowu uwidoczono na mapie (Ryc. 8, Ryc. 10). Poszczególne stanowiska zostały ukazane na zdjęciach poniżej (Ryc. 9, Ryc. 11).



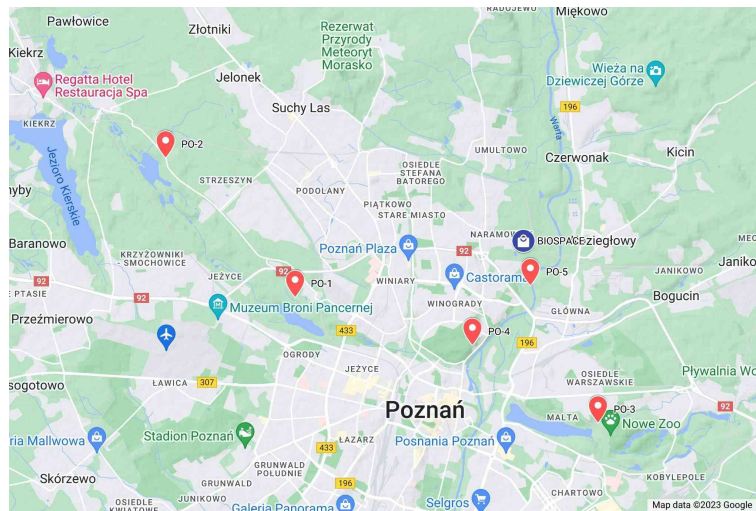


Ryc. 8. Lokalizacje miejsc zbioru kleszczy (czerwone pinezki) na terenie Wielkopolskiego Parku Narodowego (źródło mapy: [www.google.com/maps](http://www.google.com/maps)).

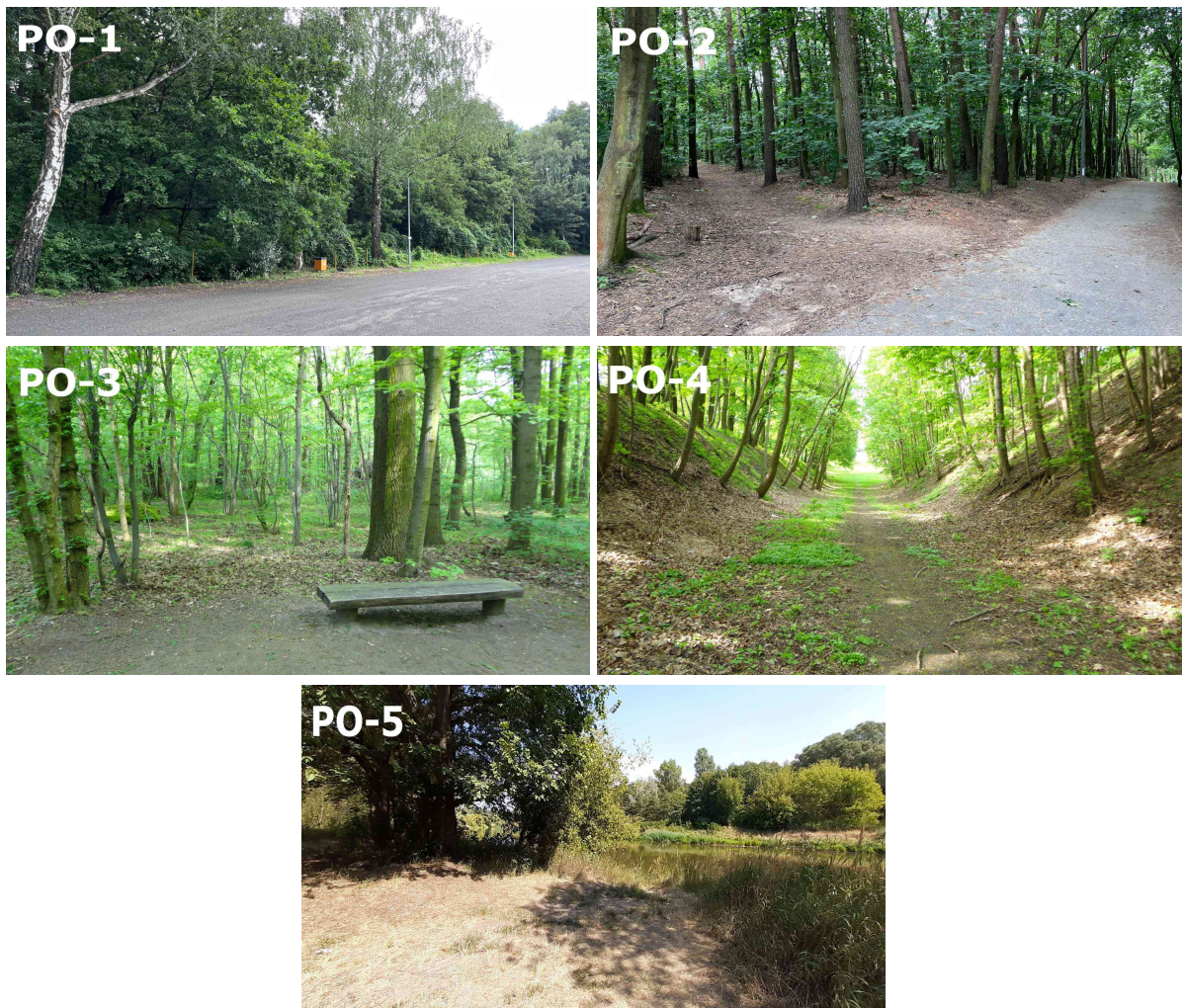


Ryc. 9. Dokumentacja fotograficzna miejsc zbioru kleszczy na terenie Wielkopolskiego Parku Narodowego (fot. Paweł Piotrowski).





Ryc. 10. Lokalizacje miejsc zbioru kleszczy (czerwone pinezki) na terenie Poznania (źródło mapy: [www.google.com/maps](http://www.google.com/maps)).



Ryc. 11. Dokumentacja fotograficzna miejsc zbioru kleszczy na terenie Poznania (fot. Mariusz Piotrowski).

### 3.2. Zbiór kleszczy

Kleszcze zbierano metoda flagową. Flagę stanowił biały, jednorazowy flanelowy materiał o wymiarach 120 x 80 cm i powierzchni około 1 m<sup>2</sup> umocowany do metalowej teleskopowej rurki. Flagę przeciągano po niskiej roślinności i opadłych liściach wzdłuż dróg i wydeptanych ścieżek. Przyczepione do materiału kleszcze zbierano za pomocą małej zagiętej pęsety typu Semken i umieszczano w 15 ml probówkach typu Falcon (Ryc. 12). Podczas każdego zbioru dokonywano pomiarów temperatury i wilgotności termohigrometrem Testo 605-H1, a wszystkie dane środowiskowe zapisywano na karcie zbioru (Ryc. 13).



Ryc. 12. Dokumentacja fotograficzna procesu zbierania kleszczy (fot. Paweł Piotrowski).

**KARTA DANYCH ZBIORU KLESZCZY**  
ze środowiska naturalnego

1. Dane ogólne:

Miejsce		Data	
Symbol		Godzina rozpoczęcia	
		Godzina zakończenia	

Współrzędne GPS

2. Warunki środowiskowe:

Opis biotopu (tj. las, pole, szlak, rodzaj roślinności, obecność ludzi w najbliższym obszarze)

Ogólny opis warunków pogodowych (tj. zachmurzenie, prędkość wiatru, ewentualne opady)

Temperatura powietrza		Wilgotność powietrza	
Temperatura ściółki		Wilgotność ściółki	

3. Dane zbioru:

Czy wykryto obecność kleszczy: TAK \_\_\_ NIE \_\_\_

	Larwa	Nimfa	Samica	Samiec	Ogólna liczba	Numer próby
Kleszcze						
<i>I. ricinus</i>						
<i>D. reticulatus</i>						

Osoba zbierająca

Osoba odpowiedzialna

Ryc. 13. Karta danych zbioru kleszczy (opracowanie: Mariusz Piotrowski).



W laboratorium pod mikroskopem na podstawie morfologii kleszcza wg klucza taksonomicznego (Siuda 1993) określono przynależność do gatunku i stadium rozwojowego. Następnie każdego osobnika umieszczano w osobnej 2 ml probówce typu Eppendorf i umieszczano w zamrażarce w  $-20^{\circ}\text{C}$ .

### 3.3. Izolacja DNA z kleszczy

Do każdej z probówek typu Eppendorf o pojemności 2 ml, w których przechowywano kleszcze, wkładano jedną stalową kulę do homogenizacji firmy BIOSPACE (Polska), a także niewielką ilość mikrokulek szklanych o rozmiarze 400-600  $\mu\text{m}$  (BIOSPACE, Polska). Następnie do tak przygotowanej próbówki dodawano 100  $\mu\text{l}$  roztworu PBS. Probówki umieszczano w aparacie do homogenizacji TissueLyser LT firmy Qiagen (Niemcy) i ustawiano na 5 minut przy prędkości 50 obrotów na sekundę. Izolacja DNA z kleszczy przeprowadzana była przy użyciu zestawu do izolacji DNA z tkanek firmy GenoPlast (Polska).

### 3.4. Detekcja bakterii z rodzaju *Rickettsia*

Do badań mających na celu wykrycie DNA *Rickettsia* spp. w kleszczach wykorzystano marker *gltA* kodujący fragment genu syntazy cytrynianowej. Amplifikowany fragment długości 381 pz jest jednym z najlepszych narzędzi do identyfikacji międzygatunkowej bakterii z rodzaju *Rickettsia* (Roux i wsp. 1997).

W celu identyfikacji gatunkowej już na poziomie reakcji PCR wykorzystano jeszcze dwa inne markery. Dla identyfikacji *R. monacensis* zastosowano sekwencję ITS zawartą między genami kodującymi 23S i 5S rRNA, która standardowo na żelu uwidacznia prążek o długości 530 pz (Vitorino i wsp. 2003), a w przypadku występowania *R. monacensis* daje prążek o długości 380 pz (Rymaszewska i Piotrowski 2013). W celu identyfikacji riketsji innych niż *R. helvetica* zastosowano marker *ompA* (Roux i wsp. 1996).

W skład mieszaniny reakcyjnej o objętości 10  $\mu\text{l}$  wchodziło: 1  $\mu\text{l}$  buforu PCR 10xPol Buffer, 1,5 mM  $\text{MgCl}_2$ , 0,2 mM dNTPs, 1,25 jednostki polimerazy *Taq* DNA (OptiTaq, EURx, Polska), 0,5  $\mu\text{M}$  każdego startera oraz wody typu milli-Q (Polpharma, Polska) i 1  $\mu\text{l}$  matrycowego DNA. Szczegóły dotyczące par starterów PCR, wielkości produktów amplifikacji (pz), temperatury przyłączania się starterów oraz rodzaju reakcji zostały przedstawione w Tab. 7. Amplifikację DNA riketsji przeprowadzono w automatycznym termocyklerze firmy BIO-RAD (Polska). Kontrole negatywne (jedna z matrycowym DNA,

ale bez starterów, a druga z starterami i wodą zamiast matrycowego DNA) oraz kontrole pozytywne (*R. helvetica*) były uwzględnione we wszystkich reakcjach.

**Tab. 7.** Rodzaj genu oraz sekwencje starterów umożliwiające detekcję bakterii z rodzaju *Rickettsia*.

Gen	Nazwa startera	Seqwencja 5'->3'	Rodzaj PCR	Długość amplikonu [pz]	Temp. łączenia [°C]	Źródło
<i>gltA</i>	RpCS.877p	GGGGGCCTGCTCACGGCGG	single-stage	381	48	Roux i wsp. 1997
	RpCS.1258n	ATTGCAAAAAGTACAGTGAACA				
<i>ompA</i>	Rr190.70p	ATGGCGAATATTTCTCAAAA	semi-nested	631	46	Roux i wsp. 1996
	Rr190.701n	GTTCCGTTAATGGCAGCATCT				
	Rr190.70p	ATGGCGAATATTTCTCAAAA				
	Rr190.602n	AGTGCAGCATTCGCTCCCCCT				
ITS	ITS-F	GATAGGTCGGGTGTGGAA	single-stage	530	56	Vitorino i wsp. 2003
	ITS-R	TCGGGATGGGATCGTGTG				

### 3.5. Sekwencjonowanie

W celu identyfikacji gatunkowej i wyboru odpowiednich izolatów do reakcji sekwencjonowania dla wszystkich dodatnich prób uzyskanych podczas amplifikacji fragmentu genu *gltA* przeprowadzono dodatkowe reakcje PCR z użyciem markerów *ompA* i ITS. W wyniku otrzymanych rezultatów do sekwencjonowania wybrano wszystkie próby, które były:

- dodatnie dla *gltA* i ITS, ale ujemne dla *ompA*,
- dodatnie dla *gltA* i *ompA* oraz z prążkiem ITS o 150 nukleotydów krótszym niż dla *R. helvetica*,
- dodatnie dla *gltA* i *ompA*, ale ujemne dla ITS.

Próby zostały uzupełnione o te, których długość prążka była standardowa, ale tak aby reprezentowały wszystkie stanowiska zbioru. Ponadto do sekwencjonowania przekazano wszystkie dodatnie próby uzyskane u *D. reticulatus*. Łącznie do sekwencjonowania przekazano 32.

Reakcje sekwencjonowania wybranych prób zostało przeprowadzone w laboratorium firmy Macrogen (Holandia). Otrzymane chromatogramy analizowano z wykorzystaniem programu FinchTV (Geospiza, USA).

Analiza bioinformatyczna dla uzyskanych sekwencji nukleotydowych została przeprowadzona z wykorzystaniem oprogramowania BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>) oraz MEGA11 (USA) opracowanym przez Tamura i wsp. (2021). Do analiz filogenetycznych zastosowano metodę maksymalnego prawdopodobieństwa (MJ, ang. *Maximum Likelihood*). Model 3-parametryczny Tamury został wybrany przy użyciu Model Test (MEGA11).

### 3.6. Analiza statystyczna

Analiza statystyczna wyników została przeprowadzona przy użyciu tabel krzyżowych oraz testów chi-kwadrat niezależności. Jako poziom istotności przyjęto  $\alpha = 0,05$ , co oznacza, że wyniki były uznawane za statystycznie istotne, jeśli wartości p były mniejsze lub równe 0,001. Testy zostały przeprowadzone z wykorzystaniem kalkulatora  $X^2$  - Calculation for the Chi-Square Test (<https://quantpsy.org/chisq/chisq.htm>, 2023).

## 4. Wyniki

### 4.1. Sezonowa aktywność kleszczy

W okresie od kwietnia 2018 do października 2019 roku zebrano łącznie 1702 kleszcze. Zebrane osobniki należały do dwóch gatunków: 1692 osobników *I. ricinus* i 10 osobników *D. reticulatus*. Jest to pierwsze doniesienie o występowaniu *D. reticulatus* w Poznaniu jak i Wielkopolskim Parku Narodowym. Ogólna liczba zebranych kleszczy w ciągu dwóch lat była większa na terenie Wielkopolskiego Parku Narodowego (WPN). Różnica ta występowała w każdym roku zbioru, gdzie udział zebranych kleszczy w WPN wynosił 64,9% ogółu w 2018 roku, a w 2019 roku odsetek ten zmniejszył się do 52,5% (Tab. 8). Wynik ten był statystycznie istotny ( $p < 0,001$ ).

**Tab. 8.** Analiza kleszczy zebranych w latach 2018-2019 (n - liczba zebranych kleszczy, % - procent zebranych kleszczy).

Stanowisko	Lata		Łącznie n (%)
	2018 n (%)	2019 n (%)	
<b>WPN</b>	499 (64,9)	490 (52,5)	<b>989 (58,1)</b>
<b>Poznań</b>	270 (35,1)	443 (47,5)	<b>713 (41,9)</b>
<b>WPN + Poznań</b>	<b>769</b>	<b>933</b>	<b>1702</b>

Na obszarze WPN różnica w liczbie zebranych kleszczy między poszczególnymi latami wynosiła zaledwie 1% (9 sztuk). Natomiast wzrost liczby zebranych osobników miał miejsce w 2019 roku w Poznaniu, gdzie zebrano o 24,2% więcej kleszczy w porównaniu z rokiem poprzednim. W 2018 roku w WPN zebrano 50,5% z łącznej liczby kleszczy odnotowanych w obu latach na tym obszarze, natomiast w Poznaniu było to 37,9% z ogólnej liczby kleszczy zebranych w obu latach. W roku 2019 stosowne proporcje dla WPN i Poznania wynosiły 49,5% oraz 62,1%. Widoczny jest więc istotny wzrost liczby kleszczy zebranych w Poznaniu w 2019 roku ( $p < 0,001$ ) (Tab. 9).

**Tab. 9.** Analiza kleszczy zebranych w środowisku naturalnym (WPN) i miejskim (Poznań) (n - liczba zebranych kleszczy, % - procent zebranych kleszczy).

Rok	Stanowisko		Łącznie n (%)
	WPN n (%)	Poznań n (%)	
<b>2018</b>	499 (50,5)	270 (37,9)	<b>769 (45,2)</b>
<b>2019</b>	490 (49,5)	443 (62,1)	<b>933 (54,8)</b>
<b>Łącznie 2018-2019</b>	<b>989</b>	<b>713</b>	<b>1702</b>

#### 4.1.1. Występowanie kleszczy w zależności od terenu odłowu

Analizując poszczególne stanowiska odłowu na danym obszarze, można zaobserwować, że w trakcie całego okresu zbioru na terenie WPN największa liczba kleszczy została odnotowana na stanowisku PZ-3 (31,8%), natomiast najmniejsza na stanowisku PZ-2 (7,2%). W 2018 roku stanowisko PZ-3 rzeczywiście zanotowało największą ilość odłowionych kleszczy (38,5% ogółu), natomiast w 2019 roku najwięcej osobników odłowiono na stanowisku PZ-4 (29,4% ogółu) (Tab. 10). Procentowy udział kleszczy zebranych w 2019 roku w porównaniu z rokiem poprzednim był niższy na stanowiskach PZ-1, PZ-2 i PZ-3, natomiast wyższy na PZ-4 i PZ-5. Największe różnice zaobserwowano na stanowisku PZ-3, gdzie w drugim roku badań odłowiono o 69 osobników mniej niż w roku poprzednim, oraz na stanowisku PZ-4, gdzie w 2019 roku zebrano o 87 kleszczy więcej niż w 2018 roku. Statystycznie istotne różnice w liczbie zebranych kleszczy wystąpiły na stanowisku PZ-4, gdzie w 2018 roku odnotowano 28,4% ogólnej liczby zebranych kleszczy na tym stanowisku, a w 2019 roku było to już 71,6% ( $p < 0,001$ ) (Tab. 11).

Podczas analizy poszczególnych miejsc zbioru w mieście Poznań można zauważyć, że największa liczba kleszczy została odłowiona na stanowisku PO-3, tj. 502 osobniki co stanowiło 70,4% wszystkich zebranych osobników. Natomiast najmniejsza ilość kleszczy została odnotowana na stanowisku PO-5 - zaledwie 4,9% wszystkich zebranych kleszczy (Tab. 12). W 2019 odnotowano znaczący wzrost liczby odłowionych kleszczy - łącznie 443 sztuki, co stanowiło 62,1% całkowitej liczby na tym obszarze. Odsetek zebranych kleszczy na poszczególnych stanowiskach wzrósł na PO-1, PO-2, PO-3 i PO-5, a zmniejszył się jedynie na PO-4. Istotna statystycznie różnica wystąpiła na stanowisku PO-1, na którym w 2018 roku zebrano 19,2%, a w 2019 roku 80,8% łącznej liczby kleszczy w obu latach na tym stanowisku ( $p < 0,001$ ) (Tab. 13).

**Tab. 10.** Analiza kleszczy zebranych w latach 2018-2019 w Wielkopolskim Parku Narodowym: rozkład na stanowiskach (n - liczba zebranych kleszczy, % - procent zebranych kleszczy).

Stanowisko	Lata		Łącznie n (%)
	2018 n (%)	2019 n (%)	
PZ-1	130 (26,1)	101 (20,6)	231 (23,4)
PZ-2	37 (7,4)	34 (6,9)	71 (7,2)
PZ-3	192 (38,5)	123 (25,1)	315 (31,8)
PZ-4	57 (11,4)	144 (29,4)	201 (20,3)
PZ-5	83 (16,6)	88 (18,0)	171 (17,3)
<b>Łącznie WPN</b>	<b>499</b>	<b>490</b>	<b>989</b>

**Tab. 11.** Analiza kleszczy zebranych na poszczególnych stanowiskach w Wielkopolskim Parku Narodowym (n - liczba zebranych kleszczy, % - procent zebranych kleszczy).

Rok	Stanowisko					Łącznie n (%)
	PZ-1 n (%)	PZ-2 n (%)	PZ-3 n (%)	PZ-4 n (%)	PZ-5 n (%)	
<b>2018</b>	130 (56,3)	37 (52,1)	192 (61,0)	57 (28,4)	83 (48,5)	<b>499 (50,5)</b>
<b>2019</b>	101 (43,7)	34 (47,9)	123 (39,0)	144 (71,6)	88 (51,5)	<b>490 (49,5)</b>
<b>Łącznie 2018-2019</b>	<b>231</b>	<b>71</b>	<b>315</b>	<b>201</b>	<b>171</b>	<b>989</b>

**Tab. 12.** Analiza kleszczy zebranych w latach 2018-2019 w mieście Poznań: rozkład na stanowiskach (n - liczba zebranych kleszczy, % - procent zebranych kleszczy).

Stanowisko	Lata		Łącznie n (%)
	2018 n (%)	2019 n (%)	
PO-1	15 (5,6)	63 (14,2)	78 (11,0)
PO-2	22 (8,1)	23 (5,2)	45 (6,3)
PO-3	189 (70,0)	313 (70,7)	502 (70,4)
PO-4	30 (11,1)	23 (5,2)	53 (7,4)
PO-5	14 (5,2)	21 (4,7)	35 (4,9)
<b>Łącznie Poznań</b>	<b>270</b>	<b>443</b>	<b>713</b>



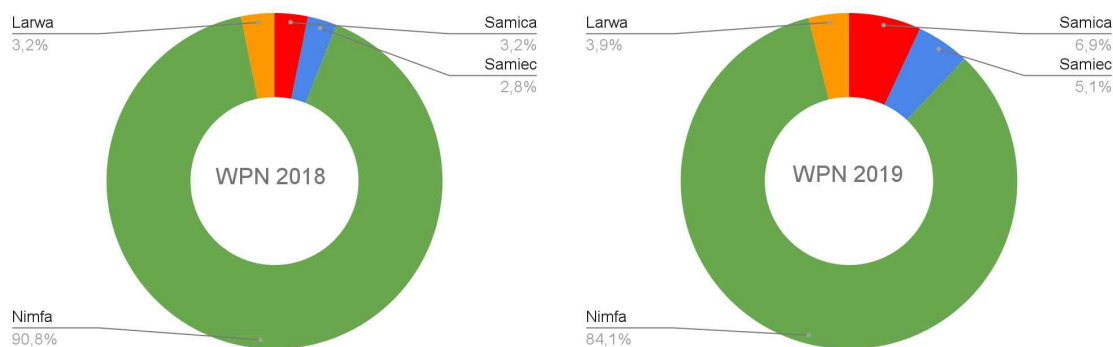
**Tab. 13.** Analiza kleszczy zebranych na poszczególnych stanowiskach w mieście Poznań (n - liczba zebranych kleszczy, % - procent zebranych kleszczy).

Rok	Stanowisko					Łącznie n (%)
	PO-1 n (%)	PO-2 n (%)	PO-3 n (%)	PO-4 n (%)	PO-5 n (%)	
2018	15 (19,2)	22 (48,9)	189 (37,6)	30 (56,6)	14 (40,0)	270 (37,9)
2019	63 (80,8)	23 (51,1)	313 (62,4)	23 (43,4)	21 (60,0)	443 (62,1)
<b>Łącznie 2018-2019</b>	<b>78</b>	<b>45</b>	<b>502</b>	<b>53</b>	<b>35</b>	<b>713</b>

Pomimo większej liczby kleszczy zebranych w WPN w porównaniu do Poznaniu, to stanowisko PO-3 w Poznaniu charakteryzowało się najliczniejszym występowaniem tych pasożytów. Przez 2 lata zebrano tam łącznie 502 osobniki, co stanowi o 187 sztuk więcej niż na najliczniejszym stanowisku w Wielkopolskim Parku Narodowym.

#### 4.1.2. Występowanie kleszczy w zależności od stadium rozwojowego

Analizując dane dotyczące odłowionych stadiów rozwojowych kleszczy na terenie Wielkopolskiego Parku Narodowego, warto zwrócić uwagę, że w obu latach zbioru zdecydowanie dominującym stadium rozwojowym była nimfa (Ryc. 14). W 2018 roku stanowiła ona 90,8% wszystkich zebranych kleszczy, a w 2019 roku - 84,1%. Przewaga tego stadium występowała na każdym stanowisku i w każdym roku zbioru. Pozostałe stadia rozwojowe w większości przypadków stanowiły jedynie kilka procent ogólnej liczby. Wszystkie stadia rozwojowe zostały odłowione na każdym stanowisku, z wyjątkiem PZ-1, gdzie w pierwszym roku zbioru nie udało się odnaleźć żadnych larw (Tab. 14).



**Ryc. 14.** Udział stadiów rozwojowych kleszczy w Wielkopolskim Parku Narodowym odłowionych w latach 2018 (po lewej) i 2019 (po prawej).

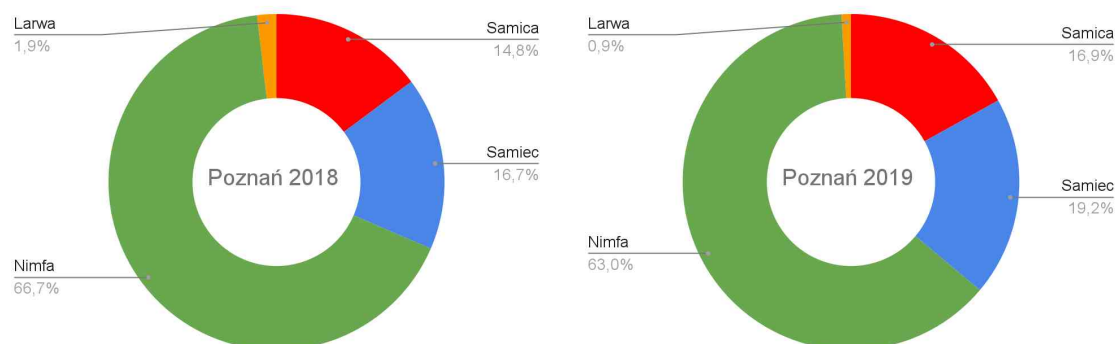
**Tab. 14.** Analiza kleszczy zebranych na poszczególnych stanowiskach na terenie Wielkopolskiego Parku Narodowego: rozkład stadium rozwojowego (n - liczba zebranych kleszczy, % - procent zebranych kleszczy).

Rok	Stadium rozwojowe	Stanowisko					Łącznie n (%)
		PZ-1 n (%)	PZ-2 n (%)	PZ-3 n (%)	PZ-4 n (%)	PZ-5 n (%)	
2018	samica	6 (4,6)	1 (2,7)	4 (2,1)	2 (3,5)	3 (3,6)	16 (3,2)
	samiciec	3 (2,3)	2 (5,4)	5 (2,6)	1 (1,7)	3 (3,6)	14 (2,8)
	nimfa	121 (93,1)	30 (81,1)	178 (92,7)	51 (89,5)	73 (88,0)	453 (90,8)
	larwa	0	4 (10,8)	5 (2,6)	3 (5,3)	4 (4,8)	16 (3,2)
<b>Łącznie rok 2018</b>		<b>130</b>	<b>37</b>	<b>192</b>	<b>57</b>	<b>83</b>	<b>499</b>
2019	samica	12 (11,9)	3 (8,9)	7 (5,7)	11 (7,6)	1 (1,1)	34 (6,9)
	samiciec	8 (7,9)	1 (2,9)	8 (6,5)	6 (4,2)	2 (2,3)	25 (5,1)
	nimfa	77 (76,2)	29 (85,3)	106 (86,2)	121 (84,0)	79 (89,8)	412 (84,1)
	larwa	4 (4,0)	1 (2,9)	2 (1,6)	6 (4,2)	6 (6,8)	19 (3,9)
<b>Łącznie rok 2019</b>		<b>101</b>	<b>34</b>	<b>123</b>	<b>144</b>	<b>88</b>	<b>490</b>
2018-2019	samica	18 (7,8)	4 (5,6)	11 (3,5)	13 (6,5)	4 (2,3)	50 (5,1)
	samiciec	11 (4,8)	3 (4,2)	13 (4,1)	7 (3,5)	5 (2,9)	39 (3,9)
	nimfa	198 (85,7)	59 (83,1)	284 (90,2)	172 (85,5)	152 (88,9)	865 (87,5)
	larwa	4 (1,7)	5 (7,1)	7 (2,2)	9 (4,5)	10 (5,9)	35 (3,5)
<b>Łącznie 2018-2019</b>		<b>231</b>	<b>71</b>	<b>315</b>	<b>201</b>	<b>171</b>	<b>989</b>

Podczas analizy danych dotyczących zebranych stadiów rozwojowych na terenie miasta Poznania, można zauważyć, że średnia wartość również wskazuje na przewagę nimf podczas zbiorów (Ryc. 15). Niemniej jednak, wartość ta jest niższa niż w przypadku zbiorów przeprowadzanych w WPN i średnio wynosiła 64,4% w całym okresie zbioru. W przeciwieństwie do odłowów w WPN przewaga nimf nie występowała jednak na wszystkich stanowiskach. W roku 2018 dominacja nimf nad pozostałymi stadiami występowała na stanowiskach PO-2, PO-3 i PO-4, natomiast w 2019 roku tylko na stanowiskach PO-2 i PO-3. Na pozostałych stanowiskach zdecydowaną przewagę miały postacie dorosłe. Larwy zostały zebrane wyłącznie na stanowisku PO-3 w obu latach zbioru (Tab. 15).

Wyodrębniając stanowisko PO-3 z analizy Poznania przewaga nimf nad pozostałymi stadiami rozwojowymi w obu latach zbioru jest nadal widoczna (Ryc. 16). Analizując pozostałe cztery stanowiska zbioru jako całość w 2018 roku nimfy stanowiły niewiele ponad

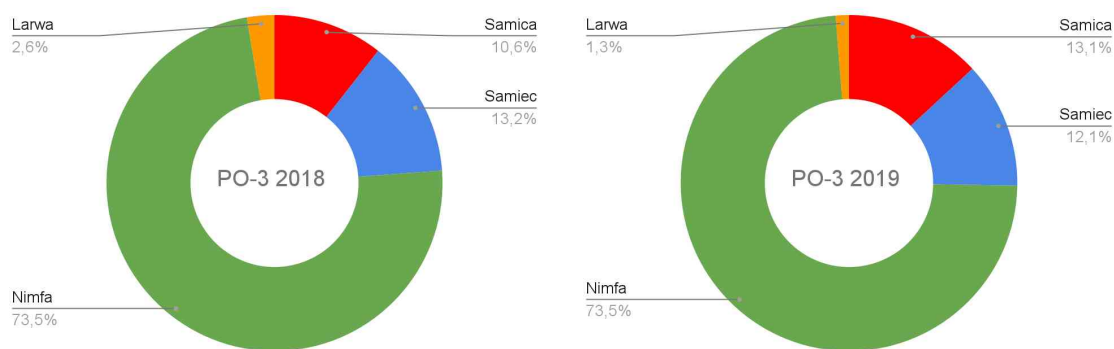
połowę wszystkich zebranych kleszczy, a w 2019 roku występowała już przewaga postaci dorosłych, sięgająca 62,4% (Ryc. 17).



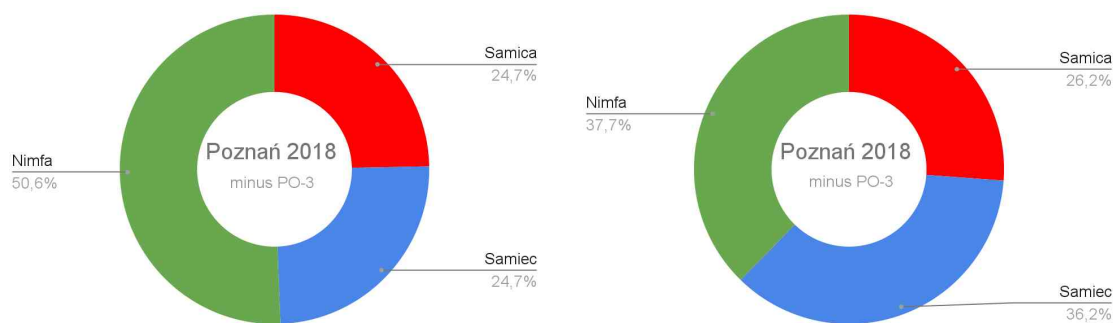
**Ryc. 15.** Udział stadiów rozwojowych kleszczy w Poznaniu odłowionych w latach 2018 (po lewej) i 2019 (po prawej).

**Tab. 15.** Analiza kleszczy zebranych na poszczególnych stanowiskach na terenie miasta Poznania: rozkład stadium rozwojowego (n - liczba zebranych kleszczy, % - procent zebranych kleszczy).

Rok	Stadium rozwojowe	Stanowisko					Łącznie n (%)
		PO-1 n (%)	PO-2 n (%)	PO-3 n (%)	PO-4 n (%)	PO-5 n (%)	
2018	samica	7 (46,7)	2 (9,1)	20 (10,6)	7 (23,3)	4 (28,6)	40 (14,8)
	samiec	6 (40,0)	0	25 (13,2)	7 (23,3)	7 (50,0)	45 (16,7)
	nimfa	2 (13,3)	20 (90,9)	139 (73,6)	16 (53,4)	3 (21,4)	180 (66,7)
	larwa	0	0	5 (2,6)	0	0	5 (1,8)
<b>Łącznie rok 2018</b>		<b>15</b>	<b>22</b>	<b>189</b>	<b>30</b>	<b>14</b>	<b>270</b>
2019	samica	15 (23,8)	3 (13,0)	41 (13,1)	10 (43,5)	6 (28,6)	75 (16,9)
	samiec	29 (46,0)	3 (13,0)	38 (12,1)	4 (17,4)	11 (52,4)	85 (19,2)
	nimfa	19 (30,2)	17 (74,0)	230 (73,5)	9 (39,1)	4 (19,0)	279 (63,0)
	larwa	0	0	4 (1,3)	0	0	4 (0,9)
<b>Łącznie rok 2019</b>		<b>63</b>	<b>23</b>	<b>313</b>	<b>23</b>	<b>21</b>	<b>443</b>
2018	samica	22 (28,2)	5 (11,1)	61 (12,1)	17 (32,1)	10 (28,6)	115 (16,1)
	samiec	35 (44,9)	3 (6,7)	63 (12,6)	11 (20,7)	18 (51,4)	130 (18,2)
2019	nimfa	21 (26,9)	37 (82,2)	369 (73,5)	25 (47,2)	7 (20,0)	459 (64,4)
	larwa	0	0	9 (1,8)	0	0	9 (1,3)
<b>Łącznie 2018-2019</b>		<b>78</b>	<b>45</b>	<b>502</b>	<b>53</b>	<b>35</b>	<b>713</b>



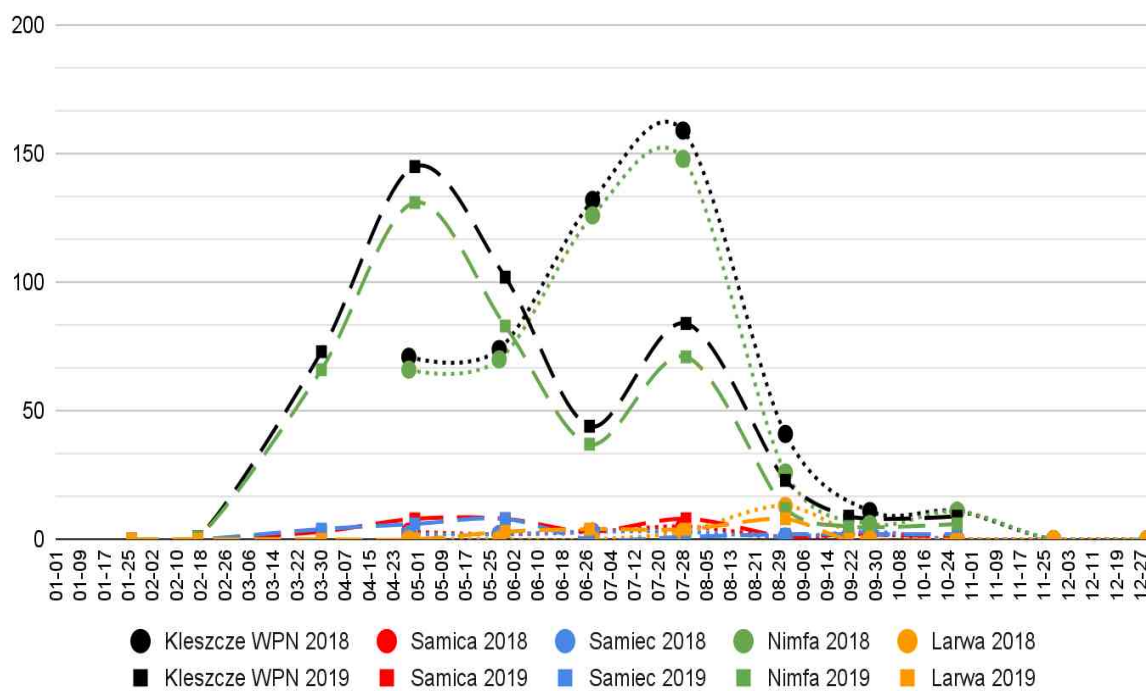
**Ryc. 16.** Udział stadiów rozwojowych kleszczy na stanowisko PO-3 w Poznaniu odłowionych w latach 2018 (po lewej) i 2019 (po prawej).



**Ryc. 17.** Udział stadiów rozwojowych kleszczy w Poznaniu z wyłączeniem stanowiska PO-3 odłowionych w latach 2018 (po lewej) i 2019 (po prawej).

#### 4.1.3. Występowanie kleszczy w czasie i przestrzeni

Na terenie Wielkopolskiego Parku Narodowego kleszcze były aktywne od lutego do października, przy czym największą największą aktywność odnotowano od kwietnia do lipca. Szczyt aktywności w 2018 roku przypadał na lipiec, a w 2019 roku na kwiecień. Praktycznie we wszystkich miesiącach zbioru obserwowano obecność nimf. W przypadku, gdy w którymkolwiek miesiącu nie znaleziono nimf, to był to wrzesień, a w jednym przypadku sierpień. Larwy w 2018 roku zostały znalezione tylko w lipcu i sierpniu, a w 2019 roku były obecne od maja do sierpnia (Ryc. 18, Tab. 16 - Tab. 20).



**Ryc. 18.** Aktywność kleszczy oraz ich stadiów rozwojowych w poszczególnych miesiącach zbiorów na terenie Wielkopolskiego Parku Narodowego.

**Tab. 16.** Analiza kleszczy zebranych na stanowisku PZ-1 w Wielkopolskim Parku Narodowym: rozkład stadium rozwojowego (n - liczba zebranych kleszczy, % - procent zebranych kleszczy).

Rok	Stadium rozwojowe	Miesiąc												Łącznie n (%)
		01 n (%)	02 n (%)	03 n (%)	04 n (%)	05 n (%)	06 n (%)	07 n (%)	08 n (%)	09 n (%)	10 n (%)	11 n (%)	12 n (%)	
2018	samica	-	-	-	0	2 (6,5)	1 (4,3)	2 (5,9)	1 (6,3)	0	0	0	0	<b>6 (4,6)</b>
	samicc	-	-	-	1 (4,2)	0	0	0	1 (6,3)	1 (50,0)	0	0	0	<b>3 (2,3)</b>
	nimfa	-	-	-	23 (95,2)	29 (92,5)	22 (95,7)	32 (94,1)	14 (87,5)	1 (50,0)	0	0	0	<b>121 (93,1)</b>
	larwa	-	-	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<b>0</b>
<b>Łącznie rok 2018</b>		-	-	-	<b>24</b>	<b>31</b>	<b>23</b>	<b>34</b>	<b>16</b>	<b>2</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>130</b>
2019	samica	0	0	1 (7,1)	0	2 (8,0)	3 (21,4)	6 (28,6)	0	0	0	-	-	<b>12 (11,9)</b>
	samicc	0	0	2 (14,3)	2 (9,1)	2 (8,0)	0	1 (4,7)	1 (50,0)	0	0	-	-	<b>8 (7,9)</b>
	nimfa	0	0	11 (78,6)	20 (90,9)	21 (84,0)	7 (50,0)	14*(66,7)	1 (50,0)	3 (100,0)	0	-	-	<b>77 (76,2)</b>
	larwa	0	0	0	0	0	4 (28,6)	0	0	0	0	-	-	<b>4 (4,0)</b>
<b>Łącznie rok 2019</b>		<b>0</b>	<b>0</b>	<b>14</b>	<b>22</b>	<b>25</b>	<b>14</b>	<b>21</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>0</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>101</b>
2018-2019	samica	0	0	1 (7,1)	0	4 (7,1)	4 (11,8)	8 (14,6)	1 (5,6)	0	0	0	0	<b>18 (7,8)</b>
	samicc	0	0	2 (14,3)	3 (6,5)	2 (3,6)	0	1 (1,8)	2 (11,1)	1 (20,0)	0	0	0	<b>11 (4,8)</b>
	nimfa	0	0	11 (78,6)	43 (93,5)	50 (89,3)	29 (78,4)	46 (83,6)	15 (83,3)	4 (80,0)	0	0	0	<b>198 (85,7)</b>
	larwa	0	0	0	0	0	4 (11,8)	0	0	0	0	0	0	<b>4 (1,7)</b>
<b>Łącznie 2018-2019</b>		<b>0</b>	<b>0</b>	<b>14</b>	<b>46</b>	<b>56</b>	<b>37</b>	<b>55</b>	<b>18</b>	<b>5</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>231</b>

\* Jeden osobnik *D. reticulatus*

**Tab. 17.** Analiza kleszczy zebranych na stanowisku PZ-2 w Wielkopolskim Parku Narodowym: rozkład stadium rozwojowego (n - liczba zebranych kleszczy, % - procent zebranych kleszczy).

Rok	Stadium rozwojowe	Miesiąc												Łącznie n (%)
		01 n (%)	02 n (%)	03 n (%)	04 n (%)	05 n (%)	06 n (%)	07 n (%)	08 n (%)	09 n (%)	10 n (%)	11 n (%)	12 n (%)	
2018	samica	-	-	-	0	0	0	0	0	1 (100)	0	0	0	1 (2,7)
	samicc	-	-	-	1 (10,0)	0	0	1 (33,3)	0	0	0	0	0	2 (5,4)
	nimfa	-	-	-	9 (90,0)	4 (100)	12 (100)	2 (66,7)	2 (33,3)	0	1 (100)	0	0	30 (81,1)
	larwa	-	-	-	0	0	0	0	4 (66,7)	0	0	0	0	4 (10,8)
<b>Łącznie rok 2018</b>		-	-	-	10	4	12	3	6	1	1	0	0	37
2019	samica	0	0	0	1 (12,5)	2 (66,7)	0	0	0	0	0	-	-	3 (8,9)
	samicc	0	0	1 (7,7)	0	0	0	0	0	0	0	-	-	1 (2,9)
	nimfa	0	0	12 (92,3)	7 (87,5)	1 (33,3)	3 (100)	2 (66,7)	3*(100)	1 (100)	0	-	-	29 (85,3)
	larwa	0	0	0	0	0	0	1 (33,3)	0	0	0	-	-	1 (2,9)
<b>Łącznie rok 2019</b>		0	0	13	8	3	3	3	3	1	0	-	-	34
2018- 2019	samica	0	0	0	1 (5,6)	2 (28,6)	0	0	0	1 (50,0)	0	0	0	4 (5,6)
	samicc	0	0	1 (7,7)	1 (5,6)	0	0	1 (16,7)	0	0	0	0	0	3 (4,2)
	nimfa	0	0	12 (92,3)	16 (88,8)	5 (71,4)	15 (100)	4 (66,6)	5 (55,6)	1 (50,0)	1 (100)	0	0	59 (83,1)
	larwa	0	0	0	0	0	0	1 (16,7)	4 (44,4)	0	0	0	0	5 (7,1)
<b>Łącznie 2018-2019</b>		0	0	13	18	7	15	6	9	2	1	0	0	71

\* Jeden osobnik *D. reticulatus*

**Tab. 18.** Analiza kleszczy zebranych na stanowisku PZ-3 w Wielkopolskim Parku Narodowym: rozkład stadium rozwojowego (n - liczba zebranych kleszczy, % - procent zebranych kleszczy).

Rok	Stadium rozwojowe	Miesiąc												Łącznie n (%)
		01 n (%)	02 n (%)	03 n (%)	04 n (%)	05 n (%)	06 n (%)	07 n (%)	08 n (%)	09 n (%)	10 n (%)	11 n (%)	12 n (%)	
2018	samica	-	-	-	0	0	1 (1,9)	2 (3,1)	0	1 (25,0)	0	0	0	4 (2,1)
	samicc	-	-	-	0	2 (6,5)	2 (3,7)	1 (1,6)	0	0	0	0	0	5 (2,6)
	nimfa	-	-	-	20 (100)	29 (93,5)	51 (94,4)	61 (95,3)	7 (58,3)	3 (75,0)	7 (100)	0	0	178 (92,7)
	larwa	-	-	-	0	0	0	0	5 (41,7)	0	0	0	0	5 (2,6)
<b>Łącznie rok 2018</b>		-	-	-	20	31	54	64	12	4	7	0	0	192
2019	samica	0	0	1 (9,1)	2 (4,7)	2 (5,6)	0	0	1*(14,3)	0	1*(25,0)	-	-	7 (5,7)
	samicc	0	0	0	1 (2,3)	4 (11,1)	0	0	1*(14,3)	1 (50,0)	1*(25,0)	-	-	8 (6,5)
	nimfa	0	1 (100)	10 (90,9)	40 (92,0)	30 (83,3)	8 (100)	11 (100)	3 (42,8)	1 (50,0)	2 (50,0)	-	-	106 (86,2)
	larwa	0	0	0	0	0	0	0	2 (28,6)	0	0	-	-	2 (1,6)
<b>Łącznie rok 2019</b>		0	1	11	43	36	8	11	7	2	4	-	-	123
2018- 2019	samica	0	0	1 (9,1)	2 (3,2)	2 (3,0)	1 (1,6)	2 (2,7)	1 (5,3)	1 (16,7)	1 (9,1)	0	0	11 (3,5)
	samicc	0	0	0	1 (1,6)	6 (9,0)	2 (3,2)	1 (1,3)	1 (5,3)	1 (16,7)	1 (9,1)	0	0	13 (4,1)
	nimfa	0	1 (100)	10 (90,9)	60 (95,2)	59 (88,0)	59 (95,2)	72 (96,0)	10 (52,6)	4 (66,6)	9 (81,8)	0	0	284 (90,2)
	larwa	0	0	0	0	0	0	0	7 (36,8)	0	0	0	0	7 (2,2)
<b>Łącznie 2018-2019</b>		0	1	11	63	67	62	75	19	6	11	0	0	315

\*\* Jeden osobnik *D. reticulatus*



**Tab. 19.** Analiza kleszczy zebranych na stanowisku PZ-4 w Wielkopolskim Parku Narodowym: rozkład stadium rozwojowego (n - liczba zebranych kleszczy, % - procent zebranych kleszczy).

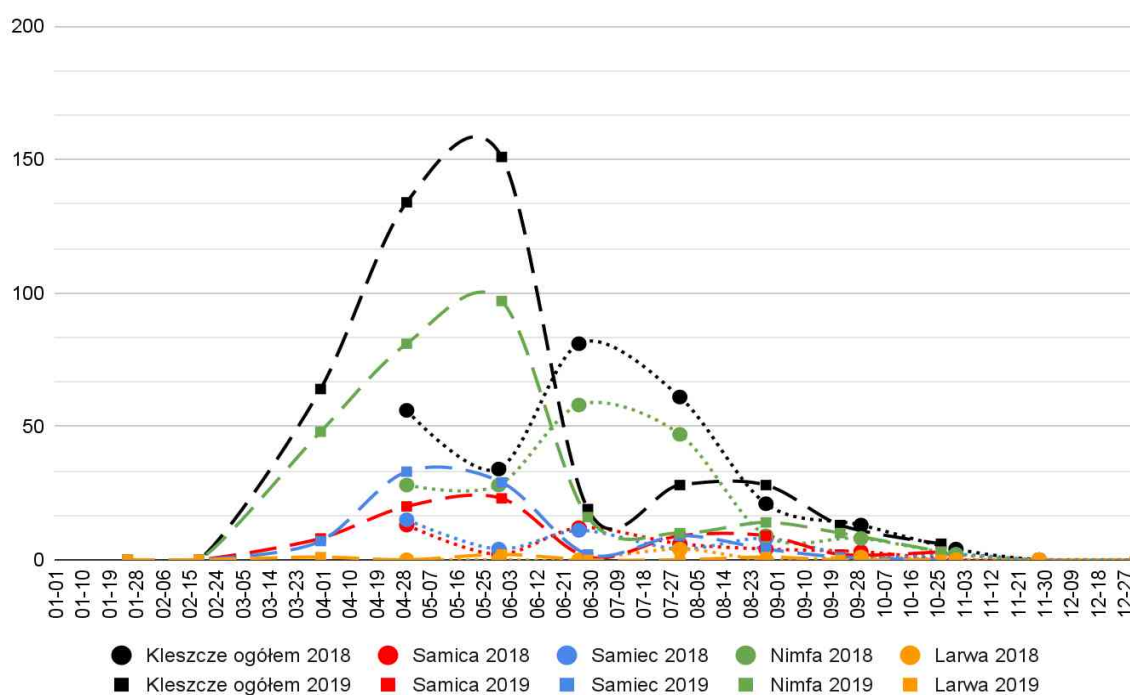
Rok	Stadium rozwojowe	Miesiąc												Łącznie n (%)
		01 n (%)	02 n (%)	03 n (%)	04 n (%)	05 n (%)	06 n (%)	07 n (%)	08 n (%)	09 n (%)	10 n (%)	11 n (%)	12 n (%)	
2018	samica	-	-	-	2 (28,6)	0	0	0	0	0	0	0	0	2 (3,5)
	samicc	-	-	-	0	0	1 (6,7)	0	0	0	0	0	0	1 (1,8)
	nimfa	-	-	-	5 (71,4)	4 (100)	14 (93,3)	22 (88,0)	3 (100)	2 (100)	1 (100)	0	0	51 (89,5)
	larwa	-	-	-	0	0	0	3 (12,0)	0	0	0	0	0	3 (5,2)
<b>Łącznie rok 2018</b>		-	-	-	7	4	15	25	3	2	1	0	0	57
2019	samica	0	0	1 (4,2)	5 (10,9)	2 (7,1)	0	1 (4,2)	0	2*(66,7)	0	-	-	11 (7,6)
	samicc	0	0	1 (4,2)	3 (6,5)	1 (3,6)	0	0	0	1*(33,3)	0	-	-	6 (4,2)
	nimfa	0	0	22 (91,6)	38 (82,6)	25 (89,3)	9 (100)	21*(87,5)	3 (42,9)	0	3 (100)	-	-	121 (84,0)
	larwa	0	0	0	0	0	0	2 (8,3)	4 (57,1)	0	0	-	-	6 (4,2)
<b>Łącznie rok 2019</b>		0	0	24	46	28	9	24	7	3	3	-	-	144
2018-2019	samica	0	0	1 (4,2)	7 (13,2)	2 (6,3)	0	1 (2,0)	0	2 (40,0)	0	0	0	13 (6,5)
	samicc	0	0	1 (4,2)	3 (5,7)	1 (3,1)	1 (4,2)	0	0	1 (20,0)	0	0	0	7 (3,5)
	nimfa	0	0	22 (91,6)	43 (81,1)	29 (90,6)	23 (95,8)	43 (87,8)	6 (60,0)	2 (40,0)	4 (100)	0	0	172 (85,5)
	larwa	0	0	0	0	0	0	5 (10,2)	4 (40,0)	0	0	0	0	9 (4,5)
<b>Łącznie 2018-2019</b>		0	0	24	53	32	24	49	10	5	4	0	0	201

\*\*\*Jeden osobnik *D. reticulatus*

**Tab. 20.** Analiza kleszczy zebranych na stanowisku PZ-5 w Wielkopolskim Parku Narodowym: rozkład stadium rozwojowego (n - liczba zebranych kleszczy, % - procent zebranych kleszczy).

Rok	Stadium rozwojowe	Miesiąc												Łącznie n (%)
		01 n (%)	02 n (%)	03 n (%)	04 n (%)	05 n (%)	06 n (%)	07 n (%)	08 n (%)	09 n (%)	10 n (%)	11 n (%)	12 n (%)	
2018	samica	-	-	-	1 (10,0)	0	1 (3,6)	1 (3,0)	0	0	0	0	0	3 (3,6)
	samicc	-	-	-	0	0	0	1 (3,0)	0	2 (100)	0	0	0	3 (3,6)
	nimfa	-	-	-	9 (90,0)	4 (100)	27 (96,4)	31 (94,0)	0	0	2 (100)	0	0	73 (88,0)
	larwa	-	-	-	0	0	0	0	4 (100)	0	0	0	0	4 (4,8)
<b>Łącznie rok 2018</b>		-	-	-	<b>10</b>	<b>4</b>	<b>28</b>	<b>33</b>	<b>4</b>	<b>2</b>	<b>2</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>83</b>
2019	samica	0	0	0	0	0	0	1 (4,0)	0	0	0	-	-	1 (1,1)
	samicc	0	0	0	0	1 (10,0)	0	0	0	0	1 (50,0)	-	-	2 (2,3)
	nimfa	0	0	11 (100)	26 (100)	6 (60,0)	10 (100)	23 (92,0)	2 (50,0)	0	1 (50,0)	-	-	79 (89,8)
	larwa	0	0	0	0	3 (30,0)	0	1 (4,0)	2 (50,0)	0	0	-	-	6 (6,8)
<b>Łącznie rok 2019</b>		<b>0</b>	<b>0</b>	<b>11</b>	<b>26</b>	<b>10</b>	<b>10</b>	<b>25</b>	<b>4</b>	<b>0</b>	<b>2</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>88</b>
2018- 2019	samica	0	0	0	1 (2,8)	0	1 (2,7)	2 (3,5)	0	0	0	0	0	4 (2,3)
	samicc	0	0	0	0	1 (7,2)	0	1 (1,7)	0	2 (100)	1 (25,0)	0	0	5 (2,9)
	nimfa	0	0	11 (100)	35 (97,2)	10 (71,4)	37 (97,3)	54 (93,1)	2 (25,0)	0	3 (75,0)	0	0	152 (88,9)
	larwa	0	0	0	0	3 (21,4)	0	1 (1,7)	6 (75,0)	0	0	0	0	10 (5,9)
<b>Łącznie 2018-2019</b>		<b>0</b>	<b>0</b>	<b>11</b>	<b>36</b>	<b>14</b>	<b>38</b>	<b>58</b>	<b>8</b>	<b>2</b>	<b>4</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>171</b>

Na terenie Poznania, kleszcze występowały od marca do października, z największą aktywnością przypadającą od kwietnia do lipca. Szczyt aktywności w 2018 roku przypadał na czerwiec, a w 2019 roku na maj. Obecność nimf podczas każdego zbioru nie była tak jednoznaczna jak na terenie WPN. Jedynym stanowiskiem, na którym prawie zawsze występowały nimfy, było PO-3. Larwy w Poznaniu zebrano wyłącznie na stanowisku PO-3, ale w znacznie szerszym okresie czasu w porównaniu do WPN. W 2018 roku larwy zostały znalezione w lipcu i wrześniu, a w 2019 w marcu, maju i sierpniu (Ryc. 19, Tab. 21 - Tab. 25).



Ryc. 19. Aktywność kleszczy w poszczególnych miesiącach zbiorów na terenie Poznania.

**Tab. 21.** Analiza kleszczy zebranych na stanowisku PO-1 na terenie miasta Poznania: rozkład stadium rozwojowego (n - liczba zebranych kleszczy, % - procent zebranych kleszczy).

Rok	Stadium rozwojowe	Miesiąc												Łącznie n (%)
		01 n (%)	02 n (%)	03 n (%)	04 n (%)	05 n (%)	06 n (%)	07 n (%)	08 n (%)	09 n (%)	10 n (%)	11 n (%)	12 n (%)	
2018	samica	-	-	-	3 (60,0)	1 (50,0)	2 (40,0)	0	0	1 (100)	0	0	0	7 (46,7)
	samicc	-	-	-	2 (40,0)	1 (50,0)	2 (40,0)	1 (100)	0	0	0	0	0	6 (40,0)
	nimfa	-	-	-	0	0	1 (20,0)	0	0	0	1 (100)	0	0	2 (13,3)
	larwa	-	-	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>Łącznie rok 2018</b>		-	-	-	5	2	5	1	0	1	1	0	0	15
2019	samica	0	0	0	7 (33,3)	8 (33,3)	0	0	0	0	0	-	-	15 (23,8)
	samicc	0	0	0	11 (52,4)	16 (66,7)	0	1 (33,3)	0	1 (100)	0	-	-	29 (46,0)
	nimfa	0	0	13 (100)	3 (14,3)	0	0	2 (66,7)	0	0	1 (100)	-	-	19 (30,2)
	larwa	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-	0
<b>Łącznie rok 2019</b>		0	0	13	21	24	0	3	0	1	1	-	-	63
2018- 2019	samica	0	0	0	10 (38,5)	9 (34,6)	2 (40,0)	0	0	1 (50,0)	0	0	0	22 (28,2)
	samicc	0	0	0	13 (50,0)	17 (65,4)	2 (40,0)	2 (50,0)	0	1 (50,0)	0	0	0	35 (44,9)
	nimfa	0	0	13 (100)	3 (11,5)	0	1 (20,0)	2 (50,0)	0	0	2 (100)	0	0	21 (26,9)
	larwa	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>Łącznie 2018-2019</b>		0	0	13	26	26	5	4	0	2	2	0	0	78

**Tab. 22.** Analiza kleszczy zebranych na stanowisku PO-2 na terenie miasta Poznania: rozkład stadium rozwojowego (n - liczba zebranych kleszczy, % - procent zebranych kleszczy).

Rok	Stadium rozwojowe	Miesiąc												Łącznie n (%)
		01 n (%)	02 n (%)	03 n (%)	04 n (%)	05 n (%)	06 n (%)	07 n (%)	08 n (%)	09 n (%)	10 n (%)	11 n (%)	12 n (%)	
2018	samica	-	-	-	1 (12,5)	0	0	1 (20,0)	0	0	0	0	0	2 (9,1)
	samicc	-	-	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	nimfa	-	-	-	7 (87,5)	3 (100)	5 (100)	4 (80,0)	0	1 (100)	0	0	0	20 (90,9)
	larwa	-	-	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>Łącznie rok 2018</b>		-	-	-	<b>8</b>	<b>3</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>22</b>
2019	samica	0	0	0	0	3 (37,5)	0	0	0	0	0	-	-	3 (13,0)
	samicc	0	0	1 (33,3)	2 (40,0)	0	0	0	0	0	0	-	-	3 (13,0)
	nimfa	0	0	2 (66,7)	3 (60,0)	5 (62,5)	3 (100)	1 (100)	1 (100)	1 (100)	1 (100)	-	-	17 (74,0)
	larwa	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-	0
<b>Łącznie rok 2019</b>		<b>0</b>	<b>0</b>	<b>3</b>	<b>5</b>	<b>8</b>	<b>3</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>23</b>
2018- 2019	samica	0	0	0	1 (7,7)	3 (27,3)	0	1 (16,7)	0	0	0	0	0	5 (11,1)
	samicc	0	0	1 (33,3)	2 (15,4)	0	0	0	0	0	0	0	0	3 (6,7)
	nimfa	0	0	2 (66,7)	10 (76,9)	8 (72,7)	8 (100)	5 (83,3)	1 (100)	2 (100)	1 (100)	0	0	37 (82,2)
	larwa	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>Łącznie 2018-2019</b>		<b>0</b>	<b>0</b>	<b>3</b>	<b>13</b>	<b>11</b>	<b>8</b>	<b>6</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>45</b>

**Tab. 23.** Analiza kleszczy zebranych na stanowisku PO-3 na terenie miasta Poznania: rozkład stadium rozwojowego (n - liczba zebranych kleszczy, % - procent zebranych kleszczy).

Rok	Stadium rozwojowe	Miesiąc												Łącznie n (%)
		01 n (%)	02 n (%)	03 n (%)	04 n (%)	05 n (%)	06 n (%)	07 n (%)	08 n (%)	09 n (%)	10 n (%)	11 n (%)	12 n (%)	
2018	samica	-	-	-	4 (16,7)	0	9 (14,3)	4 (7,6)	2 (12,5)	1 (12,5)	0	0	0	20 (10,6)
	samicc	-	-	-	7 (29,2)	1 (4,6)	5 (7,9)	3 (5,7)	6 (37,5)	1 (12,5)	2 (66,7)	0	0	25 (13,2)
	nimfa	-	-	-	13 (54,1)	21 (95,4)	49 (77,8)	42*(79,2)	8 (50,0)	5 (62,5)	1 (33,3)	0	0	139 (73,5)
	larwa	-	-	-	0	0	0	4 (7,5)	0	1 (12,5)	0	0	0	5 (2,7)
<b>Łącznie rok 2018</b>		-	-	-	24	22	63	53	16	8	3	0	0	189
2019	samica	0	0	8 (16,7)	7 (8,2)	10 (8,9)	0	5 (31,2)	8 (32,0)	1 (11,1)	2 (100)	-	-	41 (13,1)
	samicc	0	0	6 (12,5)	10 (11,6)	10 (8,9)	2 (13,3)	7 (43,8)	3 (12,0)	0	0	-	-	38 (12,1)
	nimfa	0	0	33 (68,7)	69 (80,2)	90 (80,4)	13 (86,7)	4 (25,0)	13 (52,0)	8 (88,9)	0	-	-	230 (73,5)
	larwa	0	0	1 (2,1)	0	2 (1,8)	0	0	1 (4,0)	0	0	-	-	4 (1,3)
<b>Łącznie rok 2019</b>		0	0	48	86	112	15	16	25	9	2	-	-	313
2018-2019	samica	0	0	8 (16,7)	11 (10,0)	10 (7,5)	9 (11,5)	9 (13,0)	10 (24,4)	2 (11,8)	2 (40,0)	0	0	61 (12,2)
	samicc	0	0	6 (12,5)	17 (15,5)	11 (8,2)	7 (9,0)	10 (14,5)	9 (22,0)	1 (5,9)	2 (40,0)	0	0	63 (12,5)
	nimfa	0	0	33 (68,7)	82 (74,5)	111 (82,8)	62 (79,5)	46 (66,7)	21 (51,2)	13 (76,4)	1 (20,0)	0	0	369 (73,5)
	larwa	0	0	1 (2,1)	0	2 (1,5)	0	4 (5,8)	1 (2,4)	1 (5,9)	0	0	0	9 (1,8)
<b>Łącznie 2018-2019</b>		0	0	48	110	134	78	69	41	17	5	0	0	502

\* Jeden osobnik *D. reticulatus*

**Tab. 24.** Analiza kleszczy zebranych na stanowisku PO-4 na terenie miasta Poznania: rozkład stadium rozwojowego (n - liczba zebranych kleszczy, % - procent zebranych kleszczy).

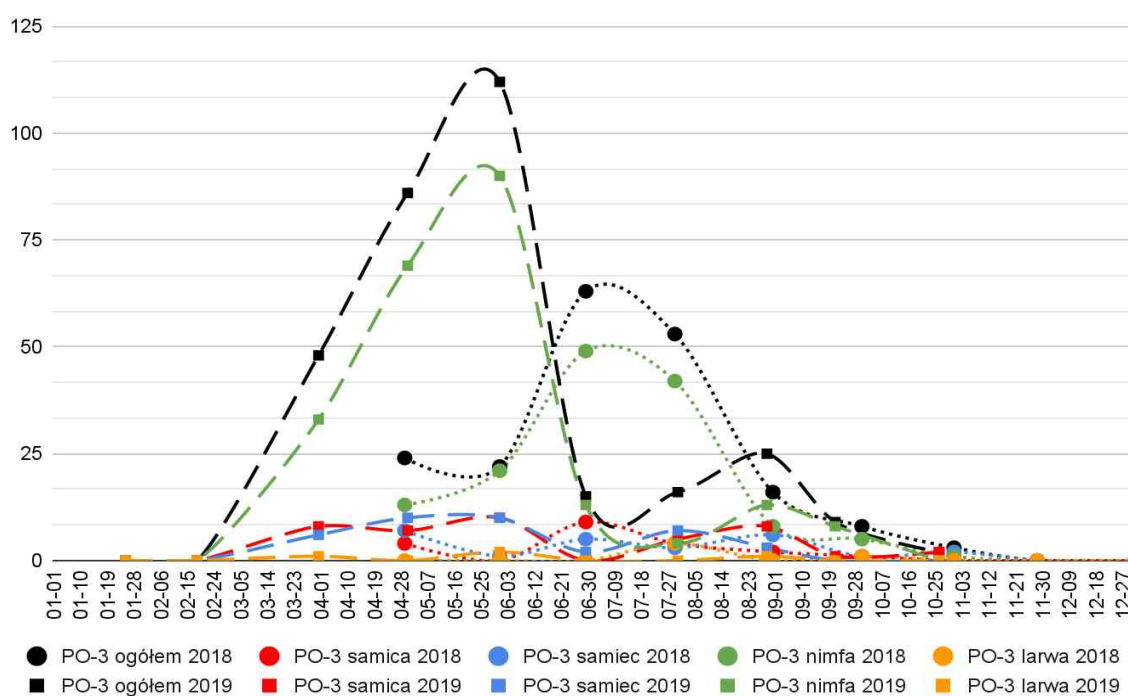
Rok	Stadium rozwojowe	Miesiąc												Łącznie n (%)
		01 n (%)	02 n (%)	03 n (%)	04 n (%)	05 n (%)	06 n (%)	07 n (%)	08 n (%)	09 n (%)	10 n (%)	11 n (%)	12 n (%)	
2018	samica	-	-	-	2 (18,2)	1 (20,0)	0	1 (100)	2 (40,0)	1 (33,3)	0	0	0	7 (23,3)
	samicc	-	-	-	1 (9,1)	2 (40,0)	2 (40,0)	0	2 (40,0)	0	0	0	0	7 (23,3)
	nimfa	-	-	-	8 (72,7)	2 (40,0)	3 (60,0)	0	1 (20,0)	2 (66,7)	0	0	0	16 (53,4)
	larwa	-	-	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>Łącznie rok 2018</b>		-	-	-	<b>11</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>1</b>	<b>5</b>	<b>3</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>30</b>
2019	samica	0	0	0	0	2 (33,3)	1 (100)	4 (50,0)	1 (100)	1 (50,0)	1 (50,0)	-	-	10 (43,5)
	samicc	0	0	0	1 (33,3)	2 (33,3)	0	1 (12,5)	0	0	0	-	-	4 (17,4)
	nimfa	0	0	0	2 (66,7)	2 (33,4)	0	3 (37,5)	0	1 (50,0)	1 (50,0)	-	-	9 (39,1)
	larwa	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-	0
<b>Łącznie rok 2019</b>		<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>3</b>	<b>6</b>	<b>1</b>	<b>8</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>2</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>23</b>
2018- 2019	samica	0	0	0	2 (14,3)	3 (27,3)	1 (16,7)	5 (55,6)	3 (50,0)	2 (40,0)	1 (50,0)	0	0	17 (32,1)
	samicc	0	0	0	2 (14,3)	4 (36,4)	2 (33,3)	1 (11,1)	2 (33,3)	0	0	0	0	11 (20,7)
	nimfa	0	0	0	10 (71,4)	4 (36,4)	3 (50,0)	3 (33,3)	1 (16,7)	3 (60,0)	1 (50,0)	0	0	25 (47,2)
	larwa	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>Łącznie 2018-2019</b>		<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>11</b>	<b>6</b>	<b>9</b>	<b>6</b>	<b>5</b>	<b>2</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>53</b>

**Tab. 25.** Analiza kleszczy zebranych na stanowisku PO-5 na terenie miasta Poznania: rozkład stadium rozwojowego (n - liczba zebranych kleszczy, % - procent zebranych kleszczy).

Rok	Stadium rozwojowe	Miesiąc												Łącznie n (%)
		01 n (%)	02 n (%)	03 n (%)	04 n (%)	05 n (%)	06 n (%)	07 n (%)	08 n (%)	09 n (%)	10 n (%)	11 n (%)	12 n (%)	
2018	samica	-	-	-	3 (37,5)	0	1 (33,3)	0	0	0	0	0	0	4 (28,6)
	samicc	-	-	-	5 (62,5)	0	2 (66,7)	0	0	0	0	0	0	7 (50,0)
	nimfa	-	-	-	0	2 (100)	0	1 (100)	0	0	0	0	0	3 (21,4)
	larwa	-	-	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>Łącznie rok 2018</b>		-	-	-	<b>8</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>14</b>
2019	samica	0	0	0	6 (31,6)	0	0	0	0	0	0	-	-	6 (28,6)
	samicc	0	0	0	9 (47,4)	1 (100)	0	0	1 (100)	0	0	-	-	11 (52,4)
	nimfa	0	0	0	4 (21,0)	0	0	0	0	0	0	-	-	4 (19,0)
	larwa	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-	0
<b>Łącznie rok 2019</b>		<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>19</b>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>21</b>
2018- 2019	samica	0	0	0	9 (33,3)	0	1 (33,3)	0	0	0	0	0	0	10 (28,6)
	samicc	0	0	0	14 (51,9)	1 (33,3)	2 (66,7)	0	1 (100)	0	0	0	0	18 (51,4)
	nimfa	0	0	0	4 (14,8)	2 (66,7)	0	1 (100)	0	0	0	0	0	7 (20,0)
	larwa	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>Łącznie 2018-2019</b>		<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>27</b>	<b>3</b>	<b>3</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>35</b>



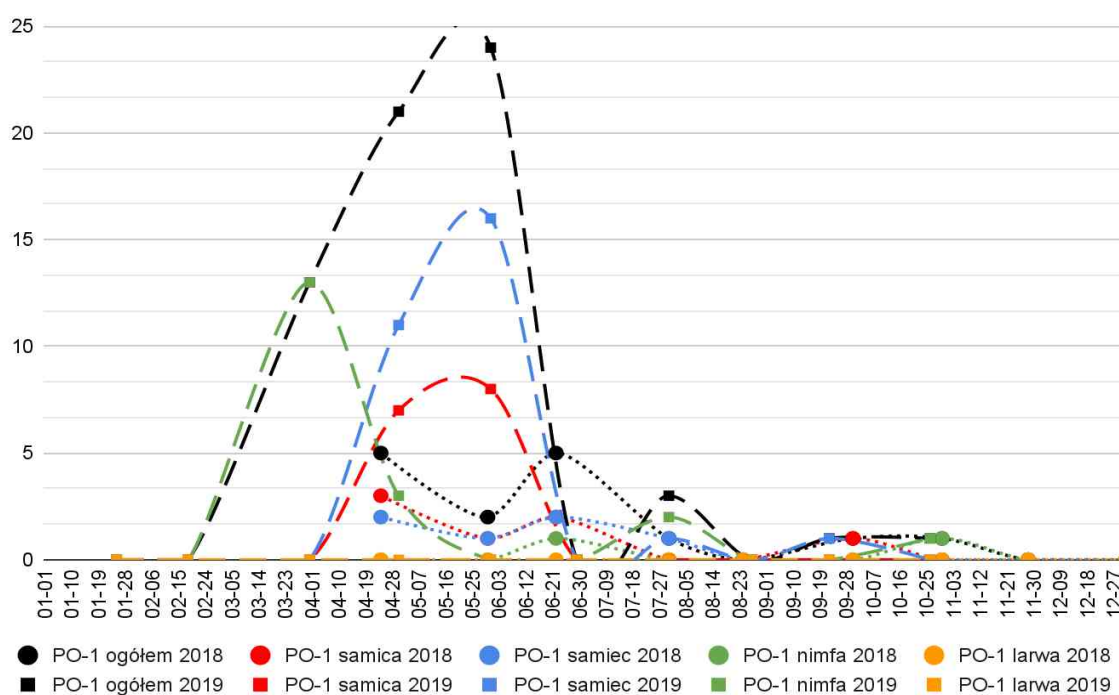
Mając na uwadze, że zdecydowana większość zebranych kleszczy na terenie Poznania pochodziła ze stanowiska PO-3, przeanalizowano każdy z punktów zbioru odrębnie, tak aby uzyskać właściwy obraz i odpowiednie porównanie z obszarem naturalnym jakim jest Wielkopolski Park Narodowy. Stanowisku PO-3 wykazuje podobieństwo do danych uzyskanych w WPN (Ryc. 20). Kleszcze były aktywne od marca do października, a największa aktywność przypadała na miesiące od kwietnia do lipca. Szczyt aktywności w 2018 roku przypadał na czerwiec, a w 2019 roku na maj. Niemal w każdym miesiącu zbioru zaobserwowano obecność nimf, z wyjątkiem października 2019 roku. Larwy w 2018 roku zostały znalezione tylko w lipcu i wrześniu, a w 2019 roku w marcu, maju i sierpniu. Analizując dwuletni okres zbioru na stanowisku PO-3 w Poznaniu udało się zebrać larwy przez większość miesięcy z wyjątkiem dwóch miesięcy (kwietnia i czerwca), co stanowi znacznie szerszy zakres aktywności kleszczy na terenach miejskich w porównaniu do całego Wielkopolskiego Parku Narodowego.



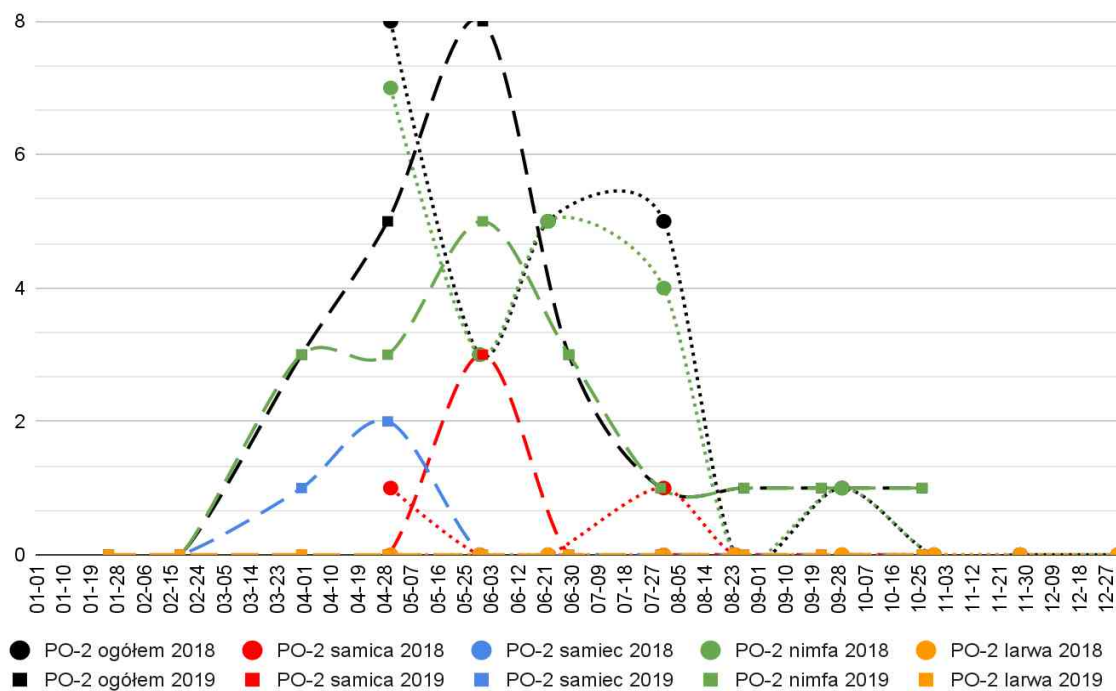
**Ryc. 20.** Aktywność kleszczy w poszczególnych miesiącach zbiorów na terenie stanowiska PO-3 w Poznaniu.

Analiza aktywności kleszczy w pozostałych lokalizacjach wykazuje odmienny wzorzec. W przypadku obszaru Wielkopolskiego Parku Narodowego oraz stanowiska PO-3 w Poznaniu, możemy zauważyć, że oba wykresy wykazują zbliżoną dynamikę. Niemniej jednak istnieją różnice między tymi dwoma wykresami a pozostałymi lokalizacjami w Poznaniu (Ryc. 21-24). W odniesieniu do pozostałych czterech miejsc zbioru kleszczy w

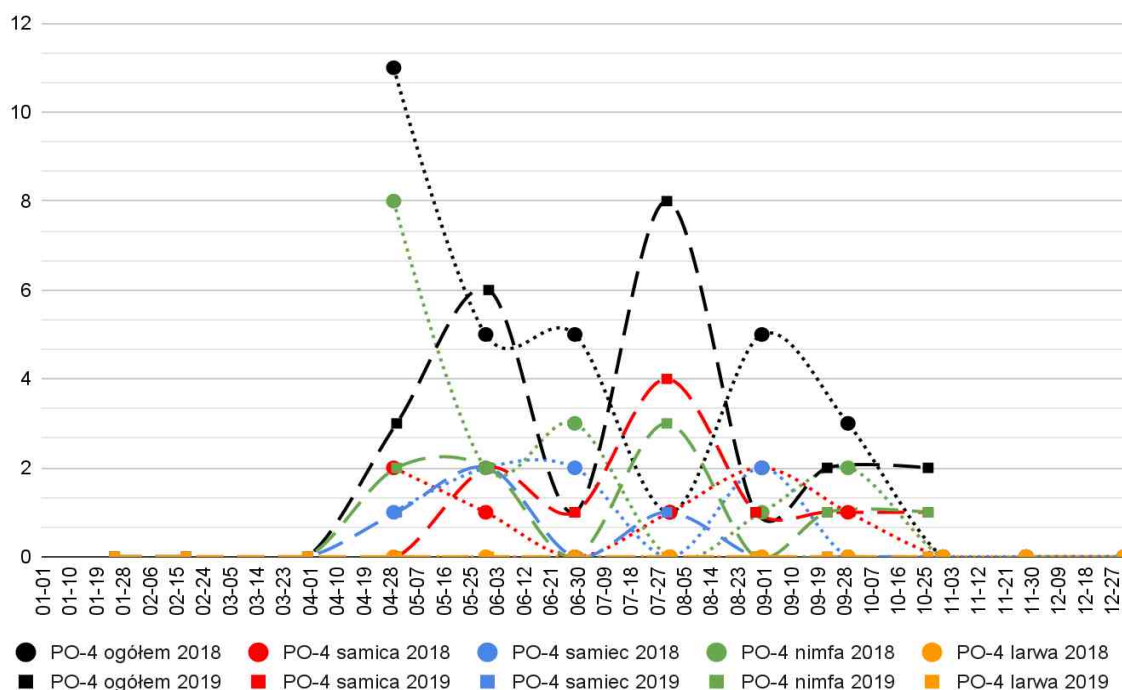
mieście, aktywność kleszczy w ciągu roku wydaje się być odmienna. Ze względu na stosunkową niewielką liczbę występujących nimf, pozostałe stadia rozwojowe wydają się przez cały okres aktywności występować na podobnym poziomie. Wyraźnie zaznaczony szczyt aktywności wystąpił jedynie na stanowisku PO-1 w 2019 roku. Biorąc pod uwagę niewielką liczbą zebranych osobników pozostałych stadiów rozwojowych, szczyty aktywności na pozostałych stanowiskach wynikają wyłącznie z tego, czy dane stadium zostało w danym miesiącu zebrane, czy też nie. Podobna sytuacja ma miejsce również w całym WPN, we wszystkich punktach zbioru. Liczba zebranych osobników w ciągu roku w każdym z punktów wynosiła od kilku do kilkunastu sztuk i analiza oparta wyłącznie na tych danych jest niemal niemożliwa. Trochę inaczej prezentuje się sytuacja na stanowisku PO-3 w Poznaniu, gdzie liczba samic i samców zbieranych w ciągu roku mieściła się w przedziale od 20 do 40 osobników. Dlatego cała analiza zmienności i sezonowości występowania jest możliwa dzięki stadium rozwojowym nimfy, której najliczniejsze zbiory wahają się od kilkudziesięciu do kilkuset osobników w ciągu roku i wykazują wyraźne różnice w tym okresie. Nimfy na większości stanowisk miejskich występują w mniejszej liczbie niż na stanowiskach naturalnych w WPN.



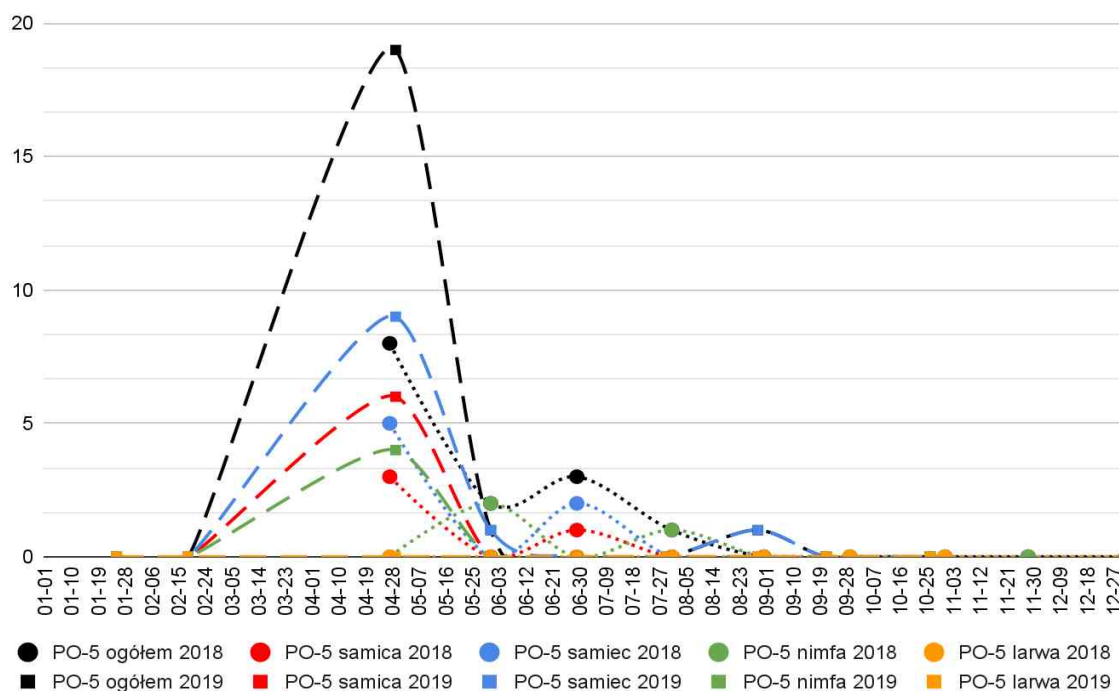
Ryc. 21 Aktywność kleszczy w poszczególnych miesiącach zbiorów na terenie stanowiska PO-1 w Poznaniu



Ryc. 22. Aktywność kleszczy w poszczególnych miesiącach zbiorów na terenie stanowiska PO-2 w Poznaniu



Ryc. 23. Aktywność kleszczy w poszczególnych miesiącach zbiorów na terenie stanowiska PO-4 w Poznaniu.



Ryc. 24. Aktywność kleszczy w poszczególnych miesiącach zbiorów na terenie stanowiska PO-5 w Poznaniu.

Podczas dwuletnich badań terenowych udało się zebrać łącznie 10 osobników *D. reticulatus*. Do tej pory gatunek nie był identyfikowany na badanym obszarze, co sprawia, że zbiór tych osobników stanowi pierwszy udokumentowany przypadek występowania na tym terenie. Pierwszym zarejestrowanym osobnikiem była nimfa, która została odłowiona w lipcu 2018 roku na stanowisku PO-3 w Poznaniu. Był to jedyny osobnik *D. reticulatus* zebrany na terenie Poznania w ciągu dwóch lat badań. W WPN zebrano łącznie 9 kleszczy *D. reticulatus*, po 3 z każdego stadium rozwojowego. Pierwszymi zarejestrowanymi osobnikami były nimfy, odłowione w lipcu 2019 na stanowiskach PZ-1 i PZ-4. Następnie, w sierpniu, zebrano nimfę na stanowisku PZ-2 oraz samicę i samca na PZ-3. We wrześniu 2019 roku odłowiono samicę i samca na PZ-4, a ostatni zbiór miał miejsce w październiku na stanowisku PZ-3, gdzie również zebrano samicę i samca. *D. reticulatus* zaczął więc regularnie pojawiać się na obszarze WPN od lipca 2019 roku i został odnotowany na wszystkich stanowiskach z wyjątkiem PZ-5 (Tab. 26).

**Tab. 26.** Liczba kleszczy *D. reticulatus* zebranych podczas badań: rozkład stadium rozwojowego.

Rok	Stadium rozwojowe	Stanowisko					Łącznie n
		PZ-1 n	PZ-2 n	PZ-3 n	PZ-4 n	PO-3 n	
2018	samica	0	0	0	0	0	0
	samiec	0	0	0	0	0	0
	nimfa	0	0	0	0	1	1
	larwa	0	0	0	0	0	0
<b>Łącznie rok 2018</b>		<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>1</b>
2019	samica	0	0	2	1	0	3
	samiec	0	0	2	1	0	3
	nimfa	1	1	0	1	0	3
	larwa	0	0	0	0	0	0
<b>Łącznie rok 2019</b>		<b>1</b>	<b>1</b>	<b>4</b>	<b>3</b>	<b>0</b>	<b>9</b>

#### 4.1.4. Występowanie kleszczy w zależności od warunków środowiskowych

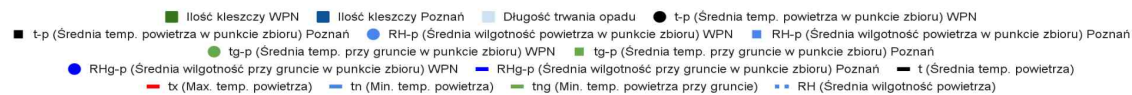
Podczas każdego ze 190 przeprowadzanych badań terenowych, dokonywano zapisu temperatury i wilgotności oraz szczegółowego opisu warunków środowiskowych (Ryc. 13). Zebrane dane zostały uzupełnione o informacje udostępnione przez Instytut Meteorologii i Gospodarki Wodnej - Państwowy Instytut Badawczy (IMGW) (<https://www.imgw.pl>, 2023), w celu przedstawienia warunków pogodowych występujących przed dniem zbiorów. Uzyskane wyniki zostały zilustrowane na wykresach dla każdego miesiąca oddzielnie (Ryc. 25, Ryc. 26).

W roku 2018, średnia wilgotność na obszarach, gdzie przeprowadzano badania, mieściła się w przedziale od 34,6% do 97,6%, osiągając średni poziom wynoszący 70,7%. W okresie aktywności kleszczy, a więc do kwietnia do października, wilgotność wahała się między 34,6% a 95,0%, przy średniej wartości wynoszącej 62,9%. W czasie największej aktywności, a więc między kwietniem a lipcem, średnia wilgotność powietrza utrzymywała się w granicach 34,6% do 92,8%, osiągając wartość średnią na poziomie 60,5% (Ryc. 25). Średnia wilgotność w czerwcu, a więc miesiącu największego piku aktywności na terenie Poznania wynosiła 58,1% z wartością 51,1% w dniu zbioru. Średnia wilgotność w lipcu, a więc miesiącu największego piku aktywności na terenie WPN wynosiła 63,4% z wartością 79,8% w dniu zbioru (Tab. 27, Ryc. 25).

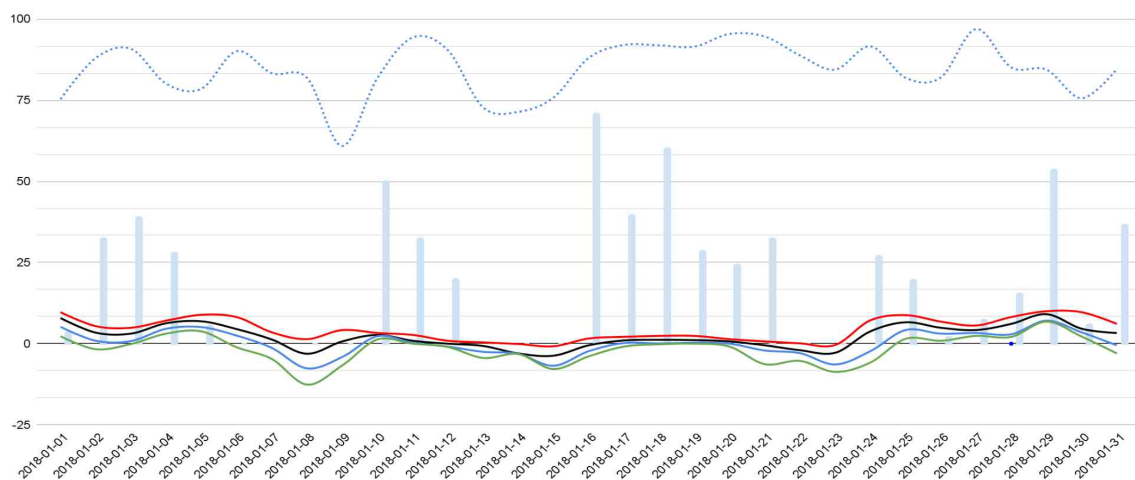
Średnia temperatura w 2018 roku na obszarach, gdzie prowadzono badania, kształtowała się w zakresie od  $-11,3^{\circ}\text{C}$  do  $28,1^{\circ}\text{C}$ , osiągając średnią wartość na poziomie  $10,8^{\circ}\text{C}$ . W okresie aktywności kleszczy, obejmującym miesiące od kwietnia do października, temperatura mieściła się w przedziale od  $3,1^{\circ}\text{C}$  do  $28,1^{\circ}\text{C}$ , ze średnią wartością wynoszącą  $17,2^{\circ}\text{C}$ . W czasie największej aktywności kleszczy, między kwietniem a lipcem średnia temperatura powietrza utrzymywała się między  $3,1^{\circ}\text{C}$  a  $27,2^{\circ}\text{C}$ , osiągając średni poziom wynoszący  $17,9^{\circ}\text{C}$  (Ryc. 25). W czerwcu, miesiącu charakteryzującym się najwyższym szczytem aktywności kleszczy w Poznaniu, średnia temperatura powietrza wynosiła  $19,4^{\circ}\text{C}$ , a w dniu przeprowadzenia zbioru osiągnęła  $19,6^{\circ}\text{C}$ . Natomiast w lipcu, który stanowił okres największej aktywności kleszczy w WPN, średnia temperatura powietrza wynosiła  $20,9^{\circ}\text{C}$ , osiągając w dniu badań wartość równą  $22,2^{\circ}\text{C}$  (Tab. 27, Ryc. 25).

**Tab. 27.** Warunki klimatyczne podczas zbioru kleszczy w 2018 roku.

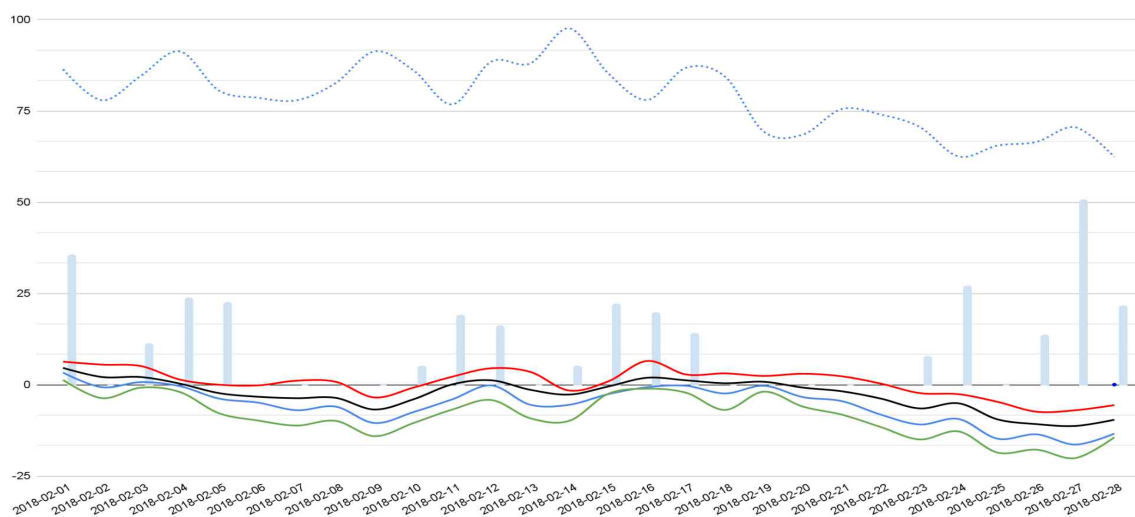
Miesiąc zbioru	WPN			Poznań		
	Ilość kleszczy	Średnia temperatura [ $^{\circ}\text{C}$ ]	Średnia wilgotność [%]	Ilość kleszczy	Średnia temperatura [ $^{\circ}\text{C}$ ]	Średnia wilgotność [%]
<b>04.2018</b>	71	22,0	45,7	56	20,9	52,3
<b>05.2018</b>	74	25,6	51,4	34	26,3	46,3
<b>06.2018</b>	132	22,6	59,5	81	19,6	51,1
<b>07.2018</b>	159	22,2	79,8	61	22,9	73,0
<b>08.2018</b>	41	19,3	65,5	21	20,4	67,2
<b>09.2018</b>	11	10,4	67,7	13	12,1	56,4
<b>10.2018</b>	11	10,3	60,4	4	14,4	58,9
<b>11.2018</b>	0	-1,1	70,7	0	-1,0	71,9
<b>12.2018</b>	0	6,6	93,2	0	3,2	81,8



**STYCZEŃ**

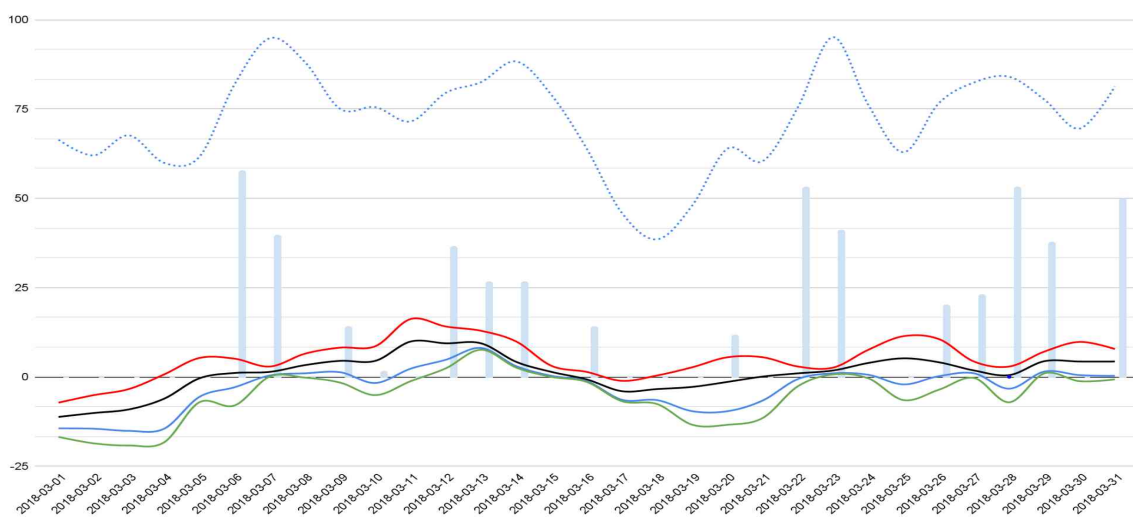


**LUTY**

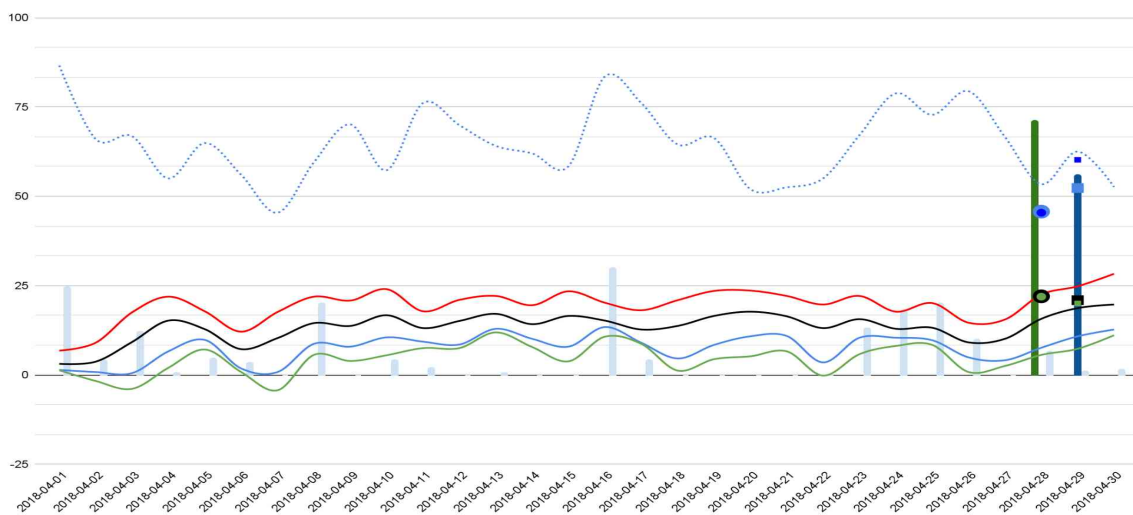




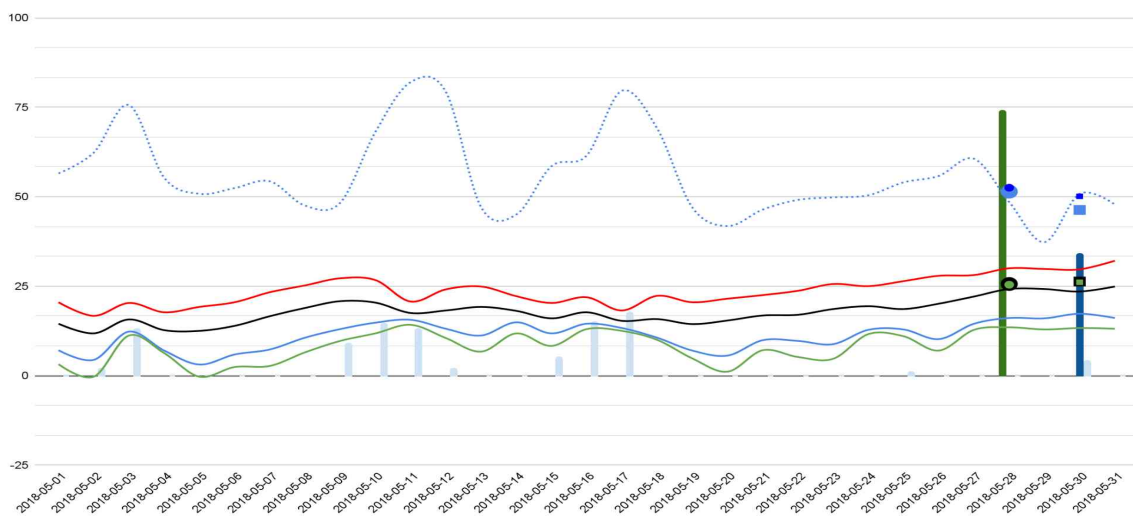
**MARZEC**



**KWIECIEŃ**

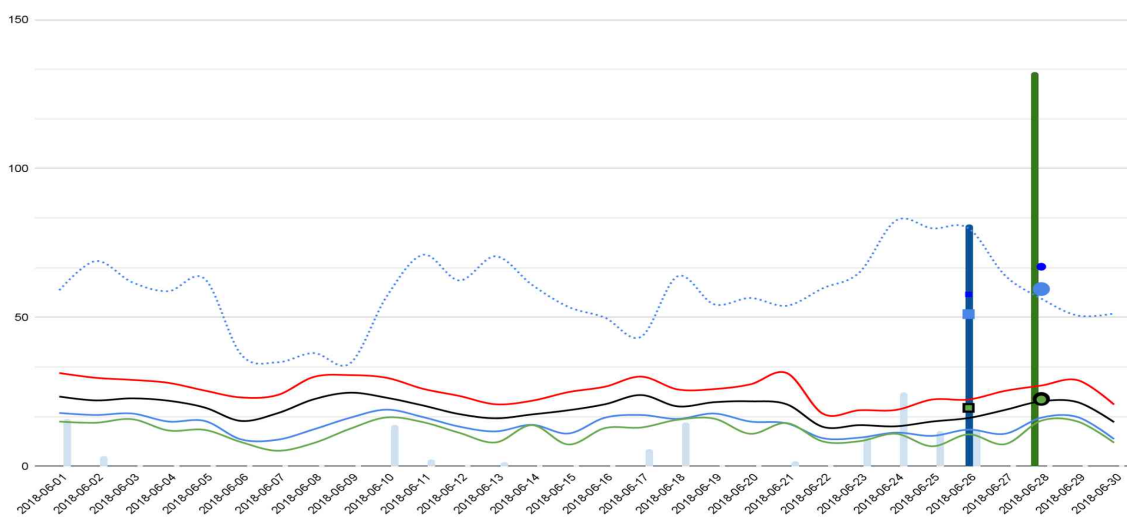


**MAJ**

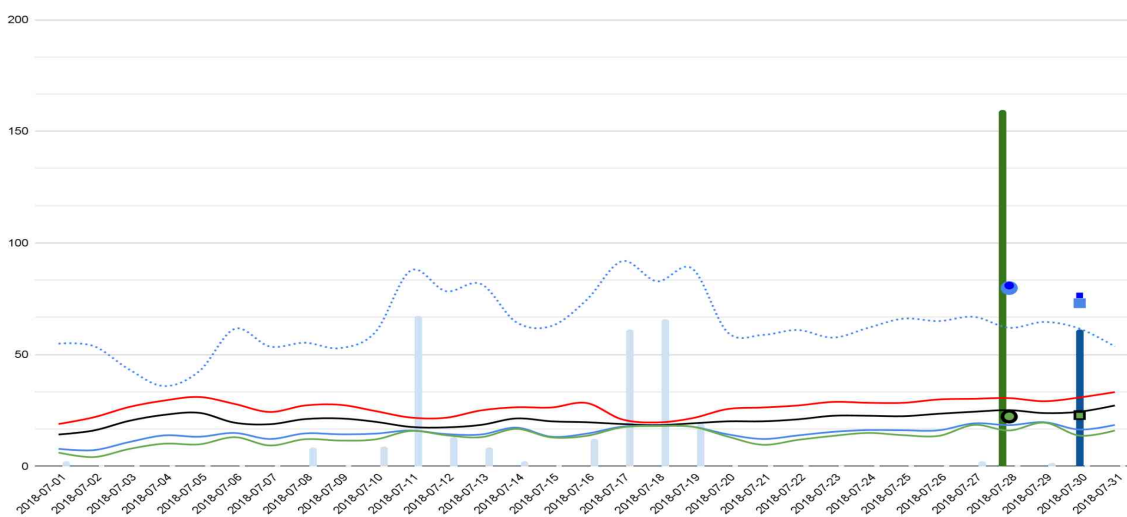




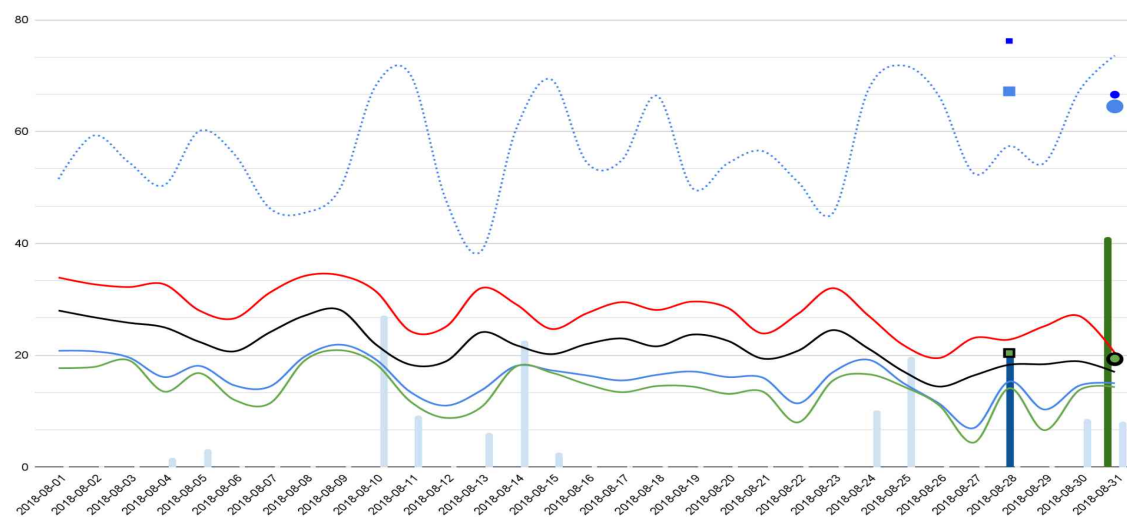
**CZERWIEC**



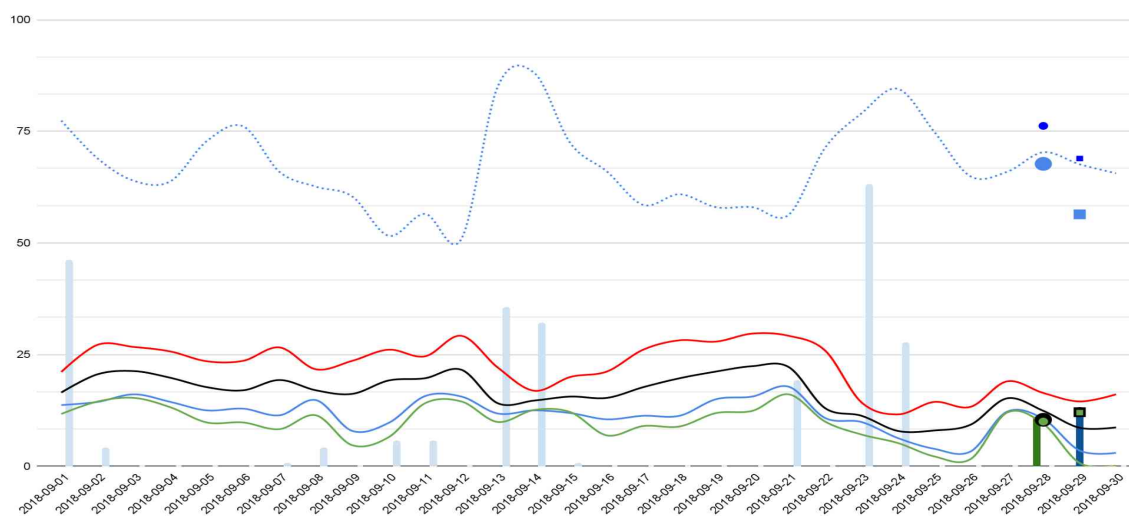
**LIPIEC**



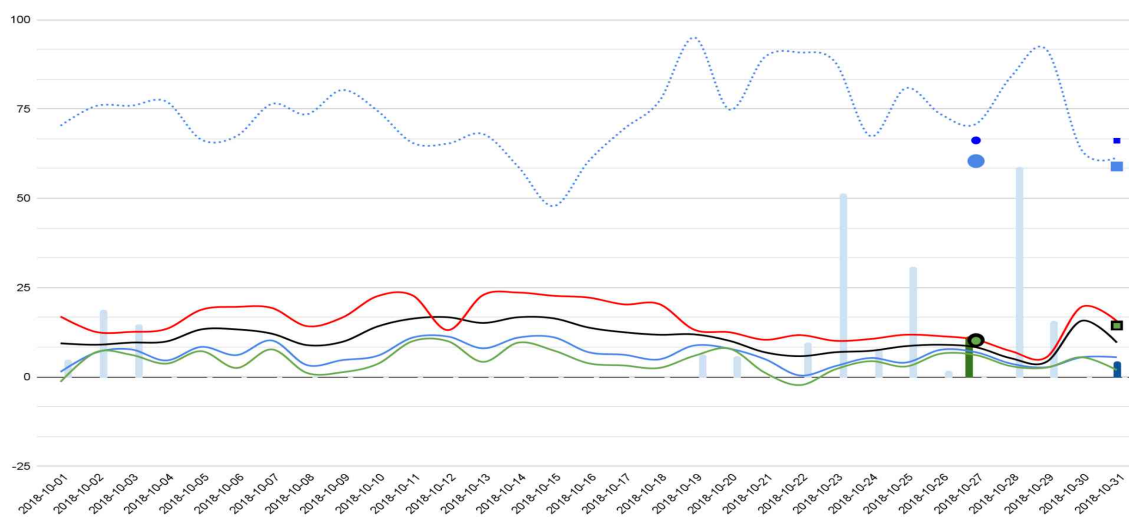
**SIERPIEŃ**



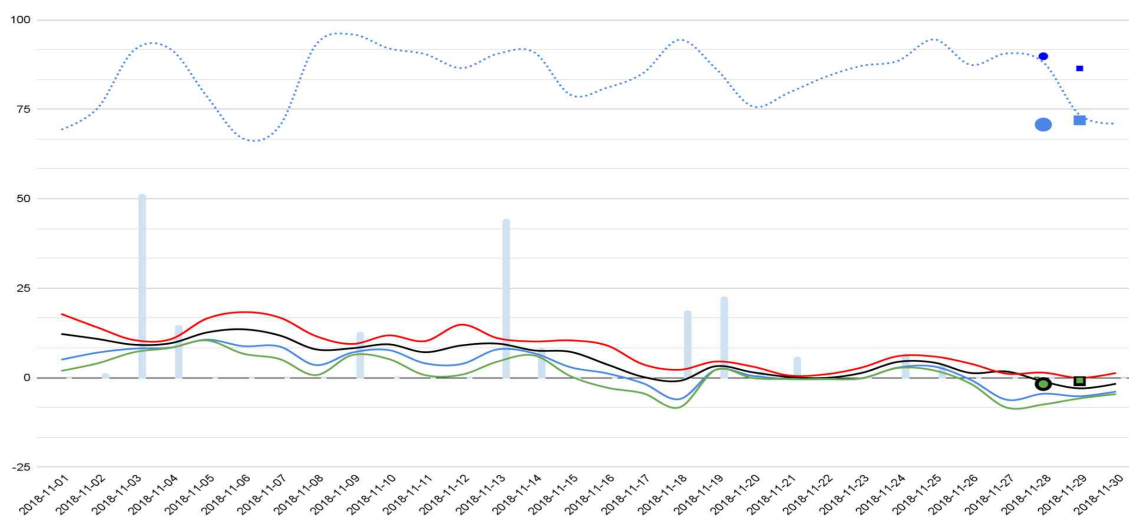
WRZESIEŃ

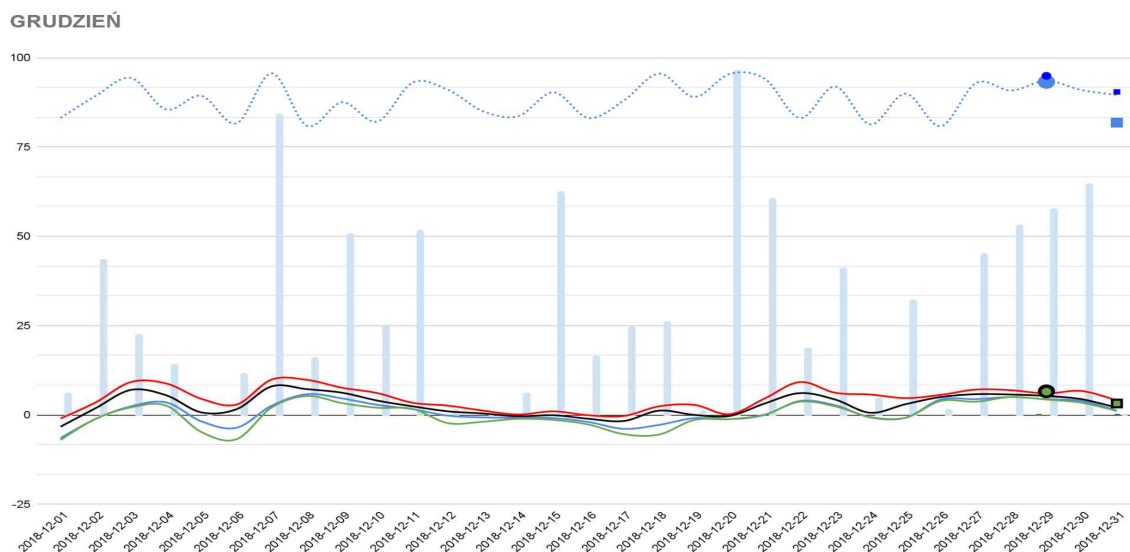


PAŹDZIERNIK



LISTOPAD





**Ryc. 25.** Liczba zebranych kleszczy a warunki klimatyczne panujące w 2018 roku na badanym obszarze w 2018 roku.

W roku 2019 średnia wilgotność powietrza na obszarach, gdzie przeprowadzono badania, mieściła się w zakresie od 34,6 do 99,5%, przy średniej wartości wynoszącej 73,0%. W okresie aktywności kleszczy, trwającym od lutego do października, wilgotność utrzymywała się w przedziale między 34,6% a 99,5%, przy średniej wartości 71,6%. W czasie najbardziej intensywnej aktywności kleszczy, a więc między marcem a lipcem, średnia wilgotność powietrza oscylowała między 34,6% a 93,9%, osiągając średni poziom 62,9%. W kwietniu, który stanowił miesiąc o największym nasileniu aktywności kleszczy w WPN, średnia wilgotność wynosiła 52,6% z wartością 61,1% w dniu przeprowadzania zbioru. Natomiast w maju, miesiącu charakteryzującym się największym pikiem aktywności kleszczy w Poznaniu, średnia wilgotność wynosiła 70,0%, przy wartości wynoszącej 65,9% w dniu badań (Tab. 28, Ryc. 26).

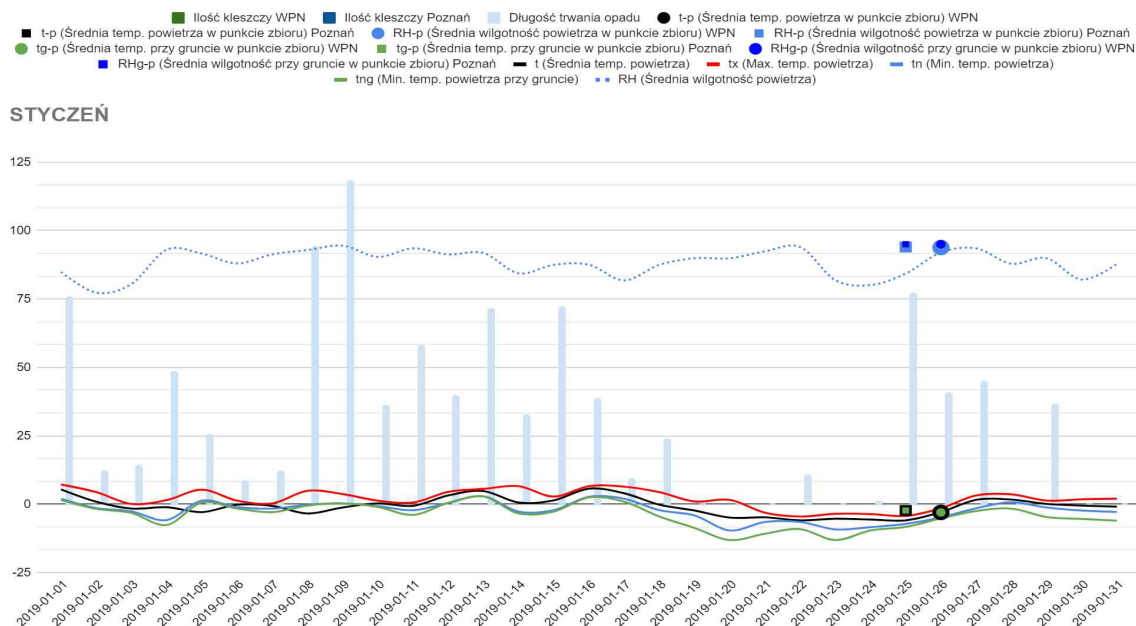
Średnia temperatura w 2019 roku na obszarach badawczych kształtowała się w przedziale od  $-5,9^{\circ}\text{C}$  do  $30,0^{\circ}\text{C}$ , ze średnią wartością wynoszącą  $11,1^{\circ}\text{C}$ . W okresie aktywności kleszczy, obejmującym miesiące od lutego do października, temperatura zawierała się w zakresie od  $-3,1^{\circ}\text{C}$  do  $30,0^{\circ}\text{C}$ , przy średniej wartości  $13,7^{\circ}\text{C}$ . W okresie największej aktywności kleszczy, a więc od marca do lipca, średnie temperatury powietrza wahające się między  $1,8^{\circ}\text{C}$  do  $30,0^{\circ}\text{C}$ , osiągnęły średnią wartość  $14,5^{\circ}\text{C}$ . W kwietniu, który charakteryzował się największym pikiem aktywności kleszczy w WPN, średnia temperatura powietrza wynosiła  $10,9^{\circ}\text{C}$ , natomiast w dniu przeprowadzania zbiorów osiągnęła wartość  $11,1^{\circ}\text{C}$ . W maju, miesiącu o najwyższym szczytowym poziomie aktywności kleszczy w

Poznaniu, średnia temperatura wynosiła 12,4°C, przy wartości 22,4°C w dniu przeprowadzania badań (Tab. 28, Ryc. 26).

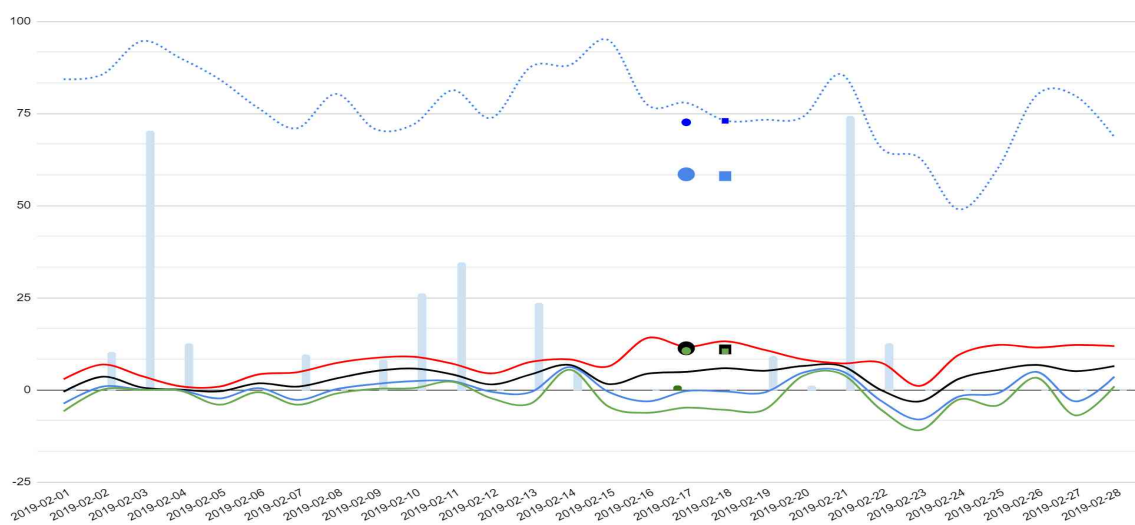
Średnie wartości wilgotności powietrza w punktach zbioru mieściły się w zakresie od 27% (wynik pomiaru własnego: średnia wilgotność w pięciu punktach zbioru w marcu 2019 roku na obszarze Poznania) do 73%, co plasuje się w dolnej połowie zakresu średnich wilgotności dla tego regionu według danych Instytutu Meteorologii i Gospodarki Wodnej.

**Tab. 28.** Warunki klimatyczne podczas zbioru kleszczy w 2019 roku.

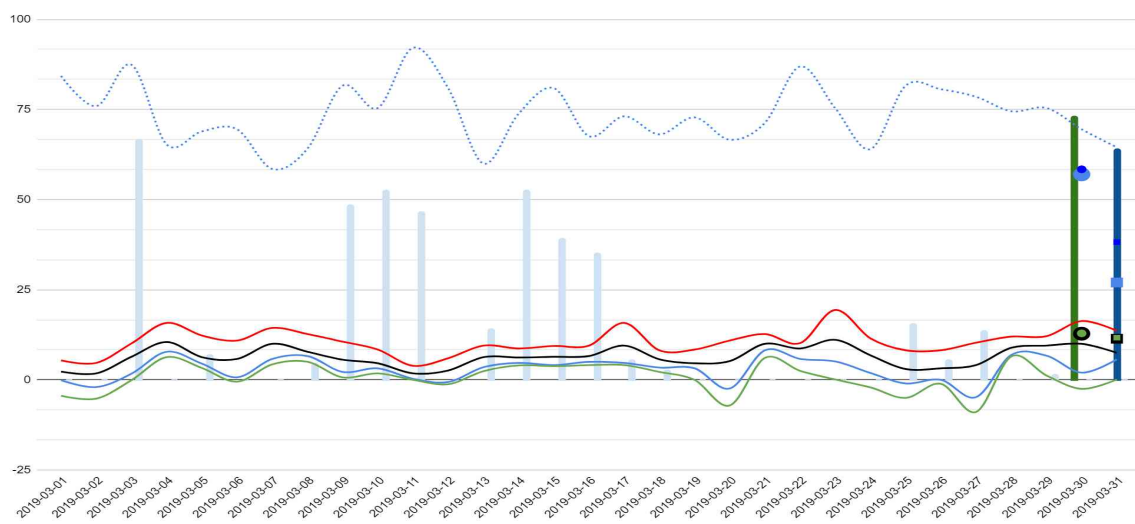
Miesiąc zbioru	WPN			Poznań		
	Ilość kleszczy [n]	Średnia temperatura [°C]	Średnia wilgotność [%]	Ilość kleszczy [n]	Średnia temperatura [°C]	Średnia wilgotność [%]
01.2019	0	-3,0	95,0	0	-2,3	94,0
02.2019	1	11,3	58,5	0	11,0	58,0
03.2019	73	12,8	57,9	64	11,4	27,0
04.2019	145	11,1	61,1	134	13,5	37,8
05.2019	102	25,0	45,8	151	22,4	65,9
06.2019	44	20,4	51,1	19	18,3	40,4
07.2019	84	22,0	57,4	28	23,8	58,4
08.2019	23	23,7	71,1	28	25,7	69,7
09.2019	8	16,7	59,5	13	18,3	58,8
10.2019	9	18,1	59,2	6	17,2	68,5



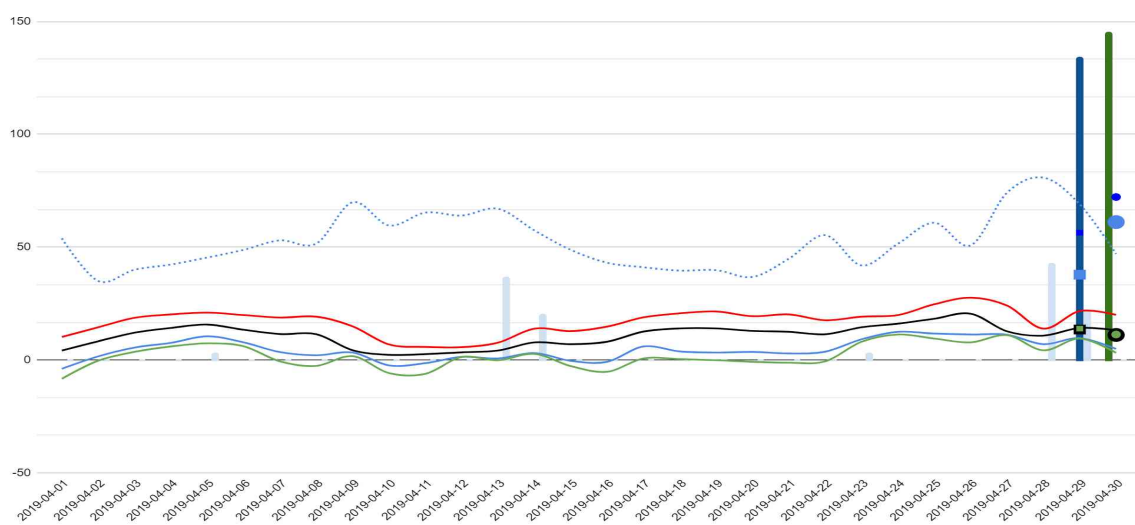
LUTY



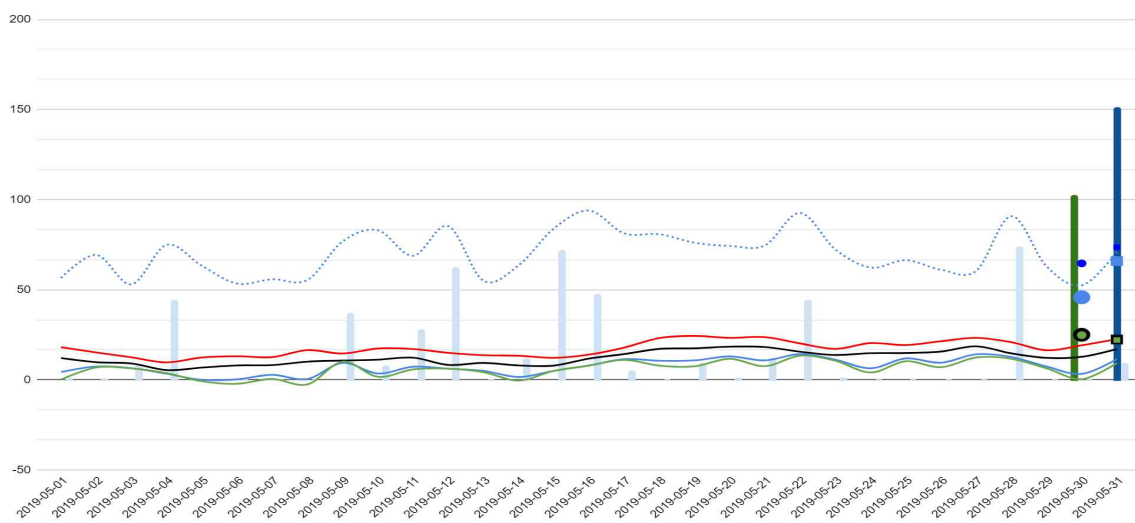
MARZEC



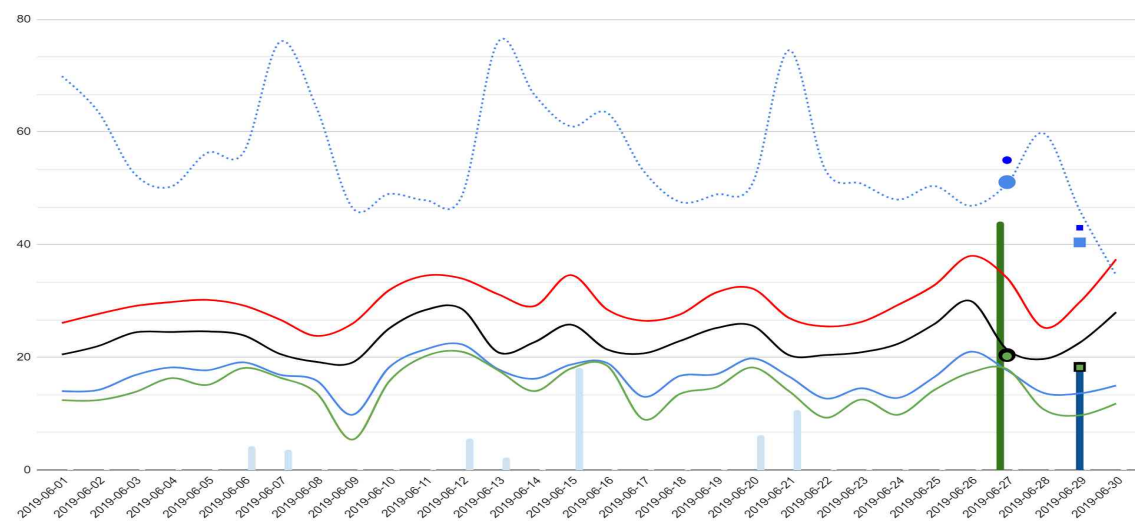
KWIECIEŃ



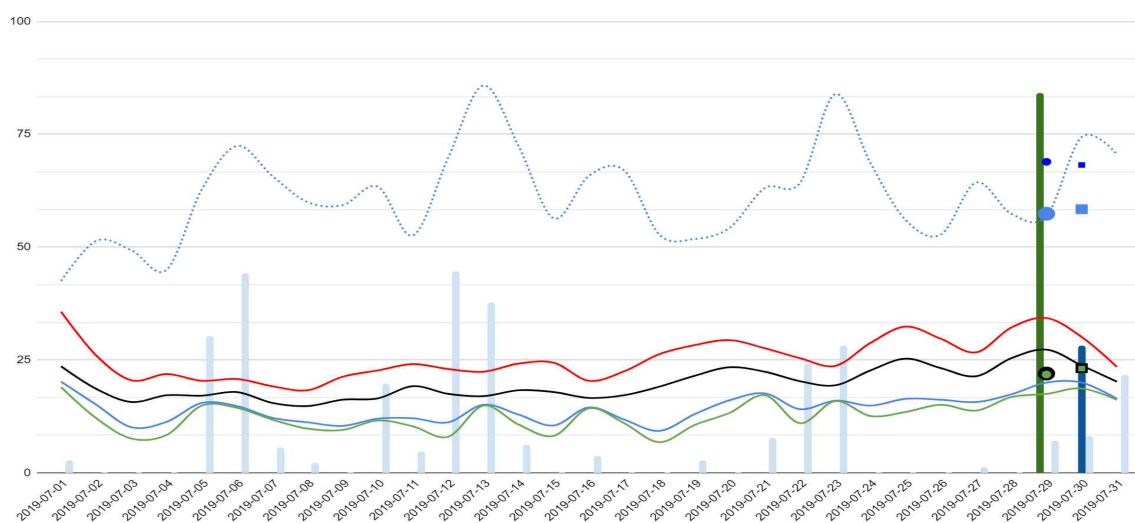
MAJ



CZERWIEC

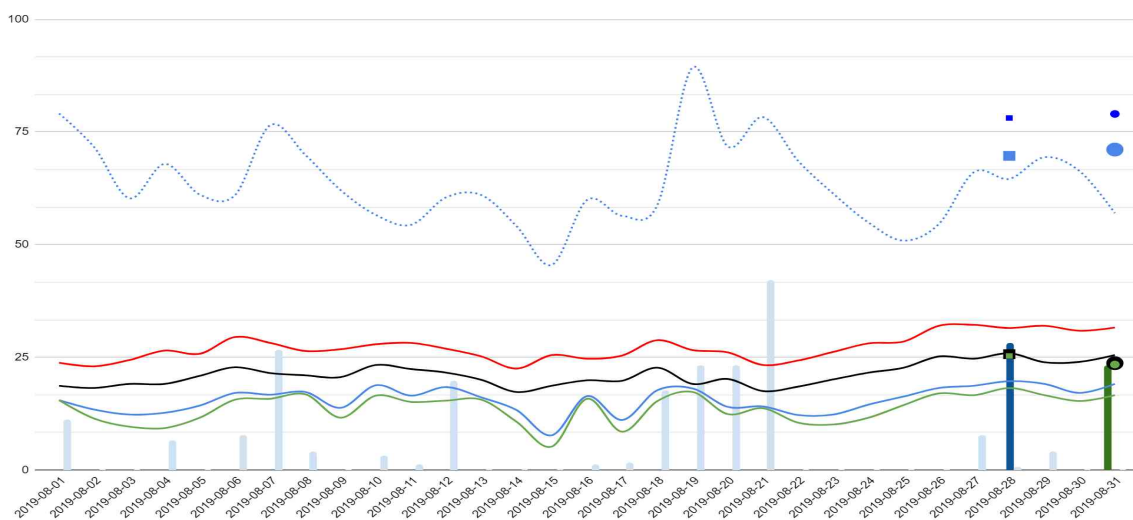


LIPIEC

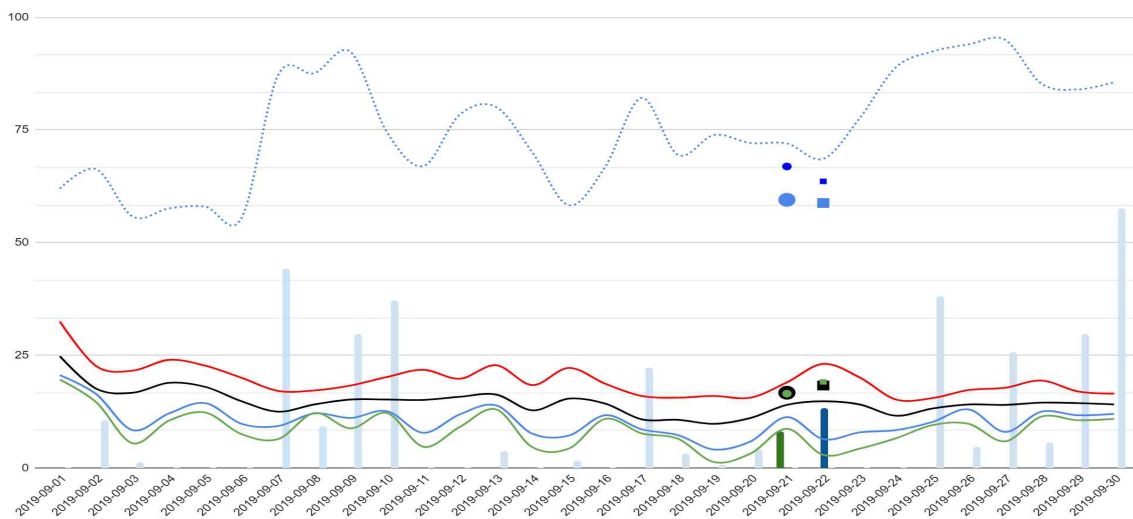




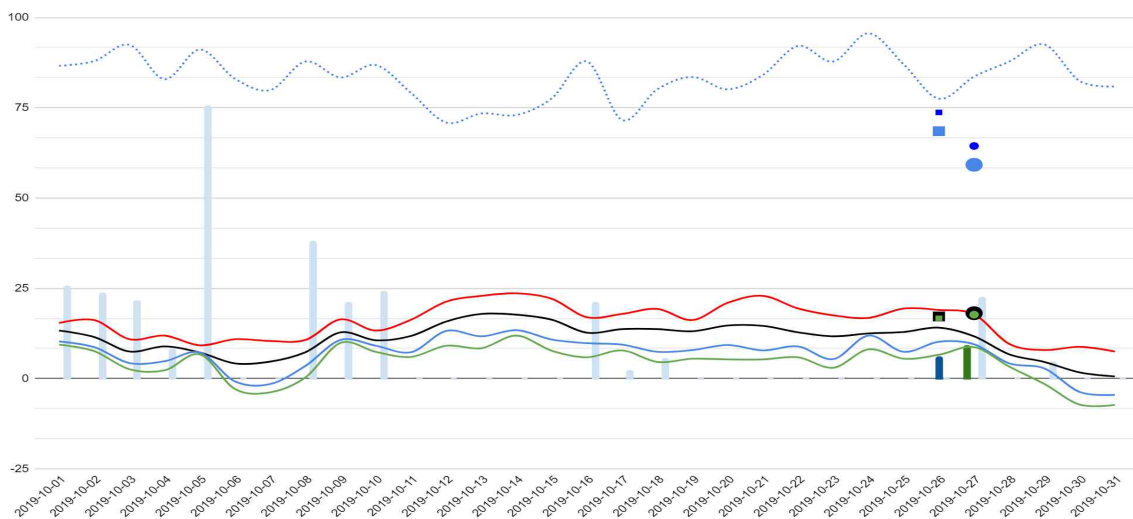
SIERPIEŃ

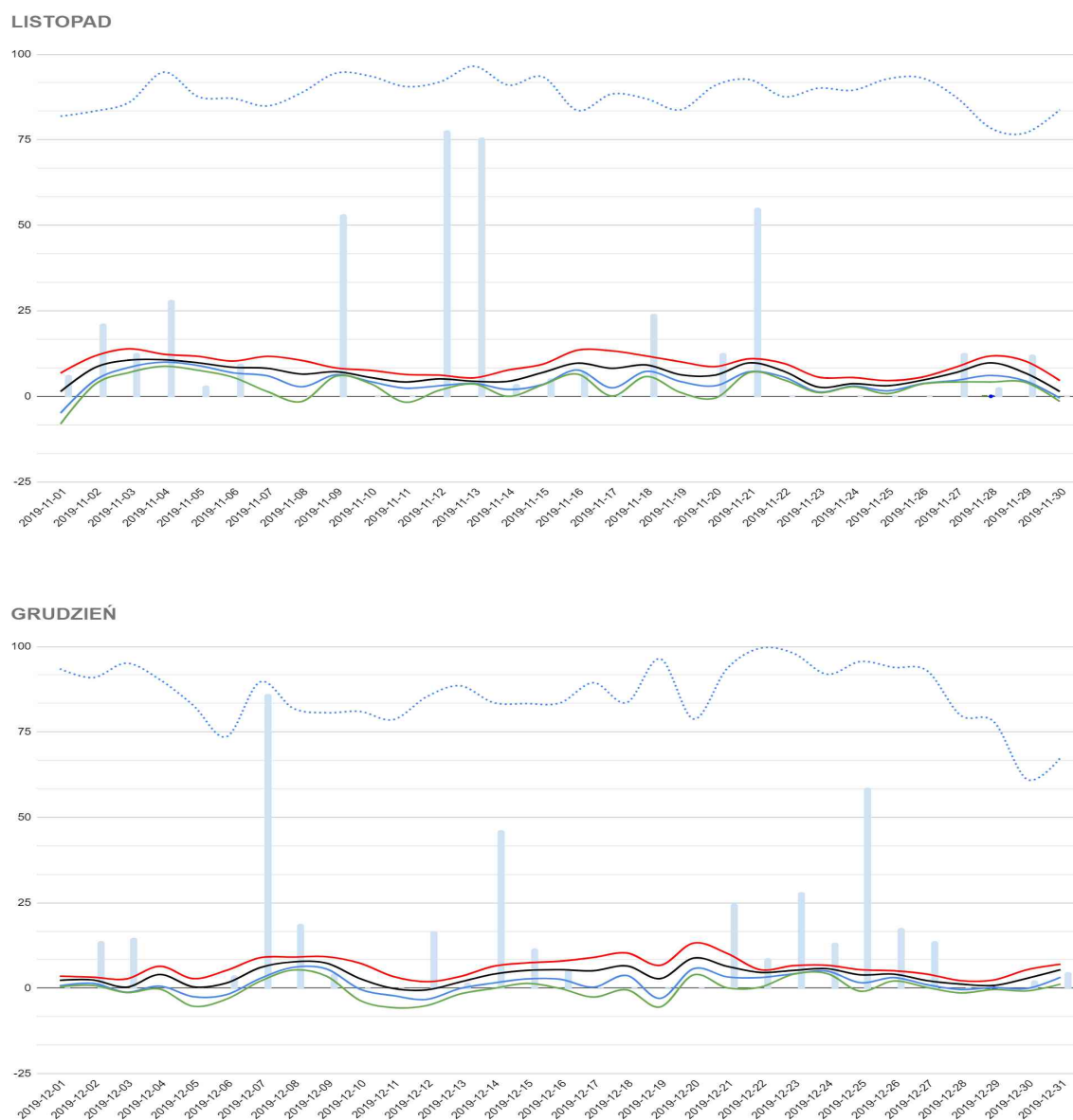


WRZESIEŃ



PAŹDZIERNIK





**Ryc. 26.** Liczba zebranych kleszczy a warunki klimatyczne panujące w 2018 roku na badanym obszarze w 2018 roku.

Temperatura powietrza w dwuletnim okresie badań oscylowała w granicach od  $-11,3^{\circ}\text{C}$  do  $30,0^{\circ}\text{C}$ . Zbiory kleszczy zostały skutecznie przeprowadzone przy temperaturze zarówno  $10,3^{\circ}\text{C}$  (październik 2018 roku), jak i  $25,7^{\circ}\text{C}$  (sierpień 2018 roku). Warto również zaznaczyć, że największe zbiory kleszczy miały miejsce przy temperaturze zarówno  $11,1^{\circ}\text{C}$ , jak i  $25,0^{\circ}\text{C}$  – były to okresy szczytowej aktywności w kwietniu i maju 2019 roku w WPN.

W roku 2019 szczyt aktywności kleszczy na obszarze Poznania wystąpił od 1 do 2 miesięcy wcześniej niż w roku poprzednim. Natomiast na obszarze WPN szczyt aktywności w roku 2019 przesunął się aż o 3 miesiące, z lipca na kwiecień. Przyczyną takiego zjawiska wydaje się być bardziej łagodna zima w roku 2019 w porównaniu z rokiem 2018,



charakteryzująca się wyższymi temperaturami oraz mniejszą liczbą dni o ujemnych temperaturach (Tab. 29).

**Tab. 29.** Porównanie wartości temperatur na terenach zbioru w okresie styczeń-marzec w latach 2018-2019.

Rok	Średnia temperatura [°C]	Minimalna temperatura [°C]	Maksymalna temperatura [°C]	Dni z temperaturą ujemną [%]
2018	0,3	-11,3	9,9	40
2019	3,0	-5,9	11,1	24,4

#### 4.2. Molekularna identyfikacja bakterii z rodzaju *Rickettsia*

Wśród 1702 odłowionych kleszczy u 220 osobników wykryto DNA bakterii z rodzaju *Rickettsia*, co stanowiło 12,9% wszystkich analizowanych prób (Tab. 30). Obecność materiału genetycznego zaobserwowano u obu zebranych gatunków - 216 pozytywnych prób dla *I. ricinus* i 4 dla *D. reticulatus* (co stanowi odpowiednio 12,8% i 40% wszystkich zebranych osobników). Zarówno liczba, jak i odsetek zakażonych kleszczy były wyższe na obszarze Wielkopolskiego Parku Narodowego. Różnica ta występowała we wszystkich latach zbioru. W 2019 roku nastąpił wzrost liczby zakażonych kleszczy na terenie Poznania, jednakże jest to wprost proporcjonalne do większej liczby odłowionych osobników w tym okresie. Odsetek zakażonych w obu latach pozostaje na zbliżonym poziomie. Procent zakażonych kleszczy na terenie WPN jest większy i wynosi 15,5% w porównaniu do 9,4% na terenie Poznania. Zależność pomiędzy liczbą jak i odsetkiem kleszczy zakażonych *Rickettsia* spp. na terenie miejskim i naturalnym nie wykazuje istotności statystycznej ( $p=0,200$  i  $p=0,900$  odpowiednio) (Tab. 31).

**Tab. 30.** Występowanie kleszczy zakażonych *Rickettsia* spp. na poszczególnych obszarach (n - liczba zakażonych kleszczy, % - procent zakażonych kleszczy).

Rok	Stanowisko		Łącznie n (%)
	WPN n (%)	Poznań n (%)	
2018	74 (14,8)	26 (9,6)	100 (13,0)
2019	79 (16,1)	41 (9,3)	120 (12,9)
<b>Łącznie 2018-2019</b>	<b>153 (15,5)</b>	<b>67 (9,4)</b>	<b>220 (12,9)</b>

**Tab. 31.** Występowanie kleszczy zakażonych *Rickettsia* spp. w latach 2018-2019 (n - liczba zakażonych kleszczy, % - procent zakażonych kleszczy).

Stanowisko	Lata		Łącznie n (%)
	2018 n (%)	2019 n (%)	
WPN	74 (14,8)	79 (16,1)	153 (15,5)
Poznań	26 (9,6)	41 (9,3)	67 (9,4)
<b>WPN + Poznań</b>	<b>100 (13,0)</b>	<b>120 (12,9)</b>	<b>220 (12,9)</b>

#### 4.2.1. Występowanie bakterii z rodzaju *Rickettsia* w zależności od terenu odłowu kleszczy

Na poszczególnych stanowiskach odłowu na terenie WPN zaobserwowano zmienność występowania patogenów w różnych okresach czasu. Przykładowo, w 2018 roku najniższy odsetek zakażeń, wynoszący 11,5%, odnotowano na stanowisku PZ-1. Natomiast w 2019 roku to samo stanowisko wykazywało najwyższy odsetek identyfikacji bakterii, sięgający 22,8%. W przeciwieństwie do tego przykładu, w 2018 roku największa liczba kleszczy, u których wykryto obecność DNA bakterii z rodzaju *Rickettsia* została zidentyfikowana na stanowisku PZ-4, podczas gdy w 2019 roku stanowisko to charakteryzowało się najniższym odsetkiem zakażeń, wynoszącym 13,9%. Analizując cały rok 2019, zidentyfikowano w kleszczach o 1,3% więcej patogenów niż w roku poprzednim (Tab. 32). Na poszczególnych stanowiskach występowały zatem zróżnicowania, ale w perspektywie dwuletnich badań, odsetek zakażonych kleszczy bakteriami z rodzaju *Rickettsia* pozostawał zbliżony i zawierał się w przedziale od 13,9% do 17,0% (Tab. 33). Analiza nie ujawniła istotnego statystycznie związku pomiędzy stanowiskiem zbioru w WPN a latami badania pod względem liczby i odsetka kleszczy zakażonych *Rickettsia* spp ( $p=0,155$ ).

**Tab. 32.** Występowanie kleszczy zakażonych *Rickettsia* spp. na poszczególnych stanowiskach w Wielkopolskim Parku Narodowym (n - liczba zakażonych kleszczy, % - procent zakażonych kleszczy).

Rok	Stanowisko					Łącznie n (%)
	PZ-1 n (%)	PZ-2 n (%)	PZ-3 n (%)	PZ-4 n (%)	PZ-5 n (%)	
2018	15 (11,5)	5 (13,5)	27 (14,1)	11 (19,3)	16 (19,3)	74 (14,8)
2019	23 (22,8)	6 (17,7)	20 (16,3)	17 (11,8)	13 (14,8)	79 (16,1)
<b>Łącznie 2018-2019</b>	<b>38 (16,5)</b>	<b>11 (15,5)</b>	<b>47 (14,9)</b>	<b>28 (13,9)</b>	<b>29 (17,0)</b>	<b>153 (15,5)</b>

**Tab. 33.** Występowanie kleszczy zakażonych *Rickettsia* spp. zebranych w latach 2018-2019 w Wielkopolskim Parku Narodowym: rozkład na stanowiskach (n - liczba zakażonych kleszczy, % - procent zakażonych kleszczy).

Stanowisko	Lata		Łącznie n (%)
	2018 n (%)	2019 n (%)	
PZ-1	15 (11,5)	23 (22,8)	<b>38 (16,5)</b>
PZ-2	5 (13,5)	6 (17,7)	<b>11 (15,5)</b>
PZ-3	27 (14,1)	20 (16,3)	<b>47 (14,9)</b>
PZ-4	11 (19,3)	17 (11,8)	<b>28 (13,9)</b>
PZ-5	16 (19,3)	13 (14,8)	<b>29 (17,0)</b>
<b>Łącznie WPN</b>	<b>74 (14,8)</b>	<b>79 (16,1)</b>	<b>153 (15,5)</b>

Podczas analizy występowania materiału genetycznego riketsji w kleszczach na terenie Poznania w dwuletnim okresie można zauważyć, że procentowo liczba pozytywnych prób była niemal identyczna - wynosiła 9,6% w roku 2018 i 9,3% w roku 2019 (Tab. 34). Jednak istnieją istotne różnice w zakażeniu kleszczy *Rickettsia* spp. pomiędzy poszczególnymi miejscami odłowu ( $p < 0,001$ ). Może to wynikać z faktu, że poza stanowiskiem PO-3, gdzie zebrano największą liczbę kleszczy, ilość zebranych osobników była relatywnie niewielka, a na stanowisku PO-2 w okresie dwuletnim zidentyfikowano wyłącznie jednego kleszcza w którym wykryto DNA bakterii z rodzaju *Rickettsia*. Na stanowisku PO-3, na którym liczba kleszczy była najwyższa spośród wszystkich dziesięciu stanowisk, wykazano 47 zidentyfikowanych riketsji, dorównując tym samym najwyższemu wynikowi z WPN. Odsetek zakażeń i w tym przypadku był wyraźnie niższy, różniąc się o 3,5% w roku 2018 i aż 7,7% w roku 2019. Pomimo różnic w liczbie zebranych kleszczy na stanowiskach w Poznaniu, odsetek zakażonych osobników na trzech z nich w okresie dwuletnim pozostał zbliżony i mieścił się w przedziale między 9,4% a 10,3% (stanowiska PO-1, PO-3 i PO-4). Najmniejszy odsetek odnotowano na stanowisku PO-2, gdzie zidentyfikowano tylko jednego zakażonego kleszcza w roku 2019. Z drugiej strony, na stanowisku PO-5, gdzie zebrano najmniej kleszczy spośród wszystkich dziesięciu stanowisk, zarejestrowano najwyższy odsetek zakażonych osobników, wynoszący aż 17,1% (przekraczający nawet wskaźniki z WPN) (Tab. 35).

**Tab. 34.** Występowanie kleszczy zakażonych *Rickettsia* spp. zebranych na poszczególnych stanowiskach w mieście Poznań (n - liczba zakażonych kleszczy, % - procent zakażonych kleszczy).

Rok	Stanowisko					Łącznie n (%)
	PO-1 n (%)	PO-2 n (%)	PO-3 n (%)	PO-4 n (%)	PO-5 n (%)	
<b>2018</b>	3 (20,0)	0 (0)	20 (10,6)	1 (3,3)	2 (14,3)	<b>26 (9,6)</b>
<b>2019</b>	5 (7,9)	1 (4,4)	27 (8,6)	4 (17,4)	4 (19,1)	<b>41 (9,3)</b>
<b>Łącznie 2018-2019</b>	<b>8 (10,3)</b>	<b>1 (2,2)</b>	<b>47 (9,4)</b>	<b>5 (9,4)</b>	<b>6 (17,1)</b>	<b>67 (9,4)</b>

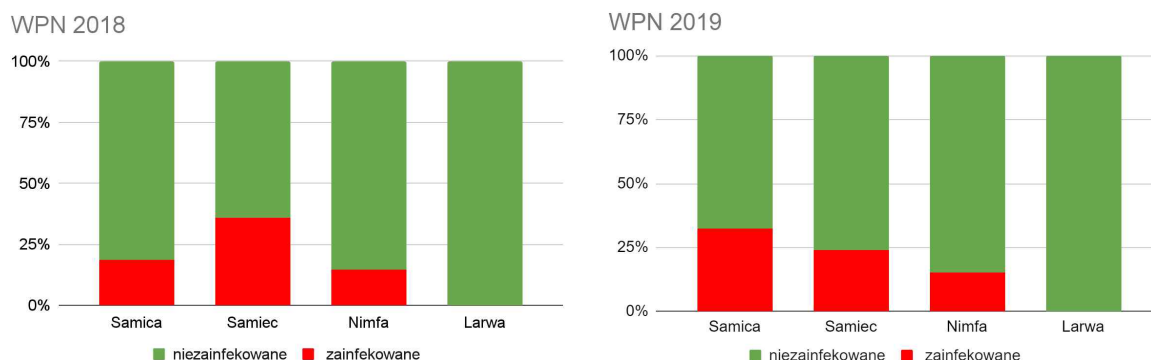
**Tab. 35.** Występowanie kleszczy zakażonych *Rickettsia* spp. zebranych w latach 2018-2019 w mieście Poznań: rozkład na stanowiskach (n - liczba zakażonych kleszczy, % - procent zakażonych kleszczy).

Stanowisko	Lata		Łącznie n (%)
	2018 n (%)	2019 n (%)	
<b>PO-1</b>	3 (20,0)	5 (7,9)	<b>8 (10,3)</b>
<b>PO-2</b>	0 (0)	1 (4,4)	<b>1 (2,2)</b>
<b>PO-3</b>	20 (10,6)	27 (8,6)	<b>47 (9,4)</b>
<b>PO-4</b>	1 (3,3)	4 (17,4)	<b>5 (9,4)</b>
<b>PO-5</b>	2 (14,3)	4 (19,1)	<b>6 (17,1)</b>
<b>Łącznie Poznań</b>	<b>26 (9,6)</b>	<b>41 (9,3)</b>	<b>67 (9,4)</b>

#### 4.2.2. Występowanie bakterii z rodzaju *Rickettsia* w zależności od stadium rozwojowego kleszczy

Analizując dane dotyczące występowania bakterii z rodzaju *Rickettsia* w różnych stadiach rozwojowych na obszarze Wielkopolskiego Parku Narodowego, obserwujemy niższy odsetek zakażeń stadium nimfy niż w przypadku osobników dorosłych (Ryc. 27). Zebrane nimfy na terenie WPN stanowiły 90,8% w 2018 roku i 84,1% w 2019 roku spośród wszystkich stadiów rozwojowych, jednak DNA *Rickettsia* spp. wykryto u 14,6% kleszczy w 2018 roku i 15,1% w 2019 roku. Jest to odsetek niższy niż w przypadku osobników dorosłych, których poziom zakażenia mieścił się w przedziale od 18,8% do 35,7%. W okresie dwuletnich badań procent zakażeń osobników dorosłych był niemal identyczny (28,0% samice i 28,2% samce), natomiast u nimf wynosił zaledwie 14,8% - czyli niemal o połowę mniejszy. Przeprowadzone analizy nie wykazały jednak istotności statystycznej pomiędzy

odsetkiem występowania *Rickettsia* spp. w poszczególnych stadiach rozwojowych ( $p=0,053$ ) (Tab. 36).



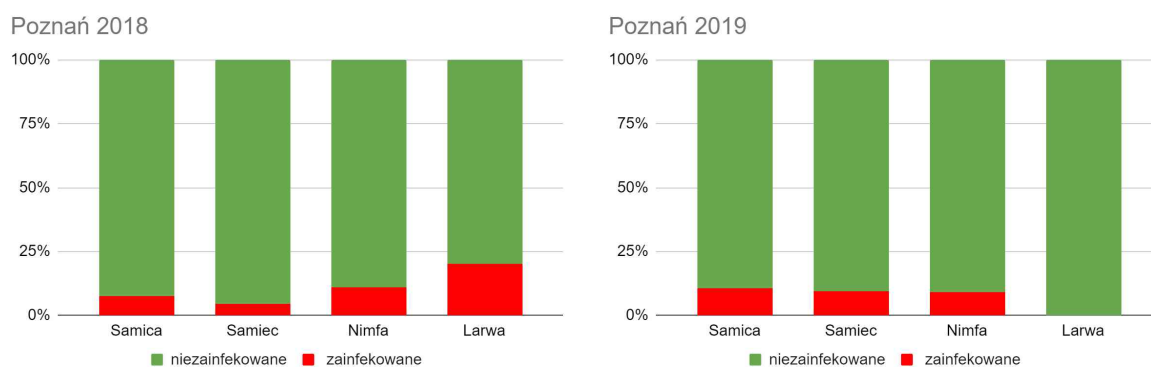
**Ryc. 27.** Procent kleszczy niezakażonych (zielony) i zakażonych (czerwony) bakteriami z rodzaju *Rickettsia* spp. w latach 2018-2019 na terenie Wielkopolskiego Parku Narodowego.

**Tab. 36.** Występowanie kleszczy zakażonych *Rickettsia* spp. zebranych na poszczególnych stanowiskach w Wielkopolskim Parku Narodowym: rozkład stadium rozwojowego (n - liczba zakażonych kleszczy, % - procent zakażonych kleszczy).

Rok	Stadium rozwojowe	Stanowisko					Łącznie n (%)
		PZ-1 n (%)	PZ-2 n (%)	PZ-3 n (%)	PZ-4 n (%)	PZ-5 n (%)	
2018	Samica	2 (33,3)	0 (0)	0 (0)	1 (50,0)	0 (0)	3 (18,8)
	Samiec	0 (0)	2 (100)	1 (20,0)	0 (0)	2 (66,7)	5 (35,7)
	Nimfa	13 (10,7)	3 (10,0)	26 (14,6)	10 (19,6)	14 (19,2)	66 (14,6)
	Larwa	0	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Łącznie rok 2018		15 (11,5)	5 (13,5)	27 (14,1)	11 (19,3)	16 (19,3)	74 (14,8)
2019	Samica	5 (41,7)	0 (0)	3 (42,9)	2 (18,2)	1 (100)	11 (32,4)
	Samiec	3 (37,5)	1 (100)	1 (12,5)	1 (16,7)	0 (0)	6 (24,0)
	Nimfa	15 (19,5)	5 (17,2)	16 (15,1)	14 (11,6)	12 (15,2)	62 (15,1)
	Larwa	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Łącznie rok 2019		23 (22,8)	6 (17,7)	20 (16,3)	17 (11,8)	13 (14,8)	79 (16,1)
2018	Samica	7 (38,9)	0 (0)	3 (27,3)	3 (23,1)	1 (25,0)	14 (28,0)
	Samiec	3 (27,3)	3 (100)	2 (15,4)	1 (14,3)	2 (40,0)	11 (28,2)
2019	Nimfa	28 (14,1)	8 (13,6)	42 (14,8)	24 (14,0)	26 (17,1)	128 (14,8)
	Larwa	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Łącznie 2018-2019		38 (16,5)	11 (15,5)	47 (14,9)	28 (13,9)	29 (17,0)	153 (15,5)

Podczas analizy danych dotyczących zakażenia różnych stadiów rozwojowych kleszczy riketsjami na obszarze miasta Poznań, można dostrzec odmienny wzorec w porównaniu z tym zaobserwowanym w WPN. Poziom zakażeń bakteriami z rodzaju *Rickettsia* jest bardziej wyrównany i nie wykazuje istotności statystycznej ( $p=0,386$ ). Różnice te są jeszcze mniejsze gdy wykluczamy larwy z analizy z roku 2018, u których wykryto DNA *Rickettsia* spp. w 20% osobników. Należy jednak zaznaczyć, że to zakażenie dotyczyło jednego osobnika (Ryc. 28). W ciągu dwuletniego okresu, różnice w zakażeniach kleszczy na obszarze Poznania między poszczególnymi stadiami wynosiły między 7,7% a 9,8%, natomiast w przypadku larw odsetek ten wyniósł 11,1% (Tab. 37).

Na stanowisku PO-3 DNA riketsji wykryto u 47 spośród 67 kleszczy. Pozostałe 20 pozytywnych prób zostało zebranych w ciągu 2 lat badań na 4 stanowiskach, stąd analiza każdej lokalizacji z osobna nie dałaby miarodajnych wyników.



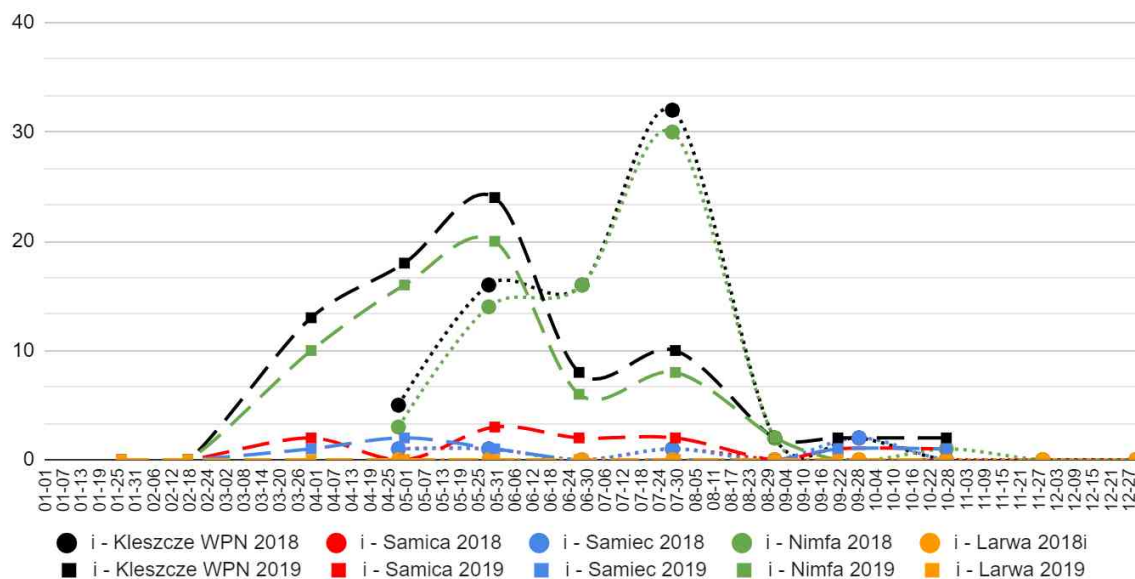
**Ryc. 28.** Procent kleszczy niezakażonych (zielony) i zakażonych (czerwony) bakteriami z rodzaju *Rickettsia* spp. w latach 2018-2019 na terenie Poznania.

**Tab. 37.** Występowanie kleszczy zakażonych *Rickettsia* spp. zebranych na poszczególnych stanowiskach w mieście Poznań: rozkład stadium rozwojowego (n - liczba zakażonych kleszczy, % - procent zakażonych kleszczy).

Rok	Stadium rozwojowe	Stanowisko					Łącznie n (%)
		PO-1 n (%)	PO-2 n (%)	PO-3 n (%)	PO-4 n (%)	PO-5 n (%)	
2018	samica	2 (28,6)	0 (0)	1 (5,0)	0 (0)	0 (0)	3 (7,5)
	samiec	0 (0)	0	0 (0)	0 (0)	2 (28,6)	2 (4,4)
	nimfa	1 (50,0)	0 (0)	18 (13,0)	1 (6,3)	0 (0)	20 (11,1)
	larwa	0	0	1 (20,0)	0	0	1 (20,0)
Łącznie rok 2018		3 (20,0)	0 (0)	20 (10,6)	1 (3,33)	2 (14,3)	26 (9,6)
2019	samica	1 (6,7)	0 (0)	5 (12,2)	2 (20,0)	0 (0)	8 (10,7)
	samiec	0 (0)	0 (0)	6 (15,8)	0 (0)	2 (18,2)	8 (9,4)
	nimfa	4 (21,1)	1 (5,9)	16 (7,0)	2 (22,2)	2 (50,0)	25 (9,0)
	larwa	0	0	0 (0)	0	0	0 (0)
Łącznie rok 2019		5 (7,9)	1 (4,3)	27 (8,6)	4 (17,4)	4 (19,1)	41 (9,3)
2018	samica	3 (13,6)	0 (0)	6 (9,8)	2 (11,8)	0 (0)	11 (9,6)
	samiec	0 (0)	0 (0)	6 (9,5)	0 (0)	4 (22,2)	10 (7,7)
2019	nimfa	5 (23,8)	1 (2,7)	34 (9,2)	3 (12,0)	2 (28,6)	45 (9,8)
	larwa	0	0	1 (11,1)	0	0	1 (11,1)
Łącznie 2018-2019		8 (10,3)	1 (2,2)	47 (9,4)	5 (9,4)	6 (17,1)	67 (9,4)

#### 4.2.3. Występowanie bakterii z rodzaju *Rickettsia* w kleszczach w czasie i przestrzeni

Analiza zakażenia kleszczy bakteriami z rodzaju *Rickettsia* w zależności od miesiąca zbioru wykazała, że poziom zakażenia w różnych stadiach rozwojowych kleszczy praktycznie pokrywa się z profilem aktywności kleszczy na danym obszarze (Ryc. 29). Obserwowaną różnicą jest niższy odsetek zakażeń kleszczy w miesiącu kwietniu w obu latach zbioru.



**Ryc. 29.** Poziom zakażeń kleszczy bakteriami z rodzaju *Rickettsia* w poszczególnych miesiącach zbioru na terenie Wielkopolskiego Parku Narodowego.

W ciągu dwuletniego okresu badań, zakażenia kleszczy występowały praktycznie w każdym miesiącu. Poziom zakażeń zazwyczaj spadał lub osiągał poziom zerowy we wrześniu i październiku, w których odnotowano najniższą liczbę odłowionych kleszczy (Tab. 38 - Tab. 42).



**Tab. 38.** Występowanie kleszczy zakażonych *Rickettsia* spp. zebranych na stanowisku PZ-1 w Wielkopolskim Parku Narodowym: rozkład stadium rozwojowego (n - liczba zakażonych kleszczy, % - procent zakażonych kleszczy).

Rok	Stadium rozwojowe	Miesiąc												Łącznie n (%)
		01 n (%)	02 n (%)	03 n (%)	04 n (%)	05 n (%)	06 n (%)	07 n (%)	08 n (%)	09 n (%)	10 n (%)	11 n (%)	12 n (%)	
2018	samica	-	-	-	0	1 (50,0)	0 (0)	1 (50,0)	0 (0)	0	0	0	0	2 (33,3)
	samicc	-	-	-	0 (0)	0	0	0	0 (0)	0 (0)	0	0	0	0 (0)
	nimfa	-	-	-	1 (4,4)	6 (20,7)	2 (9,1)	3 (9,4)	1 (7,1)	0 (0)	0	0	0	13 (10,7)
	larwa	-	-	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>Łącznie rok 2018</b>		-	-	-	<b>1 (4,2)</b>	<b>7 (22,6)</b>	<b>2 (8,7)</b>	<b>4 (11,8)</b>	<b>1 (6,3)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>15 (11,5)</b>
2019	samica	0	0	1 (100)	0	1 (50,0)	2 (66,7)	1 (16,7)	0	0	0	-	-	5 (41,7)
	samicc	0	0	0 (0)	2 (100)	1 (50,0)	0	0 (0)	0 (0)	0	0	-	-	3 (37,5)
	nimfa	0	0	4 (36,4)	2 (10,0)	5 (23,8)	2 (28,6)	2 (14,3)	0 (0)	0 (0)	0	-	-	15 (19,5)
	larwa	0	0	0	0	0	0 (0)	0	0	0	0	-	-	0 (0)
<b>Łącznie rok 2019</b>		<b>0</b>	<b>0</b>	<b>5 (35,7)</b>	<b>4 (18,2)</b>	<b>7 (28,0)</b>	<b>4 (28,6)</b>	<b>3 (14,3)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>0</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>23 (22,8)</b>
2018- 2019	samica	0	0	1 (100)	0	2 (50,0)	2 (50,0)	2 (25,0)	0 (0)	0	0	0	0	7 (38,9)
	samicc	0	0	0 (0)	2 (66,7)	1 (50,0)	0	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0	0	0	3 (27,3)
	nimfa	0	0	4 (36,4)	3 (7,0)	11 (22,0)	4 (13,8)	5 (10,9)	1 (6,7)	0 (0)	0	0	0	28 (14,1)
	larwa	0	0	0	0	0	0 (0)	0	0	0	0	0	0	0 (0)
<b>Łącznie 2018-2019</b>		<b>0</b>	<b>0</b>	<b>5 (35,7)</b>	<b>5 (10,9)</b>	<b>14 (25,0)</b>	<b>6 (16,2)</b>	<b>7 (12,7)</b>	<b>1 (5,6)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>38 (16,5)</b>

**Tab. 39.** Występowanie kleszczy zakażonych *Rickettsia* spp. zebranych na stanowisku PZ-2 w Wielkopolskim Parku Narodowym: rozkład stadium rozwojowego (n - liczba zakażonych kleszczy, % - procent zakażonych kleszczy).

Rok	Stadium rozwojowe	Miesiąc												Łącznie n (%)
		01 n (%)	02 n (%)	03 n (%)	04 n (%)	05 n (%)	06 n (%)	07 n (%)	08 n (%)	09 n (%)	10 n (%)	11 n (%)	12 n (%)	
2018	samica	-	-	-	0	0	0	0	0	0 (0)	0	0	0	0 (0)
	samicc	-	-	-	1 (100)	0	0	1 (100)	0	0	0	0	0	2 (100)
	nimfa	-	-	-	1 (11,1)	1 (25,0)	1 (8,3)	0 (0)	0 (0)	0	0 (0)	0	0	3 (10,0)
	larwa	-	-	-	0	0	0	0	0 (0)	0	0	0	0	0 (0)
<b>Łącznie rok 2018</b>		-	-	-	<b>2 (20,0)</b>	<b>1 (25,0)</b>	<b>1 (80,3)</b>	<b>1 (33,3)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>5 (13,5)</b>
2019	samica	0	0	0	0 (0)	0 (0)	0	0	0	0	0	-	-	0 (0)
	samicc	0	0	1 (100)	0	0	0	0	0	0	0	-	-	1 (100)
	nimfa	0	0	1 (8,3)	0 (0)	0 (0)	2 (66,7)	1 (50,0)	1 (33,3)	0 (0)	0	-	-	5 (17,2)
	larwa	0	0	0	0	0	0	0 (0)	0	0	0	-	-	0 (0)
<b>Łącznie rok 2019</b>		<b>0</b>	<b>0</b>	<b>2 (15,4)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>2 (66,7)</b>	<b>1 (33,3)</b>	<b>1 (33,3)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>0</b>	-	-	<b>6 (17,7)</b>
2018- 2019	samica	0	0	0	0 (0)	0 (0)	0	0	0	0 (0)	0	0	0	0 (0)
	samicc	0	0	1 (100)	1 (100)	0	0	1 (100)	0	0	0	0	0	3 (100)
	nimfa	0	0	1 (8,3)	1 (6,3)	1 (20,0)	3 (20,0)	1 (25,0)	1 (20,0)	0 (0)	0 (0)	0	0	8 (13,6)
	larwa	0	0	0	0	0	0	0 (0)	0 (0)	0	0	0	0	0 (0)
<b>Łącznie 2018-2019</b>		<b>0</b>	<b>0</b>	<b>2 (15,4)</b>	<b>2 (11,1)</b>	<b>1 (14,3)</b>	<b>3 (20,0)</b>	<b>2 (33,3)</b>	<b>1 (11,1)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>11 (15,5)</b>

**Tab. 40.** Występowanie kleszczy zakażonych *Rickettsia* spp. zebranych na stanowisku PZ-3 w Wielkopolskim Parku Narodowym: rozkład stadium rozwojowego (n - liczba zakażonych kleszczy, % - procent zakażonych kleszczy).

Rok	Stadium rozwojowe	Miesiąc												Łącznie n (%)
		01 n (%)	02 n (%)	03 n (%)	04 n (%)	05 n (%)	06 n (%)	07 n (%)	08 n (%)	09 n (%)	10 n (%)	11 n (%)	12 n (%)	
2018	samica	-	-	-	0	0	0 (0)	0 (0)	0	0 (0)	0	0	0	0 (0)
	samicc	-	-	-	0	1 (50,0)	0 (0)	0 (0)	0	0	0	0	0	1 (20,0)
	nimfa	-	-	-	0 (0)	4 (13,8)	8 (15,7)	13 (21,3)	1 (14,3)	0 (0)	0 (0)	0	0	26 (14,6)
	larwa	-	-	-	0	0	0	0	0 (0)	0	0	0	0	0 (0)
<b>Łącznie rok 2018</b>		-	-	-	<b>0 (0)</b>	<b>5 (16,1)</b>	<b>8 (14,8)</b>	<b>13 (20,3)</b>	<b>1 (8,3)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>27 (14,1)</b>
2019	samica	0	0	1 (100)	0 (0)	1 (50,0)	0	0	0 (0)	0	1*(100)	-	-	3 (42,9)
	samicc	0	0	0	0 (0)	0 (0)	0	0	0 (0)	0 (0)	1*(100)	-	-	1 (12,5)
	nimfa	0	0 (0)	2 (20,0)	5 (12,5)	8 (26,7)	1 (12,5)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	-	-	16 (15,1)
	larwa	0	0	0	0	0	0	0	0 (0)	0	0	-	-	0 (0)
<b>Łącznie rok 2019</b>		<b>0</b>	<b>0 (0)</b>	<b>3 (27,3)</b>	<b>5 (11,6)</b>	<b>9 (25,0)</b>	<b>1 (12,5)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>2</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>20 (16,3)</b>
2018- 2019	samica	0	0	1 (100)	0 (0)	1 (50,0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (100)	0	0	3 (27,3)
	samicc	0	0	0	0 (0)	1 (16,7)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (100)	0	0	2 (15,4)
	nimfa	0	0 (0)	2 (20,0)	5 (8,3)	12 (20,3)	9 (15,3)	13 (18,1)	1 (10,0)	0 (0)	0 (0)	0	0	42 (14,8)
	larwa	0	0	0	0	0	0	0	0 (0)	0	0	0	0	0 (0)
<b>Łącznie 2018-2019</b>		<b>0</b>	<b>0 (0)</b>	<b>3 (27,3)</b>	<b>5 (7,9)</b>	<b>14 (20,9)</b>	<b>9 (14,5)</b>	<b>13 (17,3)</b>	<b>1 (5,3)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>2 (18,2)</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>47 (14,9)</b>

\*\* Zakażenie u *D. reticulatus*

**Tab. 41.** Występowanie kleszczy zakażonych *Rickettsia* spp. zebranych na stanowisku PZ-4 w Wielkopolskim Parku Narodowym: rozkład stadium rozwojowego (n - liczba zakażonych kleszczy, % - procent zakażonych kleszczy).

Rok	Stadium rozwojowe	Miesiąc												Łącznie n (%)
		01 n (%)	02 n (%)	03 n (%)	04 n (%)	05 n (%)	06 n (%)	07 n (%)	08 n (%)	09 n (%)	10 n (%)	11 n (%)	12 n (%)	
2018	samica	-	-	-	1 (50,0)	0	0	0	0	0	0	0	0	1 (50,0)
	samicc	-	-	-	0	0	0 (0)	0	0	0	0	0	0	0 (0)
	nimfa	-	-	-	0 (0)	1 (25,0)	1 (7,1)	8 (36,4)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0	0	10 (19,6)
	larwa	-	-	-	0	0	0	0 (0)	0	0	0	0	0	0 (0)
<b>Łącznie rok 2018</b>		-	-	-	<b>1 (14,3)</b>	<b>1 (25,0)</b>	<b>1 (6,7)</b>	<b>8 (32,0)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>11 (19,3)</b>
2019	samica	0	0	0 (0)	0 (0)	1 (50,0)	0	0 (0)	0	1*(50,0)	0	-	-	2 (18,2)
	samicc	0	0	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0	0	0	1*(100)	0	-	-	1 (16,7)
	nimfa	0	0	2 (9,1)	3 (7,9)	5 (20,0)	1 (11,1)	2 (9,5)	1 (33,3)	0	0 (0)	-	-	14 (11,6)
	larwa	0	0	0	0	0	0	0 (0)	0 (0)	0	0	-	-	0 (0)
<b>Łącznie rok 2019</b>		<b>0</b>	<b>0</b>	<b>2 (80,3)</b>	<b>3 (6,5)</b>	<b>6 (21,4)</b>	<b>1 (11,1)</b>	<b>2 (8,3)</b>	<b>1 (14,3)</b>	<b>2 (66,7)</b>	<b>0 (0)</b>	-	-	<b>17 (11,8)</b>
2018	samica	0	0	0 (0)	1 (14,3)	1 (50,0)	0	0 (0)	0	1 (50,0)	0	0	0	3 (23,1)
	samicc	0	0	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0	0	1 (100)	0	0	0	1 (14,3)
2019	nimfa	0	0	2 (9,1)	3 (7,0)	6 (20,7)	2 (8,7)	10 (23,3)	1 (16,7)	0 (0)	0 (0)	0	0	24 (14,0)
	larwa	0	0	0	0	0	0	0 (0)	0 (0)	0	0	0	0	0 (0)
<b>Łącznie 2018-2019</b>		<b>0</b>	<b>0</b>	<b>2 (8,3)</b>	<b>4 (7,6)</b>	<b>7 (21,9)</b>	<b>2 (8,3)</b>	<b>10 (20,4)</b>	<b>1 (10,0)</b>	<b>2 (40,0)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>28 (13,9)</b>

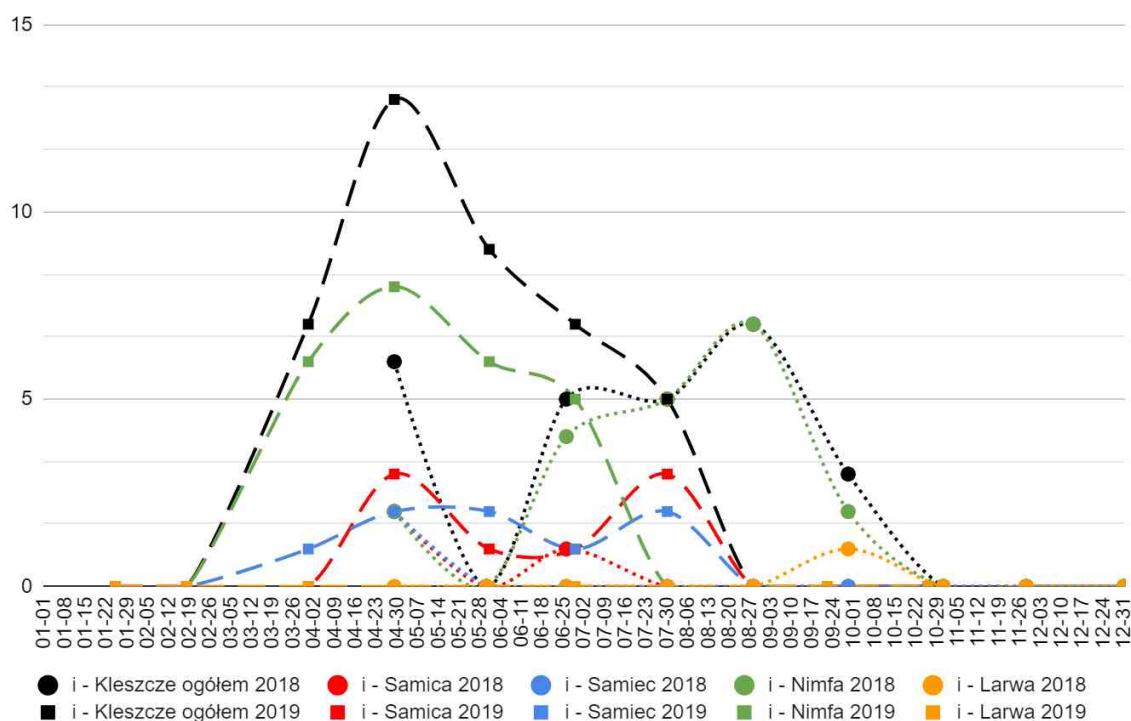
\*\* Zakażenie u *D. reticulatus*

**Tab. 42.** Występowanie kleszczy zakażonych *Rickettsia* spp. zebranych na stanowisku PZ-5 w Wielkopolskim Parku Narodowym: rozkład stadium rozwojowego (n - liczba zakażonych kleszczy, % - procent zakażonych kleszczy).

Rok	Stadium rozwojowe	Miesiąc												Łącznie n (%)
		01 n (%)	02 n (%)	03 n (%)	04 n (%)	05 n (%)	06 n (%)	07 n (%)	08 n (%)	09 n (%)	10 n (%)	11 n (%)	12 n (%)	
2018	samica	-	-	-	0 (0)	0	0 (0)	0 (0)	0	0	0	0	0	0 (0)
	samicc	-	-	-	0	0	0	0 (0)	0	2 (100)	0	0	0	2 (66,7)
	nimfa	-	-	-	1 (11,1)	2 (50,0)	4 (14,8)	6 (19,4)	0	0	1 (50,0)	0	0	14 (19,2)
	larwa	-	-	-	0	0	0	0	0 (0)	0	0	0	0	0 (0)
<b>Łącznie rok 2018</b>		-	-	-	<b>1 (10,0)</b>	<b>2 (50,0)</b>	<b>4 (14,3)</b>	<b>6 (18,2)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>2 (100)</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>16 (19,3)</b>
2019	samica	0	0	0	0	0	0	1 (100)	0	0	0	-	-	1 (100)
	samicc	0	0	0	0	0 (0)	0	0	0	0 (0)	-	-	0 (0)	
	nimfa	0	0	1 (9,1)	6 (23,1)	2 (33,3)	0 (0)	3 (13,0)	0 (0)	0	0 (0)	-	-	12 (15,2)
	larwa	0	0	0	0	0 (0)	0	0 (0)	0 (0)	0	0	-	-	0 (0)
<b>Łącznie rok 2019</b>		<b>0</b>	<b>0</b>	<b>1 (9,1)</b>	<b>6 (23,1)</b>	<b>2 (20,0)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>4 (16,0)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>0</b>	<b>0 (0)</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>13 (14,8)</b>
2018-2019	samica	0	0	0	0 (0)	0	0 (0)	1 (50,0)	0	0	0	0	0	1 (25,0)
	samicc	0	0	0	0	0 (0)	0	0 (0)	0	2 (100)	0 (0)	0	0	2 (40,0)
	nimfa	0	0	1 (9,1)	7 (20,0)	4 (40,0)	4 (10,8)	9 (16,7)	0 (0)	0	1 (33,3)	0	0	26 (17,1)
	larwa	0	0	0	0	0 (0)	0	0 (0)	0 (0)	0	0	0	0	0 (0)
<b>Łącznie 2018-2019</b>		<b>0</b>	<b>0</b>	<b>1 (9,1)</b>	<b>7 (19,4)</b>	<b>4 (28,6)</b>	<b>4 (10,5)</b>	<b>10 (17,2)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>2 (100)</b>	<b>1 (25,0)</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>29 (17,0)</b>

Analizując stopień zakażenia kleszczy bakteriami z rodzaju *Rickettsia* na obszarze Poznania, możemy zaobserwować, że podobnie jak na terenie WPN, występuje niemalże identyczny wzór, który pokrywa się z profilem aktywności kleszczy w różnych miesiącach (Ryc. 30). Różnica widoczna jest w przypadku miesiąca maja, w którym każdego roku obserwujemy niższy poziom zakażenia kleszczy, niż sugerowałyby to ogólna liczba aktywności tych pasożytów w badanym okresie.

Przez cały dwuletni okres badawczy, zakażenia kleszczy na stanowisku PO-3 były notowane praktycznie w każdym miesiącu. Poziom zakażenia malał we wrześniu, a następnie osiągał wartość zerową w październiku. W przypadku pozostałych stanowisk odłowu, riketsje identyfikowane były tylko w pojedynczych miesiącach (Tab. 43 - Tab. 47).



**Ryc. 30.** Poziom zakażenia kleszczy bakteriami z rodzaju *Rickettsia* w poszczególnych miesiącach zbioru na terenie Poznania.

**Tab. 43.** Występowanie kleszczy zakażonych *Rickettsia* spp. zebranych na stanowisku PO-1 na terenie miasta Poznania: rozkład stadium rozwojowego (n - liczba zakażonych kleszczy, % - procent zakażonych kleszczy).

Rok	Stadium rozwojowe	Miesiąc												Łącznie n (%)
		01 n (%)	02 n (%)	03 n (%)	04 n (%)	05 n (%)	06 n (%)	07 n (%)	08 n (%)	09 n (%)	10 n (%)	11 n (%)	12 n (%)	
2018	samica	-	-	-	1 (33,3)	0 (0)	1 (50,0)	0	0	0 (0)	0	0	0	2 (28,6)
	samicc	-	-	-	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0	0	0	0	0	0 (0)
	nimfa	-	-	-	0	0	1 (100)	0	0	0	0 (0)	0	0	1 (50,0)
	larwa	-	-	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>Łącznie rok 2018</b>		-	-	-	<b>1 (20,0)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>2 (40,0)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>0</b>	<b>0 (0)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>3 (20,0)</b>
2019	samica	0	0	0	1 (14,3)	0 (0)	0	0	0	0	0	-	-	1 (6,7)
	samicc	0	0	0	0 (0)	0 (0)	0	0 (0)	0	0 (0)	0	-	-	0 (0)
	nimfa	0	0	3 (23,1)	1 (33,3)	0	0	0 (0)	0	0	0 (0)	-	-	4 (21,1)
	larwa	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-	0
<b>Łącznie rok 2019</b>		<b>0</b>	<b>0</b>	<b>3 (23,1)</b>	<b>2 (9,5)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>0</b>	<b>0 (0)</b>	<b>0</b>	<b>0 (0)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>5 (7,9)</b>
2018- 2019	samica	0	0	0	2 (20,0)	0 (0)	1 (50,0)	0	0	0 (0)	0	0	0	3 (13,6)
	samicc	0	0	0	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0	0 (0)	0	0	0	0 (0)
	nimfa	0	0	3 (23,1)	1 (33,3)	0	1 (100)	0 (0)	0	0	0 (0)	0	0	5 (23,8)
	larwa	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>Łącznie 2018-2019</b>		<b>0</b>	<b>0</b>	<b>3 (23,1)</b>	<b>3 (11,5)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>2 (40,0)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>0</b>	<b>0 (0)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>8 (10,3)</b>

**Tab. 44.** Występowanie kleszczy zakażonych *Rickettsia* spp. zebranych na stanowisku PO-2 na terenie miasta Poznania: rozkład stadium rozwojowego (n - liczba zakażonych kleszczy, % - procent zakażonych kleszczy).

Rok	Stadium rozwojowe	Miesiąc												Łącznie n (%)
		01 n (%)	02 n (%)	03 n (%)	04 n (%)	05 n (%)	06 n (%)	07 n (%)	08 n (%)	09 n (%)	10 n (%)	11 n (%)	12 n (%)	
2018	samica	-	-	-	0 (0)	0	0	0 (0)	0	0	0	0	0	0 (0)
	samicc	-	-	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	nimfa	-	-	-	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0	0 (0)	0	0	0	0 (0)
	larwa	-	-	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>Łącznie rok 2018</b>		-	-	-	<b>0 (0)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0 (0)</b>
2019	samica	0	0	0	0	0 (0)	0	0	0	0	0	-	-	0 (0)
	samicc	0	0	0 (0)	0 (0)	0	0	0	0	0	0	-	-	0 (0)
	nimfa	0	0	1 (50,0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	-	-	1 (5,9)
	larwa	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-	0
<b>Łącznie rok 2019</b>		<b>0</b>	<b>0</b>	<b>1 (33,3)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>0 (0)</b>	-	-	<b>1 (4,4)</b>
2018- 2019	samica	0	0	0	0 (0)	0 (0)	0	0 (0)	0	0	0	0	0	0 (0)
	samicc	0	0	0 (0)	0 (0)	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (0)
	nimfa	0	0	1 (50,0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0	0	1 (2,7)
	larwa	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>Łącznie 2018-2019</b>		<b>0</b>	<b>0</b>	<b>1 (33,3)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>1 (2,2)</b>



**Tab. 45.** Występowanie kleszczy zakażonych *Rickettsia* spp. zebranych na stanowisku PO-3 na terenie miasta Poznania: rozkład stadium rozwojowego (n - liczba zakażonych kleszczy, % - procent zakażonych kleszczy).

Rok	Stadium rozwojowe	Miesiąc												Łącznie n (%)
		01 n (%)	02 n (%)	03 n (%)	04 n (%)	05 n (%)	06 n (%)	07 n (%)	08 n (%)	09 n (%)	10 n (%)	11 n (%)	12 n (%)	
2018	samica	-	-	-	1 (25,0)	0	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0	0	0	<b>1 (5,0)</b>
	samicc	-	-	-	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0	0	<b>0 (0)</b>
	nimfa	-	-	-	2 (15,4)	0 (0)	3 (6,1)	5 (11,9)	7 (87,5)	1 (20,0)	0 (0)	0	0	<b>18 (13,0)</b>
	larwa	-	-	-	0	0	0	0	0	1 (100)	0	0	0	<b>1 (20,0)</b>
<b>Łącznie rok 2018</b>		-	-	-	<b>3 (12,5)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>3 (4,8)</b>	<b>5 (9,4)</b>	<b>7 (43,8)</b>	<b>2 (25,0)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>20 (10,6)</b>
2019	samica	0	0	0 (0)	2 (28,6)	1 (10,0)	0	2 (40,0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	-	-	<b>5 (12,2)</b>
	samicc	0	0	1 (16,7)	0 (0)	2 (20,0)	1 (50,0)	2 (28,6)	0 (0)	0	0	-	-	<b>6 (15,8)</b>
	nimfa	0	0	2 (6,1)	3 (4,4)	6 (6,7)	5 (38,5)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0	-	-	<b>16 (7,0)</b>
	larwa	0	0	0 (0)	0	0 (0)	0	0	0 (0)	0	0	-	-	<b>0 (0)</b>
<b>Łącznie rok 2019</b>		<b>0</b>	<b>0</b>	<b>3 (6,3)</b>	<b>5 (5,8)</b>	<b>9 (8,0)</b>	<b>6 (40,0)</b>	<b>4 (25,0)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>0 (0)</b>	-	-	<b>27 (8,6)</b>
2018-2019	samica	0	0	0 (0)	3 (27,3)	1 (10,0)	0 (0)	2 (22,2)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0	0	<b>6 (9,8)</b>
	samicc	0	0	1 (16,7)	0 (0)	2 (18,2)	1 (14,3)	2 (20,0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0	0	<b>6 (9,5)</b>
	nimfa	0	0	2 (6,1)	5 (6,1)	6 (5,4)	8 (12,9)	5 (10,9)	7 (33,3)	1 (7,7)	0 (0)	0	0	<b>34 (9,2)</b>
	larwa	0	0	0 (0)	0	0 (0)	0	0 (0)	0 (0)	1 (100)	0	0	0	<b>1 (11,1)</b>
<b>Łącznie 2018-2019</b>		<b>0</b>	<b>0</b>	<b>3 (6,3)</b>	<b>8 (7,3)</b>	<b>9 (6,7)</b>	<b>9 (11,5)</b>	<b>9 (13,0)</b>	<b>7 (17,1)</b>	<b>2 (11,8)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>47 (9,4)</b>

**Tab. 46.** Występowanie kleszczy zakażonych *Rickettsia* spp. zebranych na stanowisku PO-4 na terenie miasta Poznania: rozkład stadium rozwojowego (n - liczba zakażonych kleszczy, % - procent zakażonych kleszczy).

Rok	Stadium rozwojowe	Miesiąc												Łącznie n (%)
		01 n (%)	02 n (%)	03 n (%)	04 n (%)	05 n (%)	06 n (%)	07 n (%)	08 n (%)	09 n (%)	10 n (%)	11 n (%)	12 n (%)	
2018	samica	-	-	-	0 (0)	0 (0)	0	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0	0	0	0 (0)
	samicc	-	-	-	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0	0 (0)	0	0	0	0	0 (0)
	nimfa	-	-	-	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0	0 (0)	1 (50,0)	0	0	0	1 (6,3)
	larwa	-	-	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>Łącznie rok 2018</b>		-	-	-	<b>0 (0)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>1 (33,3)</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>1 (3,3)</b>
2019	samica	0	0	0	0	0 (0)	1 (100)	1 (25,0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	-	-	2 (20,0)
	samicc	0	0	0	0 (0)	0 (0)	0	0 (0)	0	0	0	-	-	0 (0)
	nimfa	0	0	0	2 (100)	0 (0)	0	0 (0)	0	0 (0)	0 (0)	-	-	2 (22,2)
	larwa	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-	0
<b>Łącznie rok 2019</b>		<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>2 (66,7)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>1 (100)</b>	<b>1 (12,5)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>4 (17,4)</b>
2018- 2019	samica	0	0	0	0 (0)	0 (0)	1 (100)	1 (20,0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0	0	2 (11,8)
	samicc	0	0	0	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0	0	0	0	0 (0)
	nimfa	0	0	0	2 (20,0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (33,3)	0 (0)	0	0	3 (12,0)
	larwa	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>Łącznie 2018-2019</b>		<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>2 (14,3)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>1 (16,7)</b>	<b>1 (11,1)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>1 (20,0)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>5 (9,4)</b>

**Tab. 47.** Występowanie kleszczy zakażonych *Rickettsia* spp. zebranych na stanowisku PO-5 na terenie miasta Poznania: rozkład stadium rozwojowego (n - liczba zakażonych kleszczy, % - procent zakażonych kleszczy).

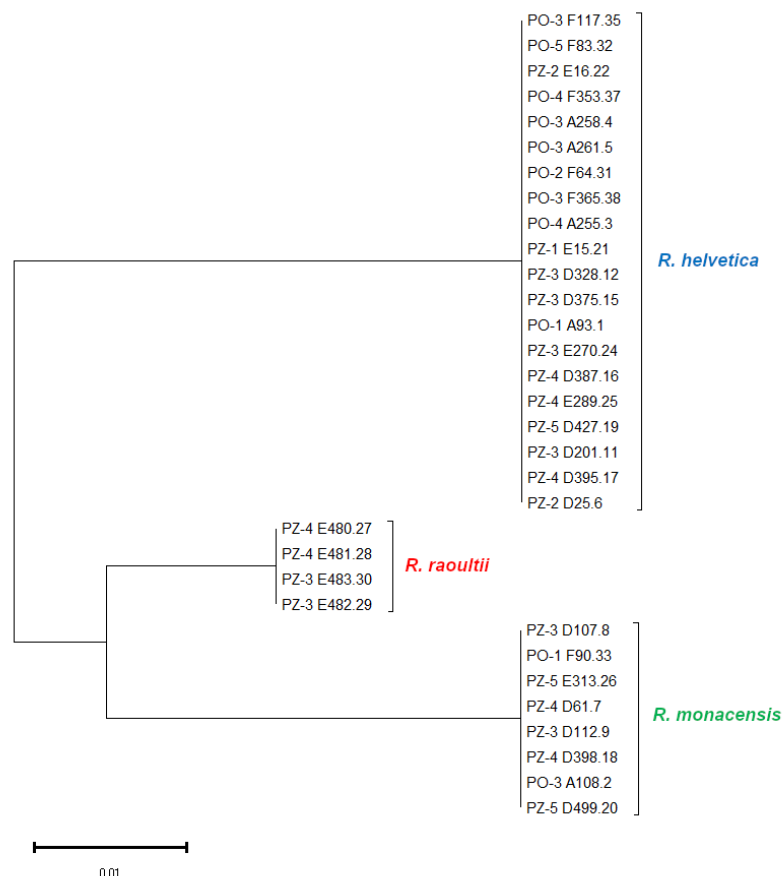
Rok	Stadium rozwojowe	Miesiąc												Łącznie n (%)	
		01 n (%)	02 n (%)	03 n (%)	04 n (%)	05 n (%)	06 n (%)	07 n (%)	08 n (%)	09 n (%)	10 n (%)	11 n (%)	12 n (%)		
2018	samica	-	-	-	0 (0)	0	0 (0)	0	0	0	0	0	0	0	0 (0)
	samicc	-	-	-	2 (40,0)	0	0 (0)	0	0	0	0	0	0	0	2 (28,6)
	nimfa	-	-	-	0	0 (0)	0	0 (0)	0	0	0	0	0	0	0 (0)
	larwa	-	-	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>Łącznie rok 2018</b>		-	-	-	<b>2 (25,0)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>2 (14,3)</b>
2019	samica	0	0	0	0 (0)	0	0	0	0	0	0	-	-	0 (0)	
	samicc	0	0	0	2 (22,2)	0 (0)	0	0	0 (0)	0	0	-	-	2 (18,2)	
	nimfa	0	0	0	2 (50,0)	0	0	0	0	0	0	-	-	2 (50,0)	
	larwa	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-	0	
<b>Łącznie rok 2019</b>		<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>4 (21,1)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0 (0)</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	-	-	<b>4 (19,0)</b>	
2018 - 2019	samica	0	0	0	0 (0)	0	0 (0)	0	0	0	0	0	0	0 (0)	
	samicc	0	0	0	4 (28,6)	0 (0)	0 (0)	0	0 (0)	0	0	0	0	4 (22,2)	
	nimfa	0	0	0	2 (50,0)	0 (0)	0	0 (0)	0	0	0	0	0	2 (28,6)	
	larwa	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<b>Łącznie 2018-2019</b>		<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>6 (22,2)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>6 (17,1)</b>	

#### 4.2.4. Gatunki bakterii z rodzaju *Rickettsia* występujące w kleszczach

Do identyfikacji gatunkowej bakterii z rodzaju *Rickettsia* wybrane 32 próby poddano reakcji sekwencjonowania (Tab. 48). Uzyskane sekwencje fragmentu genu *gltA* dopasowano za pomocą programu MEGA11 i uzyskano 3 różne grupy charakteryzujące się identycznym sekwencją nukleotydową (Ryc. 31). Do dalszych analiz wykorzystano po jednej sekwencji z każdej grupy.

**Tab. 48.** Wykaz prób poddanych reakcji sekwencjonowania.

Nr próby	Miejsce zbioru	Gatunek kleszcza	Stadium rozwojowe	Data zbioru kleszcza
PO-1_A93.1	PO-1	<i>I. ricinus</i>	samica	06.2018
PO-1_F90.33	PO-1	<i>I. ricinus</i>	samica	04.2019
PO-2_F64.31	PO-2	<i>I. ricinus</i>	nimfa	03.2019
PO-3_A108.2	PO-3	<i>I. ricinus</i>	nimfa	06.2018
PO-3_A258.4	PO-3	<i>I. ricinus</i>	larwa	09.2018
PO-3_A261.5	PO-3	<i>I. ricinus</i>	nimfa	09.2018
PO-3_F117.35	PO-3	<i>I. ricinus</i>	samica	04.2019
PO-3_F365.38	PO-3	<i>I. ricinus</i>	samica	04.2019
PO-4_A255.3	PO-4	<i>I. ricinus</i>	nimfa	09.2018
PO-4_F353.37	PO-4	<i>I. ricinus</i>	samica	06.2019
PO-5_F83.32	PO-5	<i>I. ricinus</i>	samiec	04.2019
PZ-1_E15.21	PZ-1	<i>I. ricinus</i>	nimfa	03.2019
PZ-2_D25.6	PZ-2	<i>I. ricinus</i>	nimfa	04.2018
PZ-2_E16.22	PZ-2	<i>I. ricinus</i>	samiec	03.2019
PZ-3_D107.8	PZ-3	<i>I. ricinus</i>	nimfa	05.2018
PZ-3_D112.9	PZ-3	<i>I. ricinus</i>	nimfa	05.2018
PZ-3_D201.11	PZ-3	<i>I. ricinus</i>	nimfa	06.2018
PZ-3_D328.12	PZ-3	<i>I. ricinus</i>	nimfa	07.2018
PZ-3_D375.15	PZ-3	<i>I. ricinus</i>	nimfa	07.2018
PZ-3_E270.24	PZ-3	<i>I. ricinus</i>	nimfa	05.2019
PZ-3_E482.29	PZ-3	<i>D.reticulatus</i>	samiec	10.2019
PZ-3_E483.30	PZ-3	<i>D.reticulatus</i>	samica	10.2019
PZ-4_D61.7	PZ-4	<i>I. ricinus</i>	samica	04.2018
PZ-4_D387.16	PZ-4	<i>I. ricinus</i>	nimfa	07.2018
PZ-4_D395.17	PZ-4	<i>I. ricinus</i>	nimfa	07.2018
PZ-4_D398.18	PZ-4	<i>I. ricinus</i>	nimfa	07.2018
PZ-4_E289.25	PZ-4	<i>I. ricinus</i>	nimfa	05.2019
PZ-4_E480.27	PZ-4	<i>D.reticulatus</i>	samiec	09.2019
PZ-4_E481.28	PZ-4	<i>D.reticulatus</i>	samica	09.2019
PZ-5_D427.19	PZ-5	<i>I. ricinus</i>	nimfa	07.2018
PZ-5_D499.20	PZ-5	<i>I. ricinus</i>	nimfa	10.2018
PZ-5_E313.26	PZ-5	<i>I. ricinus</i>	nimfa	05.2019



**Ryc. 31.** Drzewo filogenetyczne dla sekwencji fragmentu genu *gltA* rodzaju *Rickettsia* obrazujące zależności genetyczne pomiędzy poszczególnymi sekwencjami otrzymanymi w ramach niniejszej pracy. Filogram został wykonany za pomocą narzędzia MEGA11 metodą maksymalnego prawdopodobieństwa (MJ, ang. *Maximum Likelihood*) modelem 3-parametrycznym Tamury.

Otrzymane w niniejszej pracy sekwencje zostały porównane z sekwencjami zdeponowanymi w GenBank za pomocą narzędzia BLAST i wykazywały 100% podobieństwa do sekwencji oznaczonych w GenBank jako *R. helvetica*, *R. monacensis* i *R. raoultii* (Tab. 49 - Tab. 51).

Wszystkie 32 izolaty, które poddano reakcji sekwencjonowania potwierdziły pierwotne założenia o możliwości identyfikacji gatunkowej bakterii z rodzaju *Rickettsia* już na poziomie reakcji PCR:

- DNA *R. helvetica* wykryto w próbach dodatnich dla *gltA* i ITS, ale ujemnych dla *ompA*,
- DNA *R. monacensis* wykryto w próbach dodatnich dla *gltA* i *ompA* oraz z prążkiem ITS o 150 nukleotydów krótszym niż dla *R. helvetica*,
- DNA *R. raoultii* wykryto w próbach dodatnich dla *gltA* i *ompA*, ale ujemnych dla ITS.

**Tab. 49.** Zestawienie sekwencji fragmentu genu *gltA* *R. helvetica* pochodzących z GenBank wykazujących 100% podobieństwa do sekwencji otrzymanych.

Nr akcesyjny	Typ obszaru	Źródło izolacji	Miejsce zbioru	Autor
MF673863		<i>I. ricinus</i> ze środowiska	Słowacja teren miejski	Chvostac i wsp. nieopublikowane
KY231200		<i>I. ricinus</i> z psa domowego ( <i>Canis lupus familiaris</i> )	Włochy Umbria	Morganti i wsp. 2017
LC060720		<i>I. ricinus</i> (samica) ze środowiska	Węgry Budapeszt Wyspa Małgorzaty	Szekeres i wsp. nieopublikowany
KM198335		<i>I. ricinus</i> ze środowiska	Włochy Rieti	Castro i wsp. 2015
KJ663745	miejski	<i>I. ricinus</i> z człowieka ( <i>Homo sapiens</i> )	Włochy Veneto	Otranto i wsp. nieopublikowane
KJ152835		<i>Ixodes ricinus</i> (samica) ze środowiska	Słowacja Vojka nad Dunajom	Svehlova nieopublikowane
MT395315		<i>I. ricinus</i> (nimfa) ze środowiska	Ukraina Poltava	Didyk i wsp. nieopublikowane
MW272756		<i>I. ricinus</i> (nimfa) z rudzika ( <i>Erithacus rubecula</i> )	Rumunia Cluj-Napoca	Borsan i wsp. 2021
AM418450		<i>I. persulcatus</i> (samiec) ze środowiska	Rosja Perm	Nefedova i wsp. nieopublikowane
LC060718		<i>I. ricinus</i> (nimfa) ze środowiska	Węgry Gemenc	Szekeresi wsp. nieopublikowane
MH256661		<i>I. ricinus</i> (nimfa) ze środowiska	Finlandia	Sormunen i wsp. nieopublikowane
MF925734		<i>I. ricinus</i> ze środowiska	Węgry	Takacs i Farkas nieopublikowane
KX051405		<i>I. ricinus</i> (samica) ze środowiska	Polska Kampinoski Park Narodowy	Stańczak i wsp. 2016
KU559920		<i>I. ricinus</i> (samiec) ze środowiska	Francja	Bonnet i wsp. nieopublikowane
OQ297017	naturalny	mysz leśna ( <i>Apodemus flavicollis</i> ) zespół narządów (skóra, wątroba, śledziona, nerki i pęcherz moczowy)	Serbia	Sukara i wsp. nieopublikowane
OQ102272		<i>I. ricinus</i> ze środowiska	Polska	Zając i wsp. nieopublikowane
OQ123404		<i>Ixodes</i> sp. z kosa zwyczajnego ( <i>Turdus merula</i> )	Turcja	Kaya i wsp. nieopublikowane
KR816898		<i>I. ricinus</i> ze środowiska	Litwa	Radzijevskaia i wsp. 2015
KP283018		<i>I. ricinus</i> z jaszczurki hiszpańskiej ( <i>Lacerta schreiberi</i> )	Hiszpania	Papousek i wsp. nieopublikowane

KJ740389	<i>I. ricinus</i> (samiec) z myszy leśnej ( <i>A. flavicollis</i> )	Polska Wielkopolska	Biernat i wsp. nieopublikowane
KJ577821	<i>I. ricinus</i> (samica) z podkowca małego ( <i>Rhinolophus hipposideros</i> )	Polska	Piksa i wsp. nieopublikowane
KF447530	<i>I. ricinus</i> ze środowiska	Francja	Michelet i wsp. 2014
MZ146790	<i>I. ricinus</i> ze środowiska	Polska Zachodniopomorskie	Kirczuk i wsp. 2021
MW901479	<i>I. ricinus</i> ze środowiska	Serbia	Banovic i wsp. nieopublikowane
JX627380	<i>I. ricinus</i> (samica) z sarny europejskiej ( <i>Capreolus capreolus</i> )	Niemcy	Overzier i wsp. 2013a
JQ796864	<i>I. ricinus</i> ze środowiska	Polska Zachodniopomorskie	Rymaszewska i Piotrowski 2013
JQ669952	<i>I. ricinus</i> ze środowiska	Włochy	Capelli i wsp. 2012
HM371185	kleszcze z ptaków	Rosja Obwód Królewiecki, Mierzeja Kurońska	Movila i wsp. 2011
GQ925825	<i>I. ricinus</i> ze środowiska	Serbia	Radulovic i wsp. 2011
DQ910785	<i>I. ricinus</i> ze środowiska	Portugalia Tapada Nacional de Mafra	Santos i wsp. nieopublikowane
DQ105664	<i>I. ricinus</i> ze środowiska	Polska Zachodniopomorskie	Rymaszewska i Skotarczak nieopublikowane
OP777426	<i>I. ovatus</i> ze środowiska	Chiny prowincja Sichuan	Li nieopublikowane

**Tab. 50.** Zestawienie sekwencji fragmentu genu *gltA* *R. monacensis* pochodzących z GenBank wykazujących 100% podobieństwa do sekwencji otrzymanych.

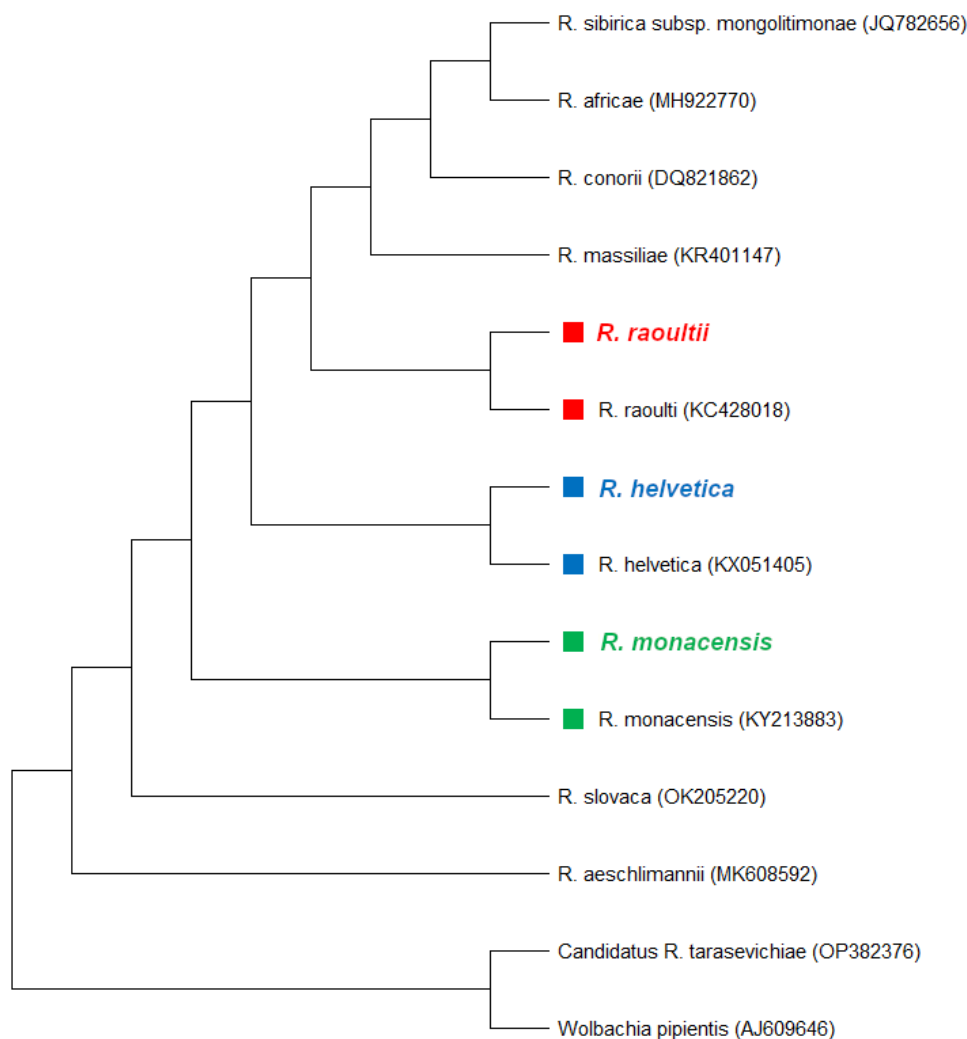
Nr akcesyjny	Typ obszaru	Źródło izolacji	Miejsce zbioru	Autor
MF673860		<i>I. ricinus</i> ze środowiska	Słowacja teren miejski	Chvostac i wsp. nieopublikowane
KY213883		<i>I. ricinus</i> z psa domowego ( <i>Canis lupus familiaris</i> )	Włochy Umbria	Morganti i wsp. 2017
KM198341		<i>I. ricinus</i> ze środowiska	Włochy Rieti	Castro i wsp. 2015
KC996728	miejski	<i>I. ricinus</i> ze środowiska	Słowacja Liptów	Novakova nieopublikowane
MW272758		<i>I. ricinus</i> (nimfa) ze środowiska	Rumunia Cluj-Napoca	Borsan i wsp. 2021
KF258159		<i>I. ricinus</i> (samiec) ze środowiska"	Słowacja Bratysława	Spitalska i wsp. 2014
MT395318		<i>I. ricinus</i> ze środowiska	Ukraina Kijów	Didyk i wsp. nieopublikowane
KU961970		krew psa ( <i>Canis lupus familiaris</i> )	Republika Zielonego Przylądka Cape Verde Maio Island	Lauzi i wsp. 2016
OQ297018		mysz leśna ( <i>Apodemus flavicollis</i> ) zespół narządów (skóra, wątroba, śledziona, nerki i pęcherz moczowy)	Serbia	Sukara i wsp. nieopublikowane
KT033401		<i>I. ricinus</i> z jenota azjatyckiego ( <i>Nyctereutes procyonoides</i> )	Litwa	Paulauskas i wsp. nieopublikowane
MT741496	naturalny	tkanka serca z borowca wielkiego ( <i>Nyctalus noctula</i> )	Rumunia	Matei i wsp. 2021
GQ925820		<i>I. ricinus</i> ze środowiska	Serbia	Radulovic i wsp. 2011
JQ669950		<i>I. ricinus</i> ze środowiska	Włochy	Capelli i wsp. 2012
KJ663734		<i>I. ricinus</i> z człowieka ( <i>Homo sapiens</i> )	Włochy	Otranto i wsp. nieopublikowane
KC007127		<i>I. ricinus</i> (nimfa) ze środowiska	Niemcy	Overzier i wsp. 2013a



**Tab. 51.** Zestawienie sekwencji fragmentu genu *gltA R. raoultii* pochodzących z GenBank wykazujących 100% podobieństwa do sekwencji otrzymanych.

Nr akcesyjny	Typ obszaru	Źródło izolacji	Miejsce zbioru	Autor
MF511253		<i>I. persulcatus</i> z kota ( <i>Felis catus</i> )	Chiny Jilin	Liu i wsp. nieopublikowane
MN550895		<i>H. longicornis</i> ze środowiska	Chiny Yunnan	Liu i wsp. 2020
MN550894		<i>D. nuttalli</i> ze środowiska	Chiny Yunnan	Liu i wsp. 2020
KF003009	miejski	<i>D. silvarum</i> (samiec) ze środowiska	Chiny Mudanjiang las iglasty	Sun i wsp. nieopublikowane
MZ146788		<i>D. reticulatus</i> ze środowiska	Ukraina Winnica	Kolomiiets i wsp. 2022
MF383594		<i>H. marginatum</i> ze środowiska	Turcja Corum	Karasartov i wsp. nieopublikowane
MT019635		krew psa ( <i>Canis lupus familiaris</i> )	Chiny Harbin	Zhang i wsp. nieopublikowane
LC229630		<i>H. marginatum</i> ze środowiska	Portugalia	Pereira i wsp. nieopublikowane
MF383596		<i>H. marginatum</i> z człowieka ( <i>Homo sapiens</i> )	Turcja	Karasartova i wsp. nieopublikowane
KU361213		<i>D. nuttalli</i> ze środowiska	Mongolia	Jiang i Jiang nieopublikowane
KX275398		<i>D. reticulatus</i> ze środowiska	Węgry	Takacs i Farkas nieopublikowane
KT261764		<i>D. marginatus</i> ze środowiska	Chiny	Wang i wsp. nieopublikowane
KP965741		<i>D. nuttalli</i> ze środowiska	China prowincja Mongolia Wewnętrzna	Yang i wsp. nieopublikowane
KM386690	naturalny	<i>D. silvarum</i> ze środowiska	Chiny	Yang i wsp. nieopublikowane
KC428018		kleszcze z człowieka ( <i>Homo sapiens</i> )	Hiszpania	Fernandez de Mera i wsp. 2013
MF166735		<i>D. reticulatus</i> ze środowiska	Dania	Klitgaard i wsp. nieopublikowane
OQ102295		<i>D. reticulatus</i> ze środowiska	Polska	Zajac i wsp. nieopublikowane
ON314265		<i>D. marginatus</i> ze środowiska	Serbia	Banovic i wsp. nieopublikowane
LC229632		kleszcze	Portugalia	Pereira i wsp. nieopublikowane
ON660870		<i>D. reticulatus</i> ze środowiska	Polska północna -wschodnia	Kubiak nieopublikowane

Porównanie uzyskanych sekwencji z sekwencjami zdeponowanymi w GenBank przedstawiono na drzewie filogenetycznym wykonanym metodą maksymalnego prawdopodobieństwa (MJ, ang. *Maximum Likelihood*) modelem 3-parametrycznym Tamury (Ryc. 32). Na filogramie zamieszczono również sekwencje pozostałych gatunków z grupy SFG występujących na terenie Europy (Piotrowski i Rymaszewska 2020). Jako grupę zewnętrzną zastosowano sekwencję *Wolbachia pipientis* (Casiraghi i wsp. 2005).



**Ryc. 32.** Drzewo filogenetyczne dla sekwencji fragmentu genu *gltA* rodzaju *Rickettsia* obrazujące zależności genetyczne pomiędzy poszczególnymi sekwencjami otrzymanymi w ramach niniejszej pracy oraz sekwencjami zdeponowanymi w GenBank. Filogram został wykonany za pomocą narzędzia MEGA11 metodą maksymalnego prawdopodobieństwa (MJ, ang. *Maximum Likelihood*) modelem 3-parametrycznym Tamury.

Podczas analizy porównawczej otrzymanej sekwencji *R. raoultii* do sekwencji zdeponowanych w GenBank oprócz sekwencji przedstawionych w Tab. 51 zaobserwowano jeszcze dwie inne, które wykazywały 100% podobieństwa. Były to sekwencje o numerze

akcesyjnym KY937992 (Amanzougaghene i wsp. 2017) oraz MT365092 (McGinley i wsp. 2021). Oba te izolaty zostały przez autorów opisane jako *R. aeschlimannii*. W celu zbadania tej rozbieżności przeprowadzono analizę zróżnicowania genetycznego fragmentu genu *gltA*, korzystając z dwóch różnych metod: macierzy odległości p-dystansu oraz 2-parametrycznego modelu Kimury. Otrzymane wyniki zostały przedstawione w Tab. 52.

**Tab. 52.** Porównanie zróżnicowania genetycznego fragmentu genu *gltA* pomiędzy *R. raoultii* a *R. aeschlimannii* przy zastosowaniu macierzy odległości p-dystansu (poniżej przekątnej) i macierzy z wykorzystaniem dwuparametrycznego modelu Kimury (powyżej przekątnej).

Sekwencja	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1 <i>R. raoultii</i> *		0,000	0,000	0,000	0,971	0,968	0,993	0,968	0,928	0,968
2 <i>R. raoultii</i> (KC428018)	0,000		0,000	0,000	0,982	0,988	1,001	0,988	0,941	0,988
3 <i>R. aeschlimannii</i> (MT365092)	0,000	0,000		0,003	1,028	1,025	1,039	1,025	0,982	1,025
4 <i>R. aeschlimannii</i> (KY937992)	0,000	0,000	0,003		1,112	1,099	1,121	1,106	1,080	1,099
5 <i>R. aeschlimannii</i> (MK608592)	0,534	0,539	0,549	0,575		0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
6 <i>R. aeschlimannii</i> (MH932058)	0,535	0,541	0,550	0,573	0,000		0,000	0,002	0,004	0,000
7 <i>R. aeschlimannii</i> (MH548520)	0,542	0,545	0,554	0,578	0,000	0,000		0,000	0,004	0,000
8 <i>R. aeschlimannii</i> (MG920564)	0,535	0,541	0,550	0,575	0,000	0,002	0,000		0,004	0,000
9 <i>R. aeschlimannii</i> (KX227782)	0,526	0,531	0,540	0,570	0,000	0,004	0,004	0,004		0,004
10 <i>R. aeschlimannii</i> (OQ758266)	0,535	0,541	0,550	0,573	0,000	0,000	0,000	0,000	0,004	

\* sekwencja otrzymana w ramach niniejszej pracy, ( ) numery akcesyjne sekwencji zdeponowanych w GenBank

Z danych przedstawionych w Tab. 52 wynika, iż powyższe sekwencje należą do dwóch gatunków: *R. raoultii* oraz *R. aeschlimannii*. Zgodnie z danymi przedstawionymi w Tab. 51 otrzymana sekwencja *R. raoultii* wykazuje 100% podobieństwa do gatunku *R. raoultii*. Przyrównując do nich sekwencje KY937992 i MT365092, które zostały przez autorów oznaczone jako *R. aeschlimannii* zróżnicowanie genetyczne wynosi 0-0,3%. Wynik taki jest uzyskiwany zarówno z wykorzystaniem macierzy odległości p-dystansu jak również przy zastosowaniu dwuparametrycznego modelu Kimury. Drugą grupę stanowią genotypy *R. aeschlimannii*, których zróżnicowanie wewnątrzgatunkowe genetyczne mieści się w granicach między 0-0,4% dla obu modeli obliczeniowych. Przyrównując obie grupy do siebie zróżnicowanie międzygatunkowe genetyczne z zastosowaniem macierzy odległości wynosi od 52,6 do 57,8%, a wykorzystując model Kimury od 92,8% do 112,1%. Uzyskane wartości

jednoznacznie wskazują na odrębność gatunkową przedstawionych grup i niepoprawne oznaczenie sekwencji o numerach akcesyjnych KY937992 i MT365092.

Analizy molekularne potwierdziły obecność *R. helvetica* i *R. monacensis* w kleszczach *I. ricinus* (odpowiednio 20 i 8 próbek) oraz *R. raoultii* w 4 osobnikach *D. reticulatus*. Wynik ten był w 100% zgodny z opisanymi wcześniej założeniami metody badawczej, w której starano się uzyskać identyfikację gatunkową riketsji już na etapie reakcji PCR. W związku z powyższym można stwierdzić, że spośród 220 dodatnich prób 208 reprezentowanych było przez *R. helvetica*, 8 przez *R. monacensis* i 4 przez *R. raoultii*.

Występowanie *R. helvetica* potwierdzono we wszystkich lokalizacjach zbioru, zarówno na terenie miasta Poznania jak i WPN (Tab. 53). Patogen ten był obecny we wszystkich stadiach rozwojowych w tym w jednej larwie odłowionej na stanowisku PO-3 (Tab. 54, Tab. 55). Łączny procent zakażenia kleszczy *I. ricinus* na terenie WNP zawierał się w granicach od 13,8% do 15,9% (w 2018 roku i 2019 roku odpowiednio) i był w przybliżeniu dwukrotnie wyższy u osobników dorosłych w porównaniu z nimfami (Tab. 54). Na terenie Poznania poziom zakażenia był istotnie niższy ( $p < 0,001$ ) i niemal identyczny w obu latach zbioru osiągając średnią wartość 9,1%. W przeciwieństwie do WPN również procent zakażenia pomiędzy stadiami rozwojowymi był na przybliżonym poziomie (Tab. 55).

**Tab. 53.** Występowanie gatunków bakterii z rodzaju *Rickettsia* na poszczególnych stanowiskach zbioru.

Obszar	Stanowisko	Gatunek		
		<i>R. helvetica</i>	<i>R. monacensis</i>	<i>R. raoultii</i>
WPN	PZ-1	✓		
	PZ-2	✓		
	PZ-3	✓	✓	✓
	PZ-4	✓	✓	✓
	PZ-5	✓	✓	
Poznań	PO-1	✓	✓	
	PO-2	✓		
	PO-3	✓	✓	
	PO-4	✓		
	PO-5	✓		

**Tab. 54.** Występowanie kleszczy zakażonych *R. helvetica* zebranych na poszczególnych stanowiskach w Wielkopolskim Parku Narodowym: rozkład stadium rozwojowego (n - liczba zakażonych kleszczy, % - procent zakażonych kleszczy).

Rok	Stadium rozwojowe	Stanowisko					Łącznie n (%)
		PZ-1 n (%)	PZ-2 n (%)	PZ-3 n (%)	PZ-4 n (%)	PZ-5 n (%)	
2018	samica	2 (33,3)	0 (0)	0 (0)	0 (0,0)	0 (0)	2 (12,5)
	samiec	0 (0)	2 (100)	1 (20,0)	0 (0)	2 (66,7)	5 (35,7)
	nimfa	13 (10,7)	3 (10,0)	24 (13,5)	9 (17,7)	13 (17,8)	62 (13,7)
	larwa	0	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Łącznie rok 2018		15 (11,5)	5 (13,5)	25 (13,0)	9 (15,8)	15 (18,1)	69 (13,8)
2019	samica	5 (41,7)	0 (0)	3 (42,9)	2 (18,2)	1 (100)	11 (32,4)
	samiec	3 (37,5)	1 (100)	1 (12,5)	1 (16,7)	0 (0)	6 (24,0)
	nimfa	15 (19,5)	5 (17,2)	16 (15,1)	14 (11,6)	11 (13,9)	61 (14,8)
	larwa	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Łącznie rok 2019		23 (22,8)	6 (17,7)	20 (16,3)	17 (11,8)	12 (13,6)	78 (15,9)
2018 - 2019	samica	7 (38,9)	0 (0)	3 (27,3)	2 (15,4)	1 (25,0)	13 (26,0)
	samiec	3 (27,3)	3 (100)	2 (15,4)	1 (14,3)	2 (40,0)	11 (28,2)
2019	nimfa	28 (14,1)	8 (13,6)	40 (14,1)	23 (13,4)	24 (15,8)	123 (14,2)
	larwa	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Łącznie 2018-2019		38 (16,5)	11 (15,5)	45 (14,3)	26 (12,9)	27 (15,8)	147 (14,9)

**Tab. 55.** Występowanie kleszczy zakażonych *R. helvetica* zebranych na poszczególnych stanowiskach w mieście Poznań: rozkład stadium rozwojowego (n - liczba zakażonych kleszczy, % - procent zakażonych kleszczy).

Rok	Stadium rozwojowe	Stanowisko					Łącznie n (%)
		PO-1 n (%)	PO-2 n (%)	PO-3 n (%)	PO-4 n (%)	PO-5 n (%)	
2018	samica	2 (28,6)	0 (0)	1 (5,0)	0 (0)	0 (0)	3 (7,5)
	samiec	0 (0)	0	0 (0)	0 (0)	2 (28,6)	2 (4,4)
	nimfa	1 (50,0)	0 (0)	17 (12,2)	1 (6,3)	0 (0)	19 (10,6)
	larwa	0	0	1 (20,0)	0	0	1 (20,0)
Łącznie rok 2018		3 (20,0)	0 (0)	19 (10,1)	1 (3,33)	2 (14,3)	25 (9,3)
2019	samica	0 (0)	0 (0)	5 (12,2)	2 (20,0)	0 (0)	7 (9,3)
	samiec	0 (0)	0 (0)	6 (15,8)	0 (0)	2 (18,2)	8 (9,4)
	nimfa	4 (21,1)	1 (5,9)	16 (7,0)	2 (22,2)	2 (50,0)	25 (9,0)
	larwa	0	0	0 (0)	0	0	0 (0)
Łącznie rok 2019		4 (6,4)	1 (4,3)	27 (8,6)	4 (17,4)	4 (19,1)	40 (9,0)
2018	samica	2 (9,1)	0 (0)	6 (9,8)	2 (11,8)	0 (0)	10 (8,7)
	samiec	0 (0)	0 (0)	6 (9,5)	0 (0)	4 (22,2)	10 (7,7)
2019	nimfa	5 (23,8)	1 (2,7)	33 (8,9)	3 (12,0)	2 (28,6)	44 (9,6)
	larwa	0	0	1 (11,1)	0	0	1 (11,1)
Łącznie 2018-2019		7 (9,0)	1 (2,2)	46 (9,2)	5 (9,4)	6 (17,1)	65 (9,1)

Występowanie *R. monacensis* potwierdzono w trzech lokalizacjach na terenie WPN i dwóch na terenie miasta Poznania (Tab. 53). Spośród 1692 kleszczy *I. ricinus* obecność DNA *R. monacensis* stwierdzono tylko u 8 osobników co stanowiło 0,6% w WPN (Tab. 56) i 0,3% w Poznaniu (Tab. 57). Obecność tego patogenu wykryto jedynie u samic i nimf.

Występowanie bakterii *R. raoultii* potwierdzono u 2 samic i 2 samców *D. reticulatus* w dwóch lokalizacjach na obszarze WPN (Tab. 53). Łącznie odłowiono tylko 10 przedstawicieli tego wektora, a zatem poziom zakażenia osiągnął 40% co jest wynikiem wyższym niż w przypadku bakterii zidentyfikowanych u kleszczy *I. ricinus*. Gdyby wziąć pod uwagę wyłącznie poziom zakażenia w osobnikach dorosłych wówczas poziom ten wzrasta i wynosi 66,7%.

**Tab. 56.** Występowanie kleszczy *I. ricinus* zakażonych *R. monacensis* zebranych na poszczególnych stanowiskach w Wielkopolskim Parku Narodowym: rozkład stadium rozwojowego (n - liczba zakażonych kleszczy, % - procent zakażonych kleszczy).

Rok	Stadium rozwojowe	Stanowisko					Łącznie n (%)
		PZ-1 n (%)	PZ-2 n (%)	PZ-3 n (%)	PZ-4 n (%)	PZ-5 n (%)	
2018	samica	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (50,0)	0 (0)	1 (6,3)
	samiec	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	nimfa	0 (0)	0 (0)	2 (1,1)	1 (2,0)	1 (1,4)	4 (0,9)
	larwa	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Łącznie rok 2018		0 (0)	0 (0)	2 (1,0)	1 (3,5)	1 (1,2)	5 (1,0)
2019	samica	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	samiec	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	nimfa	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1,3)	1 (0,2)
	larwa	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Łącznie rok 2019		0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1,1)	1 (0,2)
2018	samica	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (7,7)	0 (0)	1 (2,0)
	samiec	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
2019	nimfa	0 (0)	0 (0)	2 (0,7)	1 (0,6)	2 (1,3)	5 (0,6)
	larwa	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Łącznie 2018-2019		0 (0)	0 (0)	2 (0,6)	2 (1,0)	2 (1,2)	6 (0,6)

**Tab. 57.** Występowanie kleszczy *I. ricinus* zakażonych *R. monacensis* zebranych na poszczególnych stanowiskach w mieście Poznań: rozkład stadium rozwojowego (n - liczba zakażonych kleszczy, % - procent zakażonych kleszczy).

Rok	Stadium rozwojowe	Stanowisko					Łącznie n (%)
		PO-1 n (%)	PO-2 n (%)	PO-3 n (%)	PO-4 n (%)	PO-5 n (%)	
2018	samica	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	<b>0 (0)</b>
	samiec	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	<b>0 (0)</b>
	nimfa	0 (0)	0 (0)	1 (0,7)	0 (0)	0 (0)	<b>1 (0,6)</b>
	larwa	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	<b>0 (0)</b>
<b>Łącznie rok 2018</b>		<b>0 (0)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>1 (0,5)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>1 (0,4)</b>
2019	samica	1 (6,7)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	<b>1 (1,3)</b>
	samiec	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	<b>0 (0)</b>
	nimfa	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	<b>0 (0)</b>
	larwa	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	<b>0 (0)</b>
<b>Łącznie rok 2019</b>		<b>1 (1,6)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>1 (0,2)</b>
2018	samica	1 (4,6)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	<b>1 (0,9)</b>
	samiec	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	<b>0 (0)</b>
2019	nimfa	0 (0)	0 (0)	1 (0,3)	0 (0)	0 (0)	<b>1 (0,2)</b>
	larwa	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	<b>0 (0)</b>
<b>Łącznie 2018-2019</b>		<b>1 (1,3)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>1 (0,2)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>2 (0,3)</b>



## 5. Dyskusja

Bakterie z rodzaju *Rickettsia* to patogeny zwierzęce rozpowszechnione na całym świecie, przenoszone na ludzi przez ukąszenia stawonogów, takich jak kleszcze, lub przez zakażony kał jak w przypadku wszy i pcheł (Hackstadt 1996, Hackstadt 1998, Walker i Ismail 2008, Gillespie i wsp. 2015). Oprócz danych historycznych, globalny wpływ zakażeń riketsjami przenoszonymi przez stawonogi ilustruje powracanie od dawna znanych patogenów, a także pojawienie się nowo rozpoznanych gatunków (Sanchez-Vicente i wsp. 2019). Choroby wywoływane przez *R. rickettsii* nadal stanowią poważne zagrożenie w Ameryce Południowej i Środkowej (Bermudez i Troyo 2018), podczas gdy wzrost zakażeń *R. conorii* w Europie, na Bliskim Wschodzie i w Afryce rzuca dodatkowe światło na obecne wyzwania związane z chorobami wywołanymi przez riketsje. W Stanach Zjednoczonych wzrasta również liczba chorób riketsyjnych przenoszonych przez kleszcze i pchły, czego przykładem są niedawne wybuchy epidemii wywołanych przez *R. rickettsii* w Arizonie (Drexler i wsp. 2014) oraz *R. typhi* w Kalifornii (Billeter i Metzger 2017) czy w Teksasie (Blanton i wsp. 2016). Obecnie nie ma szczepionek przeciwdziałającym chorobom powodowanym przez riketsje. Ponadto niewystarczająca wiedza na temat wewnątrzkomórkowego trybu życia *Rickettsia* stanowi ogromne wyzwanie dla badań i utrudnia postęp w opracowywaniu skutecznej interwencji przeciwko tym coraz częściej rozpoznawanym riketsjom (Sahni i wsp. 2019).

Kleszcze, jako potencjalni przenosiciele patogenów, stanowią znaczący obszar zainteresowania w dziedzinie medycyny i ekologii. Przyglądając się zarówno terenom miejskim, jak i naturalnym, została zbadana obecność riketsji, których rola jako nośników chorób nie pozostawia wątpliwości. W świetle rosnących obaw związanych z chorobami przenoszonymi przez kleszcze, przeprowadzone badania mają na celu pogłębienie zrozumienia potencjalnego zagrożenia związanego z riketsjami zarówno w środowisku miejskim jak i naturalnym. Wskazując na ewentualne implikacje zdrowotne, powstałe spostrzeżenia mogą przyczynić się do dalszych badań i działań zapobiegawczych w dziedzinie medycyny, weterynarii oraz ochrony środowiska.

### 5.1. Występowanie kleszczy

Współistnienie ludzi, zwierząt i różnych gatunków kleszczy tworzy unikalny ekosystem, w którym odgrywają one kluczową rolę jako wektory wielu patogenów. Aktywność tych małych pasożytów w dużej mierze kształtuje ryzyko wystąpienia chorób

przenoszonych przez kleszcze, stanowiąc wyzwanie zarówno dla zdrowia publicznego, jak i ochrony zwierząt. W kolejnych częściach tego rozdziału zostaną omówione różne aspekty aktywności kleszczy, włączając w to ich cykl życiowy oraz wpływ czynników środowiskowych na ich obecność i ekspansję. Zrozumienie tych elementów jest kluczowe dla skutecznych strategii prewencyjnych i zarządzania zagrożeniem epidemiologicznym związanym z chorobami przenoszonymi przez kleszcze.

### 5.1.1. Zmiany w rozmieszczeniu kleszczy

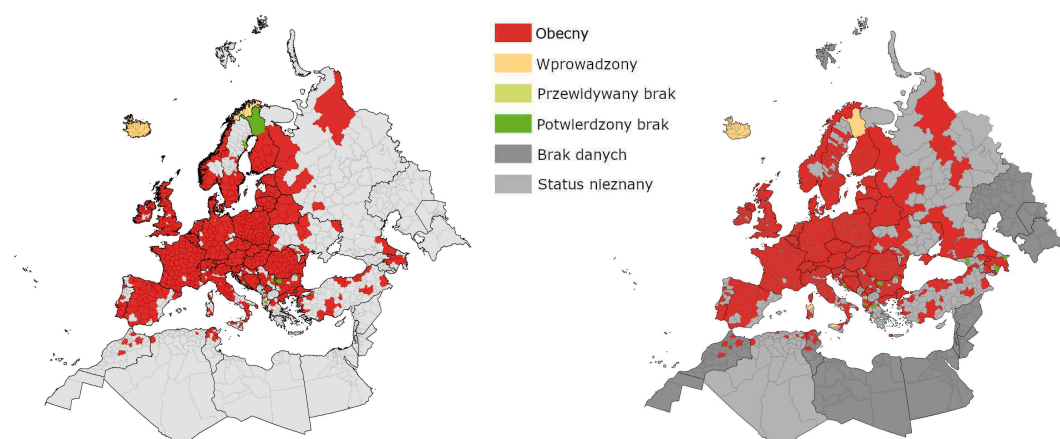
W Europie dwa gatunki kleszczy, *I. ricinus* i *D. reticulatus*, stanowią najczęstsze rezerwuary i wektory chorób zakaźnych (Randolph 2004, Gray i wsp. 2009). W ostatnich latach zasięg występowania obu tych gatunków rozszerzył się na nowe obszary, a gęstość ich populacji zwiększyła się na terytoriach wcześniej już zajmowanych. *I. ricinus* i *D. reticulatus* większość swojego życia (~98%) spędzają w środowisku zewnętrznym, a na ich występowanie wpływają takie czynniki jak temperatura, wilgotność czy długość dnia (Randolph 2004, Gray i wsp. 2009).

*I. ricinus* jest najszerszym rozpowszechnionym gatunkiem kleszcza w Europie, obejmującym niemal cały kontynent. Uważa się, że głównym ogranicznikiem jego północnej granicy występowania jest klimat (Jaenson i wsp. 1994). W Szwecji północna granica rozmieszczenia *I. ricinus*, przesunęła się na północ od czasu, gdy klimat zaczął zauważalnie się zmieniać pod koniec lat 80. (Knulle i Dautel 1997). Łagodniejsze zimy i mniejsze skoki temperatur zimowych pozwoliły na przetrwanie i rozmnażanie się tych krwio pijnych pajęczaków, co przyczyniło się do wzrostu ich obszaru o 9,9% powierzchni kraju w okresie 30 lat obserwacji (1982–2011) (Jaenson i wsp. 2012). Pod koniec ubiegłego wieku zasięg geograficzny *I. ricinus* obejmował obszar poniżej równoleżnika 61°N, czyli w przybliżeniu linię wyznaczoną przez północną granicę Morza Północnego (Jaenson i wsp. 1994). Aktualnie kleszcze te występują wzdłuż całego wybrzeża Bałtyku oraz w dolinach rzek i większych jeziorach na północnych obszarach, sięgając nawet równoleżnika 66°N, co pokrywa się z granicą koła podbiegunowego półkuli północnej. Wykazano, że zmiany w rozmieszczeniu na północ są skorelowane ze zmniejszeniem liczby dni zimowych, kiedy temperatura spada poniżej -12°C przez dłuższe okresy czasu, stanowiącą granicę termiczną dla przetrwania, aktywności i rozwoju kleszczy (Lindgren i wsp. 2000).

Podobne zmiany w rozmieszczeniu *I. ricinus* obserwuje się również na wysokościach bezwzględnych w regionach górskich. Przeprowadzone badania terenowe w Czechach w

1957 roku oraz w latach 1979-80 wykazały, że kleszcze wstępowały nawet do 700 metrów nad poziomem morza. Kolejne badania przeprowadzone w tych samych lokalizacjach w latach 2001 i 2002 udowodniły, że kleszcze są obecne i zdolne do ukończenia cyklu życiowego na wysokości do 1100 metrów nad poziomem morza (Daniel i wsp. 2003, Daniel i wsp. 2004, Materna i wsp. 2005).

Prognozy sugerują, że do około 2040-2060 roku w Europie nastąpi ekspansja siedlisk *I. ricinus* o kolejne 3,8%, zwłaszcza w krajach skandynawskich i bałtyckich, przy jednoczesnym rozszerzeniu na wyższe wysokości bezwzględne nad poziomem morza. W przeciwieństwie do tego, spodziewane jest zmniejszenie obszaru występowania tego gatunku w Alpach, Pirenejach, północno-zachodniej Polsce i wewnątrz Włoch (Boeckmann i Joyner 2014). Ta hipoteza jest zgodna z innymi prognozami zmian klimatycznych, które przewidują rozszerzenie zasięgu *I. ricinus* (Estrada-Pena i wsp. 2012, Porretta i wsp. 2013). Rozmieszczenie kleszczy *I. ricinus* w ciągu ostatnich 5 lat zostało przedstawione na Ryc. 33.

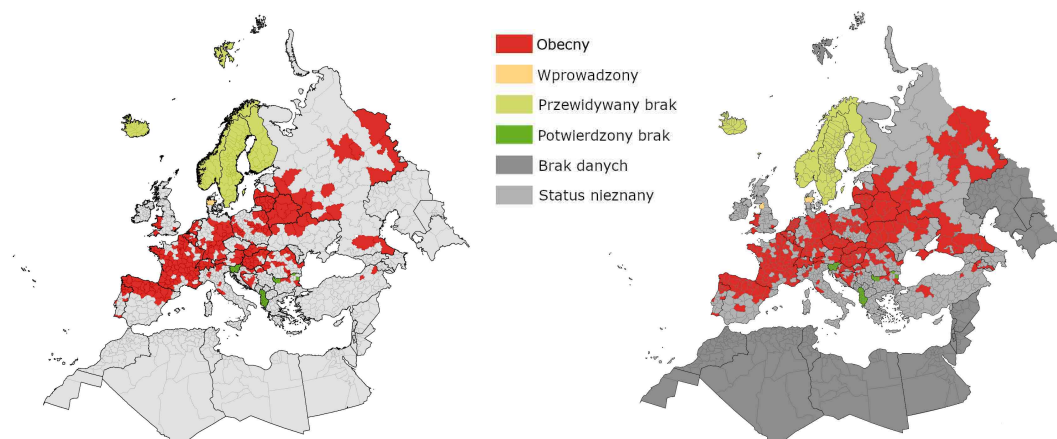


**Ryc. 33.** Porównanie rozmieszczenia kleszczy *I. ricinus* w Europie w 2018 roku (po lewej) i w 2023 roku (po prawej) (dane wg ECDC).

Od lat 90. XX wieku obserwuje się ekspansję *D. reticulatus* na nowe terytoria w Polsce oraz innych krajach Europy Środkowej (Sreter i wsp. 2005, Dautel i wsp. 2006, Nijhof i wsp. 2007, Bullova i wsp. 2009, Siroky i wsp. 2011, Cochez i wsp. 2012, Schaarschmidt i wsp. 2013). Zjawisko to można wiązać ze zmianami klimatu oraz rozszerzeniem zasięgu występowania *I. ricinus*, które również zaczęto obserwować pod koniec lat 80. (Knulle i Dautel 1997).

W ciągu ostatnich trzech dziesięcioleci *D. reticulatus* poszerzył swoje obszary występowania, zwłaszcza w części wschodniej i południowo-zachodniej Niemiec (Gray i wsp. 2009). Na zachodniej części kontynentu stwierdzono obecność tego kleszcza w

północnych regionach Hiszpanii, Francji, południowej części Wysp Brytyjskich, Szwajcarii, krajach Beneluksu i Niemczech (Cardoso i wsp. 2010, Dominguez-Penafiel i wsp. 2011, Tjisse-Klasen i wsp. 2013, Zajac i wsp. 2020). W Europie Środkowej liczne stanowiska tego gatunku zaobserwowano w Polsce, na Węgrzech, na nizinach Słowacji, w Słowenii i Austrii. Na wschodzie zasięg występowania kleszczy *D. reticulatus* obejmuje obszary Ukrainy, Białorusi, Litwy, Łotwy, Estonii i północno-zachodniej części europejskiej Rosji, a także obszarów Kaukazu oraz Azji do regionów Omska i Nowosybirsk (Zajac i wsp. 2020). Południową granicę geograficznego rozprzestrzenienia *D. reticulatus* wyznaczają wilgotne obszary górskie przy wybrzeżu Morza Śródziemnego (Gray i wsp. 2009). Obszar geograficznego występowania *D. reticulatus* w Europie jest nieciągły i podzielony na dwie metapopulacje. Zachodnia metapopulacja obejmuje obszary Francji, Belgii, Słowacji, Czech, Holandii i Niemiec. Wschodnia metapopulacja obejmuje Litwę, Łotwę, Białoruś oraz wschodnie i centralne części Polski wraz z obszarami na zachód od Wisły oraz terytorium Rosji aż do Uralu (Dwużnik-Szarek i wsp. 2021). Obie populacje są oddzielone obszarami w środkowej Europie, w tym częścią Polski na zachód od Wisły, gdzie *D. reticulatus* nie był zgłaszany do lat 90. (Siuda 1993). Na Ryc. 34 przedstawiono rozmieszczenie kleszczy *D. reticulatus* na przestrzeni ostatnich 5 lat, a więc od roku rozpoczęcia badań do niniejszej pracy do roku ich zakończenia.



**Ryc. 34.** Porównanie rozmieszczenia kleszczy *D. reticulatus* w Europie w lutym 2018 roku (po lewej) i w lutym 2023 roku (po prawej) (dane wg ECDC).

Szczególnie interesujący jest przypadek Polski, gdzie obserwuje się postępującą ekspansję dwóch geograficznie oddzielonych populacji *D. reticulatus* - wschodniej i zachodniej. Ponadto, lokalne populacje *D. reticulatus* występujące tutaj, zwłaszcza we wschodniej części kraju, należą do najliczniejszych, jakie dotychczas odkryto (Zajac i wsp.

2021). Do początku XXI wieku uważano, że obszar występowania *D. reticulatus* w Polsce był ograniczony do terenów na wschód od rzeki Wisły oraz do północno-wschodniej części kraju, podczas gdy regiony zachodnie były uważane za nieendemiczne. Ponadto zakładano, że Polska stanowi granicę między wschodnią a zachodnią populacją *D. reticulatus*, które są oddzielone obszarem historycznie wolnym od tego gatunku (Zajac i wsp. 2020, Dwuznik-Szarek i wsp. 2021). Na początku XXI wieku zaczęto jednak obserwować nowe lokalizacje na północy Polski i po zachodniej stronie rzeki Wisły. Niemniej jednak znaleziska były często przypadkowe, a regularne badania terenowe prowadzono tylko na skalę lokalną (Mierzejewska i wsp. 2016). Pierwsze systematyczne badania w tzw. luce przeprowadzili Mierzejewska i wsp. (2016) oraz Dwuznik-Szarek i wsp. (2021). W latach 2012-2014 przeprowadzono szczegółowy monitoring ekspansji *D. reticulatus* na obszarach zachodniej Polski. Badacze potwierdzili wówczas rozprzestrzenianie się wschodniej populacji kleszcza w kierunku zachodnim i ekspansję zachodniej populacji kleszcza w kierunku wschodnim. Wschodni rekord populacji zachodniej *D. reticulatus* znajdował się niedaleko Kościana (województwo wielkopolskie), a zachodni rekord populacji wschodniej rozprzestrzenił się do Rawy Mazowieckiej i Rzeczyca (województwo łódzkie). W rezultacie strefa wolna od *D. reticulatus*, w której odnotowano jedynie miejsca negatywne, znajdowała się w środkowej części kraju - od województw zachodniopomorskiego i pomorskiego na północy Polski, przez województwo wielkopolskie, aż po województwa opolskie, śląskie, małopolskie i podkarpackie na południu Polski (Mierzejewska i wsp. 2016). Najbliższy Poznania punkt monitoringu, prowadzonego przez Mierzejewską i wsp. (2016) znajdował się w miejscowości Rogalin, oddalony niespełna 10 km od Wielkopolskiego Parku Narodowego, w którym wykonywano badania w ramach niniejszej pracy. Wówczas naukowcy nie stwierdzili obecności *D. reticulatus* na tym obszarze.

Ponowne szczegółowe badania strefy wolnej od *D. reticulatus* przeprowadzono w latach 2016-2018. Wyniki tych badań potwierdziły pojawienie się nowych ognisk *D. reticulatus* oraz dalsze zmniejszenie luki między populacjami. Średnia zmiana granic zasięgu tego kleszcza była zdecydowanie większa dla populacji zachodniej niż populacji wschodniej. Najbardziej na wschód i zachód położone obszary z pozytywnym występowaniem kleszczy dla obu populacji, zarówno zachodniej, jak i wschodniej, znajdowały się w województwie wielkopolskim. W populacji wschodniej, najbardziej na zachód położone miejsce z pozytywnym występowaniem *D. reticulatus* znajdowało się niedaleko Konina. Z kolei w populacji zachodniej, najbardziej na wschód położone miejsce z pozytywnym występowaniem kleszcza znajdowało się w okolicach Śremu, oddalone o około 30 km od

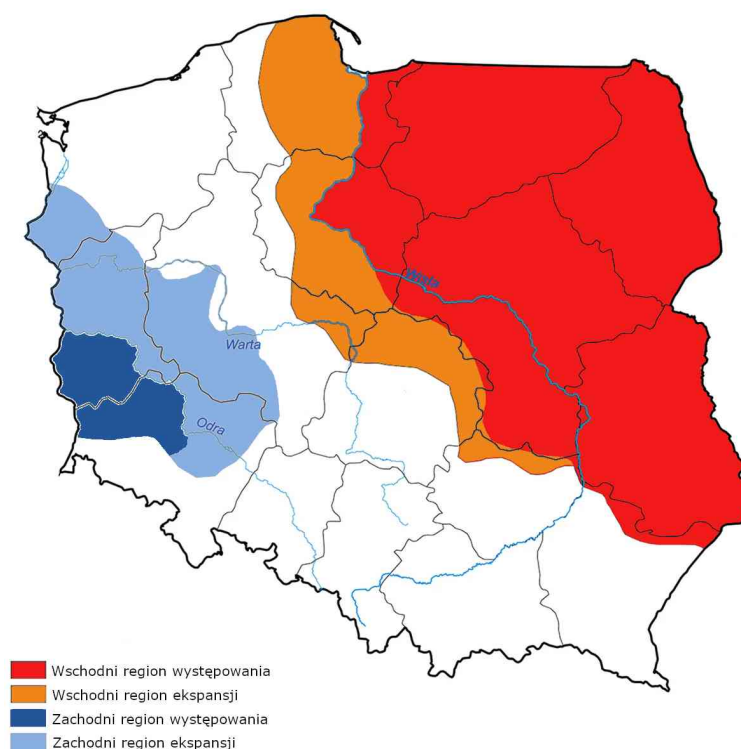
obszaru badań przeprowadzonych w ramach niniejszej pracy (Ryc. 35) (Dwuźnik-Szarek i wsp. 2021).

Bardzo prawdopodobne jest, że obszar pozbawiony kleszczy *D. reticulatus* zniknie w ciągu kolejnych 10-13 lat, a dwie populacje spotkają się i połączą w dolinie rzecznej. Najbardziej prawdopodobne jest, że to zjawisko będzie miało miejsce w dolinie rzeki Warty - stwierdzono tam występowanie *D. reticulatus* zarówno z populacji wschodniej, jak i zachodniej, co tworzy jedną z najkrótszych odległości między tymi dwiema populacjami kleszczy i ułatwia ekspansję wzdłuż osi wschód-zachód (Ryc. 35) (Dwuźnik-Szarek i wsp. 2021). W trakcie badań przeprowadzonych w ramach niniejszej pracy, odłowiono osobniki *D. reticulatus* zarówno na terenie miasta Poznania, jak i w Wielkopolskim Parku Narodowym. Obserwacje, które prowadzili w latach 2016-2018 w okolicach Poznania Dwuźnik-Szarek i wsp. (2021) oraz w samym Poznaniu w latach 2017-2018 (Liberska i wsp. 2021, Liberska i wsp. 2023) nie wykazały obecności *D. reticulatus* na tym obszarze. Zbiory dokonane zatem w ramach niniejszej pracy są pierwszym udokumentowanym przypadkiem wystąpienia gatunku *D. reticulatus* na terenie miasta Poznania oraz Wielkopolskiego Parku Narodowego. Zbiory stanowią jednocześnie uzupełnienie obserwacji dokonanych przez Dwuźnik-Szarek i wsp. (2021) i potwierdzają postępującą ekspansję tego gatunku. Możliwe, że są pierwszym przypadkiem dokumentującym spotkanie się populacji wschodniej z populacją zachodnią, zgodnie z hipotezą postawioną przez wspomnianych badaczy, o możliwym połączeniu się populacji w dolinie rzeki Warty. Co prawda w 2018 roku na terenie Poznania znaleziono wyłącznie jednego osobnika *D. reticulatus*, ale obserwacje własne wyraźnie wskazują, że gatunek *D. reticulatus* od 2022 roku jest już rozpowszechniony na terenie Poznania, a w niektórych miejscach jego liczebność jest wyższa niż *I. ricinus* (dane nieopublikowane). Kleszcze *D. reticulatus* zaczęły regularnie pojawiać się na obszarze WPN od lipca 2019 roku i zostały odnotowane na 4 z 5 stanowisk, co świadczyło o ich obecności już na znacznym obszarze.

Co również ciekawe, naukowcy sugerują, że występowanie *D. reticulatus* jest silnie związane z obecnością otwartych siedlisk, związane również z wylesianiem, fragmentacją krajobrazu w obrębie dużego skupiska jednorodnej roślinności oraz obecnością cieków wodnych (Mierzejewska i wsp. 2017, Dwuźnik-Szarek i wsp. 2021). Kleszcze *D. reticulatus* badane w ramach niniejszej pracy zostały odłowione w samym środku Wielkopolskiego Parku Narodowego (Ryc. 8 - stanowisko PZ-3 i PZ-4) w miejscu o bardzo dużym zadrzewieniu (Ryc. 9 - stanowisko PZ-3 i PZ-4), a także na obrzeżach lasu miejskiego w Poznaniu (Ryc. 11 - stanowisko PO-3). Natomiast na obszarze zbioru położonym nad rzeką

Wartą, w sąsiedztwie łąki nie znaleziono żadnego osobnika. Niemniej jednak obserwacje własne (niepublikowane) wskazują, że już od roku 2022 nad Wartą w obrębie miasta Poznania występuje stała, liczna populacja *D. reticulatus*.

Powyższe obserwacje mogą świadczyć o tym, że podobnie jak *I. ricinus* również *D. reticulatus* charakteryzuje się większą elastycznością w zakresie warunków środowiskowych, niż pierwotnie przypuszczano.



Ryc. 35. Występowanie *D. reticulatus* na terenie Polski w 2018 roku (na podstawie Dwuznik-Szarek i wsp. 2021).

### 5.1.2. Zmiany w sezonowej aktywności kleszczy

Obecnie obserwowane ocieplenie klimatu nie budzi wątpliwości. Szacuje się, że działalność człowieka przyczyniła się do wzrostu globalnej temperatury o około 1,0°C ponad poziom sprzed ery przemysłowej. Prognozuje się dalszy wzrost temperatury powietrza w kolejnych dziesięcioleciach, a temperatura będzie wzrastać szybciej w zimie niż w pozostałych porach roku. W Europie obserwuje się szybkie zmiany, a wzrost temperatury jest najbardziej widoczny na północy kontynentu. W Europie Środkowej i Północnej wzrost temperatury jest około 2,5 razy wyższy niż średni wzrost temperatury globalnej. Sezon zimowy 2019/2020 był najcieplejszy w historii pomiarów, ze średnią temperaturą wyższą o 1,4°C w porównaniu do dotychczas najcieplejszej zimy w 2015/2016. W Polsce wyraźny

wzrost temperatury obserwuje się zwłaszcza wiosną i latem, a ocieplenie jest dobrze zauważalne w zmniejszeniu częstości występowania dni o niskiej temperaturze i fal mrozowych. Wzrost temperatury w miesiącach zimowych w Polsce wiąże się ze znaczącymi zmianami w występowaniu pokrywy śnieżnej i prognozuje się dalszy regres jej występowania. W Polsce zarówno minimalna jak i maksymalna temperatura powietrza wzrosły w okresie zimowym, choć zmiany w temperaturze minimalnej były bardziej znaczące (Kejna i Rudzki 2021, Tomczyk i wsp. 2021).

Takie zmiany klimatyczne mogą wpływać na długość okresów aktywności kleszczy poszukujących żywicieli, potencjalnie prowadząc do wydłużenia lub skrócenia tych okresów. To z kolei może mieć wpływ na liczebność i rozmieszczenie populacji kleszczy. Ponadto, zmiany w klimacie mogą wpływać na tempo rozwoju kleszczy, prowadząc do zmian sezonowych wzorców ich aktywności. Taka dynamika może zmieniać proporcje w populacji kleszczy, podatnych na mechanizmy regulacyjne, takie jak diapauza (Gray i wsp. 2009).

Już w połowie XX wieku badania przeprowadzone przez Campbell (1948) w Szkocji wyraźnie wskazywały na istotną rolę zimy w synchronizacji rozwoju poszczególnych stadiów rozwojowych i szczytów aktywności u *I. ricinus*. Powszechnie uznawano wówczas, że nimfy i dorosłe kleszcze są najaktywniejsze wiosną (kwiecień - czerwiec) oraz jesienią (wrzesień - październik), a larwy latem (czerwiec - lipiec). Podobne obserwacje dotyczące populacji polskich kleszczy zawarł Siuda (1991 i 1993) w dwuczęściowej monografii pt. "Kleszcze Polski (Acari: Ixodida)". W Polsce również występowały wyraźne dwa szczyty aktywności: jeden wiosną i drugi na przełomie lata i jesieni. Aktywność kleszczy w Polsce była obserwowana od połowy kwietnia do początków listopada. Siuda zaznaczył również, że jednoszczytowy sezon aktywności *I. ricinus* występuje w populacjach na obszarach południowo-zachodnich krajów śródziemnomorskich (Siuda 1991, Siuda 1993).

Pierwszą odnotowaną anomalię w dwuszczytowej sezonowej aktywności w północnych częściach Europy zaobserwowano blisko pół wieku temu w hrabstwie Wicklow w Irlandii. W roku 1975 zebrano więcej kleszczy jesienią niż podczas wiosennego szczytu aktywności. Wczesne lato w 1976 roku charakteryzowało się maksymalnymi temperaturami powietrza sięgającymi 29-31°C i w 1977 roku wzorzec aktywności kleszczy uległ drastycznej zmianie, a ponad 90% aktywności nimf przypadało od marca do czerwca. Postulowano, że podwyższone temperatury wczesnego i środkowego lata w 1976 roku były główną przyczyną zmiany dominującej aktywności nimf z jesiennej na wiosenno-letnią (Gray i wsp. 2009). Podobny wzorzec aktywności zaobserwowano u kleszczy *I. scapularis* w roku 1986 w stanie New Jersey w USA, gdzie temperatury powietrza przekraczały 26°C przez



50-60 dni w roku (Schulze i wsp. 1986). Dane z Irlandii oraz USA pokazały również, że wszystkie aktywne stadia kleszczy będą polować w trakcie gorącej i suchej pogody, o ile obecna jest odpowiednia roślinność, która będzie tworzyć odpowiedni mikroklimat i zapewniać możliwości nawadniania (Gray i wsp. 2009).

Sezonowa aktywność nimf i dorosłych osobników *I. ricinus* trwa od marca do października w większości obszarów Europy Środkowej, podczas gdy stadium larwalne rozpoczyna aktywne poszukiwanie żywicieli dopiero w maju. Aktywność kleszczy od połowy listopada do połowy lutego w tej części Europy jest nietypowa. Niemniej jednak, silny wpływ temperatury na wzorce aktywności kleszczy, nawet w okresie zimowym, zaobserwowano już w pierwszej dekadzie XXI wieku we wschodnich Niemczech w nadzwyczaj łagodnej zimie 2006/2007, gdzie tylko dwa dni miały maksymalną temperaturę poniżej 0°C. W berlińskim lesie w okresie od początku listopada do początku marca przeprowadzono wówczas łącznie 19 zbiorów. Podczas każdego ze zbiorów znaleziono dorosłe osobniki, natomiast nimfy były nieobecne tylko w dwóch przypadkach (Gray i wsp. 2009).

Obserwacje przeprowadzone w obecnym klimacie w Europie Środkowej wykazały, że kleszcze *I. ricinus* są nieaktywne od połowy listopada do połowy lutego, podczas gdy aktywnie poszukują gospodarzy od marca do października. Jesienią larwy i dorosłe kleszcze *I. ricinus* są bardziej wrażliwe na spadek temperatury i przechodzą w diapauzę behawioralną przy temperaturach przyziemnych wyższych niż te związane z początkiem zachowań poszukujących w okresie wiosennym (Perret i wsp. 2000, Tomkins i wsp. 2014). W południowej i centralnej Szwecji sezon aktywności kleszczy trwa od 6 do 8 miesięcy, w porównaniu do nawet 11 miesięcy w niektórych częściach Wysp Brytyjskich (Lindgren i Gustafson 2001). Badania *in vitro* wykazały, że kleszcze gatunku *I. ricinus* przystępowały do aktywności poszukującej tylko wtedy, gdy temperatura wynosiła powyżej 6°C (Gilbert i wsp. 2014). Niemniej jednak, należy zauważyć, że dla kleszczy zbieranych z obszarów o chłodniejszym klimacie, temperatury rozpoczęcia aktywności poszukującej były niższe niż wymagane temperatury dla kleszczy pochodzących z obszarów o cieplejszym klimacie. Obserwacja ta dotyczy także temperatur wymaganych do rozpoczęcia metabolizmu kleszcza (Perret i wsp. 2000, Tomkins i wsp. 2014). Najniższe temperatury, które pozwalają na funkcjonowanie metaboliczne *I. ricinus*, wynoszą między -5°C a -10°C (Alasmari i Wall 2021). Natomiast temperaturami granicznymi do przeżycia są wartości w zakresie od -14,4°C do -18,9°C, w których kleszcze mogą wytrzymać 24-godziną ekspozycję. Co ciekawe, negatywne skutki zimna są kumulatywne, a ekspozycja na zaledwie -10°C przez 30 dni

okazała się śmiertelna dla dużej części nienasyconych nimf i diapauzujących nasyconych larw i nimf (Knulle i Dautel 1997).

Badania przeprowadzone w ramach niniejszej pracy potwierdzają obserwacje z ostatnich lat. Kleszcze w środkowo-zachodniej Polsce, na terenie Poznania i Wielkopolskiego Parku Narodowego były aktywne od lutego do października, a temperatura powietrza w okresie aktywności kleszczy zawierała się w zakresie od 1,8°C do 30,0°C, przy średniej wartości 14,5°C. Największe zbiory kleszczy miały miejsce przy temperaturze zarówno 11,1°C, jak i 25,0°C – były to okresy szczytowej aktywności w kwietniu i maju 2019 roku w WPN. Wydaje się, że czynnikiem wpływającym na pojawienie się kleszczy jest przede wszystkim dodatnia temperatura, która inicjuje sezonową aktywność tych pasożytów. Może to wyjaśniać wyraźne przesunięcie szczytu aktywności między rokiem 2018 a 2019. W roku 2019 szczyt aktywności kleszczy na obszarze Poznania wystąpił od 1 do 2 miesięcy wcześniej niż w roku poprzednim. Natomiast na obszarze WPN szczyt aktywności w roku 2019 przesunął się aż o 3 miesiące, z lipca na kwiecień. Jak wskazują powyższe przykłady przyczyną takiego zjawiska wydaje się być bardziej łagodna zima w roku 2019 w porównaniu z rokiem 2018, charakteryzująca się wyższymi temperaturami oraz mniejszą liczbą dni o ujemnych temperaturach. Wpływ tych zmiennych może być uzasadniony niższą presją na populację kleszczy w okresie zimowym, co z kolei może wpłynąć na ich aktywność w następnych miesiącach

Niektórzy autorzy (Knulle i wsp. 1997, Hauser 2018) zwracają również uwagę, że oprócz temperatury wilgotność jest ważnym czynnikiem ograniczającym przeżycie i aktywność *I. ricinus*. Knulle i wsp. (1997) wskazują, że aktywność poszukująca *I. ricinus* wymaga wilgotności względnej powyżej 45%, podczas gdy Hauser (2018) podaje, że wilgotność względna musi być wyższa niż 70-80%, aby umożliwić aktywność poszukującą oraz przeżycie kleszczy. Badania przeprowadzone w ramach niniejszej pracy wykazują większą elastyczność kleszczy w kontekście wilgotności. Wartości wilgotności powietrza w punktach zbioru mieściły się w zakresie od 27% do 99,5%, jednak różnice w wilgotności w tym zakresie nie wpływały na aktywność i liczebność tych pasożytów. Nawet podczas najniższej zmierzonej wilgotności powietrza w trakcie zbioru (27% w Poznaniu w marcu 2019 roku), zebrano łącznie 64 osobniki. Średnie wartości wilgotności powietrza w punktach zbioru mieściły w dolnej połowie zakresu średnich wilgotności dla tego regionu według danych Instytutu Meteorologii i Gospodarki Wodnej (IMGW).

Kleszcze *D. reticulatus* stanowią drugi, zaraz po *I. ricinus*, najważniejszy wektor i rezerwuar patogenów przenoszonych przez kleszcze w Europie. W ostatniej dekadzie

obserwowano zmiany w obfitości i zasięgu tego gatunku, a kleszcze te są zbierane w obszarach wcześniej uważanych za wolne od nich, co może być wynikiem postępującej zmiany klimatu (Zajac i wsp. 2021). Dane literaturowe sugerują, że kleszcze *D. reticulatus* zazwyczaj wykazują dwa wyraźne szczyty aktywności sezonowej - wiosną i jesienią. Większa liczba kleszczy w szczycie wiosennym obserwowana jest w Alpach Francuskich, europejskiej części Rosji oraz północno-wschodniej Polsce (Martinod i Gilot 1991, Bogdaszewska 2004). Z kolei wyższą aktywność w szczycie jesiennym notuje się we wschodniej Polsce (Bartosik 2011). Niemniej jednak badania przeprowadzone przez Zajac i wsp. (2021) wskazują, że aktywność sezonowa może zmieniać się w obrębie tej samej populacji, nawet jeśli jest uznawana za stabilną. Przeprowadzony monitoring w Poleskim Parku Narodowym na wschodzie Polski wykazał, że zdecydowanie większa liczba kleszczy występuje w szczycie jesiennym. Natomiast w 2019 roku szczyt aktywności wiosennej charakteryzował się dominacją nad szczytem jesiennym w stosunku 3,5:1 (Zajac i wsp. 2021). Podobną tendencję zaobserwowano w tym samym roku na zachodzie kraju (Zajac i wsp. 2020). Autorzy argumentowali te zmiany dostępnością preferowanych gospodarzy występujących na badanym obszarze, takich jak sarna (*Capreolus capreolus*), jeleni (*Cervus elaphus*), łos (*Alces alces*) i dzik (*Sus scrofa*). Jednakże badacze zaznaczyli, że obszar, na którym prowadzono badania charakteryzuje się wyraźnym wzrostem średniej temperatury powietrza w ostatnich latach (o 1,81 °C w 2020 roku) oraz spadkiem średniej liczby dni z pokrywą śnieżną i dni z przymrozkami w skali rocznej, w porównaniu z długoterminową średnią. Sezon zimowy 2019/2020 był najcieplejszym w historii pomiarów (Tomczyk i wsp. 2021) oraz pierwszym w historii wschodniej Polski, w którym przez cały okres zimy kalendarzowej zanotowano tylko 2 dni z maksymalną temperaturą dzienną poniżej 0°C (średnia długoterminowa: 42 dni), a pokrywa śnieżna utrzymywała się tylko przez 6 dni (średnia długoterminowa: 62 dni) (Zajac i wsp. 2021). O różnicach w szczytach aktywności pomiędzy poszczególnymi latami, a także możliwości występowania *D. reticulatus* w ciepłe zimy (nawet w okresie występowania pokrywy śnieżnej) donosili też inni badacze (Martinod i Gilot 1991, Kiewra i wsp. 2016).

Temperatura jest jednym z najważniejszych czynników wpływających na aktywność poszukiwawczą *D. reticulatus* (Zajac i wsp. 2020). We wschodniej Polsce aktywność tych wektorów obserwowano w zakresie temperatur od 4,0 do 24,0°C (Zajac i wsp. 2021). Zakres ten jest zbliżony do temperatur, w jakich ten gatunek kleszczy był zbierany w innych częściach Polski (Bartosik i wsp. 2012, Buczek i wsp. 2013, Mierzejewska i wsp. 2016). W Czechach obserwowano aktywne dorosłe osobniki w temperaturze wynoszącej -0,1°C

(Hubalek i wsp. 2003), a na Wyspach Brytyjskich, aktywność tego gatunku ustaje, gdy temperatura powietrza przekracza 15°C przez pięć kolejnych dni (Sands i wsp. 2021). W przeciwieństwie do tego, we wschodniej Polsce, kleszcze tego gatunku były zbierane w temperaturze 31,0°C (Zajac i wsp. 2021). W warunkach laboratoryjnych kleszcze *D. reticulatus* są w stanie przetrwać szok termiczny nawet przy temperaturze -20°C (Sands i wsp. 2021). Obserwacje własne wskazują, że nienasycone samice *D. reticulatus* mogą przetrwać w 2°C przez co najmniej 6 miesięcy wykazując przy tym aktywność (dane nieopublikowane).

Zmiany w zasięgu występowania *D. reticulatus* zaobserwowane w ostatnich latach, liczba lokalnych populacji tego gatunku i zmiany w dynamice ich sezonowej aktywności są prawdopodobnie wynikiem wielu czynników, a kluczowymi, które wpływają na sezonową aktywność i aktywność poszukiwania żywiciela u *D. reticulatus* są temperatura i wilgotność spowodowane postępującym ociepleniem klimatu (Zajac i wsp. 2021).

W ramach badań prowadzonych do niniejszej pracy w okresie dwóch lat (2018-2019) zostało zebranych łącznie tylko 10 osobników należących do *D. reticulatus* w czterech różnych miesiącach (od lipca do października) dlatego trudno na tej podstawie wyciągać wnioski co do ich sezonowej aktywności na badanym obszarze. Należy jednak zaznaczyć, że gatunek wcześniej nie występował na tym terenie i sam fakt jego odnalezienia świadczy o ekspansji i adaptacji do nowego środowiska. Niemniej temperatura w jakich kleszcze zostały zebrane zawierała się w granicach od 16,7°C do 23,7°C, a wilgotność powietrza mieściła się w przedziale od 59,5% do 73,0% co wpisuje się w wartości obserwowane wcześniej przez innych badaczy.

Mimo, że zmiany w klimacie oraz długości różnych pór roku mają bezpośredni wpływ na przetrwanie, aktywność i rozwój kleszczy, brakuje wystarczających dowodów na to, że wzrost temperatur spowoduje większą liczebność kleszczy poprzez przyspieszenie tempa ich rozwoju. Raczej zmiany w tempie rozwoju sprawiają, że różne stadia rozwojowe kleszczy będą dostępne w różnych oknach diapauzy, zmieniając tym samym wzorce sezonowej aktywności (Gray i wsp. 2009). Natomiast na liczebność kleszczy mogą natomiast wpłynąć niebezpośrednie efekty zmian klimatycznych, takie jak zmiana szaty roślinnej. Ocieplający się klimat w środkowej Europie prawdopodobnie spowoduje spadek ilości świerków pospolitych (*Picea abies*), a obszary te prawdopodobnie zostaną zasiedlone przez buki (*Fagus sylvatica*). Opadłe liście stworzą korzystny mikroklimat dla przetrwania kleszczy w stadium wolno żyjącym (Gilbert i wsp. 2021).

Przytoczone przykłady pokazują, z jaką elastycznością kleszcze w Europie reagują na postępujące ocieplenie klimatu. Łagodne zimy i upalne lata wpływają na wydłużenie sezonu aktywności, a gorące lata prowadzą do przejścia z dwóch szczytów aktywności na pojedynczy, wiosenny szczyt zarówno u *I. ricinus*, jak i *D. reticulatus*. W badaniach przeprowadzanych w ramach niniejszej pracy zaobserwowano wyraźny jeden, wiosenno-letni szczyt aktywności w obu badanych latach (2018 i 2019), zarówno w środowisku naturalnym (Wielkopolski Park Narodowy), jak i na obszarze zurbanizowanym (miasto Poznań). Co prawda w 2019 roku wystąpił drugi nieznaczny pik w lipcu, ale zarysował się on w wyniku trudnych warunków pogodowych zbioru jakie wystąpiły we wcześniejszym miesiącu. Podczas zbioru w czerwcu temperatura w WPN wynosiła średnio 20,4°C, a wilgotność 51,1%. W Poznaniu natomiast średnia temperatura zbioru wskazała 18,3°C i 40,4% wilgotności. Przy takich warunkach liczba odławianych kleszczy zazwyczaj była znacznie wyższa. Niestety zbiór odbywał się podczas silnych warunków wietrznych co technicznie utrudniało odłów, a ponadto niska roślinność zielna była wyschnięta lub zwiędnięta co wskazywało na niską wilgotność utrzymującą się przez długi czas.

Pierwsze oznaki zmian aktywności kleszczy były już widoczne w okresie, gdy zmiany klimatu dopiero się dokonywały. Sytuacje takie zgłaszano już w 1976 roku w Irlandii (Gray i wsp. 2009), w 1986 roku w Stanach Zjednoczonych (Schulze i wsp. 1986), w 1991 roku we Francji (Martinod i Gilot 1991), w 2007 roku w Niemczech (Gray i wsp. 2009), czy w 2016 i 2019 roku w Polsce (Kiewra i wsp. 2016, Zając i wsp. 2021), w których obserwowano znacznie cieplejsze okresy niż w latach poprzednich. Aktualne warunki klimatyczne, które kiedyś były anomaliami, obecnie stają się coraz powszechniejsze, co prowadzi do wniosku, że obserwacje przeprowadzone w bieżących badaniach już są lub w najbliższym okresie staną się regułą. Co prawda w literaturze możemy znaleźć informacje o nadal występującej dwuszczytowej aktywności kleszczy, ale zapewne opierając się na ugruntowanej wiedzy z przełomu wieku naukowcy planując badania ustalają już miesiące zbioru, na te w których spodziewają się odłowić kleszcze w dużych ilościach (Welc-Fałęciak i wsp. 2014, Liberska i wsp. 2021, Trzebny i wsp. 2022). W innym przypadku uzyskując dane, w których 95,1% kleszczy zostało zebranych na wiosnę, a 4,6% na jesień nadal piszą o dwóch szczytach aktywności (Nowosad i wsp. 1999). Niestety prace skupiające się wyłącznie na kleszczach, ich aktywności i preferencjach środowiskowych są bardzo rzadkie (Campbell 1948, Siuda 1991, Siuda 1993, Estrada-Pena 2004, Gray i wsp. 2009, Nowak-Chmura 2013, Hauser i wsp. 2018). Niezliczone publikacje informują natomiast o patogenach występujących w kleszczach i konsekwencjach ich transmisji. Wyniki wówczas

skupiają się na właściwej tematyce, a kleszcze są jedynie materiałem, który jest zbierany w okresach, w których istnieje największa szansa na ich znalezienie według informacji zawartych w wymienionej wcześniej literaturze. Jak widzimy zmiany klimatyczne w sposób wymierny wpływają na rozmieszczenie kleszczy oraz zmiany w ich sezonowej aktywności. Cykliczne badania dotyczące aktywności samych kleszczy są zatem niezbędne dla lepszego zrozumienia zagrożenia jakie niesie za sobą ich występowanie zarówno środowisku naturalnym jak i miejskim.

### 5.1.3. Występowanie kleszczy w środowisku miejskim i naturalnym

Urbanizacja stanowi jedno z najbardziej drastycznych i powszechnych przejawów zmian środowiska wynikających z działalności człowieka. Przewiduje się, że do 2050 roku ponad 70% światowej populacji ludzi będzie mieszkać w obszarach miejskich. W celu promowania różnorodności biologicznej, prawidłowego funkcjonowania ekosystemów oraz dobrostanu ludzkiego, podejmuje się coraz większe wysiłki w celu zachowania terenów zielonych w miastach i poprawy ich ekologicznej łączności. Niemniej jednak urbanizacja przyczynia się także do zwiększenia ryzyka ekspozycji ludzi na pasożyty i patogeny związane z zwierzętami (Heylen i wsp. 2019).

Przyjmuje się, że kleszcze żyją w lasach z dala od gospodarstw ludzkich, a tymczasem badania potwierdzają, że warunki środowiskowe występujące w miastach niczym nie odbiegają od tych, w których żyją w środowisku naturalnym i są równie odpowiednie dla tych pasożytów (Brites-Neto i wsp. 2015).

Zazwyczaj zmiany w gęstości kleszczy i występowaniu przekazywanych przez nie patogenów przypisywane są różnym wzajemnie oddziałującym czynnikom, takim jak temperatura i wilgotność, których wpływ został przedstawiony we wcześniejszym rozdziale, ale i dostępności odpowiednich żywicieli (Randolph 2004, Pugliese i Rosa 2008, Medlock i wsp. 2013). Zakres dostępnych żywicieli różni się w zależności od charakterystyki środowiska, szczególnie w kontekście porównania obszarów miejskich i naturalnych. W naturalnych lasach Europy, głównymi żywicielami kleszczy *I. ricinus* są przede wszystkim jeleniowate, dzikie gryzonie oraz ptaki (Hildebrandt i wsp. 2010, Overzier i wsp. 2013b, Rizzoli i wsp. 2014, Kilpatrick i wsp. 2017). W środowiskach miejskich istotną rolę jako żywicieli kleszczy odgrywają ludzie, zwierzęta domowe (głównie psy i koty), synantropijne gryzonie oraz ptaki (Nielsen i wsp. 2014, Welc-Falęciak i wsp. 2014, Aronson i wsp. 2016).

Znacznie mniej uwagi poświęca się faktowi, że kleszcze, podobnie jak inne organizmy, żyją w środowisku, niezależnie od tego, czy gatunek ludzki postrzega je jako naturalne czy miejskie. Na zmienność ich występowania może mieć wpływ znacznie więcej czynników niż tylko te, które związane są z temperaturą, wilgotnością i dostępnością pożywienia. Kleszcze nie zajmują pozycji na szczycie łańcucha pokarmowego, i podobnie jak inne organizmy, mają swoich naturalnych wrogów, pasożyty oraz patogeny (Mwangi *wsp.* 1991), które w zależności od lokalnego środowiska mogą wpływać na ich występowanie i liczebność. Niestety na te aspekty zwraca się bardzo mało uwagi, a dostępne dane literaturowe są znacznie ograniczone i niewspółmiernie mniejsze do tych, które opisują chociażby różnorodność potencjalnych żywicieli, na których kleszcze, takie jak *I. ricinus* czy *D. reticulatus*, spędzają jednak tylko 2% swojego życia (Randolph 1998, Randolph 2004, Gray *i wsp.* 2009). Niemniej jednak, nieliczni naukowcy skupili się na tym trudnym, ale bardzo interesującym zagadnieniu. Wśród drapieżników kleszczy wymienia się ryjówki, gryzonie, ptaki (w tym kury domowe), jaszczurki, pająki i mrówki. Wszystkie znane pasożyty należą do błonkówek rodzaju *Ixodiphagus* i *Hunterellus*. Do patogenów kleszczy zalicza się bakterie, grzyby, wirusy i co ciekawe, w kontekście niniejszych badań, riketsje (Mwangi *i wsp.* 1991).

Spośród interakcji drapieżnik-ofiara to mrówki wydają się być jednymi z najbardziej skutecznych drapieżników kleszczy. Zidentyfikowano ponad 27 gatunków mrówek z 17 rodzajów, które okazały się skuteczne w redukcji populacji różnych gatunków kleszczy. Jednak wpływ mrówek na kleszcze jest ściśle związany z gatunkiem mrówek, gatunkiem kleszczy, ich stadium rozwojowym i stanem fizjologicznym, co prowadzi do występowania znacznej zmienności w skutkach oddziaływania mrówek na kleszcze. Ponadto brakuje wystarczających danych dotyczących czynników determinujących relacje między mrówkami a kleszczami (Kar *i wsp.* 2022).

Obecnie uważa się, że istnieje co najmniej dziesięć gatunków błonkówek z rodzaju *Ixodiphagus* (z greckiego *ixod* - kleszcz i *phage* - jedzący), które są naturalnymi pasożytami kleszczy. Większość prób kontroli kleszczy za pomocą błonkówek pasożytniczych przeprowadzono około 100 lat temu, przy ograniczonej wiedzy na temat biologii tych błonkówek i ich interakcji z kleszczami. Istotne zmienne, które mogą bezpośrednio wpływać na skuteczność wykorzystania błonkówek jako metody biologicznej kontroli kleszczy, pozostały niewyjaśnione, w tym warunki klimatyczne, docelowy gatunek kleszcza i gęstość żywicieli kręgowców (Ramos *i wsp.* 2023). Bohacsova *i wsp.* (2016) w trakcie badań dotyczących wpływu *Arsenophonus nasoniae* na zabijanie *I. hookeri* wykryli obecność DNA

*R. helvetica* i *R. monacensis* u dorosłych pasożytniczych błonkówek. Może to być związane zarówno z trawiącym się DNA bakteryjnym w świetle ciała błonkówki, jak i z rolą błonkówek w cyrkulacji riketsji między wektorami kleszczy (Bohacsova i wsp. 2016).

Prowadzono również badania nad chorobami kleszczy. Wykazano, że bakterie takie jak *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas* sp. i *Staphylococcus* sp. *Serratia marcescens*, *Proteus mirabilis* i *Escherichia coli* mogą wywoływać śmierć kleszczy, zarówno w warunkach naturalnych, jak i laboratoryjnych. Badania nad grzybami, które zarażają kleszcze przeprowadzone zostały przez Samsinakova i wsp. (1974) w ówczesnej Czechosłowacji. Wyizolowali oni 17 gatunków grzybów z *D. marginatus*, *D. reticulatus* i *I. ricinus* zebranych w terenie. Najczęściej spotykanymi grzybami były *Aspergillus parasiticus*, *Beauveria tenella*, *B. bassiana*, *Cephalosporium coccorum* i *Paecilomyces fumosoroseus*. Natomiast w przypadku hodowanych laboratoryjnie kleszczy *Ornithodoros lahorensis*, *O. pavlova*, *O. moubata* i *A. persicus* stwierdzono, że cząsteczki wirusopodobne VLP (ang. *Virus-Like Particle*) były przyczyną owrzodzeń na różnych obszarach ciała, zwłaszcza deformacji części głębowej, owrzodzeń na powierzchni ciała, narośli przypominających guzy i brodawki (z owrzodzeniami lub bez), ze zmianami w kształcie, rozmiarze i liczbie w części głębowej, a także gangreny kończyn (Mwangi i wsp. 1991). Interesującym zagadnieniem w kontekście niniejszej pracy jest fakt, że bakterie z rodzaju *Rickettsia* mogą być patogenne dla samych kleszczy. W 1965 roku Rehacek wykorzystał *R. prowazeki* do sztucznego zakażenia samic *D. marginatus* i *D. albipictus* (Rehacek 1965). Zakażone samice umierały przedwcześnie, a produkcja jaj była zmniejszona. Wszystkie narządy zawierały duże ilości riketsji. Co prawda *Rickettsia* spp. są głównie uważane za endosymbionty kleszczy (Glass i wsp. 2022) to jednak jak wskazuje Niebylski i wsp. (1999) przeciążenie bakteryjne *Rickettsia* może prowadzić do zmniejszenia sprawności i przeżycia kleszczy, a w konsekwencji do niższych wskaźników zakażeń riketsjami w kolejnych latach. Podobne obserwacje przekazują Hauck i wsp. (2020), którzy wskazują, że w Niemczech wysokie występowanie *Rickettsia* w kleszczach w 2015 roku przyczyniło się do spadku ich liczebności od 2017 do 2018 roku w (Glass i wsp. 2022).

Innym interesującym i mało znanym zjawiskiem jest wpływ patogenów obecnych w kleszczach na ich fizjologię, zachowanie i aktywność. Niektóre patogeny przenoszone przez kleszcze są znane z zdolności wywoływania reprogramowania transkrypcyjnego w zakażonych kleszczach, co pozwala im manipulować gospodarzem. Jest to strategia, która pomaga patogenom rozmnażać się w najbardziej odpowiednim środowisku i warunkach, ale także wspiera kleszcze w przetrwaniu w środowisku pierwotnie dla nich mniej sprzyjających jak niska temperatura czy niższa wilgotność powietrza. Wśród patogenów wpływających na



kleszcze w ten sposób znajdują się *Anaplasma phagocytophilum*, *Ehrlichia chaffeensis*, *Borrelia burgdorferi* oraz wirus kleszczowego zapalenia mózgu (TBEV, ang. *Tick-Borne Encephalitis Virus*). W związku z tym istnieje możliwość, że takie patogeny mogą również wpływać na zdolności sensoryczne kleszczy oraz ich adaptację do zmieniającego się środowiska i klimatu. Autorzy zauważają, że zwiększona sprawność kleszczy, spowodowana zdolnością patogenów do modyfikowania ekspresji genów kleszczy, może mieć potencjał do przenoszenia się na kolejne pokolenia, przyspieszając w ten sposób adaptację ekologiczną kleszczy do środowisk, w których występują (Cabezas-Cruz i wsp. 2017).

Bardzo interesującym zagadnieniem, które pojawiło się w ostatnich latach, a mającym znaczenie w kontekście porównywania środowisk naturalnych z miejskimi, jest wpływ pola elektromagnetycznego (EMF; ang. *ElectroMagnetic Field*) na systemy biologiczne w tym również aktywność kleszczy. W ciągu ostatniego stulecia środowiskowe EMF uległo znaczącym zmianom wskutek wprowadzenia szerokiego i stale rosnącego spektrum działań i produktów człowieka generujących EMF. Głównymi źródłami sztucznego EMF są stacje radiowe, anteny telewizyjne, stacje bazowe telefonów komórkowych, smartfony i inne urządzenia elektroniczne (Frątczak i wsp. 2020, Vargova i wsp. 2022). Vargova i wsp. (2021) wykazali, że 60 minutowa ekspozycja na pole elektromagnetyczne o częstotliwości radiowej 900 MHz (standard GSM) na jaja *D. reticulatus* spowodowała wyklucie się larw o większych wymiarach ciała, w porównaniu nie tylko z grupą nieeksponowaną, ale także z innymi grupami eksperymentalnymi (Vargova i wsp. 2021). Kolejne badania Vargova i wsp. (2022) przeprowadzili na samcach *I. ricinus*, koncentrując się na wpływie pola elektromagnetycznego na ich zachowanie lokomocyjne. W wyniku eksperymentu stwierdzono, że samice *I. ricinus* poruszały się szybciej, pokonywały dłuższe dystanse i pozostawały dłużej w obszarze naświetlonym w obecności EMF o częstotliwości 900 MHz pochodzącym z telefonu komórkowego podczas rozmowy (Vargova i wsp. 2022). Wpływ EMF na fizjologię i zachowanie kleszczy został również zbadany przez Korotkov i wsp. (1996). Wykazali oni, że niska moc pola mikrofalowego znacząco wydłużyła okres wyklucia larw *Hyalomma asiaticum* od 3 do 20 dni, zwiększyła czas aktywności larw o 17-24 dni oraz skróciła przeżycie nienasyconych larw i nimf o 4-10 dni (Korotkov i wsp. 1996). Ponadto, ekspozycja na EMF hamowała rozwój nasyconych larw i nasyconych nimf w temperaturze 22°C, ale nie wpływa na nienasycone kleszcze (Korotkov i wsp. 2000). Dodatkowo, Vargova i wsp. (2017) wykazali, że EMF o częstotliwości 900 MHz wpływa na zachowanie kleszczy *D. reticulatus*, wywołując charakterystyczne ruchy drgające całego ciała oraz pierwszej pary nóg u kleszczy poszukujących gospodarza. Co więcej, Vargova i wsp. (2018) dowiedli, że

kleszcze są przyciągane przez EMF o częstotliwości 900 MHz i unikają EMF o częstotliwości 5000 MHz. Więcej kleszczy wybrało obszar naświetlany EMF o częstotliwości 900 MHz niż obszar nienaświetlany (0 MHz). Badacze sugerują, że kleszcze *D. reticulatus* są w stanie wykrywać określone częstotliwości EMF i doszli do wniosku, że sztucznie generowane EMF może wpływać na zachowanie i rozmieszczenie tych kleszczy (Frątczak i wsp. 2020).

Chociaż kleszcze wyraźnie wyczuwają i reagują na EMF, brakuje informacji dotyczących wpływu zakażenia konkretnymi patogenami na zachowanie kleszczy w stosunku do EMF. Jedynym dostępnym materiałem w tym temacie są badania Frątczak i wsp. (2020), którzy wykazali, że kleszcze *I. ricinus* poruszały się w kierunku obszaru eksponowanego na pole EMF o częstotliwości 900 MHz, a efekt ten był znacznie silniejszy u kleszczy zakażonych *Rickettsia* spp. Taka obserwacja sugeruje, że obecność patogenu może wpływać na reakcję kleszczy na bodźce środowiskowe. Analizując wyniki można postawić pytanie, czy sztucznie stworzone EMF może wpływać na aktywność *I. ricinus* i w taki sposób przyczyniać się do obserwowanych obecnie zmian w rozmieszczeniu tego kleszcza i jego patogenów w Europie i innych miejscach (Frątczak i wsp. 2020).

Mając na uwadze wszystkie powyższe aspekty, które mogą mieć wpływ na występowanie kleszczy zarówno w środowisku naturalnym, jak i miejskim możemy przystąpić do omówienia ich występowania na tych obszarach. Kleszcze charakteryzują się wysokimi zdolnościami reprodukcyjnymi. W pełni nasycona i zapłodniona samica *I. ricinus* może złożyć od 2000 do 3000 jaj, a samica *D. reticulatus* może złożyć od 3000 do 6000 jaj (Siuda 1991). Dlatego nawet krótka obecność końcowego stadium rozwojowego może zainicjować lub wzmocnić lokalną populację. Ponadto, ze względu na wysoką śmiertelność międzystadialną naturalnie występującą u kleszczy (około 80-90%), każde kolejne stadium rozwojowe w sposób naturalny i konsekwentny powinno być proporcjonalnie mniejsze od poprzedniego (Randolph 1998). Wymienione wcześniej stresory środowiskowe stanowią główne przyczyny nieprawidłowości morfologicznych, które mogą występować w każdym stadium rozwojowym w naturalnych populacjach kleszczy (Buczek i wsp. 2001, Shuaib i wsp. 2020). Przykładowo, efekt wysokiej wilgotności względnej na rozwój larwalny wykazał szkodliwy wpływ na rozwój zarodkowy *Hyalomma marginatum* (Buczek 2000). Badania przeprowadzone przez Buczek i wsp. (2001) potwierdziły, że kolchicyna, cytotoksyczny alkaloid pochodzenia roślinnego, powoduje śmierć jaj i zarodków, zakłócenie wylęgania larw oraz rozwój anomalii morfologicznych u larw. Ponadto, nieprawidłowości rozwojowe były

również obserwowane w środowisku o wysokiej presji antropogenicznej, choć dokładne przyczyny nie zostały zidentyfikowane (Alekseev i wsp. 2000, Zharkov i wsp. 2000).

Istnieje wiele badań dokumentujących obecność kleszczy w obszarach miejskich i podmiejskich, ale jak podkreślają Heylen i wsp. (2019) większość z nich nie uwzględniała zmienności w liczebności kleszczy. Warto również zaznaczyć, że chociaż dane literaturowe dotyczące kleszczy w miastach są obszerne, jeśli chodzi o *I. ricinus*, to informacje na temat *D. reticulatus* w środowisku miejskim są bardzo rzadkie (Grochowska i wsp. 2021). Część z tych badań polega na zbieraniu stałej liczby kleszczy do wykrywania patogenów (Tappe i wsp. 2014) lub koncentruje się na miejscach, gdzie wcześniej stwierdzono ich obecność (Junttila i wsp. 1999). Inne badania opierały się na małych próbkach (Hansford i wsp. 2017), ograniczonej liczbie miejsc (Cekanac i wsp. 2010, Nelson i wsp. 2015, Kazimirova i wsp. 2016) lub relacjonowały zmienność w liczbie kleszczy w różnych typach siedlisk, ale bez uwzględnienia otaczającego krajobrazu (Maetzel i wsp. 2005, Hornok i wsp. 2014, Krstic i wsp. 2016). Większość badań sugeruje trend występowania mniejszej liczby kleszczy w parkach miejskich lub innych obszarach zielonych blisko centrów miast (Heylen i wsp. 2019). W badaniu obejmującym obszary miejskie, rolnicze i naturalne w pięciu krajach (Włochy, Niemcy, Czechy, Słowacja i Węgry), Rosa i wsp. (2018) doszli do wniosku, że nie było istotnej różnicy między tymi trzema typami siedlisk. Należy jednak zaznaczyć, że wiele z włączonych parków miejskich było dużej wielkości lub związanych z małymi ośrodkami miejskimi. Ponadto, podkreśla się, że ciągłe długoterminowe badania monitorujące występowanie kleszczy są rzadkie (Glass i wsp. 2022).

Kompleksowe i długotrwałe badania dotyczące obecności kleszczy, a jednocześnie bakterii z rodzaju *Rickettsia*, są prowadzone przez naukowców w mieście Hanower w Niemczech. Od 2005 roku monitorują oni sukcesywnie obecność kleszczy w 10 lokalizacjach na terenie miasta. Badania wykazują, że kleszcze *I. ricinus* są powszechnie obecne w środowisku miejskim, a stosunek nimf do osobników dorosłych wynosi mniej więcej 1:1. Naukowcy zauważyli, że liczba kleszczy zebranych w latach 2017-2018 znacząco spadła co argumentowali niską wilgotnością podczas wiosny i lata 2018 roku. (Glass i wsp. 2022).

Innym badaniem, na które warto zwrócić uwagę, jest analiza występowania kleszczy w Antwerpii w Belgii, gdzie naukowcy podkreślają unikalność ich obserwacji na obecność i obfitość kleszczy oraz przenoszonych przez nie patogenów w kontekście urbanizacji (Heylen i wsp. 2019). Heylen i wsp. (2019) prowadzili systematyczny monitoring występowania kleszczy w mieście w latach 2014-2016. Ich obserwacje wskazują, że gęstości kleszczy była wyższa w 2016 roku niż w 2014 roku, a także wyższe wiosną niż jesienią. Naukowcy

zwracają również uwagę, że środowiska miejskie charakteryzują się znaczną fragmentacją siedlisk, gdzie ruch zwierząt dzikich może być silnie ograniczony (ale czasami także ułatwiony) przez infrastrukturę ludzką, taką jak budynki, drogi i kanały. Badacze stwierdzili również, że gęstość kleszczy maleje wraz z urbanizacją i zwiększa się w miarę stopnia łączności z potencjalnymi populacjami żywicieli (Heylen i wsp. 2019).

Badania dotyczące występowania kleszczy w środowisku miejskim były prowadzone również w Polsce. W 2011 roku Welc-Falęciak i wsp. (2014) przeprowadzili porównawcze analizy zakażenia kleszczy w granicach administracyjnych Warszawy oraz lasach północno-wschodniej Polski składających się na obszary parków narodowych i parków krajobrazowych. Łącznie zebrano 1589 kleszczy *I. ricinus*, z których 72% (1147) stanowiły nimfy, a 28% to osobniki dorosłe (241 samców i 201 samic). Obfitość kleszczy *I. ricinus* (nimfy i osobniki dorosłe) znacząco różniła się między miejscami badań i ogólnie była prawie dwukrotnie wyższa w środowiskach naturalnych niż miejskich. Niemniej jednak najwyższą gęstość stwierdzono w naturalnych lasach liściastych, tj. w Białowieskim Parku Narodowym i Mazurskim Parku Krajobrazowym, ale i w Lesie Bielańskim w Warszawie. Z kolei najniższa obfitość *I. ricinus* zaobserwowano w Kampinoskim Parku Narodowym i Lesie Kabackim w Warszawie, gdzie głównym gatunkiem drzewa jest sosna zwyczajna, *Pinus silvestris*. Różnice w ilości dotyczyły zatem bardziej rodzaju środowiska niż tego, czy kleszcze występowały w środowisku naturalnym czy miejskim. Nie zaobserwowano istotnych różnic w obfitości kleszczy między poszczególnymi miesiącami badań (Welc-Falęciak i wsp. 2014), ale należy zaznaczyć, że kleszcze były zbierane tylko przez trzy miesiące w jednym roku zbioru.

Bardziej obszerne badania dotyczące Warszawy zostały przeprowadzone w latach 2012-2014 przez Kowalec i wsp. (2017). Obserwacje dotyczyły występowania *I. ricinus* w wybranych półnaturalnych obszarach na północnym wschodzie Polski oraz w obszarach zurbanizowanych w centralnej Polsce. Monitorowano sześć lokalizacji, trzy w miejskich lasach lub parkach w Warszawie oraz trzy w lasach i parku miejskim w okolicy Białowieży. Podczas czterech lat badań dokonano łącznie 296 zbiorów: 82 w obszarach naturalnych i 214 w obszarach miejskich. Zebrano łącznie 4617 kleszczy *I. ricinus*: 2258 nimf, 1164 samic i 1195 samców. Największa liczebność kleszczy odnotowana została w 2015 roku, podczas gdy liczby w latach 2012-2014 wynosiły około połowę tego wyniku. Większa liczba kleszczy występowała w pierwszym okresie aktywności (wiosna-lato) w porównaniu do drugiego, choć była podobna w obu okresach w roku 2013. Średnia liczebność kleszczy była istotnie wyższa w obszarach naturalnych koło Białowieży, podczas gdy w miejskich lasach i parkach

Warszawy gęstość była o około 40% niższa. Chociaż ogólnie gęstość kleszczy była wyższa w obszarach naturalnych, w 2013 roku odnotowano podobną liczebność kleszczy w obu rodzajach obszarów. Chociaż liczebność kleszczy była wyższa w naturalnych siedliskach w pierwszym okresie aktywności kleszczy, to była bardzo podobna zarówno w obszarach miejskich, jak i naturalnych w drugiej okresie aktywności kleszczy (lato-jesień). Chociaż ogólnie liczba w miejskich i wiejskich parkach jest podobna, to zazwyczaj jest wyższa w naturalnych lasach w porównaniu do miejskich lasów. Istotne różnice wystąpiły w zagęszczeniu kleszczy między poszczególnymi miejscami badawczymi. Zarówno najwyższe, jak i najniższe zagęszczenie kleszczy odnotowano w miejscach w pobliżu Białowieży, w naturalnych obszarach leśnych. Co ciekawe, populacja kleszczy w obszarach naturalnych wydaje się wzrastać od 2013 roku, podczas gdy była dość stabilna w aglomeracji warszawskiej. Dodatkowo, zarejestrowano różnice w obfitości kleszczy między miejscami, co jak zauważają autorzy jest zgodne z innymi badaniami, podkreślając, że gęstość kleszczy zależy od lokalnych właściwości ich siedliska. Nie zauważono różnicy w liczbie dorosłych osobników, a raczej tylko w obfitości nimf. Autorzy zauważają również, że niższa liczebność kleszczy w parkach, w porównaniu do lasów, może być wyjaśniona praktykami konserwacyjnymi (bezpośrednim wpływem antropopresji), koszeniem trawy i izolacją od stosunkowo dużych żywicieli (takich jak przeżuwacze) poprzez ogrodzenia i fragmentację krajobrazu. Koszenie ogranicza tworzenie optymalnej struktury roślinności (zapewniającej optymalny mikroklimat) dla kleszczy, podczas gdy izolacja ogranicza dostęp dużych ssaków, żywicieli dla dorosłych samic, wpływając na rozmnażanie się kleszczy (Kowalec i wsp. 2017).

Przed rozpoczęciem badań opisanych w niniejszej pracy, inni badacze przeprowadzili trzy zbiory kleszczy na terenie Poznania. Pierwszy z nich miał miejsce w latach 1997-1998 i był związany z badaniami nad obecnością *B. burgdorferi* (Nowosad i wsp. 1999), drugi w latach 1998-1999 również skoncentrowany był na *B. burgdorferi* (Michalik i wsp. 2003), a trzeci w latach 2017–2018 i służył analizie występowania *Babesia canis* (Liberska i wsp. 2021), *Borrelia miyamotoi* (Liberska i wsp. 2023) oraz mikrosporydiów (Trzebny i wsp. 2022).

W latach 1997-1998 przeprowadzono monitoring występowania kleszczy w dziesięciu lokalizacjach na terenie miasta Poznania, z których część była zbliżona do obszarów analizowanych w niniejszej pracy. Łącznie zebrano 1432 osobniki *I. ricinus*, a dominującymi stadiami rozwojowymi były larwy (52,2%) i nimfy (41,2%). Warto zaznaczyć, że larwy odłowiono wyłącznie wiosną 1998 roku, stanowiąc 81,8% zebranych kleszczy w

Kiekrzu i Strzeszynku oraz 78,8% na Malcie i Antoninku. Natomiast wysoki odsetek nimf stwierdzono na większości stanowisk, przy czym największy procent odłowionych nimf odnotowano na Umultowie (98,0%) oraz w Naramowicach i Różanym Młynie (94,9%). Udział samców i samic był niski i identyczny dla obu płci (3,3%), z wyjątkiem stanowiska Piątkowo, gdzie odsetek osobników dorosłych wyniósł 53,2% wszystkich zebranych kleszczy. Zauważono znaczące różnice w ilości zebranych kleszczy między różnymi lokalizacjami. Najwięcej kleszczy odłowiono w Kiekrzu, Strzeszynku, na Malcie, Antoninku i Dębku, natomiast najmniej w lasach komunalnych w Marcelinie oraz Krzyżownikach i Smochowicach. W badaniach nad sezonową aktywnością kleszczy, zaobserwowano dwa szczyty. Pierwszy, wiosenny szczyt występował od kwietnia do maja i stanowił 95,1% zebranych osobników. Drugi, znacznie mniejszy szczyt jesienny występował we wrześniu, choć jego udział w odłowach kleszczy wynosił zaledwie 4,6% i trudno taki rezultat nazwać szczytem. Należy podkreślić, że przebieg aktywności sezonowej kleszczy różnił się w zależności od lokalizacji. Z powyższych informacji wynika, że obszary lasów komunalnych w Poznaniu z najwyższym zagęszczeniem kleszczy znajdują się na Dębku, w Kiekrzu, Strzeszynku, na Malcie i w Antoninku, a także w Krzyżownikach i Smochowicach (Nowosad i wsp. 1999).

W latach 1998-1999 przeprowadzono badania na terenie Poznania, ale obszar badawczy ograniczony był wyłącznie do lasu miejskiego położonego nad Jeziorem Rusałka, nad którym przeprowadzano również zbioru do niniejszej pracy. Michalik i wsp. (2003) dokonywali wówczas odłowów co miesiąc od maja do września 1998 roku i od maja do listopada 1999 roku. Łącznie zebrali 1123 kleszcze *I. ricinus*: 1002 nimfy, 69 samców, 52 samice. Najwięcej kleszczy znaleziono w biotopie o drzewach liściastych ( $n = 517$ ) i mieszanych ( $n = 441$ ), a najmniej ( $n = 165$ ) w lesie iglastym. Wśród zebranych stadiów rozwojowych kleszczy przeważały nimfy (89,2%) w stosunku do dorosłych (10,8%). Badacze zaobserwowali, że każdym roku na wszystkich miejscach zbiorów wzorzec sezonowej aktywności kleszczy był dwuszczytowy. W 1998 roku pierwszy główny szczyt (wiosna-lato) pojawił się w czerwcu, a drugi niższy (lato-jesień) we wrześniu. Szczyty były najbardziej wyraźne w lesie liściastym i mniej zaznaczone w drzewostanie iglastym. W 1999 roku kleszcze wykazywały również dwa szczyty, ale wystąpiły one o 1 miesiąc wcześniej (maj i sierpień) w porównaniu z rokiem 1998. Silny spadek aktywności kleszczy we wszystkich badanych miejscach wystąpił w czerwcu, który był wyjątkowo gorącym i suchym miesiącem (Michalik i wsp. 2003).

Ostatnie badania dotyczące występowania kleszczy na terenie miasta Poznania zostały przeprowadzone w latach 2017-2018 (Liberska i wsp. 2021, Trzebny i wsp. 2022, Liberska i wsp. 2023), co pokrywa się z okresem rozpoczęcia badań opisanych w niniejszej pracy. Miejscami zbioru kleszczy było pięć obszarów rekreacyjnych w Poznaniu: Kampus Morasko Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza, Jezioro Rusałka, Park Sołacki, Park Cytadela i Jezioro Maltańskie. Jako porównawcze tereny naturalne wybrano lasy w Murowanej Goślinie (w pobliżu Poznania) i Siemianicach (na południu województwa wielkopolskiego). Niestety kleszcze na terenie miasta Poznania zbierane były tylko od maja do września 2017 roku i w kwietniu 2018 roku. W badaniach uwzględniono również kleszcze odłowione z terenów naturalnych 4 lata wcześniej, które wg informacji autorów pochodziły z 2013 roku (zbiór: maj, czerwiec i wrzesień). Łącznie analizowano 1598 kleszczy *I. ricinus*, w tym 539 (200 larw, 324 nimf, 10 samic i 5 samców) ze środowiska leśnego oraz 1059 (30 larw, 460 nimf, 289 samic i 280 samców) z obszarów Poznania (Liberska i wsp. 2021, Trzebny i wsp. 2023, Liberska i wsp. 2022). Warto zaznaczyć, że nie odnotowano obecności żadnego przedstawiciela *D. reticulatus*, co czyni nimfę zebraną w lipcu 2018 roku w ramach niniejszej pracy na stanowisku PO-3 (Jezioro Maltańskie) pierwszym przypadkiem odkrycia tego gatunku w obrębie miasta Poznania. Spośród miejsc zbioru na terenie Poznania badacze najwięcej kleszczy, bo aż 637 odłowili nad Jeziorem Rusałka (1 larwa, 313 nimf, 170 samic i 153 samice), a kolejnym obszarem o znacznej ilości kleszczy było Jezioro Maltańskie, gdzie zebrano 253 osobniki (16 larw, 109 nimf, 65 samic i 63 samice). Następnie, pod względem obfitości, był Park Cytadela, gdzie odłowiono 69 osobników (4 nimfy, 24 samice i 41 samców) (Liberska i wsp. 2021, Trzebny i wsp. 2023, Liberska i wsp. 2022). Na terenach naturalnych najwięcej kleszczy *I. ricinus* (475 osobniki) zebrano w lasach nieopodal Murowanej Gośliny (156 larw, 312 nimf, 5 samic i 2 samce). W lasach niedaleko miejscowości Siemianice zebrano łącznie 64 osobniki *I. ricinus* (44 larwy, 12 nimf, 5 samic i 3 samce). Różnica w ilości zebranych kleszczy między tymi obszarami wynika z faktu, że lasy iglaste w okolicy Siemianic były zdominowane przez sosnę zwyczajną (*Pinus sylvestris*), co skutkowało uboższą warstwą ściółki w porównaniu do lasów w okolicach Murowanej Gośliny, które stanowią mieszane lasy liściasto-iglaste. Ciekawą, ale i naturalną w kontekście faktu, że każde poprzednie stadium powinno być liczniejsze od poprzedniego (Randolph 1998) jest obserwacja, że naukowcy na terenach naturalnych odłowili tak dużą liczbę larw. Jak sami zasugerowali zastosowali w tym wypadku kilka technik zbioru opisanych w innej swojej pracy (Wierzbicka i wsp. 2016) wykorzystujących między innymi sita entomologiczne do przesiewania ściółki. W publikacji do której się odnoszą (Wierzbicka

i wsp. 2016) prowadzili badania w tych samych obszarach naturalnych i tym samym roku (2013), które zostały wskazane przez Liberską i wsp. w swoich pracach z 2021 i 2022 roku. Uzyskali wówczas niemal identyczną liczbę zebranych kleszczy w zbliżonym stosunku stadiów rozwojowych jak blisko dekadę później - 540 kleszczy *I. ricinus* (198 larw, 327 nimf, 10 samic i 5 samców). Naukowcy dowiedli wówczas, że czynnościami skutkującym największym narażeniem na atak nimf było zbieranie drewna opałowego oraz siedzenie na kłodach, ale również zwykły spacer. Natomiast najbardziej ryzykownymi zachowaniami pod względem napotkania larw było opieranie się o pnie drzew i siedzenie na opadłych liściach (Wierzbička i wsp. 2016). Uzyskane rezultaty były podobne do tych jakie wcześniej uzyskał jeden ze współautorów badań na terenie Stanów Zjednoczonych (Lane i wsp. 2004). Wyniki uzyskane zatem zarówno na obszarze miasta Poznania jak i w lasach będących środowiskami naturalnymi informują nas o występowaniu kleszczy, ich ilościach i proporcjach występujących między stadiami rozwojowymi na terenach miejskich i naturalnych. Niestety nie sposób porównać ze sobą wyniki z tych dwóch obszarów ponieważ zbioru dokonywane były w różnych latach i za pomocą różnych technik.

Innym interesującym badaniem, cechującym się systematycznością i długotrwałością oraz ukazującym bezpośrednie narażenie ludzi na ukłucia przez kleszcze, były obserwacje przeprowadzone przez Pawełczyk i wsp. (2021). Naukowcy analizowali kleszcze dostarczane przez pacjentów do Diagnostycznego Laboratorium Chorób Pasożytniczych i Zoonotycznych AmerLab Ltd, firmy spin-off Uniwersytetu Warszawskiego i Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego w latach 2016-2019. Materiał do badań pochodził z całego terytorium Polski i był zbierany od marca do listopada każdego roku, obejmując zarówno gatunek *I. ricinus*, jak i *D. reticulatus*. Prawie wszystkie kleszcze zebrane od ludzi w okresie badawczym należały do *I. ricinus* (97%), pozostałe reprezentowały *D. reticulatus* (3%). Łącznie zebrano 1890 kleszczy *I. ricinus* od ludzi w trakcie badania, z czego 54 (2,9%) stanowiły larwy, 1298 (68,7%) nimfy, 524 (27,7%) samice i 14 (0,7%) samce. Większość tych kleszczy zebrano w latach 2018–2019 (odpowiednio 762 i 775), podczas gdy w latach 2016–2017 tylko 353 kleszcze zostały zanalizowane (odpowiednio 126 i 227). Zaobserwowano dwa szczyty aktywności kleszczy: pierwszy w czerwcu, a drugi w październiku; jednak średnia liczba zebranych kleszczy w październiku była prawie czterokrotnie niższa niż w czerwcu. W ciągu całego okresu badawczego larw nie zidentyfikowano w marcu, kwietniu i listopadzie. Największa liczba nimf (413 osobników) i dorosłych (148 osobników) została zarejestrowana w czerwcu. W całym okresie badawczym zebrano 63 kleszcze *D. reticulatus*, z czego 41 (65%) stanowiły samice, a 22 (35%) samce. Podobnie jak w przypadku *I. ricinus* większość



kleszczy *D. reticulatus* zebrano w latach 2018 i 2019 (54 osobniki stanowiące 85,7% całości), największa liczba kleszczy została zanotowana od marca do maja (po 21, czyli 30% wszystkich zebranych kleszczy), a w lipcu i sierpniu nie zaobserwowano żadnych kleszczy *D. reticulatus* (Pawełczyk i wsp. 2021).

W badaniach prowadzonych w ramach niniejszej pracy większa liczba kleszczy została zebrana w obszarze naturalnym niż miejskim. W 2018 roku w Wielkopolskim Parku Narodowym zebrano 64,9% ogółu, a w 2019 roku 52,5%. Obserwacja taka jest zgodna z innymi dokonywanymi w Europie (Heylen i wsp. 2019) i w Polsce (Kowalec i wsp. 2017). Niemniej jednak, w drugim roku zbiorów, wynik ten jest zbliżony do stosunku 1:1 o jakim informowali Rosa i wsp. (2018) oraz Welc-Falęciak i wsp. (2014). Warto zaznaczyć, że na terenie WPN różnica w ilości zebranych kleszczy między poszczególnymi latami wynosiła tylko 1% (9 sztuk). Natomiast w Poznaniu zanotowano istotny wzrost liczby zebranych osobników o 24,2% w 2019 roku w porównaniu z rokiem poprzednim. Taki wynik jest sprzeczny z obserwacjami przeprowadzonymi w aglomeracji warszawskiej, gdzie autorzy informują, że populacja kleszczy w obszarach naturalnych wydaje się rosnąć, podczas gdy populacja miejska pozostaje na stabilnym poziomie (Kowalec i wsp. 2017). Pomimo, że łączna liczba kleszczy w WPN między poszczególnymi latami różniła się tylko o 9 sztuk, to na poszczególnych stanowiskach różnice te wynosiły do kilkudziesięciu sztuk rok do roku. Dynamika w ilości osobników na poszczególnych stanowiskach występowała również na terenie miejskim. Co ciekawe, zarówno najmniejsza, jak i największa (większa nawet niż w WPN) liczba kleszczy została zebrana na terenie Poznania. Rezultat taki może zaskakiwać, ale podobne obserwacje dokonali również Kowalec i wsp. (2017) w Warszawie.

Interesującym aspektem, w którym dostrzegalne są największe różnice pomiędzy środowiskiem naturalnym a miejskim jest procentowy udział poszczególnych stadiów rozwojowych. W środowisku naturalnym w obu latach zbioru zdecydowanie dominującym stadium rozwojowym była nimfa. W 2018 roku stanowiła ona 90,8% wszystkich zebranych kleszczy, a w 2019 roku - 84,1%. Pozostałe stadia rozwojowe w większości przypadków stanowiły jedynie kilka procent ogólnej liczby. Taki wynik jest zgodny z naturalnym przebiegiem rozwoju kleszczy (Randolph 1998) oraz zgłaszanym przez większość badaczy w Europie (Suss i wsp. 1999, Barandika i wsp. 2006, Dobson i wsp. 2011) i w Polsce (Welc-Falęciak i wsp. 2014, Kowalec i wsp. 2017). Jednak tak wysoki udział nimf w zbiorze, sięgający 90% i więcej uzyskiwano głównie w Poznaniu i okolicach (Nowosad i wsp. 1999, Liberska i wsp. 2021). W takiej też proporcji, ze zdecydowaną przewagą nimf, kleszcze atakują ludzi co potwierdzają ostatnie badania (Pawełczyk i wsp. 2021). W środowisku

miejskim natomiast przewaga nimf nie była już tak wyraźna. Całkowity procent w obu latach zbioru był niższy niż w przypadku zbiorów przeprowadzanych w WPN i średnio wynosił 64,4% w całym okresie zbioru. Jednakże, jeżeli wyodrębnić z analizy miasta Poznania stanowisko położone nad Jeziorem Maltańskim (PO-3), które statystykami bardziej przypomina stanowiska z WPN niż pozostałe miejsca zbiórki z Poznania, wówczas uzyskamy bardzo ciekawy rezultat. Koncentrując się tylko na stanowisku PO-3, nadal można zaobserwować znaczną przewagę nimf nad pozostałymi stadiami rozwojowymi w obu latach zbiorów. Jednakże, gdy spojrzymy na pozostałe cztery stanowiska zbioru jako całość, zauważymy, że w 2018 roku nimfy stanowiły niewiele ponad połowę wszystkich zebranych kleszczy, a w 2019 roku wystąpiła już znaczna przewaga postaci dorosłych, sięgająca 62,4%. W przeciwieństwie do zbiorów w WPN przewaga nimf nie występowała jednak na wszystkich stanowiskach miejskich. W roku 2018 przewaga nimf nad pozostałymi stadiami występowała na stanowiskach położonych nad Jeziorem Strzeszyńskim, nad Jeziorem Maltańskim oraz w Parku Cytadela (PO-2, PO-3 i PO-4), natomiast w 2019 roku tylko na stanowiskach PO-2 i PO-3. Na pozostałych stanowiskach przewagę liczebną miały postaci dorosłe. O tym, że różnice w ilościach zbieranych kleszczy między środowiskiem naturalnym, a środowiskiem miejskim kształtuje głównie stadium nimfy informowali już Kowalec i wsp. (2017). Autorzy zwrócili uwagę, że te różnice wynikają z praktyk konserwacyjnych stosowanych na terenach zielonych w miastach. Widoczne jest to również w przypadku badań do niniejszej pracy, gdzie stanowisko na którym występowała największa liczba kleszczy niezależnie od podziału na teren miejski czy naturalny (PO-3), charakteryzowało się bardzo małym wpływem antropopresji, a ściółka zawsze składała się z opadłych liści tworząc idealny mikroklimat dla nimf. Ciekawym aspektem jest fakt, że bardzo podobne środowisko występowało w naturalnym Wielkopolskim Parku Narodowym, a mimo wszystko to na terenie miejskim występowała większa liczba kleszczy. Na innych stanowiskach, gdzie przeprowadzano prace konserwacyjne, takie jak grabienie czy koszenie trawy, liczby nimf była zdecydowanie mniejsza lub spadała do zera w czasie gdy zbiór był dokonywany bezpośrednio po takich zabiegach. Takimi miejscami były stanowisko nad Jeziorem Rusalka (PO-1) i stanowisko w Parku Cytadela (PO-4). Na stanowisku Nad Jeziorem Strzeszyńskim (PO-2) i nad rzeką Wartą (PO-5), gdzie nie przeprowadzano prac pielęgnacyjnych, ściółka była uboższa, często z powodu dominacji drzew iglastych (PO-2) lub z powodu wpływu destrukcyjnego działania człowieka (PO-5).

Warto zaznaczyć, że niektóre badania przeprowadzone w Poznaniu przez innych naukowców w przeszłości były wykonywane w tych samych miejscach. Niestety, w

niektórych przypadkach nie podawano współrzędnych geograficznych tych miejsc (Nowosad i wsp. 1999, Michalik i wsp. 2003), lub dostarczono ogólne współrzędne, które wskazują np. środek jeziora lub parku (Liberska i wsp. 2021). Podanie dokładnych współrzędnych geograficznych miejsc zbioru, jak to uczyniono w niniejszym badaniu, umożliwiłoby bezpośrednio porównanie wyników badań. Obecnie natomiast mamy lokalizacje określone z dokładnością do kilku kilometrów kwadratowych, mimo że nazwa lokalizacji sugeruje to samo miejsce. Niemniej jednak wspólnymi miejscami badań były: Strzeszynek i Malta (Nowosad i wsp. 1999) oraz Jezioro Rusałka (Michalik i wsp. 2003, Liberska i wsp. 2021), Park Cytadela i Jezioro Maltańskie (Liberska i wsp. 2021). Jezioro Maltańskie jako obszar zbioru występuje w trzech z czterech badań przeprowadzonych w Poznaniu. We wszystkich badaniach zdecydowanie dominującym stadium rozwojowym było stadium nimfy. Jednakże tylko w badaniach przeprowadzonych w ramach niniejszej pracy lokalizacja ta charakteryzowała się największą liczbą zebranych kleszczy. W pozostałych przypadkach, pomimo dużej ilości tych pasożytów, Jezioro Maltańskie zajmowało drugie miejsce. W badaniach Nowosad i wsp. (1999) najwięcej kleszczy zebrano nad Jeziorem Strzeszyńskim, natomiast w badaniach przeprowadzonych przez Liberska i wsp. (2021) najwięcej kleszczy (2,5 razy więcej niż nad Jeziorem Maltańskim) zebrano nad Jeziorem Rusałka. Dużą liczbę, ponad tysiąc kleszczy, nad Jeziorem Rusałka zebrali również Michalik i wsp. (2003). We wszystkich przypadkach nimfa była dominującym stadium rozwojowym. W Parku Cytadela zebrano podobnie niską ilość kleszczy co w niniejszym badaniu i wyraźnie przeważały osobniki dorosłe, a więc podobnie jak w drugim roku zbiorów obserwacji w ramach obecnej pracy.

Wbrew założeniom Randolpha (1998), gdzie stadium larwalne powinno dominować w środowisku, w niniejszym badaniu stadium larwy było zbierane w najmniejszej ilości, a w środowisku miejskim występowało wyłącznie nad Jeziorem Maltańskim. To zjawisko można tłumaczyć kilkoma czynnikami. Po pierwsze, larwy często gromadzą się w dużej liczbie na małej przestrzeni, tam gdzie samica złożyła jaja, co sprawia, że są trudne do odnalezienia. Po drugie, technika flagowania, polegająca na przeczesywaniu niskiej roślinności i opadłych liści, jest mało skuteczna w zbieraniu larw, które przebywają blisko gruntu. Po trzecie, larwy są bardzo małe, a gdy już zostaną złapane to bardzo trudno dostrzec 0,5 mm, niemal przezroczysty punkt na białej fladze o powierzchni 1 m<sup>2</sup>. Dużą liczbę występujących w środowisku miejskim i naturalnym larw uzyskali natomiast Liberska i wsp. (2021), którzy zastosowali kilka technik zbioru używając oprócz flagi m.in. sita entomologiczne oraz Nowosad i wsp. (1999), którym w pierwszym roku zbioru udało się natrafić na gniazda larw.

Zdecydowaną przewagę nimf nad postaciami dorosłymi odnotowuje się w większości przypadków w zachodniej i środkowej Europie. Taki stan rzeczy wydaje się być naturalny, biorąc pod uwagę liczbę składanych jaj oraz fakt, że naturalna śmiertelność między stadiami rozwojowymi kleszczy wynosi zwykle 80-90%. Dlatego można by oczekiwać, że każde kolejne stadium rozwojowe będzie proporcjonalnie mniejsze (Randolph 1998). Taką właśnie proporcję potwierdzają wyniki licznych badań. Przykładowo, stosunek nimf do postaci dorosłych wynosił 85:15 w Anglii (Dobson i wsp. 2011), 94:6 w Hiszpanii (Barandika i wsp. 2006), 85:15 we Włoszech (Dantas-Torres i Otranto 2013), 80:20 w Szwajcarii (Perret i wsp. 2000), 85:15 w Niemczech (Suss i wsp. 1999) oraz 65:35 w Obwodzie Królewieckim w Rosji (Dubinina i Makrushina 1997). Biorąc pod uwagę powyższe dane bardzo niezrozumiałe wydają się obserwacje dokonane przez Rogovskyy i wsp. (2017). W swoich badaniach autorzy informują, że stosunek ilości nimf do osobników dorosłych gatunku *I. ricinus* w Kijowie, stolicy Ukrainy wynosił 17:83. Co więcej, wcześniejsze badania przeprowadzane również w Kijowie w latach 1985–1999 i 2000–2013 donosiły o podobnej odwrotnej proporcji, wynoszącej odpowiednio 9:91 i 10:90 na korzyść osobników dorosłych. Jak informują sami autorzy dane te są zgodne z danymi uzyskanymi w innych częściach Ukrainy, a także z tymi pochodzącymi z środkowej Rosji (Rogovskyy i wsp. 2017). Taki stan rzeczy argumentują wysoką gęstością żywicieli, suchą glebą i innymi czynnikami, chociaż nie można wykluczyć, że technika zbierania kleszczy również wpłynęła na uzyskane wyniki.

W ostatnich latach zaobserwowano wzrost liczby populacji kleszczy zarówno w środowisku naturalnym, jak i miejskim, w wielu krajach europejskich. Przykłady takiego zjawiska można odnaleźć w państwach bałtyckich (Paulauskas i wsp. 2015), Polsce (Kubiak i wsp. 2018, Zajac i wsp. 2020, Kiewra i wsp. 2021, Dwużnik-Szarek i wsp. 2021) oraz Niemczech (Kohn i wsp. 2019, Silaghi i wsp. 2020). Również nowe gatunki kleszczy pojawiają się na obszarach wcześniej uważanych za wolne od kleszczy (Kiewra i wsp. 2019, Zięba i wsp. 2019). Ten rozwój sytuacji przyczynia się do zwiększenia zagrożenia epidemicznego oraz wzrostu ryzyka przenoszenia nowych lub rzadko występujących patogenów przez kleszcze (Zajac i wsp. 2021). Zmiany klimatyczne skutkują wzrostem liczby kleszczy i wydłużeniem czasu interakcji między kleszczami a ludźmi (Alonso-Carne i wsp. 2016, Cat i wsp. 2017).

## 5.2. Obecność bakterii z rodzaju *Rickettsia* w populacjach kleszczy

Spośród 26 znanych patogennych gatunków bakterii należących do rodzaju *Rickettsia* występujących w kleszczach (Piotrowski i Rymaszewska 2020), najczęstszymi gatunkami w populacjach centralnej i północnej Europy *I. ricinus* są *R. helvetica*, a następnie *R. monacensis* (Oteo i Portillo 2012, Merhej i wsp. 2014). W kleszczach *D. reticulatus* najczęstszymi gatunkami riketsji są *R. raoultii* oraz *R. slovaca* (Reye i wsp. 2013, Karbowski i wsp. 2016). Wysokie wskaźniki zakażenia *Rickettsia* spp. w kleszczach (41,8–53,0%) zgłaszano z różnych regionów Polski (Wójcik-Fatla i wsp. 2013, Mierzejewska i wsp. 2015, Zając i wsp. 2017). Co ciekawe, wskaźniki zakażenia zgłaszane w innych krajach europejskich nie są tak wysokie: 10,1-35,7% na Ukrainie (obszary miejskie) (Didyk i wsp. 2017, Rogovskyy i wsp. 2018), 14% w Holandii (obszary naturalne) (Nijhof i wsp. 2007) i 21.4% w Niemczech (obszary wiejskie) (Dautel i wsp. 2006).

*R. helvetica* została po raz pierwszy wyizolowana z kleszcza *I. ricinus* w Szwajcarii w 1979 roku. Jej występowanie w kleszczach w krajach europejskich waha się w granicach od 4,7% do 17,4% (Smetanova i wsp. 2006, Severinsson i wsp. 2010). Również w Polsce najczęściej stwierdzanym gatunkiem riketsji w kleszczach *I. ricinus* jest *R. helvetica* z poziomem zakażenia w zakresie od 1,3% do 11,4% (Biernat i wsp. 2016a).

*R. monacensis* została po raz pierwszy wyizolowana z kleszcza *I. ricinus* w Szwajcarii w 1994 roku, ale swoją nazwę zyskała w Niemczech w 2002 roku (Simser i wsp. 2002). Jej występowanie w *I. ricinus* waha się w granicach od 0,4-0,5% w Szwajcarii, Słowacji i Hiszpanii (Palomar i wsp. 2012, Lommano i wsp. 2014, Berthova i wsp. 2016) do wartości 3,1%, 3,9%, 7,9% i 8,3% w Niemczech, Rosji, na Węgrzech i w Szwecji odpowiednio (Hildebrandt i wsp. 2010, Movila i wsp. 2011, Elfving i wsp. 2010, Hornok i wsp. 2014). W Polsce pierwszą obecność *R. monacensis* zaraportowano dopiero w 2013 roku (Rymaszewska i Piotrowski 2013), a jej występowanie oscyluje w granicach 0,2% (Biernat i wsp. 2016b).

*R. raoultii* po raz pierwszy w Europie została opisana w 2001 roku podczas badań kleszczy *D. reticulatus* w europejskiej części Rosji (Shpynov i wsp. 2001). W krajach europejskich, w tym w Polsce, poziom zakażenia kleszczy *D. reticulatus* bakteriami *R. raoultii* występuje na podobnym poziomie i wynosi od 20% do 57% (Karbowski i wsp. 2016).

Znane są jednak przypadki, w których riketsje charakterystyczne dla *I. ricinus* identyfikowane są w kleszczach *D. reticulatus* i odwrotnie. Dane literaturowe potwierdzają

występowanie *R. helvetica* w kleszczach *D. reticulatus* w Chorwacji, gdzie poziom zakażenia osiągnął wartość 10% (Dobec i wsp. 2009) oraz w Czechach (Rudolf i wsp. 2016). Jeszcze rzadszym przypadkiem jest występowanie *R. raoultii* w kleszczach *I. ricinus*. Według najlepszej wiedzy istnieją dwie prace naukowe informujące o takim przypadku, obie wykonane w Polsce (Chmielewski i wsp. 2009, Michalski i wsp. 2021). Obserwacje te mogą znaleźć wytłumaczenie w ostatnich badaniach przeprowadzonych przez Buczek i wsp. (2023), którzy badali nieobserwowane nigdy wcześniej zjawisko dotyczące międzygatunkowych kontaktów płciowych pomiędzy samcami *I. ricinus* a samicami *D. reticulatus*. Naukowcy fenomen taki tłumaczą zaskakująco wysokim, w porównaniu z wynikami podobnych badań przeprowadzonych w Polsce i różnych częściach Europy, występowaniem patogenów *Rickettsia* spp. i *B. burgdorferi* s.l. w badanych przez siebie kleszczach (Buczek i wsp. 2023). Takie odkrycie może wskazywać, że kontakty oralno-analne (Ryc. 5) mogą być alternatywnym sposobem przenoszenia patogennych i niepatogennych organizmów między sympatrycznie występującymi różnymi gatunkami kleszczy.

### **5.2.1. Występowanie bakterii z rodzaju *Rickettsia* w środowisku miejskim i naturalnym**

Jak zostało przedstawione w poprzednich rozdziałach kleszcze występują powszechnie nie tylko na obszarach naturalnych, ale także w miejskich lasach i parkach oraz na zielonych terenach rekreacyjnych. Wiele badań skupiło się na roli miejskich kleszczy jako wektorów *Borrelia* spp., ale ich rola jako wektorów *Rickettsia* spp. jest mniej rozpoznawana. Istnieją badania dokumentujące obecność bakterii z rodzaju *Rickettsia* na obszarach miejskich i podmiejskich, ale duża ich część dotyczy Ameryki Północnej i Południowej oraz Azji. W Europie analizy takie są rzadsze dlatego każde z nich dostarcza cennych informacji.

Cykliczne badania dotyczące występowania bakterii z rodzaju *Rickettsia*, są prowadzone przez naukowców w mieście Hanower w Niemczech. Od 2005 roku monitorują oni sukcesywnie obecność *Rickettsia* spp. w 10 lokalizacjach na terenie miasta. W 2020 roku badacze rozpoznali zakażenie bakteriami z rodzaju *Rickettsia* w kleszczach *I. ricinus* na poziomie 36%. Wyższy procent zakażeń występował u osobników dorosłych z wartością 70,7% u samic i 34,9% u samców, natomiast u nimf wyniósł 33,2%. Naukowcy stwierdzili również różnice w procencie zakażeń między poszczególnymi miejscami zbioru, a także wystąpienie wyższego odsetka zakażeń w czerwcu (52,3%) niż w pozostałych miesiącach

zbioru. Biorąc pod uwagę cały kilkunastoletni okres badań wskaźniki zakażeń *Rickettsia* spp. wykazywały szeroki zakres zmienności między 26,2% a 50,8%. Wyższy odsetek występował w roku 2005 i roku 2015, a niższy w roku 2010 i roku 2020. Zjawisko takie autorzy tłumaczą faktem, że w wyniku wyższego procentu zakażeń może dochodzić do przeciążenia bakteryjnego kleszczy co w konsekwencji prowadzi do zmniejszenia odsetka zakażeń *Rickettsia* spp. w kolejnych latach (Glass i wsp. 2022).

Innym cyklicznym badaniem, również przeprowadzonym na terenie Niemiec była analiza występowania *Rickettsia* spp. (oraz *Babesia* spp. i *Bartonella* spp.) w kleszczach *I. ricinus* w pięciu południowo-niemieckich miastach (Monachium, Ratyzbona, Ingolstadt, Augsburg i Berg) (Schorn i wsp. 2011), która dwa lata później została powtórzona w dwóch z nich (Monachium i Ratyzbona) oraz uzupełniona o pastwiska i tereny naturalne. W drugim badaniu autorzy oprócz *Rickettsia* spp. skupili się również na *Babesia* spp. (Overzier i wsp. 2013b). W pierwszym badaniu procent zakażonych kleszczy zawierał się w zakresie od 6,4% do 7,7%, a w zależności od stanowiska zbioru między 3,6 a 12,2%. Kleszcze dorosłe były zakażone w 7,5%, nimfy w 6,8%, a larwy w zakresie od 2,1% do 9,8%. Naukowcy wszystkie 285 dodatknych prób poddali reakcji sekwencjonowania dla fragmentu genu *gltA* w wyniku którego scharakteryzowano 268 prób jako *R. helvetica* (wszystkie o identycznym składzie nukleotydowym) oraz 17 próbek zidentyfikowanych jako *R. monacensis*. Gatunek *R. helvetica* stanowił 95% wszystkich zebranych prób, a *R. monacensis* 5% całości. Autorzy zauważają, że *R. monacensis* w krajach południowych i wschodnich Europy występuje w kleszczach *I. ricinus* znacznie częściej niż krajach Europy Środkowej gdzie rejestrowana jest sporadycznie obok głównego czynnika zakaźnego jakim jest *R. helvetica* (Schorn i wsp. 2011). Wyniki monitoringu, które zostały opublikowane w 2013 roku wykazały obecność DNA *Rickettsia* spp. w kleszczach *I. ricinus* na poziomie 8,7%. Na obszarze miejskim postacie dorosłe zakażone były w 8,7%, a nimfy w 5,0%. Na pastwiskach odsetek zakażeń wynosił 13,3% u osobników dorosłych i 15,7% u nimf. Obszar naturalny charakteryzował się występowaniem *Rickettsia* spp. w kleszczach dorosłych na poziomie 13,9%, a nimf 17,5%. Podobnie do wcześniejszego badania sekwencjonowanie fragmentu genu *gltA* potwierdziło występowanie *R. helvetica* w większości prób. *R. monacensis* została zidentyfikowana tylko w jednym osobniku. Autorzy wykazali, że prewalencja *Rickettsia* spp. na terenach miejskich była niższa niż na obszarach naturalnych. Nie mniej *Rickettsia* spp. zostały zidentyfikowane na każdym stanowisku zbioru niezależnie od rodzaju środowiska (Overzier i wsp. 2013b).

Interesującą badanie przeprowadzili Radzijejskaja i wsp. (2015), którzy poddali analizie obecności *Rickettsia* spp. w kleszczach *D. reticulatus* i *I. ricinus* w różnych

regionach Litwy i Łotwy, a wyniki zestawili z kleszczami zebranymi w krajach położonych coraz dalej na południe aż do Morza Adriatyckiego (Polska, Słowacja i Chorwacja). Badacze analizie poddali imponująco dużą liczbę 63 lokalizacji, w których dokonywali zbiorów w maju i kwietniu 2013 i 2014 roku (38 lokalizacji na Litwie, 10 na Łotwie, 8 w Polsce, 5 w Słowacji i 2 w Chorwacji). Na Litwie *Rickettsia* spp. wykryto u 4,9% kleszczy *D. reticulatus* oraz u 17% kleszczy *I. ricinus*. W różnych lokalizacjach odsetek *Rickettsia* spp. w *D. reticulatus* i *I. ricinus* wynosił od 0% do 36,9% i od 0% do 31,3% odpowiednio. Nie stwierdzono istotnej różnicy w występowaniu *Rickettsia* spp. u samców (5,6%) i samic (4,5%) *D. reticulatus* ani w występowaniu *Rickettsia* spp. u samców (18,6%) i samic (17,2%) *I. ricinus*. Ogólna częstość występowania *Rickettsia* spp. w kleszczach *D. reticulatus* na Litwie i Łotwie była porównywalna. Wyższe ogólne wskaźniki zakażeń stwierdzono u *D. reticulatus* zbieranych w Polsce (15,8%) i na Słowacji (11,4%) z zakresem występowania w różnych lokalizacjach od 0% do 59,6%. Sekwencje *gltA* pochodzące od pozytywnych na *Rickettsia* spp. kleszczy *D. reticulatus* z Litwy, Łotwy, Polski i Słowacji były identyczne między sobą i wykazywały 99-100% podobieństwa do sekwencji *R. raoultii*. Zakażone riketsjami kleszcze *D. reticulatus* z jednej lokalizacji na Słowacji zawierały *R. slovacca*. Sekwencje *gltA* pochodzące od pozytywnych prób na *Rickettsia* spp. u osobników *I. ricinus* były identyczne między sobą i z sekwencjami *R. helvetica* zdeponowanymi w GenBanku. *R. raoultii* znaleziono w 66,7% badanych lokalizacji, a zarażone kleszcze *R. helvetica* stwierdzono w 93,8% badanych lokalizacji. Obecność zarówno *R. raoultii*, jak i *R. helvetica* jednocześnie wykryto w 35,7% lokalizacji, gdzie oba gatunki kleszczy współwystępowały (Radzijevskaia i wsp. 2015). Autorzy zaznaczają, że najwyższa prevalencja (59,6%) zakażenia *R. raoultii* u *D. reticulatus* została stwierdzona w północno-wschodniej Polsce, co jest zgodne z innymi badaniami przeprowadzonymi na wschodzie Polski (Wójcik-Fatla i wsp. 2013).

Porównanie występowania *Rickettsia* spp. w kleszczach na terenach miejskich i naturalnych przeprowadzili również polscy naukowcy, którzy swoje badania wykonywali w 2011 roku (Welc-Falęciak i wsp. 2014) oraz w latach 2012 do 2015 (Kowalec i wsp. 2019). W 2011 roku (maj, lipiec, wrzesień) badania monitorujące dotyczyły dwóch lokalizacji na obszarze Warszawy (Las Bielański i Las Kabacki) oraz trzech na obszarach naturalnych (Kampinoski Park Narodowy, Białowiecki Park Narodowy i Mazurski Park Krajobrazowy). Badacze wykazali wówczas, że częstość występowania *Rickettsia* spp. była około 2,5 razy wyższa na obszarach miejskich niż na terenach naturalnych. Niestety ze względu na to, że autorzy ekstrahowali DNA z kleszczy w stadium nimfy w pulach po 10 osobników i przyjęli



zasadę minimalnego wskaźnika zakażenia, MIR (ang. *Minimal Infection Rate*), trudno jest wskazać rzeczywisty poziom zakażenia nimf bakteriami z rodzaju *Rickettsia*. Autorzy zauważyli również, że częstość występowania *Rickettsia* spp. była istotnie wyższa w lasach o niskiej gęstości kleszczy niż w lasach o dużej gęstości kleszczy. Analiza sekwencji fragmentu genu *gltA* wykazała obecność dwóch gatunków riketsji: *R. helvetica* (95% przebadanych kleszczy i *R. monacensis* (5% przebadanych kleszczy) (Welc-Falęciak i wsp. 2014). W latach 2012-2015 badacze analizowali te same miejsca zbioru, ale na terenie Warszawy dołączyli park w Łazienkach Królewskich. Ogółem 5,6% kleszczy było zarażonych przez *Rickettsia* spp., w tym 8,9% osobników dorosłych. Nimfy niestety również były mierzone wg wskaźnika MIR. Więcej kleszczy było zakażonych riketsjami na obszarach miejskich (6,5%) niż na obszarach naturalnych (4,4%). Najniższa, jak i najwyższa prevalencja występowania kleszczy miała miejsce na obszarze naturalnym. Co ciekawe występowanie *Rickettsia* spp. wzrosło od 2013 roku i było dwukrotnie wyższe w 2014 i 2015 roku niż w 2012 roku. Po sekwencjonowaniu fragmentu genu *gltA* uzyskano 100% podobieństwa do trzech gatunków riketsji: *R. helvetica*, *R. monacensis* oraz niedawno opisanego i po raz pierwszy zidentyfikowanego w Polsce *Candidatus R. mendelii* (Kowalec i wsp. 2019).

Badania mające na celu zbadanie rozpowszechnienia patogenów przenoszonych przez kleszcze *D. reticulatus* usuniętych z ludzkiej skóry przeprowadzili Koczwarska i wsp. (2023). Łącznie 2153 kleszczy usunięto z uczestników badania w okresie 2021-2022, a spośród nich tylko 34 (1,6%) reprezentowało *D. reticulatus*. Średnia prevalencja *Rickettsia* spp. w *D. reticulatus* wynosiła 50,0%, a *R. raoultii* zidentyfikowano w 82,4% przypadków. Nie zaobserwowano różnic między stadium rozwojowym kleszcza, rokiem badania ani obszarami miejskimi i wiejskimi. Nie wykryto DNA *A. phagocytophilum*, *B. burgdorferi* s.l. czy *Babesia* spp. (Koczwarska i wsp. 2023).

W badaniach prowadzonych w ramach niniejszej pracy DNA bakterii z rodzaju *Rickettsia* wykryto u 12,9% odłowionych kleszczy: 12,8% dla *I. ricinus* i 40% dla *D. reticulatus*. Ogólny wynik prevalencji bakteriami z rodzaju *Rickettsia* w kleszczach *I. ricinus* był nieznacznie wyższy od górnej granicy występowania w Polsce (11,4%) (Biernat i wsp. 2016a). Jeszcze większa różnica dostrzegalna jest jeżeli weźmiemy pod analizę wyłącznie obszar WPN, gdzie poziom zakażenia kleszczy *Rickettsia* spp. osiągnął poziom 15,5%. Zarówno liczba, jak i odsetek zakażonych kleszczy były niższe na obszarze Poznania i osiągnął poziom 9,4%. Mimo tego wynik ten jest wyższy w porównaniu z rezultatami zakażeń na obszarach miejskich otrzymanymi przez naukowców z Warszawy (6,5%) (Kowalec i wsp. 2019). Interesujące jest również to, że podczas analizy występowania

*Rickettsia* spp. na terenie Warszawy w porównaniu z obszarami naturalnymi to właśnie na obszarze miejskim riketsje występowały w wyraźnie przeważającym stopniu (Kowalec i wsp. 2019), a w 2011 roku był nawet 2,5 razy wyższy (Welc-Falęciak i wsp. 2014). Tymczasem w Poznaniu wynik ten jest o blisko 40% niższy i odpowiada rezultatom otrzymanym przez badaczy z południowych Niemiec (Overzier i wsp. 2013b) i Czech (Venclikova i wsp. 2014).

Niezwykle intrygującym zjawiskiem zaobserwowanym w ramach niniejszej pracy jest wyraźnie niższy poziom zakażenia kleszczy bakteriami z rodzaju *Rickettsia* w jednym miesiącu w każdym roku badawczym, niezależnie od obszaru odłowu. W przypadku terenu WPN różnica widoczna jest w przypadku miesiąca kwietnia, w którym każdego roku zbiorów obserwujemy niższy poziom zakażenia kleszczy, niż sugerowałyby to ogólna liczba aktywności tych pasożytów w tym okresie. W Poznaniu do podobnego zjawiska dochodziło miesiąc później w każdym roku zbiorów. Analiza danych sugeruje, że nieznaną czynnik zewnętrzny może wpływać na spadek poziomu zakażenia kleszczy w konkretnym miesiącu, przy czym różni się to w zależności od tego, czy kleszcze występują w środowisku naturalnym czy miejskim. O możliwych sezonowych różnicach w dynamice występowania *Rickettsia* spp. informowali już inni autorzy (May i Strube 2014, Glass i wsp. 2022), choć cykliczność jego występowania została dostrzeżona w niniejszym badaniu. Inni badacze dostrzegli natomiast, że sezonowa zmienność w zakażeniach kleszczy *Rickettsia* spp. jest charakterystyczna dla tego rodzaju i nie występuje w przypadku np. bakterii *A. phagocytophilum*, której obecność była analizowana jednocześnie z *Rickettsia* spp.

Analiza sekwencji fragmentu genu *gltA* w ramach niniejszej pracy wykazała obecność trzech gatunków riketsji. W kleszczach *I. ricinus* zidentyfikowano *R. helvetica* i *R. monacensis*, a w kleszczach *D. reticulatus* wykryto DNA *R. raoultii*.

Występowanie *R. helvetica* potwierdzono we wszystkich lokalizacjach zbioru, zarówno na terenie miejskim jak i naturalnym. Obserwacja ta jest zgodna z wcześniejszymi badaniami innych autorów (Overzier i wsp. 2013b, Welc-Falęciak i wsp. 2014, Kowalec i wsp. 2019). Patogen ten był obecny we wszystkich stadiach rozwojowych, łącznie ze stadium larwy co może potwierdzać transowarialnie przenoszenie tego patogenu w kleszczach *I. ricinus* (Hauck i wsp. 2020). Łączny procent zakażenia kleszczy *I. ricinus* na terenie WNP zawierał się w granicach od 13,8% do 15,9% (w 2018 roku i 2019 roku odpowiednio) i był w przybliżeniu dwukrotnie wyższy u osobników dorosłych w porównaniu z nimfami. Na terenie Poznania poziom zakażenia był niższy i niemal identyczny w obu latach zbioru osiągając średnią wartość 9,1%. W przeciwieństwie do WPN również procent zakażenia pomiędzy stadiami rozwojowymi był na przybliżonym poziomie. Taka obserwacja jest po

części zgodna z danymi, które przekazują naukowcy przeprowadzający badania w mieście Hanower w Niemczech (Overzier i wsp. 2013b), choć prewalencję podają dla całego rodzaju, ale 95% zidentyfikowanych gatunków stanowiła jednak *R. helvetica*. Stosunek zakażenia kleszczy w innych polskich badaniach niestety jest trudno porównać ze względu na zastosowaną przez autorów metodę oceny (Welc-Falęciak i wsp. 2014, Kowalec i wsp. 2019). Sekwencje *gltA* pochodzące od pozytywnych prób na *Rickettsia* spp. u osobników *I. ricinus* były identyczne między sobą i z sekwencjami *R. helvetica*, które zostały uzyskane w niemal wszystkich krajach Europy z kleszczy *I. ricinus* zebranych zarówno w środowisku naturalnym jak i miejskim. Jeden izolat pochodził z narządów myszy leśnej (*Apodemus flavicollis*), a jeden z kleszcza *I. ovatus* odłowionego w Chinach (Tab. 49). Identyczność identyfikowanych izolatów *R. helvetica* jest zatem powszechna na terenie Polski i Europy (Overzier i wsp. 2013b, Welc-Falęciak i wsp. 2014, Kowalec i wsp. 2019).

Występowanie *R. monacensis* potwierdzono w trzech lokalizacjach na terenie WPN i dwóch na terenie miasta Poznania. Obecność DNA *R. monacensis* w kleszczach *I. ricinus* stwierdzono w 0,6% osobników w WPN i 0,3% osobników w Poznaniu. Poziom zaobserwowanego zakażenia jest zatem porównywalny z tym raportowanym przez badaczy z Szwajcarii, Słowacji i Hiszpanii (Palomar i wsp. 2012, Lommano i wsp. 2014, Berthova i wsp. 2016) i wyższy niż założone dla Polski 0,2% (Biernat i wsp. 2016b). Obecność tego patogenu wykryto jedynie u samic i nimf. Porównanie uzyskanych wyników z innymi badaniami jest trudne, głównie dlatego, że występowanie *R. monacensis* jest rzadkie. Zebranie odpowiedniego materiału porównawczego do analizy występowania *R. monacensis* zarówno na terenach miejskich, jak i naturalnych jest wyzwaniem, dlatego naukowcy ograniczają swoje dane do informacji o samym wykryciu tego patogenu. Sekwencje *gltA* pochodzące od pozytywnych prób na *Rickettsia* spp. u osobników *I. ricinus* były identyczne między sobą i z sekwencjami *R. monacensis*, które zostały uzyskane z kleszczy *I. ricinus* w krajach europejskich zebranych zarówno w środowisku naturalnym jak i miejskim. Jeden izolat pochodził z narządów pozyskanych z myszy leśnej (*Apodemus flavicollis*), jeden z tkanki serca nietoperza borowca wielkiego (*Nyctalus noctula*) i jeden z krwi psa (*Canis lupus familiaris*) pozyskanej na jednej z wysp Republiki Zielonego Przylądka (Tab. 50) (Overzier i wsp. 2013a, Morganti i wsp. 2017, Borsan i wsp. 2021). Podobnie jak w przypadku *R. helvetica* obserwacja ta potwierdza homogenność tego gatunku na terenie Europy.

Występowanie *R. raoultii* w potwierdzono w 40% kleszczy *D. reticulatus* w dwóch lokalizacjach na obszarze WPN. Na terenie Poznania nie stwierdzono obecności tej bakterii, ale należy podkreślić, że łącznie odłowiono 10 osobników *D. reticulatus* w tym jeden w

Poznaniu i były to pierwsze przypadki występowania tego gatunku kleszcza na badanym obszarze. Pomimo małej liczby odłowionych kleszczy procent ich zakażenia jest zgodny z tym jaki został zaobserwowany na terytorium Polski w innych badaniach. Należy zauważyć, że prewalencja kleszczy tym patogenem jest dużo wyższa niż w przypadku *R. helvetica* i bardzo często przekracza 50% (Wójcik-Fatla i wsp. 2013, Radzijevszkaja i wsp. 2015, Koczwarska i wsp. 2023). Dane literaturowe dotyczące występowania *R. raoultii* na terenach miejskich są rzadkością. Didyk i wsp. (2017) potwierdzili występowanie *R. raoultii* w kleszczach *D. reticulatus* w parkach miejskich Kijowa na poziomie 10,1%, a Kolomiets i wsp. (2022) w Winnicy, również w Ukrainie, wykazali pozioma zakażenia w tamtejszych parkach na poziomie od 5% do 68%. Sekwencje *gltA* pochodzące od pozytywnych prób na *Rickettsia* spp. u osobników *D. reticulatus* były identyczne między sobą i z sekwencjami *R. raoultii*, które zostały uzyskane z kleszczy *H. marginatum* na terenie Portugalii i Turcji, kleszczy *D. marginatus* w Serbii oraz z kleszczy *D. reticulatus* na terenie Polski, Danii, Węgier i Ukrainy. Izolaty były również identyczne z sekwencjami uzyskanymi z krwi psa (*Canis lupus familiaris*) i kilku gatunków kleszczy na terytorium Chin i Mongolii (Tab. 51) (Fernandez de Mera i wsp. 2013, Liu i wsp. 2020, Kolomiets i wsp. 2022). Takie dane informują, że *R. raoultii* charakteryzują się niską swoistością względem gospodarza (identyczna sekwencja nukleotydowa odnaleziona w 5 różnych gatunkach kleszczy) oraz znaczną dynamiką rozprzestrzeniania co w krótkim czasie może doprowadzić do zwiększenia znaczenia medycznego tego gatunku w Europie.

### 5.2.2. Identyfikacja molekularna bakterii z rodzaju *Rickettsia*

Historycznie analiza bakterii z rodzaju *Rickettsia* oparta była wyłącznie o analizę genu kodującego 16S rRNA jednak nie umożliwiała zobrazowania międzygatunkowego zróżnicowania (Roux i wsp. 1997). Większą czułością i odpowiednio dużym zróżnicowaniem nukleotydowym pozwalającym na lepsze przedstawienie różnic genetycznych w obrębie rodzaju *Rickettsia* cechują się geny *ompA*, *ompB* oraz *htrA* (Roux i wsp. 1996, Roux i Raoult 2000, Sekeyova i wsp. 2001). Jednakże, ze względu na trudności napotymane przez naukowców w analizie tych genów, wykorzystuje się je głównie do badania pokrewieństwa ewolucyjnego. Znaczenie tych markerów jako narzędzi do szybkiego wykrywania i identyfikacji riketsji jest ograniczone i często eliminowane. Z tego też względu diagnostyka bakterii z rodzaju *Rickettsia* opiera się głównie o fragment konserwatywnego genu jakim jest *gltA* (Roux i wsp. 1997). Alternatywnym sposobem do szybkiego wykrywania i identyfikacji

riketsji jest sekwencja ITS zawarta między genami kodującymi 23S i 5S rRNA, której przydatność do rozróżnienia *R. helvetica* od *R. monacensis* została wykazana we wcześniejszym opracowaniu (Rymaszewska i Piotrowski 2013). W ramach niniejszej pracy w celu identyfikacji gatunkowej już na poziomie reakcji PCR wykorzystano trzy markery. Fragment genu *gltA* wykorzystano w celu identyfikacji *Rickettsia* spp. w kleszczach, który na żelu agarozowym uwidacznia prążek o długości 381 pz (Roux i wsp. 1997). W celu identyfikacji *R. monacensis* wykorzystano sekwencję ITS, która standardowo na żelu uwidacznia prążek o długości 530 pz (Vitorino i wsp. 2003), a w przypadku występowania *R. monacensis* daje prążek o długości 380 pz (Rymaszewska i Piotrowski 2013). W celu identyfikacji riketsji innych niż *R. helvetica* zastosowano marker *ompA*, który na żelu uwidacznia prążek o długości 532 pz (Roux i wsp. 1996). Wszystkie 32 zsekwencjonowane próby potwierdziły pierwotne założenia. DNA *R. helvetica* wykryto w próbach dodatnich dla *gltA* i ITS, ale ujemnych dla *ompA*. DNA *R. monacensis* wykryto w próbach dodatnich dla *gltA* i *ompA* oraz z prążkiem ITS o 150 nukleotydów krótszym niż dla *R. helvetica*. DNA *R. raoultii* wykryto w próbach dodatnich dla *gltA* i *ompA*, ale ujemnych dla ITS.

Powyższe rezultaty potwierdzają, że w przypadku braku na rynku odpowiednich szybkich testów diagnostycznych wiedza o tym jakie patogeny występują na danym obszarze uzupełniona o odpowiednio dobrane markery pozwala skrócić czas identyfikacji riketsji o długotrwały i kosztowny proces sekwencjonowania. Oczywiście jest, że metoda ta wymagałaby sprawdzenia w innych krajach europejskich, w których występuje szerszy skład gatunkowy *Rickettsia* spp. Niemniej jednak przy obecnym stanie wiedzy zaproponowana procedura umożliwi stosunkowo szybkie i tanie rozpoznanie gatunkowe patogenów z rodzaju *Rickettsia* występujących na terytorium Polski. Oczywiście biorąc pod uwagę dynamikę w rozmieszczeniu kleszczy a tym samym riketsji przez nie transmitowanych należy stale kontrolować skład gatunkowy *Rickettsia* spp. występujący na danym obszarze.

Podczas analizy porównawczej otrzymanych sekwencji z tymi zdeponowanymi w GenBank zidentyfikowano dwa izolaty *R. raoultii*, które zostały niepoprawnie opisane jako *R. aeschlimannii* (Amanzougaghene i wsp. 2017, McGinley i wsp. 2021). Niestety kontrowersji dotyczących opisów sekwencji *Rickettsia* spp. w GenBank jest znacznie więcej. Świadczyć o tym mogą prace Boretti i wsp. (2009), którzy sekwencję ITS oznaczyli jako gen kodujący 23S rRNA, czy też prace Vitorino i wsp. (2003, 2007), którzy identyczną sekwencję ITS przyporządkowują trzem różnym gatunkom.

Badania nad *Rickettsia* spp. wymagają jeszcze wiele wysiłku, rzetelności i konsekwencji. Chcąc oczekiwać szybkiej i bezbłędnej identyfikacji bakterii, a zarazem

diagnostyki riketsjoz należy zwrócić szczególną uwagę na pracę u podstaw, tak aby każdy kolejny etap badań prowadził do prawidłowego rozpoznania zagrożenia jakie bezsprzecznie niesie za sobą występowanie chorobotwórczych riketsji w sąsiedztwie ludzi i zwierząt mu towarzyszących.

### 5.3. Zagrożenia zdrowotne występowania bakterii z rodzaju *Rickettsia*

W Polsce badania dotyczące występowania i różnorodności *Rickettsia* spp. w kleszczach *I. ricinus* były niewielkie, a temat ten jest zaniedbany w porównaniu z innymi patogenami przenoszonymi przez kleszcze (Welc-Falęciak i wsp. 2014). Co więcej dane literaturowe dotyczące wskaźników zakażenia u *D. reticulatus*, zwłaszcza w obszarach miejskich, są znacznie rzadsze niż te dla *I. ricinus*, a pierwsze zgłoszenie zakażenia *D. reticulatus* na terenie miejskim kilku patogenów, w tym *Rickettsia* spp. w Polsce nastąpiło dopiero w 2021 roku (Grochowska i wsp. 2021). W dodatku ze względu na to, że kleszcze *D. reticulatus* są sporadycznie usuwane z ludzkiej skóry skutki medyczne ich żerowania są zaniedbywane w porównaniu do *I. ricinus* (Koczwarska i wsp. 2023). Pomimo, że bakterie należące do rodzaju *Rickettsia* są jednymi z najczęściej spotykanych patogenów w kleszczach *D. reticulatus* i *I. ricinus* w Europie (Welc-Falęciak i wsp. 2014) to wciąż brakuje danych dotyczących występowania i rozpowszechnienia riketsji z grupy gorączek plamistych zwłaszcza w krajach nadbałtyckich (Radzijevskaia i sp. 2015).

Choroby odkleszczowe w Europie stały się coraz bardziej widoczne od pojawienia się boreliozy z Lyme na początku lat 80., a zachorowalność na tę chorobę oraz na kleszczowe zapalenie mózgu (KZM) dramatycznie wzrosły w ciągu ostatnich dziesięcioleci. Co roku w Europie zgłasza się ponad 232 000 nowych przypadków boreliozy z Lyme (Rogalska i wsp. 2021) z czego w Polsce odnotowuje się średnio 20 000 nowych przypadków rocznie (Piotrowski i Rymaszewska 2022). Na KZM, najważniejszą chorobę przenoszona przez kleszcze w Europie i Azji, zapada rocznie ponad 10 000 osób na całym świecie (Dobler i wsp. 2023) i ponad 250 osób w Polsce (Mrozowska-Nyckowska i wsp. 2022). Wzrost zgłaszanych przypadków na KZM obserwuje się pomimo dostępności bardzo skutecznych szczepionek (Dobler i wsp. 2023). Biorąc pod uwagę prewalencję kleszczy krętkami *Borrelia* spp., to zarówno w krajach europejskich, jak i w Polsce zawiera się w zakresie od 4% do ponad 25% i nie wykazuje różnicy między obszarami zurbanizowanymi a naturalnymi (Kowalec i wsp. 2017). Prewalencja TBEV w kleszczach *I. ricinus* jest jeszcze niższa i

wynosi od 0,1 do 5,0% (Ott i wsp. 2020), natomiast w kleszczach *D. reticulatus* osiąga poziom 10,8% (Wójcik-Fatla i wsp. 2011).

Jak przedstawiono wyżej prewalencja *Rickettsia* spp. w kleszczach *I. ricinus* w zależności od kraju europejskiego może zawierać się w granicach od 10,1% do 35,7% (Didyk i wsp. 2017, Rogovskyy i wsp. 2018), a w kleszczach *D. reticulatus*, szczególnie w Polsce, może przekroczyć granicę 50% (Karbowiak i wsp. 2016). Jednakże, zgodnie z ostatnim raportem ECDC, który opublikowano dekadę temu (2013) i który dotyczył zachorowań na riketsjozy w latach 2000-2010, odnotowano zaledwie 5 903 przypadki riketsjoz w ciągu całego okresu nadzoru, w tym 4 609 zgłoszeń z Włoch. W Polsce, zgodnie z danymi z raportów epidemiologicznych z ostatniego dziesięciolecia, rejestrowano od 0 do 9 przypadków riketsjoz rocznie (dane według Narodowego Instytutu Zdrowia Publicznego - Państwowego Zakładu Higieny). Jak widać nie tylko w Polsce, ale i w większości krajów europejskich riketsjozy przenoszone przez kleszcze, spowodowane przez *Rickettsia* spp., są rzadko diagnozowane pomimo prewalencji wyższej od patogenów odkleszczowych ze znacznie większą rozpoznawalnością.

W wielu krajach istnieje obowiązek rejestracji chorób odkleszczowych, a wyniki dostępne są w postaci systematycznych krajowych raportów. Ponadto informacje na temat riketsjoz z krajów europejskich gromadzi ECDC, a z terenu Stanów Zjednoczonych CDC (Centers for Disease Control and Prevention). Zgromadzone dane są jednak niekompletne i mało wiarygodne, a wpływa na to fakt, że większość definicji przypadków chorób przenoszonych przez kleszcze nie jest znormalizowana. Wynika to częściowo z niejednorodności warunków epidemiologicznych, ale także z różnej dostępności testów diagnostycznych w poszczególnych krajach oraz z różnych ocen ich znaczenia przez krajowe organy ds. zdrowia (Hai i wsp. 2014). Ponadto na obniżoną skuteczność raportowania chorób odkleszczowych mogą mieć wpływ takie czynniki jak pandemia COVID-19 o czym informowali w swojej pracy Piotrowski i Rymaszewska (2022). Raporty mogą być również mało skuteczne ze względu na fakt, że w rejonach małego rozpowszechnienia chorób riketsyjnych łagodne postacie będąc na tyle rzadkimi mogą nie być w ogóle identyfikowane przez lekarzy lub ze względu na niespecyficzne objawy po prostu źle diagnozowane (Kowalec i wsp. 2019). W badaniach przeprowadzonych przez Koczwarska i wsp. (2023) u jednego z pacjentów zakażenie *Rickettsia* zostało zdiagnozowane przez lekarza rodzinnego na podstawie czarnego strupa w miejscu ukąszenia przez kleszcza. Kleszcz został zidentyfikowany jako samica *D. reticulatus* zakażona *R. raoultii*. Zgodnie z zaleceniami Polskiego Towarzystwa Epidemiologii i Chorób Zakaźnych, kryteria laboratoryjne

potwierdzenia riketsjozy obejmują wykrycie czterokrotnego wzrostu miana przeciwciał w surowicy podczas ostrej fazy i fazy rekonwalescencji zakażenia lub wykrycie DNA *Rickettsia* we krwi lub mątwicy. W badaniu lekarz rodzinny nie zlecił badań serologicznych i molekularnych, dlatego potwierdzenie riketsjozy zgodnie z zaleceniami nie było możliwe (Koczwarska i wsp. 2023).

Innym sposobem oceny ryzyka chorób odkleszczowych u ludzi i zwierząt jest monitorowanie rozmieszczenie kleszczy w środowisku w odniesieniu do biotopów, krajobrazów, klimatów, wysokości i urbanizacji. Zbiory takie dostarczają opisów rozprzestrzeniania się podstawowych wektorów chorób odkleszczowych i pomagają scharakteryzować ich odpowiednie biotopy, a tym samym identyfikują potencjalnie obszary i okresy narażenia na ukłucia przez kleszcze. Od czerwca 2014 istnieje projekt o nazwie VectorNet, który jest wspólną inicjatywą Europejskiego Urzędu ds. Bezpieczeństwa Żywności (EFSA, European Food Safety Authority) i ECDC. Działalność VectorNet wspiera gromadzenie danych dotyczących wektorów i patogenów w wektorach związanych zarówno ze zdrowiem ludzi jak i zwierząt. Inne regiony świata również tworzą swoje programy monitorowania i takim przykładem jest powstały w 2007 roku w Stanach Zjednoczonych program o nazwie TickNET. Program ten ma scalać i wspierać współpracę pomiędzy Państwowymi Departamentami Zdrowia, Ośrodkami Akademickimi a Centrami Kontroli i Prewencji Chorób w zakresie nadzoru, badań, edukacji i zapobiegania chorobom przenoszonym przez kleszcze (Piotrowski i Rymaszewska 2020).

Ze względu na to, że jedną dostępną na rynku szczepionką przeciwko chorobom przenoszonym przez kleszcze jest szczepionka przeciwko KZM, najskuteczniejszym sposobem prewencji pozostaje zapobieganie ukłuciom przez te pajęczaki. Elementami skutecznego podejścia są noszenie długich spodni z nogawkami wsuniętymi w buty, długie skarpety oraz obuwie o pełnym zakryciu stopy, a także stosowanie repelentów przeciw kleszczom opartym na DEET w stężeniach od 10% do 35%, EBAAP, pikaridynie oraz permetyrynie. Permetryna jest składnikiem, który działa zabójczo na kleszcze i powinien być stosowany wyłącznie na odzież (Staub i wsp. 2012). Osoby przebywające w obszarach potencjalnie zasiedlonych przez kleszcze powinny regularnie przeprowadzać kontrolę swojego ciała, jak również ciał dzieci i towarzyszących im zwierząt domowych, w celu natychmiastowego usunięcia wszelkich przyczepionych kleszczy. Kleszcze wbite w skórę powinny być niezwłocznie usunięte. Chociaż na rynku dostępnych jest wiele urządzeń przeznaczonych do usuwania przyczepionych kleszczy to nie udowodniono jednak, aby ich skuteczność przewyższała skuteczność zwykłej pęsety. W miarę możliwości, należy unikać



---

usuwania kleszczy palcami, ponieważ możemy wprowadzić do krwiobiegu płyny z organizmu kleszcza, które mogą zawierać patogeny. Ponadto usuniętych kleszczy nie należy rozgniatać palcami. Po usunięciu kleszcza miejsce wkłucia należy dokładnie umyć wodą z mydłem, alkoholem, roztworem jodyny lub za pomocą standardowych środków antyseptycznych. Należy również pamiętać o dokładnym umyciu rąk osób, które miały styczność z kleszczem, zwłaszcza przed dotknięciem twarzy lub oczu (Biggs i wsp. 2016).

## 6. Wnioski

Zaprezentowane w niniejszej rozprawie badania podsumować można następującymi wnioskami:

- Kleszcze występują liczniej na obszarach naturalnych niż na terenach miejskich, choć w drugim roku badania obserwuje się zbliżony stosunku 1:1. W przypadku obszarów miejskich, które nie podlegały znacznym wpływom antropogenicznym, obserwuje się wyższą liczbę kleszczy w porównaniu do terenów naturalnych.
- Czynnikiem wpływającym na pojawienie się kleszczy jest przede wszystkim dodatnia temperatura, która inicjuje sezonową aktywność tych pasożytów. Zmiany temperatury i wilgotności w zakresie wartości dodatnich nie mają wpływu na liczbę występujących kleszczy.
- Istnieje jeden szczyt aktywności kleszczy, który występuje w okresie wiosenno-letnim. Moment jego wystąpienia jest uzależniony od temperatur panujących w okresie zimowym, przy mniejszej liczbie dni z ujemną temperaturą obserwuje się wcześniejszy szczyt aktywności. Szczególnie warto zaznaczyć, że na obszarach naturalnych szczyt aktywności występuje wcześniej niż na terenach miejskich.
- W środowisku naturalnym, w obu latach zbioru, dominującym stadium rozwojowym była nimfy. W 2018 roku stanowiły one 90,8% wszystkich zebranych kleszczy, natomiast w 2019 roku udział ich wyniósł 84,1%. Pozostałe stadia rozwojowe stanowiły jedynie niewielki procent ogólnej liczby kleszczy. W przeciwieństwie do zbiorów przeprowadzonych w Wielkopolskim Parku Narodowym, na stanowiskach miejskich przewaga nimf nie występowała jednak na wszystkich obszarach, a w roku 2019, uwzględniając cały obszar miejski, zanotowano znaczącą przewagę osobników dorosłych (62,4%). Osobniki dorosłe występowały przede wszystkim na stanowiskach podlegających wpływom antropogenicznym, takim jak obszary poddawane zabiegom konserwacyjnym.
- Dominującym gatunkiem kleszcza na badanym terenie był *I. ricinus*. Po raz pierwszy odnotowano obecność *D. reticulatus* w Poznaniu i Wielkopolskim Parku Narodowym, co może być początkiem połączenia się dwóch geograficznie oddzielonych populacji tego gatunku.
- Bakterie z rodzaju *Rickettsia* były obecne u 12,9% odłowionych kleszczy: 12,8% dla *I. ricinus* i 40% dla *D. reticulatus* i występowały zarówno w środowisku naturalnym

jak i miejskim. Wyższa liczba i odsetek zakażonych kleszczy były obserwowane na obszarze Wielkopolskiego Parku Narodowego (15,5%) w porównaniu do Poznania (9,4%). Ponadto na obszarze naturalnym postacie dorosłe kleszczy były zakażone w niemal dwukrotnie większym stopniu (28,1%) niż nimfy (14,8%), a na terenie miejskim proporcja ta była wyrównana.

- Zaobserwowano cykliczny wyraźnie niższy poziom zakażenia kleszczy bakteriami z rodzaju *Rickettsia* w jednym miesiącu w każdym roku badawczym, niezależnie od obszaru odłowu. W przypadku Wielkopolskiego Parku Narodowego różnica widoczna była w przypadku miesiąca kwietnia, w którym każdego roku zbiorów obserwowano niższy poziom zakażenia kleszczy, niż sugerowałyby to ogólna liczba aktywności tych pasożytów w tym okresie. W Poznaniu do podobnego zjawiska dochodziło miesiąc później w każdym roku zbiorów.
- Zidentyfikowano występowanie trzech patogennych dla ludzi gatunków riketsji: *R. helvetica*, *R. monacensis* i *R. raoultii*. Bakterie *R. helvetica*, *R. monacensis* występowały w kleszczach *I. ricinus* zarówno na obszarze naturalnym jak i miejskim. *R. raoultii* zidentyfikowano w kleszczach *D. reticulatus* wyłącznie na obszarze Wielkopolskiego Parku Narodowego i była ta pierwsza identyfikacja tego patogenu na tym terenie.
- Zaproponowano metodę identyfikacji najczęściej występujących w Polsce gatunków riketsji: *R. helvetica*, *R. monacensis* i *R. raoultii* opartą na reakcji PCR z wykorzystaniem trzech markerów: fragmentu genu *gltA*, *ompA* i ITS. Procedura ta w ramach niniejszej pracy wykazała 100% skuteczność i może skrócić proces identyfikacji patogenu o długotrwałą i kosztowną reakcję sekwencjonowania.
- Biorąc pod uwagę wyższy stopień prewalencji kleszczy *Rickettsia* spp. w porównaniu z innymi patogenami chorobotwórczymi, takimi jak *Borrelia* spp. i wirus TBEV, można stwierdzić, że ilość rejestrowanych przypadków riketsjoz w Polsce jest zdecydowanie niedoszacowana.
- Mimo większej liczby kleszczy zakażonych *Rickettsia* spp. na obszarach naturalnych, a także niższego odsetka zakażeń w obszarach miejskich, ryzyko kontaktu z kleszczem w miastach jest wyższe. Dlatego warto uwzględnić obszary miejskie w monitorowaniu chorób przenoszonych przez kleszcze oraz w kampaniach zdrowotnych.

## 7. Streszczenie

Dane literaturowe wskazują na wyższy stopień prevalencji kleszczy *I. ricinus* i *D. reticulatus* bakteriami *Rickettsia* spp. w porównaniu z innymi patogenami, takimi jak np. *Borrelia* spp., które w Polsce generują zachorowalność na boreliozę na poziomie 20 000 przypadków, w porównaniu do kilku odnotowywanych przypadków riketsjoz. Badania dotyczące występowania i różnorodności *Rickettsia* spp. w kleszczach w Polsce były niewielkie, a temat ten jest zaniedbany w porównaniu z innymi patogenami przenoszonymi przez kleszcze. Dlatego postanowiono, że głównym celem pracy badawczej było porównanie występowania bakterii z rodzaju *Rickettsia* w populacjach kleszczy w środowisku miejskim i naturalnym. Przeanalizowanie tych zagadnień miało na celu dostarczenie informacji o potencjalnie możliwym występowaniu riketsjoz zarówno na terenie naturalnym jaki i zurbanizowanym.

Analizę porównawczą przeprowadzono na kleszczach zebranych na obszarze Wielkopolskiego Parku Narodowego oraz w mieście Poznaniu. Obszar ten do tej pory uważany był za wolny od występowania *D. reticulatus*. Zbiory wykonywano w miesięcznych odstępach w latach 2018-2019. W celu wykrycia obecności DNA *Rickettsia* spp. wszystkie kleszcze poddano analizie molekularnej z wykorzystaniem markerów *gltA*, *ompA* i ITS. W celu potwierdzenia identyfikacji gatunkowej dla wybranych prób przeprowadzono także sekwencjonowanie.

Stwierdzono, że kleszcze występują w większej liczbie na obszarze naturalnym, choć pojedyncze stanowiska miejskie mogą się charakteryzować większą liczbą kleszczy niż naturalne. Czynnikiem wpływającym na rozpoczęcie aktywności jest temperatura. Ocieplenie klimatu z jednej strony wpływa na występowanie jednego wiosenno-letniego szczytu aktywności, a z drugiej cieplejsze zimy determinują przesunięcie szczytu w kierunku miesięcy wiosennych.

Po raz pierwszy wykryto obecność *D. reticulatus* na terenie Poznania i Wielkopolskiego Parku Narodowego oraz *R. raoultii* na obszarze Wielkopolskiego Parku Narodowego.

Stwierdzono obecność trzech patogennych bakterii *Rickettsia* spp.: *R. helvetica*, *R. monacensis* i *R. raoultii*, z czego dwa pierwsze występowały zarówno na terenie naturalnym jak i miejskim. *Rickettsia* spp. były obecne u 12,9% odłowionych kleszczy, przy czym wyższy odsetek zakażeń występował na obszarze naturalnym niż miejskim.

---

## 8. Summary

Literature data indicate a higher prevalence of *I. ricinus* and *D. reticulatus* ticks carrying *Rickettsia* spp. bacteria compared to other pathogens, such as *Borrelia* spp., which cause approximately 20,000 cases of Lyme disease in Poland, in contrast to the few reported cases of rickettsioses. Research on the occurrence and diversity of *Rickettsia* spp. in ticks in Poland has been limited, and this topic has been neglected compared to other tick-borne pathogens. Therefore, it was decided that the main objective of this research was to compare the occurrence of *Rickettsia* bacteria in tick populations in urban and natural environments. Analyzing these issues aimed to provide information about the potential presence of rickettsioses in both natural and urban areas.

The comparative analysis was conducted on ticks collected in the area of Wielkopolski National Park and in the city of Poznań. This region was previously considered free from *D. reticulatus* ticks. Collections were made at monthly intervals in the years 2018-2019. In order to detect the presence of DNA from *Rickettsia* spp., all ticks underwent molecular analysis using the *gltA*, *ompA*, and ITS markers. Species identification for selected samples was confirmed through sequencing.

It was found that ticks were more abundant in natural areas, although some urban locations may have a higher tick density than natural ones. Temperature plays a role in initiating tick activity. Climate warming, on one hand, affects the occurrence of a single spring-summer peak of activity, and on the other hand, warmer winters lead to a shift in the peak towards the spring months.

For the first time, the presence of *D. reticulatus* was detected in Poznań and Wielkopolski National Park, and *R. raoultii* was found in Wielkopolski National Park. Three pathogenic *Rickettsia* spp. bacteria were identified: *R. helvetica*, *R. monacensis*, and *R. raoultii*, with the first two occurring in both natural and urban areas. *Rickettsia* spp. were present in 12.9% of the collected ticks, with a higher infection rate observed in natural areas compared to urban ones.

---

## 9. Wykaz prac naukowych powstałych podczas realizacji pracy doktorskiej

Prezentowany w niniejszej rozprawie materiał naukowy został częściowo opublikowany w poniższych pracach:

1. **Piotrowski M.**, Rymaszewska A. 2020. Expansion of Tick-Borne Rickettsioses in the World. *Microorganisms*, 8(12):1906;
2. Kirczuk L., **Piotrowski M.**, Rymaszewska A. 2021. Detection of Tick-Borne Pathogens of the Genera *Rickettsia*, *Anaplasma* and *Francisella* in *Ixodes ricinus* Ticks in Pomerania (Poland). *Pathogens* 10(7):901;
3. **Piotrowski M.**, Rymaszewska A. 2022. The Impact of a Pandemic COVID-19 on the Incidence of Borreliosis in Poland. *Acta Parasitologica*.
4. Rymaszewska A., **Piotrowski M.** 2023. *Rickettsia* species - genetic variability, vectors, pathogenicity. *Experimental and Applied Acarology* - złożony do redakcji.

---

**10. Literatura**

1. Aistleitner K, Clark T, Dooley C, Hackstadt T. Selective fragmentation of the trans-Golgi apparatus by *Rickettsia rickettsii*. *PLoS Pathog.* 2020 May 18;16(5):e1008582.
2. Alasmari S, Wall R. Metabolic rate and resource depletion in the tick *Ixodes ricinus* in response to temperature. *Exp Appl Acarol.* 2021 Jan;83(1):81-93.
3. Alekseev AN, Jensen PM, Dubinina HV, Smirnova LA, Makrouchina NA, Zharkov SD. Peculiarities of behaviour of taiga (*Ixodes persulcatus*) and sheep (*Ixodes ricinus*) ticks (Acarina: Ixodidae) determined by different methods. *Folia Parasitol (Praha).* 2000;47(2):147-53.
4. Al-Khodor S, Price CT, Kalia A, Abu Kwaik Y. Functional diversity of ankyrin repeats in microbial proteins. *Trends Microbiol.* 2010 Mar;18(3):132-9.
5. Alonso-Carné J, García-Martín A, Estrada-Peña A. Modelling the Phenological Relationships of Questing Immature *Ixodes Ricinus* (Ixodidae) Using Temperature and NDVI Data. *Zoonoses Public Health.* 2016 Feb;63(1):40-52.
6. Amanzougaghene N, Fenollar F, Sangaré AK, Sissoko MS, Doumbo OK, Raoult D, Mediannikov O. Detection of bacterial pathogens including potential new species in human head lice from Mali. *PLoS One.* 2017 Sep 20;12(9):e0184621.
7. Andersson SG, Kurland CG. Reductive evolution of resident genomes. *Trends Microbiol.* 1998 Jul;6(7):263-8.
8. Andersson SG, Zomorodipour A, Andersson JO, Sicheritz-Pontén T, Alsmark UC, Podowski RM, Näslund AK, Eriksson AS, Winkler HH, Kurland CG. The genome sequence of *Rickettsia prowazekii* and the origin of mitochondria. *Nature.* 1998 Nov 12;396(6707):133-40.
9. Angelakis E, Bechah Y, Raoult D. The History of Epidemic Typhus. *Microbiol Spectr.* 2016 Aug;4(4).
10. Aronson MF, Nilon CH, Lepczyk CA, Parker TS, Warren PS, Cilliers SS, Goddard MA, Hahs AK, Herzog C, Katti M, La Sorte FA, Williams NS, Zipperer W. Hierarchical filters determine community assembly of urban species pools. *Ecology.* 2016 Nov;97(11):2952-2963.
11. Balraj P, Nappez C, Raoult D, Renesto P. Western-blot detection of RickA within spotted fever group rickettsiae using a specific monoclonal antibody. *FEMS Microbiol Lett.* 2008 Sep;286(2):257-62.

12. Barandika JF, Berriatua E, Barral M, Juste RA, Anda P, García-Pérez AL. Risk factors associated with ixodid tick species distributions in the Basque region in Spain. *Med Vet Entomol.* 2006 Jun;20(2):177-88.
13. Barker SC, Murrell A. Systematics and evolution of ticks with a list of valid genus and species names. *Parasitology.* 2004;129 Suppl:S15-36.
14. Bartosik K, Wiśniowski L, Buczek A. Abundance and seasonal activity of adult *Dermacentor reticulatus* (Acari: Amblyommidae) in eastern Poland in relation to meteorological conditions and the photoperiod. *Ann Agric Environ Med.* 2011;18(2):340-4.
15. Bartosik K, Wiśniowski Ł, Buczek A. Questing behavior of *Dermacentor reticulatus* adults (Acari: Amblyommidae) during diurnal activity periods in eastern Poland. *J Med Entomol.* 2012 Jul;49(4):859-64.
16. Bermúdez CSE, Troyo A. A review of the genus *Rickettsia* in Central America. *Res Rep Trop Med.* 2018 Jun 29;9:103-112.
17. Berthová L, Slobodník V, Slobodník R, Olekšák M, Sekeyová Z, Svitálková Z, Kazimírová M, Špitalská E. The natural infection of birds and ticks feeding on birds with *Rickettsia* spp. and *Coxiella burnetii* in Slovakia. *Exp Appl Acarol.* 2016 Mar;68(3):299-314.
18. Biernat B, Stańczak J, Michalik J, Sikora B, Cieniuch S. *Rickettsia helvetica* and *R. monacensis* infections in immature *Ixodes ricinus* ticks derived from sylvatic passerine birds in west-central Poland. *Parasitol Res.* 2016b Sep;115(9):3469-77.
19. Biernat B, Stańczak J, Michalik J, Sikora B, Wierzbicka A. Prevalence of infection with *Rickettsia helvetica* in *Ixodes ricinus* ticks feeding on non-rickettsiemic rodent hosts in sylvatic habitats of west-central Poland. *Ticks Tick Borne Dis.* 2016a Feb;7(1):135-141.
20. Biggs HM, Behravesh CB, Bradley KK, Dahlgren FS, Drexler NA, Dumler JS, Folk SM, Kato CY, Lash RR, Levin ML, Massung RF, Nadelman RB, Nicholson WL, Paddock CD, Pritt BS, Traeger MS. Diagnosis and Management of Tickborne Rickettsial Diseases: Rocky Mountain Spotted Fever and Other Spotted Fever Group Rickettsioses, Ehrlichioses, and Anaplasmosis - United States. *MMWR Recomm Rep.* 2016 May 13;65(2):1-44.
21. Billeter SA, Metzger ME. Limited Evidence for *Rickettsia felis* as a Cause of Zoonotic Flea-Borne Rickettsiosis in Southern California. *J Med Entomol.* 2017 Jan;54(1):4-7.



22. Blanc G, Ngwamidiba M, Ogata H, Fournier PE, Claverie JM, Raoult D. Molecular evolution of rickettsia surface antigens: evidence of positive selection. *Mol Biol Evol.* 2005 Oct;22(10):2073-83.
23. Blanc G, Ogata H, Robert C, Audic S, Suhre K, Vestris G, Claverie JM, Raoult D. Reductive genome evolution from the mother of Rickettsia. *PLoS Genet.* 2007 Jan 19;3(1):e14.
24. Blanton LS, Idowu BM, Tatsch TN, Henderson JM, Bouyer DH, Walker DH. Opossums and Cat Fleas: New Insights in the Ecology of Murine Typhus in Galveston, Texas. *Am J Trop Med Hyg.* 2016 Aug 3;95(2):457-61.
25. Blanton LS. The Rickettsioses: A Practical Update. *Infect Dis Clin North Am.* 2019 Mar;33(1):213-229.
26. Boeckmann M, Joyner TA. Old health risks in new places? An ecological niche model for *I. ricinus* tick distribution in Europe under a changing climate. *Health Place.* 2014 Nov;30:70-7.
27. Bogdaszewska Z. Występowanie i ekologia kleszcza lakowego *Dermacentor reticulatus* (Fabricius, 1794) w ognisku mazurskim. II. Sezonowy rytm aktywności dorosłych postaci [Range and ecology of *Dermacentor reticulatus* (Fabricius, 1794) in Mazuria focus. II. Seasonal activity patterns of the adults]. *Wiad Parazytol.* 2004;50(4):731-8.
28. Bohacsova M, Mediannikov O, Kazimirova M, Raoult D, Sekeyova Z. *Arsenophonus nasoniae* and *Rickettsiae* Infection of *Ixodes ricinus* Due to Parasitic Wasp *Ixodiphagus hookeri*. *PLoS One.* 2016 Feb 22;11(2):e0149950.
29. Boretti FS, Perreten A, Meli ML, Cattori V, Willi B, Wengi N, Hornok S, Honegger H, Hegglin D, Woelfel R, Reusch CE, Lutz H, Hofmann-Lehmann R. Molecular Investigations of *Rickettsia helvetica* infection in dogs, foxes, humans, and *Ixodes* ticks. *Appl Environ Microbiol.* 2009 May;75(10):3230-7.
30. Borşan SD, Ionică AM, Galon C, Toma-Naic A, Peştean C, Sándor AD, Moutailler S, Mihalca AD. High Diversity, Prevalence, and Co-infection Rates of Tick-Borne Pathogens in Ticks and Wildlife Hosts in an Urban Area in Romania. *Front Microbiol.* 2021 Mar 9;12:645002.
31. Brites-Neto J, Duarte KM, Martins TF. Tick-borne infections in human and animal population worldwide. *Vet World.* 2015 Mar;8(3):301-15.
32. Brown LD, Macaluso KR. *Rickettsia felis*, an Emerging Flea-Borne Rickettsiosis. *Curr Trop Med Rep.* 2016;3:27-39.

33. Buczek A, Bartosik KA, Wiśniowski Ł, Tomaszewicz K. Changes in population abundance of adult *Dermacentor reticulatus* (Acari: Amblyomidae) in long-term investigations in eastern Poland. *Ann Agric Environ Med*. 2013;20(2):269-72.
34. Buczek A, Buczek L, Kuśmierz A, Olszewski K, Stanko M. Cechy morfometryczne stóp larw *Dermacentor reticulatus* (Fabricius, 1794) (Acari: Ixodida: Ixodidae) z populacji Polskiej i Słowackiej [Morphometric features of tarsus in *Dermacentor reticulatus* (Fabricius, 1794) (Acari: Ixodida: Ixodidae) larvae from Polish and Slovakian populations]. *Wiad Parazytol*. 2001;47(3):291-5.
35. Buczek A, Magdoń T. Lokalizacja żywicieli przez kleszcze (Acari: Ixodida) [Host location by ticks (Acari: Ixodida)]. *Wiad Parazytol*. 1999;45(1):3-12.
36. Buczek A, Olszewski K, Andrearczyk A, Zwoliński J. Budowa stóp kleszczy (Acari: Ixodida)--modyfikacje Związane z cyklem życiowym, behawiorem i siedliskiem [Morphology of tick tarsus (Acari: Ixodida)--modifications connected with life cycle, behaviour, and habitat]. *Wiad Parazytol*. 2004;50(2):285-94.
37. Buczek A. Experimental teratogeny in the tick *Hyalomma marginatum marginatum* (Acari: Ixodida: Ixodidae): effect of high humidity on embryonic development. *J Med Entomol*. 2000 Nov;37(6):807-14.
38. Buczek W, Buczek A, Witecka J, Asman M. Prevalence of pathogens in sympatric *Ixodes ricinus* and *Dermacentor reticulatus* ticks in Eastern Poland and their potential impact on oral-anal contacts between ticks. *Ann Agric Environ Med*. 2023 Jun 26;30(2):259-265.
39. Buczek W, Koman-Iżko A, Buczek AM, Buczek A, Bartosik K, Kulina D, Ciura D. Spotted fever group rickettsiae transmitted by *Dermacentor* ticks and determinants of their spread in Europe. *Ann Agric Environ Med*. 2020 Dec 22;27(4):505-511.
40. Bullová E, Lukán M, Stanko M, Petko B. Spatial distribution of *Dermacentor reticulatus* tick in Slovakia in the beginning of the 21st century. *Vet Parasitol*. 2009 Nov 12;165(3-4):357-60.
41. Cabezas-Cruz A, Estrada-Peña A, Rego RO, De la Fuente J. Tick-Pathogen Ensembles: Do Molecular Interactions Lead Ecological Innovation? *Front Cell Infect Microbiol*. 2017 Mar 13;7:74.
42. Campbell JA. Life history and development of the sheep tick *Ixodes ricinus* Linnaeus in Scotland, under natural and controlled conditions. The University of Edinburgh 1948

43. Capelli G, Ravagnan S, Montarsi F, Ciocchetta S, Cazzin S, Porcellato E, Babiker AM, Cassini R, Salviato A, Cattoli G, Otranto D. Occurrence and identification of risk areas of *Ixodes ricinus*-borne pathogens: a cost-effectiveness analysis in north-eastern Italy. *Parasit Vectors*. 2012 Mar 27;5:61.
44. Cardoso L, Yisaschar-Mekuzas Y, Rodrigues FT, Costa A, Machado J, Diz-Lopes D, Baneth G. Canine babesiosis in northern Portugal and molecular characterization of vector-borne co-infections. *Parasit Vectors*. 2010 Apr 8;3(1):27.
45. Cardwell MM, Martinez JJ. The Sca2 autotransporter protein from *Rickettsia conorii* is sufficient to mediate adherence to and invasion of cultured mammalian cells. *Infect Immun*. 2009 Dec;77(12):5272-80.
46. Casiraghi M, Bordenstein SR, Baldo L, Lo N, Beninati T, Wernegreen JJ, Werren JH, Bandi C. Phylogeny of *Wolbachia pipientis* based on *gltA*, *groEL* and *ftsZ* gene sequences: clustering of arthropod and nematode symbionts in the F supergroup, and evidence for further diversity in the *Wolbachia* tree. *Microbiology (Reading)*. 2005 Dec;151(Pt 12):4015-4022.
47. Castro LR, Gabrielli S, Iori A, Cancrini G. Molecular detection of *Rickettsia*, *Borrelia*, and *Babesia* species in *Ixodes ricinus* sampled in northeastern, central, and insular areas of Italy. *Exp Appl Acarol*. 2015 Jul;66(3):443-52.
48. Cat J, Beugnet F, Hoch T, Jongejan F, Prangé A, Chalvet-Monfray K. Influence of the spatial heterogeneity in tick abundance in the modeling of the seasonal activity of *Ixodes ricinus* nymphs in Western Europe. *Exp Appl Acarol*. 2017 Feb;71(2):115-130.
49. Cekanac R, Pavlovic N, Gledovic Z, Grgurevic A, Stajkovic N, Lepsanovic Z, Ristanovic E. Prevalence of *Borrelia burgdorferi* in *Ixodes ricinus* ticks in Belgrade area. *Vector Borne Zoonotic Dis*. 2010 Jun;10(5):447-52.
50. Chan YG, Riley SP, Martinez JJ. Adherence to and invasion of host cells by spotted Fever group rickettsia species. *Front Microbiol*. 2010 Dec 20;1:139.
51. Chmielewski T, Podsiadly E, Karbowski G, Tylewska-Wierzbanska S. *Rickettsia* spp. in ticks, Poland. *Emerg Infect Dis*. 2009 Mar;15(3):486-8.
52. Choe JE, Welch MD. Actin-based motility of bacterial pathogens: mechanistic diversity and its impact on virulence. *Pathog Dis*. 2016 Nov 1;74(8):ftw099.
53. Cochez C, Lempereur L, Madder M, Claerebout E, Simons L, De Wilde N, Linden A, Saegerman C, Heyman P, Losson B. Foci report on indigenous *Dermacentor*

- reticulatus populations in Belgium and a preliminary study of associated babesiosis pathogens. *Med Vet Entomol.* 2012 Sep;26(3):355-8.
54. Daniel M, Danielová V, Kríz B, Jirsa A, Nozicka J. Shift of the tick *Ixodes ricinus* and tick-borne encephalitis to higher altitudes in central Europe. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2003 May;22(5):327-8.
55. Daniel M, Danielová V, Kriz B, Kott I. An attempt to elucidate the increased incidence of tick-borne encephalitis and its spread to higher altitudes in the Czech Republic. *Int J Med Microbiol.* 2004 Apr;293 Suppl 37:55-62.
56. Dantas-Torres F, Otranto D. Seasonal dynamics of *Ixodes ricinus* on ground level and higher vegetation in a preserved wooded area in southern Europe. *Vet Parasitol.* 2013 Feb 18;192(1-3):253-8.
57. Dautel H, Dippel C, Oehme R, Hartelt K, Schettler E. Evidence for an increased geographical distribution of *Dermacentor reticulatus* in Germany and detection of *Rickettsia* sp. RpA4. *Int J Med Microbiol.* 2006 May;296 Suppl 40:149-56.
58. Delord M, Socolovschi C, Parola P. Rickettsioses and Q fever in travelers (2004-2013). *Travel Med Infect Dis.* 2014 Sep-Oct;12(5):443-58.
59. Didyk YM, Blaňárová L, Pogrebnyak S, Akimov I, Peťko B, Víchová B. Emergence of tick-borne pathogens (*Borrelia burgdorferi* sensu lato, *Anaplasma phagocytophilum*, *Rickettsia raoultii* and *Babesia microti*) in the Kyiv urban parks, Ukraine. *Ticks Tick Borne Dis.* 2017 Feb;8(2):219-225.
60. Dobec M, Golubic D, Punda-Polic V, Kaeppli F, Sievers M. *Rickettsia helvetica* in *Dermacentor reticulatus* ticks. *Emerg Infect Dis.* 2009 Jan;15(1):98-100.
61. Dobler G, Euringer K, Kaier K, Borde JP. Serological Protection Rates against TBEV Infection in Blood Donors from a Highly Endemic Region in Southern Germany. *Vaccines (Basel).* 2023 Feb 23;11(3):522.
62. Dobson AD, Taylor JL, Randolph SE. Tick (*Ixodes ricinus*) abundance and seasonality at recreational sites in the UK: hazards in relation to fine-scale habitat types revealed by complementary sampling methods. *Ticks Tick Borne Dis.* 2011 Jun;2(2):67-74.
63. Domínguez-Peñafiel G, Giménez-Pardo C, Gegúndez M, Lledó L. Prevalence of ectoparasitic arthropods on wild animals and cattle in the Las Merindades area (Burgos, Spain). *Parasite.* 2011 Aug;18(3):251-60.

- 
64. Dreher-Lesnack SM, Ceraul SM, Rahman MS, Azad AF. Genome-wide screen for temperature-regulated genes of the obligate intracellular bacterium, *Rickettsia typhi*. *BMC Microbiol.* 2008 Apr 15;8:61.
  65. Drexler N, Miller M, Gerding J, Todd S, Adams L, Dahlgren FS, Bryant N, Weis E, Herrick K, Francies J, Komatsu K, Piontkowski S, Velascosoltero J, Shelhamer T, Hamilton B, Eribes C, Brock A, Sneezy P, Goseyun C, Bendle H, Hovet R, Williams V, Massung R, McQuiston JH. Community-based control of the brown dog tick in a region with high rates of Rocky Mountain spotted fever, 2012-2013. *PLoS One.* 2014 Dec 5;9(12):e112368.
  66. Driscoll TP, Verhoeve VI, Guillotte ML, Lehman SS, Rennoll SA, Beier-Sexton M, Rahman MS, Azad AF, Gillespie JJ. Wholly *Rickettsia*! Reconstructed Metabolic Profile of the Quintessential Bacterial Parasite of Eukaryotic Cells. *mBio.* 2017 Sep 26;8(5):e00859-17.
  67. Dubinina YV, Makrushina NA. Specific features of diurnal activity variations of *Ixodes ricinus* on the Kurshsky spit (Kaliningrad Region). *Meditinskaya Parazitologiya i Parazitarnye Bolezni.* 1997, 3, 42–44.
  68. Dwuznik-Szarek D, Mierzejewska EJ, Rodo A, Goździk K, Behnke-Borowczyk J, Kiewra D, Kartawik N, Bajer A. Monitoring the expansion of *Dermacentor reticulatus* and occurrence of canine babesiosis in Poland in 2016-2018. *Parasit Vectors.* 2021 May 20;14(1):267.
  69. Elfving K, Olsen B, Bergström S, Waldenström J, Lundkvist A, Sjöstedt A, Mejlom H, Nilsson K. Dissemination of spotted fever rickettsia agents in Europe by migrating birds. *PLoS One.* 2010 Jan 5;5(1):e8572.
  70. Engström P, Burke TP, Mitchell G, Ingabire N, Mark KG, Golovkine G, Iavarone AT, Rape M, Cox JS, Welch MD. Evasion of autophagy mediated by *Rickettsia* surface protein OmpB is critical for virulence. *Nat Microbiol.* 2019 Dec;4(12):2538-2551.
  71. Estrada-Peña A, Ayllón N, de la Fuente J. Impact of climate trends on tick-borne pathogen transmission. *Front Physiol.* 2012 Mar 27;3:64. doi: 10.3389/fphys.2012.00064.
  72. Estrada-Pena A. Ticks of Domestic Animals in the Mediterranean Region: A Guide to Identification of Species. University of Zaragoza 2004.
  73. Fernández de Mera IG, Ruiz-Fons F, de la Fuente G, Mangold AJ, Gortázar C, de la Fuente J. Spotted fever group rickettsiae in questing ticks, central Spain. *Emerg Infect Dis.* 2013 Jul;19(7):1163-5.

74. Fournier PE, Dumler JS, Greub G, Zhang J, Wu Y, Raoult D. Gene sequence-based criteria for identification of new rickettsia isolates and description of *Rickettsia heilongjiangensis* sp. nov. *J Clin Microbiol*. 2003 Dec;41(12):5456-65.
75. Fournier PE, El Karkouri K, Leroy Q, Robert C, Giumelli B, Renesto P, Socolovschi C, Parola P, Audic S, Raoult D. Analysis of the *Rickettsia africae* genome reveals that virulence acquisition in *Rickettsia* species may be explained by genome reduction. *BMC Genomics*. 2009 Apr 20;10:166.
76. Frances SP, Wirtz RA. Repellents: past, present, and future. *J Am Mosq Control Assoc*. 2005 Dec;21(4 Suppl):1-3.
77. Francischetti IM, Sa-Nunes A, Mans BJ, Santos IM, Ribeiro JM. The role of saliva in tick feeding. *Front Biosci (Landmark Ed)*. 2009 Jan 1;14(6):2051-88.
78. Frątczak M, Vargová B, Tryjanowski P, Majláth I, Jerzak L, Kurimský J, Cimbala R, Jankowiak Ł, Conka Z, Majláthová V. Infected *Ixodes ricinus* ticks are attracted by electromagnetic radiation of 900 MHz. *Ticks Tick Borne Dis*. 2020 Jul;11(4):101416.
79. Fredlund J, Enninga J. Cytoplasmic access by intracellular bacterial pathogens. *Trends Microbiol*. 2014 Mar;22(3):128-37.
80. Gall CA, Reif KE, Scoles GA, Mason KL, Mousel M, Noh SM, Brayton KA. The bacterial microbiome of *Dermacentor andersoni* ticks influences pathogen susceptibility. *ISME J*. 2016 Aug;10(8):1846-55.
81. Gilbert L, Aungier J, Tomkins JL. Climate of origin affects tick (*Ixodes ricinus*) host-seeking behavior in response to temperature: implications for resilience to climate change? *Ecol Evol*. 2014 Apr;4(7):1186-98.
82. Gilbert L. The Impacts of Climate Change on Ticks and Tick-Borne Disease Risk. *Annu Rev Entomol*. 2021 Jan 7;66:373-388.
83. Gillespie JJ, Kaur SJ, Rahman MS, Rennoll-Bankert K, Sears KT, Beier-Sexton M, Azad AF. Secretome of obligate intracellular *Rickettsia*. *FEMS Microbiol Rev*. 2015 Jan;39(1):47-80.
84. Glass A, Springer A, Strube C. A 15-year monitoring of Rickettsiales (*Anaplasma phagocytophilum* and *Rickettsia* spp.) in questing ticks in the city of Hanover, Germany. *Ticks Tick Borne Dis*. 2022 Sep;13(5):101975.
85. Gouin E, Egile C, Dehoux P, Villiers V, Adams J, Gertler F, Li R, Cossart P. The RickA protein of *Rickettsia conorii* activates the Arp2/3 complex. *Nature*. 2004 Jan 29;427(6973):457-61.

- 
86. Gray JS, Dautel H, Estrada-Peña A, Kahl O, Lindgren E. Effects of climate change on ticks and tick-borne diseases in Europe. *Interdiscip Perspect Infect Dis.* 2009;2009:593232.
  87. Grochowska A, Dunaj J, Pancewicz S, Czupryna P, Majewski P, Wondim M, Tryniszewska E, Moniuszko-Malinowska A. Detection of *Borrelia burgdorferi* s.l., *Anaplasma phagocytophilum* and *Babesia* spp. in *Dermacentor reticulatus* ticks found within the city of Białystok, Poland-first data. *Exp Appl Acarol.* 2021 Sep;85(1):63-73.
  88. Guglielmone AA, Nava S. Names for Ixodidae (Acari: Ixodoidea): valid, synonyms, incertae sedis, nomina dubia, nomina nuda, lapsus, incorrect and suppressed names--with notes on confusions and misidentifications. *Zootaxa.* 2014 Feb 24;3767:1-256.
  89. Hackstadt T. The biology of rickettsiae. *Infect Agents Dis.* 1996 Jun;5(3):127-43.
  90. Hackstadt T. The diverse habitats of obligate intracellular parasites. *Curr Opin Microbiol.* 1998 Feb;1(1):82-7.
  91. Haglund CM, Choe JE, Skau CT, Kovar DR, Welch MD. Rickettsia Sca2 is a bacterial formin-like mediator of actin-based motility. *Nat Cell Biol.* 2010 Nov;12(11):1057-63.
  92. Hai VV, Almeras L, Socolovschi C, Raoult D, Parola P, Pagès F. Monitoring human tick-borne disease risk and tick bite exposure in Europe: available tools and promising future methods. *Ticks Tick Borne Dis.* 2014 Oct;5(6):607-19.
  93. Hansford KM, Fonville M, Gillingham EL, Coipan EC, Pietzsch ME, Krawczyk AI, Vaux AGC, Cull B, Sprong H, Medlock JM. Ticks and *Borrelia* in urban and peri-urban green space habitats in a city in southern England. *Ticks Tick Borne Dis.* 2017 Mar;8(3):353-361.
  94. Hauck D, Jordan D, Springer A, Schunack B, Pachnicke S, Fingerle V, Strube C. Transovarial transmission of *Borrelia* spp., *Rickettsia* spp. and *Anaplasma phagocytophilum* in *Ixodes ricinus* under field conditions extrapolated from DNA detection in questing larvae. *Parasit Vectors.* 2020 Apr 7;13(1):176.
  95. Hauck D, Springer A, Chitimia-Dobler L, Strube C. Two-year monitoring of tick abundance and influencing factors in an urban area (city of Hanover, Germany). *Ticks Tick Borne Dis.* 2020 Sep;11(5):101464.
  96. Hauser G, Rais O, Morán Cadenas F, Gonseth Y, Bouzelboudjen M, Gern L. Influence of climatic factors on *Ixodes ricinus* nymph abundance and phenology over

- a long-term monthly observation in Switzerland (2000-2014). *Parasit Vectors*. 2018 May 8;11(1):289.
97. Heinzen RA, Grieshaber SS, Van Kirk LS, Devin CJ. Dynamics of actin-based movement by *Rickettsia rickettsii* in vero cells. *Infect Immun*. 1999 Aug;67(8):4201-7.
98. Heylen D, Lasters R, Adriaensen F, Fonville M, Sprong H, Matthysen E. Ticks and tick-borne diseases in the city: Role of landscape connectivity and green space characteristics in a metropolitan area. *Sci Total Environ*. 2019 Jun 20;670:941-949.
99. Hildebrandt A, Franke J, Meier F, Sachse S, Dorn W, Straube E. The potential role of migratory birds in transmission cycles of *Babesia* spp., *Anaplasma phagocytophilum*, and *Rickettsia* spp. *Ticks Tick Borne Dis*. 2010 Jun;1(2):105-7.
100. Horak IG, Camicas JL, Keirans JE. The Argasidae, Ixodidae and Nuttalliellidae (Acari: Ixodida): a world list of valid tick names. *Exp Appl Acarol*. 2002;28(1-4):27-54.
101. Hornok S, Kováts D, Csörgő T, Meli ML, Gönczi E, Hadnagy Z, Takács N, Farkas R, Hofmann-Lehmann R. Birds as potential reservoirs of tick-borne pathogens: first evidence of bacteraemia with *Rickettsia helvetica*. *Parasit Vectors*. 2014 Mar 28;7:128.
102. Hornok S, Meli ML, Gönczi E, Halász E, Takács N, Farkas R, Hofmann-Lehmann R. Occurrence of ticks and prevalence of *Anaplasma phagocytophilum* and *Borrelia burgdorferi* s.l. in three types of urban biotopes: forests, parks and cemeteries. *Ticks Tick Borne Dis*. 2014 Oct;5(6):785-9.
103. Huang J, Brumell JH. Bacteria-autophagy interplay: a battle for survival. *Nat Rev Microbiol*. 2014 Feb;12(2):101-14.
104. Hubálek Z, Halouzka J, Juricová Z. Host-seeking activity of ixodid ticks in relation to weather variables. *J Vector Ecol*. 2003 Dec;28(2):159-65.
105. Jaenson TG, Hjertqvist M, Bergström T, Lundkvist A. Why is tick-borne encephalitis increasing? A review of the key factors causing the increasing incidence of human TBE in Sweden. *Parasit Vectors*. 2012 Aug 31;5:184. doi: 10.1186/1756-3305-5-184.
106. Jaenson TG, Tälleklint L, Lundqvist L, Olsen B, Chirico J, Mejlón H. Geographical distribution, host associations, and vector roles of ticks (Acari: Ixodidae, Argasidae) in Sweden. *J Med Entomol*. 1994 Mar;31(2):240-56.



107. Jeng RL, Goley ED, D'Alessio JA, Chaga OY, Svitkina TM, Borisy GG, Heinzen RA, Welch MD. A Rickettsia WASP-like protein activates the Arp2/3 complex and mediates actin-based motility. *Cell Microbiol.* 2004 Aug;6(8):761-9.
108. Jongejans F, Uilenberg G. The global importance of ticks. *Parasitology.* 2004;129 Suppl:S3-14.
109. Junttila J, Peltomaa M, Soini H, Marjamäki M, Viljanen MK. Prevalence of *Borrelia burgdorferi* in *Ixodes ricinus* ticks in urban recreational areas of Helsinki. *J Clin Microbiol.* 1999 May;37(5):1361-5.
110. Kar S, Sirin D, Akyildiz G, Sakaci Z, Talay S, Camlitepe Y. Predation of ant species *Lasius alienus* on tick eggs: impacts of egg wax coating and tick species. *Sci Rep.* 2022 Aug 30;12(1):14773.
111. Karbowski G, Biernat B, Stańczak J, Szewczyk T, Werszko J. The role of particular tick developmental stages in the circulation of tick-borne pathogens affecting humans in Central Europe. 3. Rickettsiae. *Ann Parasitol.* 2016;62(2):89-100.
112. Karbowski G, Kiewra D. New locations of *Dermacentor reticulatus* ticks in Western Poland: the first evidence of the merge in *D. reticulatus* occurrence areas? *Wiad Parazytol.* 2010;56(4):333-6.
113. Kaur SJ, Rahman MS, Ammerman NC, Beier-Sexton M, Ceraul SM, Gillespie JJ, Azad AF. TolC-dependent secretion of an ankyrin repeat-containing protein of *Rickettsia typhi*. *J Bacteriol.* 2012 Sep;194(18):4920-32.
114. Kazimírová M, Hamšíková Z, Kocianová E, Marini G, Mojšová M, Mahríková L, Berthová L, Slovák M, Rosá R. Relative density of host-seeking ticks in different habitat types of south-western Slovakia. *Exp Appl Acarol.* 2016 Jun;69(2):205-24.
115. Kejna M, Rudzki M. Spatial diversity of air temperature changes in Poland in 1961–2018. *Theor Appl Climatol* 2021, 143, 1361–1379
116. Kernif T, Leulmi H, Raoult D, Parola P. Emerging Tick-Borne Bacterial Pathogens. *Microbiol Spectr.* 2016 Jun;4(3).
117. Kiewra D, Czułowska A, Dyczko D, Zieliński R, Plewa-Tutaj K. First record of *Haemaphysalis concinna* (Acari: Ixodidae) in Lower Silesia, SW Poland. *Exp Appl Acarol.* 2019 Mar;77(3):449-454.
118. Kiewra D, Czułowska A, Lonc E. Winter activity of *Dermacentor reticulatus* (Fabricius, 1794) in the newly emerging population of Lower Silesia, south-west Poland. *Ticks Tick Borne Dis.* 2016 Oct;7(6):1124-1127.

119. Kiewra D, Szymanowski M, Czulowska A, Kolanek A. The local-scale expansion of *Dermacentor reticulatus* ticks in Lower Silesia, SW Poland. *Ticks Tick Borne Dis.* 2021 Jan;12(1):101599.
120. Kilpatrick AM, Dobson ADM, Levi T, Salkeld DJ, Swei A, Ginsberg HS, Kjemtrup A, Padgett KA, Jensen PM, Fish D, Ogden NH, Diuk-Wasser MA. Lyme disease ecology in a changing world: consensus, uncertainty and critical gaps for improving control. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2017 Jun 5;372(1722):20160117.
121. Kirczuk L, Piotrowski M, Rymaszewska A. Detection of Tick-Borne Pathogens of the Genera *Rickettsia*, *Anaplasma* and *Francisella* in *Ixodes ricinus* Ticks in Pomerania (Poland). *Pathogens.* 2021 Jul 15;10(7):901.
122. Kleba B, Clark TR, Lutter EI, Ellison DW, Hackstadt T. Disruption of the *Rickettsia rickettsii* Sca2 autotransporter inhibits actin-based motility. *Infect Immun.* 2010 May;78(5):2240-7.
123. Knülle W, Dautel H. Cold hardiness, supercooling ability and causes of low-temperature mortality in the soft tick, *Argas reflexus*, and the hard tick, *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodoidea) from Central Europe. *J Insect Physiol.* 1997 Sep;43(9):843-854.
124. Koczwarska J, Pawełczyk A, Dunaj-Małyszko J, Polaczyk J, Welc-Fałęciak R. *Rickettsia* species in *Dermacentor reticulatus* ticks feeding on human skin and clinical manifestations of tick-borne infections after tick bite. *Sci Rep.* 2023 Jun 19;13(1):9930.
125. Kohn M, Krücken J, McKay-Demeler J, Pachnicke S, Krieger K, von Samson-Himmelstjerna G. *Dermacentor reticulatus* in Berlin/Brandenburg (Germany): Activity patterns and associated pathogens. *Ticks Tick Borne Dis.* 2019 Jan;10(1):191-206.
126. Kolomiiets V, Rakowska P, Rymaszewska A. New problems of environmental ecology: ticks and tick-borne pathogens in city parks of Ukraine. *Environ Microbiol Rep.* 2022 Aug;14(4):591-594.
127. Koonin EV, Wolf YI. Genomics of bacteria and archaea: the emerging dynamic view of the prokaryotic world. *Nucleic Acids Res.* 2008 Dec;36(21):6688-719.
128. Korotkov IuS, Burenkov MS, Burenkova LA, Pichugin VIu, Chunikhin SP, Engovatov VV. Reaktsiia kleshcha *Hyalomma asiaticum* (Acarina, Ixodidae) na mikrovolny 1--4 GGts [The reaction of the tick *Hyalomma asiaticum* (Acarina,

- Ixodidae) to 1- to 4-GHz microwaves]. *Med Parazitol (Mosk)*. 1996 Oct-Dec;(4):28-31.
129. Korotkov IuS, Burenkova LA, Burenkov MS, Pichugin Viu. Vliianie élektromagnitnogo izlucheniia svch diapazona (9.8 ggts) na émbriional'noe i postémbriional'noe razvitie kleshcha *Hyalomma asiaticum* (Acarina, Ixodidae) [The impact of electromagnetic radiation at microwave frequency (9.8 HhZ) on the embryonic and postembryonic development of the tick *Hyalomma asiaticum* (Acarina, Ixodidae)]. *Med Parazitol (Mosk)*. 2000 Jan-Mar;(1):38-42.
130. Kowalec M, Szewczyk T, Welc-Falęciak R, Siński E, Karbowski G, Bajer A. Ticks and the city - are there any differences between city parks and natural forests in terms of tick abundance and prevalence of spirochaetes? *Parasit Vectors*. 2017 Nov 21;10(1):573.
131. Kowalec M, Szewczyk T, Welc-Falęciak R, Siński E, Karbowski G, Bajer A. Rickettsiales Occurrence and Co-occurrence in *Ixodes ricinus* Ticks in Natural and Urban Areas. *Microb Ecol*. 2019 May;77(4):890-904.
132. Krstić M, Stajković N, Lazić S. Prevalence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in *Ixodes ricinus* ticks and assessment of entomological risk index at localities in Belgrade. *Vojnosanit Pregl*. 2016 Sep;73(9):817-24.
133. Kubiak K, Sielawa H, Dziekońska-Rynko J, Kubiak D, Rydzewska M, Dzika E. *Dermacentor reticulatus* ticks (Acari: Ixodidae) distribution in north-eastern Poland: an endemic area of tick-borne diseases. *Exp Appl Acarol*. 2018 Jul;75(3):289-298.
134. Lamason RL, Bastounis E, Kafai NM, Serrano R, Del Álamo JC, Theriot JA, Welch MD. *Rickettsia Sca4* Reduces Vinculin-Mediated Intercellular Tension to Promote Spread. *Cell*. 2016 Oct 20;167(3):670-683.e10.
135. Lamason RL, Kafai NM, Welch MD. A streamlined method for transposon mutagenesis of *Rickettsia parkeri* yields numerous mutations that impact infection. *PLoS One*. 2018 May 3;13(5):e0197012.
136. Lamason RL, Welch MD. Actin-based motility and cell-to-cell spread of bacterial pathogens. *Curr Opin Microbiol*. 2017 Feb;35:48-57.
137. Lane RS, Steinlein DB, Mun J. Human behaviors elevating exposure to *Ixodes pacificus* (Acari: Ixodidae) nymphs and their associated bacterial zoonotic agents in a hardwood forest. *J Med Entomol*. 2004 Mar;41(2):239-48.
138. Lauzi S, Maia JP, Epis S, Marcos R, Pereira C, Luzzago C, Santos M, Puente-Payo P, Giordano A, Pajoro M, Sironi G, Faustino A. Molecular detection of

- Anaplasma platys, Ehrlichia canis, Hepatozoon canis and Rickettsia monacensis in dogs from Maio Island of Cape Verde archipelago. *Ticks Tick Borne Dis.* 2016 Jul;7(5):964-969.
139. Lawrence JG, Hendrickson H. Genome evolution in bacteria: order beneath chaos. *Curr Opin Microbiol.* 2005 Oct;8(5):572-8.
140. Lehman SS, Noriega NF, Aistleitner K, Clark TR, Dooley CA, Nair V, Kaur SJ, Rahman MS, Gillespie JJ, Azad AF, Hackstadt T. The Rickettsial Ankyrin Repeat Protein 2 Is a Type IV Secreted Effector That Associates with the Endoplasmic Reticulum. *mBio.* 2018 Jun 26;9(3):e00975-18.
141. Liberska J, Michalik J, Pers-Kamczyc E, Wierzbicka A, Lane RS, Rączka G, Opalińska P, Skorupski M, Dabert M. Prevalence of Babesia canis DNA in Ixodes ricinus ticks collected in forest and urban ecosystems in west-central Poland. *Ticks Tick Borne Dis.* 2021 Sep;12(5):101786.
142. Liberska JA, Michalik JF, Dabert M. Exposure of dogs and cats to Borrelia miyamotoi infected Ixodes ricinus ticks in urban areas of the city of Poznań, west-central Poland. *Ticks Tick Borne Dis.* 2023 Jul;14(4):102188.
143. Lindgren E, Gustafson R. Tick-borne encephalitis in Sweden and climate change. *Lancet.* 2001 Jul 7;358(9275):16-8.
144. Lindgren E, Tälleklint L, Polfeldt T. Impact of climatic change on the northern latitude limit and population density of the disease-transmitting European tick Ixodes ricinus. *Environ Health Perspect.* 2000 Feb;108(2):119-23.
145. Liu H, Liang X, Wang H, Sun X, Bai X, Hu B, Shi N, Wang N, Zhang X, Huang L, Liao J, Huang F, Zhang H, Si X, Huang S, Jin N, Liu Q, Li L. Molecular evidence of the spotted fever group Rickettsiae in ticks from Yunnan Province, Southwest China. *Exp Appl Acarol.* 2020 Mar;80(3):339-348.
146. Lommano E, Dvořák C, Vallotton L, Jenni L, Gern L. Tick-borne pathogens in ticks collected from breeding and migratory birds in Switzerland. *Ticks Tick Borne Dis.* 2014 Oct;5(6):871-82.
147. Macaluso KR, Sonenshine DE, Ceraul SM, Azad AF. Rickettsial infection in Dermacentor variabilis (Acari: Ixodidae) inhibits transovarial transmission of a second Rickettsia. *J Med Entomol.* 2002 Nov;39(6):809-13.
148. Maetzel D, Maier WA, Kampen H. Borrelia burgdorferi infection prevalences in questing Ixodes ricinus ticks (Acari: Ixodidae) in urban and suburban Bonn, western Germany. *Parasitol Res.* 2005 Jan;95(1):5-12.

149. Mansueto P, Vitale G, Cascio A, Seidita A, Pepe I, Carroccio A, di Rosa S, Rini GB, Cillari E, Walker DH. New insight into immunity and immunopathology of Rickettsial diseases. *Clin Dev Immunol*. 2012;2012:967852.
150. Martinez JJ, Cossart P. Early signaling events involved in the entry of *Rickettsia conorii* into mammalian cells. *J Cell Sci*. 2004 Oct 1;117(Pt 21):5097-106.
151. Martinez JJ, Seveau S, Veiga E, Matsuyama S, Cossart P. Ku70, a component of DNA-dependent protein kinase, is a mammalian receptor for *Rickettsia conorii*. *Cell*. 2005 Dec 16;123(6):1013-23.
152. Martinod S, Gilot B. Epidemiology of canine babesiosis in relation to the activity of *Dermacentor reticulatus* in southern Jura (France). *Exp Appl Acarol*. 1991 Jun;11(2-3):215-22.
153. Matei IA, Corduneanu A, Sándor AD, Ionică AM, Panait L, Kalmár Z, Ivan T, Papuc I, Bouari C, Fit N, Mihalca AD. *Rickettsia* spp. in bats of Romania: high prevalence of *Rickettsia monacensis* in two insectivorous bat species. *Parasit Vectors*. 2021 Feb 10;14(1):107.
154. Materna J, Daniel M, Danielová V. Altitudinal distribution limit of the tick *Ixodes ricinus* shifted considerably towards higher altitudes in central Europe: results of three years monitoring in the Krkonose Mts. (Czech Republic). *Cent Eur J Public Health*. 2005 Mar;13(1):24-8.
155. May K, Strube C. Prevalence of Rickettsiales (*Anaplasma phagocytophilum* and *Rickettsia* spp.) in hard ticks (*Ixodes ricinus*) in the city of Hamburg, Germany. *Parasitol Res*. 2014 Jun;113(6):2169-75.
156. McClure EE, Chávez ASO, Shaw DK, Carlyon JA, Ganta RR, Noh SM, Wood DO, Bavoil PM, Brayton KA, Martinez JJ, McBride JW, Valdivia RH, Munderloh UG, Pedra JHF. Engineering of obligate intracellular bacteria: progress, challenges and paradigms. *Nat Rev Microbiol*. 2017 Sep;15(9):544-558.
157. McGinley L, Hansford KM, Cull B, Gillingham EL, Carter DP, Chamberlain JF, Hernandez-Triana LM, Phipps LP, Medlock JM. First report of human exposure to *Hyalomma marginatum* in England: Further evidence of a *Hyalomma* moulting event in north-western Europe? *Ticks Tick Borne Dis*. 2021 Jan;12(1):101541.
158. McGinn J, Lamason RL. The enigmatic biology of rickettsiae: recent advances, open questions and outlook. *Pathog Dis*. 2021 Apr 9;79(4):ftab019.
159. Medlock JM, Hansford KM, Bormane A, Derdakova M, Estrada-Peña A, George JC, Golovljova I, Jaenson TG, Jensen JK, Jensen PM, Kazimirova M, Oteo JA, Papa

- A, Pfister K, Plantard O, Randolph SE, Rizzoli A, Santos-Silva MM, Sprong H, Vial L, Hendrickx G, Zeller H, Van Bortel W. Driving forces for changes in geographical distribution of *Ixodes ricinus* ticks in Europe. *Parasit Vectors*. 2013 Jan 2;6:1.
160. Merhej V, Angelakis E, Socolovschi C, Raoult D. Genotyping, evolution and epidemiological findings of *Rickettsia* species. *Infect Genet Evol*. 2014 Jul;25:122-37.
161. Merhej V, Raoult D. Rickettsial evolution in the light of comparative genomics. *Biol Rev Camb Philos Soc*. 2011 May;86(2):379-405.
162. Michalik J, Hofman T, Buczek A, Skoracki M, Sikora B. *Borrelia burgdorferi* s.l. in *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae) ticks collected from vegetation and small rodents in recreational areas of the city of Poznań. *J Med Entomol*. 2003 Sep;40(5):690-7.
163. Michalski MM, Kubiak K, Szczotko M, Dmitryjuk M. Tick-Borne Pathogens in Ticks Collected from Wild Ungulates in North-Eastern Poland. *Pathogens*. 2021 May 11;10(5):587.
164. Michelet L, Delannoy S, Devillers E, Umhang G, Aspan A, Juremalm M, Chirico J, van der Wal FJ, Sprong H, Boye Pihl TP, Klitgaard K, Bødker R, Fach P, Moutailler S. High-throughput screening of tick-borne pathogens in Europe. *Front Cell Infect Microbiol*. 2014 Jul 29;4:103.
165. Mierzejewska EJ, Estrada-Peña A, Alsarraf M, Kowalec M, Bajer A. Mapping of *Dermacentor reticulatus* expansion in Poland in 2012-2014. *Ticks Tick Borne Dis*. 2016 Feb;7(1):94-106.
166. Mierzejewska EJ, Estrada-Peña A, Bajer A. Spread of *Dermacentor reticulatus* is associated with the loss of forest area. *Exp Appl Acarol*. 2017 Aug;72(4):399-413.
167. Mierzejewska EJ, Pawełczyk A, Radkowski M, Welc-Falęciak R, Bajer A. Pathogens vectored by the tick, *Dermacentor reticulatus*, in endemic regions and zones of expansion in Poland. *Parasit Vectors*. 2015 Sep 24;8:490.
168. Mitchell G, Isberg RR. Innate Immunity to Intracellular Pathogens: Balancing Microbial Elimination and Inflammation. *Cell Host Microbe*. 2017 Aug 9;22(2):166-175.
169. Morganti G, Gavaudan S, Canonico C, Ravagnan S, Olivieri E, Diaferia M, Marenzoni ML, Antognoni MT, Capelli G, Silaghi C, Veronesi F. Molecular Survey on *Rickettsia* spp., *Anaplasma phagocytophilum*, *Borrelia burgdorferi* Sensu Lato, and *Babesia* spp. in *Ixodes ricinus* Ticks Infesting Dogs in Central Italy. *Vector Borne Zoonotic Dis*. 2017 Nov;17(11):743-748.

- 
170. Movila A, Reye AL, Dubinina HV, Tolstenkov OO, Toderas I, Hübschen JM, Muller CP, Alekseev AN. Detection of Babesia Sp. EU1 and members of spotted fever group rickettsiae in ticks collected from migratory birds at Curonian Spit, North-Western Russia. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2011 Jan;11(1):89-91.
171. Mrozowska-Nyckowska K, Zbrzeźniak J, Paradowska-Stankiewicz I. Meningitis and encephalitis in Poland in 2020. *Przegl Epidemiol.* 2022;76(3):371-384.
172. Mwangi EN, Dipeolu OO, Newson RM, Kaaya G, Hassan SM. Predators, parasitoids and pathogens of ticks: A review. *Biocontrol Sci. Technol.* 1991, 1, 147–156.
173. Narra HP, Sahni A, Walker DH, Sahni SK. Recent research milestones in the pathogenesis of human rickettsioses and opportunities ahead. *Future Microbiol.* 2020 Jun;15(9):753-765.
174. Nelson C, Banks S, Jeffries CL, Walker T, Logan JG. Tick abundances in South London parks and the potential risk for Lyme borreliosis to the general public. *Med Vet Entomol.* 2015 Dec;29(4):448-52.
175. Ngwamidiba M, Blanc G, Raoult D, Fournier PE. Sca1, a previously undescribed paralog from autotransporter protein-encoding genes in Rickettsia species. *BMC Microbiol.* 2006 Feb 20;6:12.
176. Niebylski ML, Peacock MG, Schwan TG. Lethal effect of Rickettsia rickettsii on its tick vector (Dermacentor andersoni). *Appl Environ Microbiol.* 1999 Feb;65(2):773-8.
177. Nielsen AB, van den Bosch M, Maruthaveeran S, van den Bosch CK. Species richness in urban parks and its drivers: a review of empirical evidence. *Urban Ecosystems.* 2014. 17, 305–327.
178. Nijhof AM, Bodaan C, Postigo M, Nieuwenhuijs H, Opsteegh M, Franssen L, Jebbink F, Jongejan F. Ticks and associated pathogens collected from domestic animals in the Netherlands. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2007 Winter;7(4):585-95.
179. Nowak M. Discovery of Dermacentor reticulatus (Acari: Amblyommidae) populations in the Lubuskie Province (Western Poland). *Exp Appl Acarol.* 2011 Jun;54(2):191-7.
180. Nowak-Chmura M, Siuda K. Ticks of Poland. Review of contemporary issues and latest research. *Ann Parasitol.* 2012;58(3):125-55.
181. Nowak-Chmura M. Fauna kleszczy (*Ixodida*) Europy Środkowej. 2013 Wydawnictwo Naukowe Uniwersytetu Pedagogicznego.

182. Nowosad A, Jenek J, Głazaczow A, Wal M. Kleszcze pospolite *Ixodes ricinus* (Linnaeus, 1758) z wybranych lasow komunalnych Poznania oraz ich zakazenie kretkami *Borrelia burgdorferi sensu lato* [Ticks *Ixodes ricinus* (Linnaeus, 1758) from selected municipal forests of the city Poznań and their infection with the spirochetes *Borrelia burgdorferi sensu lato*]. *Przegl Epidemiol.* 1999;53(3-4):299-308.
183. Nuttall PA, Labuda M. Tick-host interactions: saliva-activated transmission. *Parasitology.* 2004;129 Suppl:S177-89.
184. Ogata H, La Scola B, Audic S, Renesto P, Blanc G, Robert C, Fournier PE, Claverie JM, Raoult D. Genome sequence of *Rickettsia bellii* illuminates the role of amoebae in gene exchanges between intracellular pathogens. *PLoS Genet.* 2006 May;2(5):e76.
185. Ogata H, Renesto P, Audic S, Robert C, Blanc G, Fournier PE, Parinello H, Claverie JM, Raoult D. The genome sequence of *Rickettsia felis* identifies the first putative conjugative plasmid in an obligate intracellular parasite. *PLoS Biol.* 2005 Aug;3(8):e248.
186. Osterloh A. The neglected challenge: Vaccination against rickettsiae. *PLoS Negl Trop Dis.* 2020 Oct 22;14(10):e0008704.
187. Oteo JA, Portillo A. Tick-borne rickettsioses in Europe. *Ticks Tick Borne Dis.* 2012 Dec;3(5-6):271-8.
188. Ott D, Ulrich K, Ginsbach P, Öhme R, Bock-Hensley O, Falk U, Teinert M, Lenhard T. Tick-borne encephalitis virus (TBEV) prevalence in field-collected ticks (*Ixodes ricinus*) and phylogenetic, structural and virulence analysis in a TBE high-risk endemic area in southwestern Germany. *Parasit Vectors.* 2020 Jun 11;13(1):303.
189. Overzier E, Pfister K, Herb I, Mahling M, Böck G Jr, Silaghi C. Detection of tick-borne pathogens in roe deer (*Capreolus capreolus*), in questing ticks (*Ixodes ricinus*), and in ticks infesting roe deer in southern Germany. *Ticks Tick Borne Dis.* 2013a Jun;4(4):320-8.
190. Overzier E, Pfister K, Thiel C, Herb I, Mahling M, Silaghi C. Diversity of *Babesia* and *Rickettsia* species in questing *Ixodes ricinus*: a longitudinal study in urban, pasture, and natural habitats. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2013b Aug;13(8):559-64.
191. Paddock CD, Sumner JW, Comer JA, Zaki SR, Goldsmith CS, Goddard J, McLellan SL, Tamminga CL, Ohl CA. *Rickettsia parkeri*: a newly recognized cause of spotted fever rickettsiosis in the United States. *Clin Infect Dis.* 2004 Mar 15;38(6):805-11.



192. Palmer GH, Azad AFeds. *Intracellular Pathogens II: Rickettsiales*. Washington, DC: ASM Press, 2012.
193. Palomar AM, Santibáñez P, Mazuelas D, Roncero L, Santibáñez S, Portillo A, Oteo JA. Role of birds in dispersal of etiologic agents of tick-borne zoonoses, Spain, 2009. *Emerg Infect Dis*. 2012 Jul;18(7):1188-91.
194. Pan X, Lührmann A, Satoh A, Laskowski-Arce MA, Roy CR. Ankyrin repeat proteins comprise a diverse family of bacterial type IV effectors. *Science*. 2008 Jun 20;320(5883):1651-4.
195. Parola P, Paddock CD, Socolovschi C, Labruna MB, Mediannikov O, Kernif T, Abdad MY, Stenos J, Bitam I, Fournier PE, Raoult D. Update on tick-borne rickettsioses around the world: a geographic approach. *Clin Microbiol Rev*. 2013 Oct;26(4):657-702
196. Parola P, Raoult D. Ticks and tickborne bacterial diseases in humans: an emerging infectious threat. *Clin Infect Dis*. 2001 Mar 15;32(6):897-928.
197. Paulauskas A, Radzijeuskaja J, Mardosaitė-Busaitienė D, Aleksandravičienė A, Galdikas M, Krikštolaitis R. New localities of *Dermacentor reticulatus* ticks in the Baltic countries. *Ticks Tick Borne Dis*. 2015 Jul;6(5):630-5.
198. Pawełczyk A, Bednarska M, Hamera A, Religa E, Poryszewska M, Mierzejewska EJ, Welc-Falęciak R. Long-term study of *Borrelia* and *Babesia* prevalence and co-infection in *Ixodes ricinus* and *Dermacentor reticulatus* ticks removed from humans in Poland, 2016-2019. *Parasit Vectors*. 2021 Jul 1;14(1):348.
199. Perlman SJ, Hunter MS, Zchori-Fein E. The emerging diversity of *Rickettsia*. *Proc Biol Sci*. 2006 Sep 7;273(1598):2097-106.
200. Perotti MA, Clarke HK, Turner BD, Braig HR. *Rickettsia* as obligate and mycetomic bacteria. *FASEB J*. 2006 Nov;20(13):2372-4.
201. Perret JL, Guigoz E, Rais O, Gern L. Influence of saturation deficit and temperature on *Ixodes ricinus* tick questing activity in a Lyme borreliosis-endemic area (Switzerland). *Parasitol Res*. 2000 Jul;86(7):554-7.
202. Personnic N, Bärlocher K, Finsel I, Hilbi H. Subversion of Retrograde Trafficking by Translocated Pathogen Effectors. *Trends Microbiol*. 2016 Jun;24(6):450-462.
203. Pfäffle M, Littwin N, Muders SV, Petney TN. The ecology of tick-borne diseases. *Int J Parasitol*. 2013 Nov;43(12-13):1059-77.

- 
204. Pinkerton H, Hass GM. SPOTTED FEVER : I. INTRANUCLEAR RICKETTSIAE IN SPOTTED FEVER STUDIED IN TISSUE CULTURE. *J Exp Med.* 1932 Jun 30;56(1):151-6.
205. Piotrowski M, Rymaszewska A. Expansion of Tick-Borne Rickettsioses in the World. *Microorganisms.* 2020 Nov 30;8(12):1906.
206. Piotrowski M, Rymaszewska A. The Impact of a Pandemic COVID-19 on the Incidence of Borreliosis in Poland. *Acta Parasitol.* 2022 Jun;67(2):1007-1009.
207. Pizarro-Cerdá J, Kühbacher A, Cossart P. Phosphoinositides and host-pathogen interactions. *Biochim Biophys Acta.* 2015 Jun;1851(6):911-8.
208. Porretta D, Mastrantonio V, Amendolia S, Gaiarsa S, Epis S, Genchi C, Bandi C, Otranto D, Urbanelli S. Effects of global changes on the climatic niche of the tick *Ixodes ricinus* inferred by species distribution modelling. *Parasit Vectors.* 2013 Sep 19;6:271. doi: 10.1186/1756-3305-6-271.
209. Price CT, Jones SC, Amundson KE, Kwaik YA. Host-mediated post-translational prenylation of novel dot/icm-translocated effectors of legionella pneumophila. *Front Microbiol.* 2010 Nov 23;1:131.
210. Prokopowicz D. Znaczenie medyczne i weterynaryjne kleszczy. W: Choroby przenoszone przez kleszcze (red.) Prokopowicz D. 1995 Wydawnictwo Fundacji Buchnera.
211. Pugliese A, Rosà R. Effect of host populations on the intensity of ticks and the prevalence of tick-borne pathogens: how to interpret the results of deer enclosure experiments. *Parasitology.* 2008 Nov;135(13):1531-44.
212. Radulovic S, Troyer JM, Beier MS, Lau AO, Azad AF. Identification and molecular analysis of the gene encoding *Rickettsia typhi* hemolysin. *Infect Immun.* 1999 Nov;67(11):6104-8.
213. Radulović Z, Chochlakis D, Tomanović S, Milutinović M, Tselentis Y, Psaroulaki A. First detection of spotted fever group Rickettsiae in ticks in Serbia. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2011 Feb;11(2):111-5.
214. Radzijeuskaja J, Paulauskas A, Aleksandraviciene A, Jonauskaite I, Stanko M, Karbowski G, Petko B. New records of spotted fever group rickettsiae in Baltic region. *Microbes Infect.* 2015 Nov-Dec;17(11-12):874-8.
215. Ramos RAN, de Macedo LO, Bezerra-Santos MA, de Carvalho GA, Verocai GG, Otranto D. The Role of Parasitoid Wasps, *Ixodiphagus* spp. (Hymenoptera: Encyrtidae), in Tick Control. *Pathogens.* 2023 May 3;12(5):676.

- 
216. Randolph SE. Evidence that climate change has caused 'emergence' of tick-borne diseases in Europe? *Int J Med Microbiol*. 2004 Apr;293 Suppl 37:5-15.
217. Randolph SE. Ticks are not Insects: Consequences of Contrasting Vector Biology for Transmission Potential. *Parasitol Today*. 1998 May;14(5):186-92.
218. Raoult D, Berbis P, Roux V, Xu W, Maurin M. A new tick-transmitted disease due to *Rickettsia slovaca*. *Lancet*. 1997 Jul 12;350(9071):112-3.
219. Ray K, Marteyn B, Sansonetti PJ, Tang CM. Life on the inside: the intracellular lifestyle of cytosolic bacteria. *Nat Rev Microbiol*. 2009 May;7(5):333-40.
220. Reed SCO, Lamason RL, Risca VI, Abernathy E, Welch MD. *Rickettsia actin*-based motility occurs in distinct phases mediated by different actin nucleators. *Curr Biol*. 2014 Jan 6;24(1):98-103.
221. Rehacek, J. Development of animal viruses and rickettsiae in ticks and mites. *Annual Review of Entomology*. 1965, 10, 1-24.
222. Renesto P, Dehoux P, Gouin E, Touqui L, Cossart P, Raoult D. Identification and characterization of a phospholipase D-superfamily gene in rickettsiae. *J Infect Dis*. 2003 Nov 1;188(9):1276-83.
223. Rennoll-Bankert KE, Rahman MS, Gillespie JJ, Guillotte ML, Kaur SJ, Lehman SS, Beier-Sexton M, Azad AF. Which Way In? The RalF Arf-GEF Orchestrates *Rickettsia* Host Cell Invasion. *PLoS Pathog*. 2015 Aug 20;11(8):e1005115.
224. Reye AL, Stegnyy V, Mishaeva NP, Velhin S, Hübschen JM, Ignatyev G, Muller CP. Prevalence of tick-borne pathogens in *Ixodes ricinus* and *Dermacentor reticulatus* ticks from different geographical locations in Belarus. *PLoS One*. 2013;8(1):e54476.
225. Rizzoli A, Silaghi C, Obiegala A, Rudolf I, Hubálek Z, Földvári G, Plantard O, Vayssier-Taussat M, Bonnet S, Spitalská E, Kazimírová M. *Ixodes ricinus* and Its Transmitted Pathogens in Urban and Peri-Urban Areas in Europe: New Hazards and Relevance for Public Health. *Front Public Health*. 2014 Dec 1;2:251.
226. Rogalska AM, Pawelczyk O, Solarz K, Holecki T. What Are the Costs of Diagnostics and Treatment of Lyme Borreliosis in Poland? *Front Public Health*. 2021 Jan 18;8:599239.
227. Rogovskyy A, Batool M, Gillis DC, Holman PJ, Nebogatkin IV, Rogovska YV, Rogovskyy MS. Diversity of *Borrelia spirochetes* and other zoonotic agents in ticks from Kyiv, Ukraine. *Ticks Tick Borne Dis*. 2018 Feb;9(2):404-409.
228. Rogovskyy AS, Nebogatkin IV, Scoles GA. Ixodid ticks in the megapolis of Kyiv, Ukraine. *Ticks Tick Borne Dis*. 2017 Jan;8(1):99-102.

229. Rosà R, Andreo V, Tagliapietra V, Baráková I, Arnoldi D, Hauffe HC, Manica M, Rosso F, Blaňarová L, Bona M, Derdáková M, Hamšíková Z, Kazimírová M, Kraljik J, Kocianová E, Mahříková L, Minichová L, Mošanský L, Slovák M, Stanko M, Špitalská E, Ducheyne E, Neteler M, Hubálek Z, Rudolf I, Venclíkova K, Silaghi C, Overzier E, Farkas R, Földvári G, Hornok S, Takács N, Rizzoli A. Effect of Climate and Land Use on the Spatio-Temporal Variability of Tick-Borne Bacteria in Europe. *Int J Environ Res Public Health*. 2018 Apr 12;15(4):732.
230. 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 Sep;34(9):2058-65.
231. Roux V, Raoult D. Phylogenetic analysis of members of the genus *Rickettsia* using the gene encoding the outer-membrane protein rOmpB (ompB). *Int J Syst Evol Microbiol*. 2000 Jul;50 Pt 4:1449-1455.
232. Roux V, Rydkina E, Ereemeeva M, Raoult D. Citrate synthase gene comparison, a new tool for phylogenetic analysis, and its application for the rickettsiae. *Int J Syst Bacteriol*. 1997 Apr;47(2):252-61.
233. Rudolf I, Venclíková K, Blažejová H, Betášová L, Mendel J, Hubálek Z, Parola P. First report of *Rickettsia raoultii* and *Rickettsia helvetica* in *Dermacentor reticulatus* ticks from the Czech Republic. *Ticks Tick Borne Dis*. 2016 Oct;7(6):1222-1224.
234. Rymaszewska A, Piotrowski M. Use of DNA sequences for *Rickettsia* identification in *Ixodes ricinus* ticks: the first detection of *Rickettsia monacensis* in Poland. *Microbes Infect*. 2013 Feb;15(2):140-6.
235. Sahni A, Fang R, Sahni SK, Walker DH. Pathogenesis of Rickettsial Diseases: Pathogenic and Immune Mechanisms of an Endotheliotropic Infection. *Annu Rev Pathol*. 2019 Jan 24;14:127-152.
236. Samsináková A, Kálalová S, Daniel M, Dusbábek F, Honzáková E, Cerný V. Entomogenous fungi associated with the tick *Ixodes ricinus* (L.). *Folia Parasitol (Praha)*. 1974;21(1):39-48.
237. Sanchez-Vicente S, Tagliafierro T, Coleman JL, Benach JL, Tokarz R. Polymicrobial Nature of Tick-Borne Diseases. *mBio*. 2019 Sep 10;10(5):e02055-19.
238. Sands BO, Bryer KE, Wall R. Climate and the seasonal abundance of the tick *Dermacentor reticulatus*. *Med Vet Entomol*. 2021 Sep;35(3):434-441.

- 
239. Schaarschmidt D, Gilli U, Gottstein B, Marreros N, Kuhnert P, Daeppen JA, Rosenberg G, Hirt D, Frey CF. Questing *Dermacentor reticulatus* harbouring *Babesia canis* DNA associated with outbreaks of canine babesiosis in the Swiss Midlands. *Ticks Tick Borne Dis.* 2013 Jun;4(4):334-40.
240. Schorn S, Pfister K, Reulen H, Mahling M, Silaghi C. Occurrence of *Babesia* spp., *Rickettsia* spp. and *Bartonella* spp. in *Ixodes ricinus* in Bavarian public parks, Germany. *Parasit Vectors.* 2011 Jul 15;4:135.
241. Schulze TL, Bowen GS, Lakat MF, Parkin WE, Shisler JK. Seasonal abundance and hosts of *Ixodes dammini* (Acari: Ixodidae) and other ixodid ticks from an endemic Lyme disease focus in New Jersey, USA. *J Med Entomol.* 1986 Jan 24;23(1):105-9.
242. Sears KT, Ceraul SM, Gillespie JJ, Allen ED Jr, Popov VL, Ammerman NC, Rahman MS, Azad AF. Surface proteome analysis and characterization of surface cell antigen (Sca) or autotransporter family of *Rickettsia typhi*. *PLoS Pathog.* 2012;8(8):e1002856.
243. Sekeyova Z, Roux V, Raoult D. Phylogeny of *Rickettsia* spp. inferred by comparing sequences of 'gene D', which encodes an intracytoplasmic protein. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2001 Jul;51(Pt 4):1353-1360.
244. Severinsson K, Jaenson TG, Pettersson J, Falk K, Nilsson K. Detection and prevalence of *Anaplasma phagocytophilum* and *Rickettsia helvetica* in *Ixodes ricinus* ticks in seven study areas in Sweden. *Parasit Vectors.* 2010 Aug 4;3:66.
245. Shpynov S, Parola P, Rudakov N, Samoilenko I, Tankibaev M, Tarasevich I, Raoult D. Detection and identification of spotted fever group rickettsiae in *Dermacentor* ticks from Russia and central Kazakhstan. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2001 Dec;20(12):903-5.
246. Shuaib YA, Isaa MH, Ezz-Eldin MI, Abdalla MA, Bakhiet AO, Chitimia-Dobler L. Morphological abnormalities in ticks (Acari: Ixodidae) collected from domestic animal species in Sudan. *Exp Appl Acarol.* 2020 Sep;82(1):161-169.
247. Silaghi C, Weis L, Pfister K. *Dermacentor reticulatus* and *Babesia canis* in Bavaria (Germany)-A Georeferenced Field Study with Digital Habitat Characterization. *Pathogens.* 2020 Jul 7;9(7):541.
248. Silverman DJ, Wisseman CL Jr, Waddell A. In vitro studies of *Rickettsia*-host cell interactions: ultrastructural study of *Rickettsia prowazekii*-infected chicken embryo fibroblasts. *Infect Immun.* 1980 Aug;29(2):778-90.

- 
249. Silverman DJ, Wisseman CL Jr. In vitro studies of rickettsia-host cell interactions: ultrastructural changes induced by *Rickettsia rickettsii* infection of chicken embryo fibroblasts. *Infect Immun*. 1979 Nov;26(2):714-27.
250. Šimo L, Kocáková P, Sláviková M et al (2004) *Dermacentor reticulatus* (Acari, Ixodidae) female feeding in laboratory. *Biol Sect Zool* 59:655–660
251. Simser JA, Palmer AT, Fingerle V, Wilske B, Kurtti TJ, Munderloh UG. *Rickettsia monacensis* sp. nov., a spotted fever group *Rickettsia*, from ticks (*Ixodes ricinus*) collected in a European city park. *Appl Environ Microbiol*. 2002 Sep;68(9):4559-66.
252. Siroký P, Kubelová M, Bednář M, Modrý D, Hubálek Z, Tkadlec E. The distribution and spreading pattern of *Dermacentor reticulatus* over its threshold area in the Czech Republic--how much is range of this vector expanding? *Vet Parasitol*. 2011 Dec 29;183(1-2):130-5.
253. Siuda K. Fauna kleszczy (Acari: Ixodida) w Polsce [Tick fauna (Acari: Ixodida) in Poland]. *Wiad Parazytol*. 1995;41(3):277-88.
254. Siuda K. Kleszcze (*Acari: Ixodida*) Polski, Część II, Systematyka i rozmieszczenie, 1993 Polskie Towarzystwo Parazytologiczne.
255. Siuda K. Kleszcze (*Acari: Ixodida*) Polski, Część I - zagadnienia ogólne. 1991 Polskie Towarzystwo Parazytologiczne.
256. Smetanová K, Schwarzová K, Kocianová E. Detection of *Anaplasma phagocytophilum*, *Coxiella burnetii*, *Rickettsia* spp., and *Borrelia burgdorferi* s. l. in Ticks, and wild-living animals in western and middle Slovakia. *Ann N Y Acad Sci*. 2006 Oct;1078:312-5.
257. Socolovschi C, Huynh TP, Davoust B, Gomez J, Raoult D, Parola P. Transovarial and trans-stadial transmission of *Rickettsia africae* in *Amblyomma variegatum* ticks. *Clin Microbiol Infect*. 2009a Dec;15 Suppl 2:317-8.
258. Socolovschi C, Matsumoto K, Brouqui P, Raoult D, Parola P. Experimental infection of *Rhipicephalus sanguineus* with *Rickettsia conorii conorii*. *Clin Microbiol Infect*. 2009b Dec;15 Suppl 2:324-5.
259. Socolovschi C, Mediannikov O, Raoult D, Parola P. The relationship between spotted fever group *Rickettsia* and ixodid ticks. *Vet Res*. 2009c Mar-Apr;40(2):34.
260. Špitalská E, Boldiš V, Derdáková M, Selyemová D, Rusňáková Tarageľová V. *Rickettsial* infection in *Ixodes ricinus* ticks in urban and natural habitats of Slovakia. *Ticks Tick Borne Dis*. 2014 Mar;5(2):161-5.

- 
261. Sréter T, Széll Z, Varga I. Spatial distribution of *Dermacentor reticulatus* and *Ixodes ricinus* in Hungary: evidence for change? *Vet Parasitol.* 2005 Mar 31;128(3-4):347-51.
262. Tamura K, Stecher G, Kumar S. MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. *Mol Biol Evol.* 2021 Jun 25;38(7):3022-3027.
263. Stańczak J, Biernat B, Matyjasek A, Racewicz M, Zalewska M, Lewandowska D. Kampinos National Park: a risk area for spotted fever group rickettsioses, central Poland? *Exp Appl Acarol.* 2016 Nov;70(3):395-410.
264. Süss J, Schrader C, Abel U, Voigt WP, Schosser R. Annual and seasonal variation of tick-borne encephalitis virus (TBEV) prevalence in ticks in selected hot spot areas in Germany using a nRT-PCR: results from 1997 and 1998. *Zentralbl Bakteriol.* 1999 Dec;289(5-7):564-78.
265. Tappe J, Jordan D, Janecek E, Fingerle V, Strube C. Revisited: *Borrelia burgdorferi* sensu lato infections in hard ticks (*Ixodes ricinus*) in the city of Hanover (Germany). *Parasit Vectors.* 2014 Sep 18;7:441.
266. Tautz D, Arctander P, Minelli A, Thomas RH, Vogler AP. A plea for DNA taxonomy. *Trends Ecol. Evol.* 2003, 18, 70–74.
267. Teyssie N, Boudier JA, Raoult D. *Rickettsia conorii* entry into Vero cells. *Infect Immun.* 1995 Jan;63(1):366-74.
268. Teyssie N, Chiche-Portiche C, Raoult D. Intracellular movements of *Rickettsia conorii* and *R. typhi* based on actin polymerization. *Res Microbiol.* 1992 Nov-Dec;143(9):821-9.
269. Thomas CM, Nielsen KM. Mechanisms of, and barriers to, horizontal gene transfer between bacteria. *Nat Rev Microbiol.* 2005 Sep;3(9):711-21.
270. Tjisse-Klasen E, Hansford KM, Jahfari S, Phipps P, Sprong H, Medlock JM. Spotted fever group rickettsiae in *Dermacentor reticulatus* and *Haemaphysalis punctata* ticks in the UK. *Parasit Vectors.* 2013 Jul 19;6:212
271. Tomassone L, Portillo A, Nováková M, de Sousa R, Oteo JA. Neglected aspects of tick-borne rickettsioses. *Parasit Vectors.* 2018 Apr 24;11(1):263.
272. Tomczyk AM, Bednorz E, Szyga-Pluta K. Changes in Air Temperature and Snow Cover in Winter in Poland. *Atmosphere.* 2021; 12(1):68.
273. Tomkins JL, Aungier J, Hazel W, Gilbert L. Towards an evolutionary understanding of questing behaviour in the tick *Ixodes ricinus*. *PLoS One.* 2014 Oct 15;9(10):e110028.

274. Trzebny A, Liberska J, Slodkiewicz-Kowalska A, Dabert M. Metabarcoding reveals low prevalence of microsporidian infections in castor bean tick (*Ixodes ricinus*). *Parasit Vectors*. 2022 Jan 15;15(1):26.
275. Uspensky I. Tick pests and vectors (Acari: Ixodoidea) in European towns: Introduction, persistence and management. *Ticks Tick Borne Dis*. 2014 Feb;5(1):41-7.
276. Vargová B, Kurimský J, Cimbala R, Kosterec M, Majláth I, Pipová N, Tryjanowski P, Jankowiak Ł, Majlathova V. Ticks and Radio-Frequency Signals: Behavioural Response of Ticks (*Dermacentor reticulatus*) in a 900 MHz Electromagnetic Field. *Syst. Appl. Acarol*. 2017, 22, 683–693.
277. Vargová B, Majláth I, Kurimský J, Cimbala R, Kosterec M, Tryjanowski P, Jankowiak Ł, Raši T, Majláthová V. Electromagnetic radiation and behavioural response of ticks: an experimental test. *Exp Appl Acarol*. 2018 May;75(1):85-95.
278. Vargová B, Majlath I, Kurimský J, Cimbala R, Pipova N, Živčák J, Tryjanowski P, Peřko B, Džmura J, Ižariková G, Majláthová V. Morphometric analysis - effect of the radiofrequency interface of electromagnetic field on the size of hatched *Dermacentor reticulatus* larvae. *Ann Agric Environ Med*. 2021 Sep 16;28(3):419-425.
279. Vargová B, Majláth I, Kurimský J, Cimbala R, Zbojovský J, Tryjanowski P, Majláthová V. Locomotor Activity of *Ixodes ricinus* Females in 900 MHz Electromagnetic Field. *Life (Basel)*. 2022 Jun 13;12(6):884.
280. Venclikova K, Rudolf I, Mendel J, Betasova L, Hubalek Z. Rickettsiae in questing *Ixodes ricinus* ticks in the Czech Republic. *Ticks Tick Borne Dis*. 2014 Mar;5(2):135-8.
281. Vitorino L, Chelo IM, Bacellar F, Zé-Zé L. Rickettsiae phylogeny: a multigenic approach. *Microbiology (Reading)*. 2007 Jan;153(Pt 1):160-8. doi: 10.1099/mic.0.2006/001149-0.
282. Vitorino L, Zé-Zé L, Sousa A, Bacellar F, Tenreiro R. rRNA intergenic spacer regions for phylogenetic analysis of Rickettsia species. *Ann N Y Acad Sci*. 2003 Jun;990:726-33.
283. Voss OH, Gillespie JJ, Lehman SS, Rennoll SA, Beier-Sexton M, Rahman MS, Azad AF. Risk1, a Phosphatidylinositol 3-Kinase Effector, Promotes Rickettsia typhi Intracellular Survival. *mBio*. 2020 Jun 16;11(3):e00820-20.
284. Voss OH, Rahman MS. Rickettsia-host interaction: strategies of intracytosolic host colonization. *Pathog Dis*. 2021 Apr 5;79(4):ftab015.



- 
285. Walker DH, Cain BG. The rickettsial plaque. Evidence for direct cytopathic effect of *Rickettsia rickettsii*. *Lab Invest.* 1980 Oct;43(4):388-96.
286. Walker DH, Harrison A, Henderson F, Murphy FA. Identification of *Rickettsia rickettsii* in a guinea pig model by immunofluorescent and electron microscopic techniques. *Am J Pathol.* 1977 Feb;86(2):343-58.
287. Walker DH, Ismail N. Emerging and re-emerging rickettsioses: endothelial cell infection and early disease events. *Nat Rev Microbiol.* 2008 May;6(5):375-86.
288. Weinert LA, Werren JH, Aebi A, Stone GN, Jiggins FM. Evolution and diversity of *Rickettsia* bacteria. *BMC Biol.* 2009 Feb 2;7:6. doi: 10.1186/1741-7007-7-6.
289. Welc-Falęciak R, Kowalec M, Karbowski G, Bajer A, Behnke JM, Siński E. Rickettsiaceae and Anaplasmataceae infections in *Ixodes ricinus* ticks from urban and natural forested areas of Poland. *Parasit Vectors.* 2014 Mar 24;7:121.
290. Whitworth T, Popov VL, Yu XJ, Walker DH, Bouyer DH. Expression of the *Rickettsia prowazekii* pld or tlyC gene in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium mediates phagosomal escape. *Infect Immun.* 2005 Oct;73(10):6668-73.
291. Wierzbička A, Rączka G, Skorupski M, Michalik J, Lane RS. Human behaviors elevating the risk of exposure to *Ixodes ricinus* larvae and nymphs in two types of lowland coniferous forests in west-central Poland. *Ticks Tick Borne Dis.* 2016 Oct;7(6):1180-1185.
292. Wikel SK. Ticks and Tick-Borne Infections: Complex Ecology, Agents, and Host Interactions. *Vet Sci.* 2018 Jun 20;5(2):60.
293. Williams KP, Sobral BW, Dickerman AW. A robust species tree for the alphaproteobacteria. *J Bacteriol.* 2007 Jul;189(13):4578-86.
294. Wisseman CL Jr, Edlinger EA, Waddell AD, Jones MR. Infection cycle of *Rickettsia rickettsii* in chicken embryo and L-929 cells in culture. *Infect Immun.* 1976 Oct;14(4):1052-64.
295. Wisseman CL Jr, Waddell AD. In vitro studies on rickettsia-host cell interactions: intracellular growth cycle of virulent and attenuated *Rickettsia prowazekii* in chicken embryo cells in slide chamber cultures. *Infect Immun.* 1975 Jun;11(6):1391-404.
296. Wolbach SB. Studies on Rocky Mountain spotted Fever. *J Med Res.* 1919 Nov;41(1):1-198.41.
297. Wójcik-Fatla A, Cisak E, Zając V, Sroka J, Sawczyn A, Dutkiewicz J. Study on tick-borne rickettsiae in eastern Poland. I. Prevalence in *Dermacentor reticulatus* (Acari: Amblyommidae). *Ann Agric Environ Med.* 2013;20(2):276-9.

- 
298. Wójcik-Fatla A, Cisak E, Zając V, Zwoliński J, Dutkiewicz J. Prevalence of tick-borne encephalitis virus in *Ixodes ricinus* and *Dermacentor reticulatus* ticks collected from the Lublin region (eastern Poland). *Ticks Tick Borne Dis.* 2011 Mar;2(1):16-9.
299. Wright CL, Sonenshine DE, Gaff HD, Hynes WL. *Rickettsia parkeri* Transmission to *Amblyomma americanum* by Cofeeding with *Amblyomma maculatum* (Acari: Ixodidae) and Potential for Spillover. *J Med Entomol.* 2015 Sep;52(5):1090-5.
300. Yang Q, Stevenson HL, Scott MJ, Ismail N. Type I interferon contributes to noncanonical inflammasome activation, mediates immunopathology, and impairs protective immunity during fatal infection with lipopolysaccharide-negative *ehrlichiae*. *Am J Pathol.* 2015 Feb;185(2):446-61.
301. Zając V, Wójcik-Fatla A, Sawczyn A, Cisak E, Sroka J, Kloc A, Zając Z, Buczek A, Dutkiewicz J, Bartosik K. Prevalence of infections and co-infections with 6 pathogens in *Dermacentor reticulatus* ticks collected in eastern Poland. *Ann Agric Environ Med.* 2017 Mar 21;24(1):26-32.
302. Zając Z, Kulisz J, Woźniak A, Bartosik K, Khan A. Seasonal activity of *Dermacentor reticulatus* ticks in the era of progressive climate change in eastern Poland. *Sci Rep.* 2021 Oct 14;11(1):20382.
303. Zając Z, Woźniak A, Kulisz J. Density of *Dermacentor reticulatus* Ticks in Eastern Poland. *Int J Environ Res Public Health.* 2020 Apr 19;17(8):2814.
304. Zchori-Fein E, Borad C, Harari AR. Oogenesis in the date stone beetle, *Coccotrypes dactyliperda*, depends on symbiotic bacteria. *Physiol Entomol* 2006; 31:164–9.
305. Zharkov SD, Dubinina HV, Alekseev AN, Jensen PM. Anthropogenic pressure and changes in *Ixodes* tick populations in the Baltic region of Russia and Denmark. *Acarina.* 2000; 8(2):137–141.
306. Zięba P, Nowakiewicz A, Michalski A, Wlizo-Skowronek B, Gawel J, Niemcewicz M, Gnat S, Łagowski D. A new locality of the *Haemaphysalis concinna* tick (Koch, 1844) in Poland and its role as a potential vector of infectious diseases. *Ann Parasitol.* 2019;65(3):281-286.
307. Zygnier W, Wędrychowicz H. Biologia kleszczy właściwych jako wektora chorób zakaźnych i pasożytniczych. *Postępy Mikrobiologii.* 2008; 47, 3, 293-297.