

UNIWERSYTET KOMISJI EDUKACJI NARODOWEJ W KRAKOWIE

SZKOŁA DOKTORSKA

DYSCYPLINA: NAUKI BIOLOGICZNE

WYDZIAŁ NAUK ŚCISŁYCH I PRZYRODNICZYCH

INSTYTUT BIOLOGII I NAUK O ZIEMI

KATEDRA ZOOLOGII



**Uniwersytet Komisji
Edukacji Narodowej
w Krakowie**

Sylwia Koczanowicz

ROZPRAWA DOKTORSKA

**Ryzyko narażenia człowieka na infestację przez kleszcze (Acari: Ixodida)
i choroby odkleszczowe na wybranych terenach Popradzkiego Parku Krajobrazowego**

Promotor: dr hab. Magdalena Nowak-Chmura, prof. UKEN

Promotor pomocniczy: dr hab. n. med. Marek Asman, prof. ŚUM

Kraków 2026

UNIVERSITY OF THE NATIONAL EDUCATION COMMISSION, KRAKOW

DOCTORAL SCHOOL

DISCIPLINE: BIOLOGICAL SCIENCES

FACULTY OF EXACT AND NATURAL SCIENCES

INSTITUTE OF BIOLOGY AND EARTH SCIENCES

DEPARTMENT OF ZOOLOGY



**Uniwersytet Komisji
Edukacji Narodowej
w Krakowie**

Sylwia Koczanowicz

DOCTORAL DISSERTATION

**Risk of Human Exposure to Tick Infestation (Acari: Ixodida)
and Tick-Borne Diseases in Selected Areas of the Poprad Landscape Park**

Supervisor: dr hab. Magdalena Nowak-Chmura, prof. UKEN
Associate supervisor: dr hab. n. med. Marek Asman, prof. ŚUM

Kraków 2026

Podziękowanie

Serdecznie dziękuję Pani Promotor dr hab. Magdalenie Nowak-Chmurze, prof. UKEN, za opiekę merytoryczną, poświęcony czas, wsparcie oraz wprowadzenie mnie w świat akarologii. Dziękuję za możliwość udziału w konferencjach, inspirujące rozmowy i przykład, jak łączyć profesjonalizm z życzliwością.

Panu Promotorowi pomocniczemu, dr hab. Markowi Asmanowi, prof. SUM, dziękuję za wprowadzenie w badania molekularne, umożliwienie realizacji analiz oraz za cierpliwość i cenne wskazówki na każdym etapie pracy.

Dziękuję również Pracownikom Instytutu Biologii i Nauk o Ziemi Uniwersytetu Komisji Edukacji Narodowej w Krakowie i Katedrze i Zakładowi Biologii Medycznej i Molekularnej Śląskiego Uniwersytetu Medycznego za okazaną pomoc i wsparcie.

Słowa podziękowania kieruję także do Współautorów moich publikacji - dr Annie Kocoń, dr Dorocie Hudy, dr Joannie Witeckiej, dr inż. Grzegorzowi Rączce oraz mgr Karolinie Baranowskiej - za współpracę i wkład w powstanie prac opublikowanych w renomowanych czasopismach naukowych.

Na koniec pragnę podziękować moim Rodzicom oraz Mężowi za nieustające wsparcie i wiarę we mnie na każdym etapie realizacji pracy doktorskiej.

"Dobry nauczyciel inspiruje nadzieję, rozpala wyobraźnię i zaszczepia miłość do nauki."

Brad Henry

Spis treści	
Streszczenie	6
Słowa kluczowe	7
Abstract	8
Keywords	8
1. Wstęp	9
2. Cele, hipotezy i zadania badawcze	13
3. Materiały i metody	17
3.1 Badanie obecności patogenów chorób odkleszczowych w kleszczach <i>Ixodes ricinus</i>:	17
3.2. Badanie serologiczne surowicy krwi:	17
3.3 Zastosowane metody laboratoryjne i terenowe	17
3.3.1. Metody terenowe	17
3.3.2. Metody laboratoryjne	18
3.4. Metody statystyczne	18
3.5. Analiza przeglądowa	18
4. Opis badań zrealizowanych w ramach poszczególnych publikacji	20
Publikacja 1	20
Publikacja 2	23
Publikacja 3	26
Publikacja 4	29
5. Podsumowanie i wnioski	31
6. Literatura	33
7. Finansowanie	40
8. Współpraca	40
9. Kopie publikacji wchodzących w skład rozprawy	41
10. Oświadczenia współautorów o wkładzie w powstanie publikacji	101
11. Krótka charakterystyka dorobku naukowego	112
12. Oświadczenia autora rozprawy doktorskiej	118

Wykaz publikacji wchodzących w skład rozprawy

Prezentowana rozprawa doktorska oparta jest na cyklu czterech oryginalnych publikacji naukowych, opublikowanych w latach 2024-2026, ujętych pod wspólnym tytułem: „Ryzyko narażenia człowieka na infestację przez kleszcze (Acari: Ixodida) i choroby odkleszczowe na wybranych terenach Popradzkiego Parku Krajobrazowego”.

Publikacja 1: Koczanowicz S., Nowak-Chmura M., Witecka J., Rączka G., Asman M. 2024. The potential risk of human exposure to tick-borne infection by *Borrelia burgdorferi* sensu lato, *Anaplasma phagocytophilum*, and *Babesia microti* in selected recreational areas of the Poprad Landscape Park in southern Poland. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*. 31(3):345-350. <https://doi.org/10.26444/aaem/186025>

IF¹ = 1.3, MNiSW² = 100

Publikacja 2: Koczanowicz S., Nowak-Chmura M., Kocoń A., Rączka G., Asman M. 2025. The occurrence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in *Ixodes ricinus* ticks collected from nature-educational and tourist trails in the Poprad Landscape Park. *Pathogens*. 14(2):117. <https://doi.org/10.3390/pathogens14020117>

IF¹ = 3.3¹, MNiSW² = 100

Publikacja 3: Koczanowicz S., Nowak-Chmura M., Hudy D., Baranowska K., Asman M. 2025. Assessment of the frequency of IgM and IgG antibodies against *Borrelia burgdorferi* sensu lato in the serum of residents from the Poprad Landscape Park region (southern Poland). *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*. <https://doi.org/10.26444/aaem/208153>

IF¹ = 1.3, MNiSW² = 100

Publikacja 4: Koczanowicz S., Kocoń A., Asman M., Nowak-Chmura M. 2026. Tourist attractions of southern Poland-risk of tick infestation and exposure to tick-borne diseases. *Annals of Parasitology*. Praca przyjęta do druku, w trakcie procesu wydawniczego.

MNiSW² = 40

Łączna suma IF wynosi 5.9, liczba punktów MNiSW = 340

¹ IF - wskaźnik Impact Factor czasopisma w roku publikacji

² MNiSW - liczba punktów na podstawie Komunikatu Ministra Nauki z dnia 5 stycznia 2024 r. w sprawie wykazu czasopism naukowych i recenzowanych materiałów z konferencji międzynarodowych

Streszczenie

Kleszcze z rodzaju *Ixodes*, a zwłaszcza *Ixodes ricinus*, należą do kluczowych wektorów patogenów o znaczeniu medycznym i weterynaryjnym w Europie. Ich obecność w lasach, parkach i obszarach rekreacyjnych oraz obserwowany wzrost zachorowań na choroby odkleszczowe czynią je istotnym wyzwaniem dla zdrowia publicznego. Popradzki Park Krajobrazowy (PPK), ze względu na walory przyrodnicze i intensywny ruch turystyczny, stanowi obszar potencjalnie sprzyjający kontaktowi człowieka z kleszczami i przenoszonymi przez nie drobnoustrojami.

Celem pracy była ocena występowania kleszczy *Ixodes ricinus* na terenie Popradzkiego Parku Krajobrazowego, identyfikacja patogenów chorób odkleszczowych u kleszczy oraz ocena seroprewalencji przeciwciał z klasy IgM i IgG przeciwko *Borrelia burgdorferi* sensu lato wśród mieszkańców regionu. Założono, że obszary rekreacyjne parku charakteryzują się warunkami sprzyjającymi aktywności kleszczy oraz zwiększonym narażeniem ludzi na kontakt z nimi, co może przekładać się na podwyższone ryzyko zdrowotne dla lokalnej społeczności i osób odwiedzających Park.

Badania terenowe obejmowały zbiór kleszczy metodą flagowania na wyznaczonych ścieżkach turystycznych i edukacyjnych w różnych typach siedlisk. W laboratorium przeprowadzono identyfikację morfologiczną zebranych osobników oraz wykonano analizy molekularne w kierunku obecności wybranych czynników etiologicznych chorób odkleszczowych z użyciem PCR/nested PCR. Równolegle wykonano badania serologiczne mieszkańców regionu: test przesiewowy ELISA, z potwierdzeniem wyników metodą Western Blot. Analizy statystyczne zastosowano do oceny związków między obecnością patogenów/przeciwciał a wybranymi zmiennymi środowiskowymi i ankietowymi.

Uzyskane wyniki potwierdziły, że *I. ricinus* występuje powszechnie w Popradzkim Parku Krajobrazowym, także na trasach intensywnie użytkowanych rekreacyjnie, a w populacji kleszczy wykryto patogeny chorób odkleszczowych. Ich obecność stwierdzano w różnych stadiach rozwojowych, przy czym dominowały krętki *B. burgdorferi* s.l., a w mniejszym stopniu obecna była również *Babesia microti* oraz *Anaplasma phagocytophilum*. Z kolei, badania serologiczne przeprowadzone na materiale w postaci surowicy krwi pacjentów zgłaszających się do laboratorium diagnostycznego działającego na obszarze PPK wykazały obecność przeciwciał przeciw *B. burgdorferi* s.l. w badanej populacji ludzkiej, co wskazuje na ryzyko ekspozycji ludzi na zakażenie tą bakterią na badanym obszarze PPK.

Znaczenie uzyskanych wyników ma charakter praktyczny i epidemiologiczny. Praca dostarcza danych wspierających ocenę potencjalnego ryzyka narażenia człowieka na kleszcze oraz odkleszczową infekcję takimi patogenami jak *B. burgdorferi* s.l. i *A. phagocytophilum* oraz inwazję *B. microti* w regionie oraz podkreśla konieczność ciągłego monitoringu obecności tych stawonogów w środowisku. Przeprowadzone analizy wskazują również na potrzebę stałych działań edukacyjnych adresowanych do mieszkańców i turystów, promujących skuteczne formy profilaktyki (odpowiedni ubiór, stosowanie repelentów, szybkie i prawidłowe usuwanie kleszczy) w badanym regionie Polski. Wyniki badań mogą zostać wykorzystane do planowania działań edukacyjnych mających na celu podniesienie świadomości zagrożeń zdrowotnych związanych z obecnością kleszczy na terenach chronionych i rekreacyjnych.

Słowa kluczowe

Ixodes ricinus, Popradzki Park Krajobrazowy, choroby odkleszczowe, *Borrelia burgdorferi* sensu lato, *Babesia microti*, *Anaplasma phagocytophilum*

Abstract

Ixodes ricinus is the most widespread tick species in Europe and an important vector of numerous tick-borne pathogens, posing a growing public health concern. The Poprad Landscape Park (PLP), with its rich biodiversity and intensive tourist activity, represents a potential hotspot for human-tick encounters. The aim of this study was to assess the occurrence of *Ixodes ricinus* in the Poprad Landscape Park and to determine the prevalence of selected tick-borne pathogens in ticks, as well as to assess the seroprevalence of antibodies against *Borrelia burgdorferi* sensu lato in the local human population. Ticks were collected by flagging along tourist and educational trails, identified morphologically, and tested for *Borrelia burgdorferi* sensu lato, *Babesia microti*, and *Anaplasma phagocytophilum* using PCR-based methods. In parallel, serum samples from patients attending a diagnostic laboratory within the PLP were analyzed by ELISA and confirmed with Western Blot. *I. ricinus* was found throughout the PLP, including intensively visited recreational areas. Molecular analyses confirmed the presence of several pathogens, predominantly *B. burgdorferi* s.l., with *B. microti* and *A. phagocytophilum* occurring less frequently. Serological testing revealed antibodies against *B. burgdorferi* s.l., indicating human exposure, sometimes without reported tick bites. The findings highlight the presence of *Ixodes ricinus* and tick-borne pathogens in the Poprad Landscape Park and indicate the importance of continued environmental and biological monitoring, as well as educational activities aimed at increasing public awareness in recreational landscapes.

Keywords

Ixodes ricinus, Poprad Landscape Park, tick-borne diseases, *Borrelia burgdorferi* sensu lato, *Babesia microti*, *Anaplasma phagocytophilum*

1. Wstęp

Choroby przenoszone przez wektory stanowią jedno z najpoważniejszych wyzwań współczesnego zdrowia publicznego i odpowiadają za istotną część zachorowań na choroby zakaźne na świecie (WHO 2020). W ostatnich dekadach obserwuje się wyraźny wzrost ich częstości, co związane jest ze zmianami klimatycznymi, przekształceniami środowiska, urbanizacją oraz intensyfikacją turystyki i rekreacji na obszarach o wysokiej wartości przyrodniczej (Randolph 2010; Medlock i in. 2013; Estrada-Peña i de la Fuente 2014). W strefie klimatu umiarkowanego szczególne znaczenie epidemiologiczne mają choroby odkleszczowe, które coraz częściej określane są jako choroby typu *emerging* lub *re-emerging* (Pfäffle i in. 2013; Rizzoli i in. 2011).

Kleszcze odgrywają istotną rolę w transmisji patogenów bakteryjnych, wirusowych i pierwotniaczych. Wysoka skuteczność transmisji wynika z ich długotrwałego żerowania oraz właściwości śliny, zawierającej substancje immunomodulujące i przeciwkrzepliwe, które sprzyjają przełamaniu odpowiedzi immunologicznej gospodarza (de la Fuente i in. 2015; Boulanger i in. 2019). Znaczenie zdrowotne kleszczy wynika zarówno z możliwości przenoszenia chorób, jak i z faktu, że wiele z nich ma charakter zoonotyczny i obejmuje szeroki krąg żywicieli, od drobnych ssaków i ptaków po duże ssaki, w tym człowieka (Sprong i in. 2018).

Kleszcze (Ixodida) stanowią jedną z najważniejszych grup ektopasożytów o istotnym znaczeniu medycznym i weterynaryjnym, będąc wektorami licznych patogenów chorobotwórczych dla ludzi i zwierząt (Gray i in. 2002, Nowak-Chmura 2013; Jongejan i Uilenberg 2004, Wójcik-Fatla 2011). W Europie, a zwłaszcza w regionie klimatu umiarkowanego, dominującym gatunkiem jest *Ixodes ricinus*, powszechnie występujący na obszarach leśnych, parkowych oraz w środowisku zurbanizowanym (Medlock i in. 2013). W Polsce odnotowano dotychczas obecność 19 gatunków kleszczy, z czego *I. ricinus* jest najczęściej spotykanym i najlepiej przebadanym gatunkiem (Nowak-Chmura 2018). Gatunek ten zasiedla większość terytorium kraju, preferując siedliska o wysokiej wilgotności i umiarkowanym zacienieniu, a jego aktywność sezonowa wykazuje dwa wyraźne szczyty: wiosenny oraz jesienny (Nowak-Chmura 2013).

Ixodes ricinus odgrywa kluczową rolę w transmisji krętków *Borrelia burgdorferi* sensu lato, będących czynnikiem etiologicznym boreliozy z Lyme, która jest najczęściej diagnozowaną chorobą odkleszczową w Europie, a także w Polsce (Stanek i in. 2012; ECDC 2022). Szacuje się, że średni odsetek *I. ricinus* zakażonych krętkami *B. burgdorferi* s.l. w populacjach kleszczy w Europie wynosi 13,7%, przy czym w Polsce wartości te mogą być

wyższe i sięgać 27-30% (Vourc'h i in. 2016; Kubiak i in. 2019), a nawet 62%-75,5% w zależności od regionu (Asman i in. 2012, 2024).

Drugą powszechną chorobą, której czynnik etiologiczny jest przenoszony przez kleszcze jest kleszczowe zapalenie mózgu (KZM) (Stefanoff i in. 2006). W Polsce wirus KZM wykrywany jest w kleszczach od 0,11% do 1,28%, przy czym w wielu lokalizacjach wirusa nie wykrywa się wcale (Cuber i in. 2015; Drelich i in. 2014; Albertyńska i in. 2016). Jednocześnie wykrycie KZM u kleszczy *Ixodes ricinus* w regionach wcześniej klasyfikowanych jako wolne od tego wirusa może wskazywać na możliwość powstawania nowych ognisk zakażeń oraz stopniowego rozszerzania zasięgu geograficznego kleszczowego zapalenia mózgu (Bartosik i in. 2011a; Zajkowska i in. 2025). Ponadto w kleszczach wykrywa się obecność innych patogenów, takich jak *Anaplasma phagocytophilum*, *Babesia* spp., *Rickettsia* spp. czy *Candidatus Neoehrlichia mikurensis*, których częstość występowania jest silnie uzależniona od lokalnych warunków środowiskowych, struktury siedlisk oraz dostępności żywicieli rezerwuarnych (Buczek i in. 2023; Estrada-Peña i in. 2014).

Współczesne badania wskazują, że dynamika występowania kleszczy oraz chorób odkleszczowych determinowana jest przez złożone oddziaływanie czynników abiotycznych i biotycznych, a także presję antropogeniczną. Zmiany klimatyczne, w tym wzrost średnich temperatur i wydłużenie okresu wegetacyjnego, sprzyjają wydłużeniu sezonu aktywności kleszczy, zwiększeniu ich przeżywalności oraz ekspansji na nowe obszary geograficzne i większe wysokości nad poziomem morza (Randolph 2010; Medlock i in. 2013; Nuttall 2022; Tälleklint i Jaenson 1998; Khatchikian i in. 2015). W efekcie kleszcze coraz częściej występują w środowiskach dotychczas uznawanych za mniej ryzykowne, w tym na obszarach miejskich i rekreacyjnych, co zwiększa prawdopodobieństwo kontaktu z człowiekiem (Bartosik i in. 2011b; Rizzoli i in. 2014; Didyk i in. 2017).

Szczególne znaczenie w kontekście ryzyka epidemiologicznego mają obszary chronione, takie jak parki krajobrazowe i narodowe, które łączą wysoką bioróżnorodność z intensywnym ruchem turystycznym. Obszary te stanowią dogodne siedliska dla kleszczy ze względu na obecność licznych żywicieli, sprzyjające warunki mikroklimatyczne oraz ograniczoną ingerencję antropogeniczną, a jednocześnie są miejscami zwiększonej ekspozycji ludzi (Rizzoli i in. 2011; Estrada-Peña i de la Fuente 2014; Zeman i Beneš 2013). Pomimo tego wiele obszarów chronionych w Europie Środkowej pozostaje nadal niedostatecznie zbadanych pod kątem występowania kleszczy i częstości zakażeń przenoszonych przez nie patogenów.

Popradzki Park Krajobrazowy (PPK), położony w południowej Polsce w Beskidzie Sądeckim, stanowi obszar o szczególnym znaczeniu epidemiologicznym w kontekście chorób

odkleszczowych ze względu na jednoczesne występowanie czynników środowiskowych sprzyjających bytowaniu kleszczy oraz intensywną ekspozycję człowieka. Park obejmuje ponad 53 tyś. ha i charakteryzuje się mozaiką siedlisk leśnych, łąkowych oraz ekotonowych, uznawanych za optymalne środowiska dla rozwoju i aktywności *I. ricinus*, głównego wektora patogenów odkleszczowych w Europie Środkowej (Medlock i in. 2013; Pfäffle i in. 2013; Rizzoli i in. 2011).

Obszar PPK cechuje się wysoką bioróżnorodnością oraz obecnością licznych gatunków ssaków i ptaków pełniących rolę żywicieli rezerwuarowych, co sprzyja utrzymywaniu się naturalnych ognisk patogenów odkleszczowych w środowisku. Równocześnie park jest intensywnie użytkowany rekreacyjnie, poprzez szlaki piesze, ścieżki przyrodniczo-edukacyjne oraz infrastrukturę turystyczną, w tym obiekty związane z miejscowościami uzdrowiskowymi, co skutkuje zwiększoną częstością kontaktu człowieka z kleszczami, zwłaszcza w okresach szczytowej aktywności tych pajęczaków.

Ryzyko chorób odkleszczowych ma jednak charakter złożony i nie ogranicza się wyłącznie do obecności kleszczy w środowisku. Istotnym elementem jest częstość zakażeń patogenami w populacji kleszczy oraz stopień rzeczywistej ekspozycji człowieka. Ukłucie przez kleszcza może pozostać niezauważone, a zakażenie przebiegać bezobjawowo lub skąpoobjawowo, co utrudnia identyfikację źródeł ryzyka i ocenę jego skali (Stanek i in. 2012, Wilking i Stark 2014). Z tego względu rzetelna ocena zagrożenia epidemiologicznego wymaga podejścia integrującego dane środowiskowe z informacjami dotyczącymi kontaktu populacji ludzkiej z patogenem.

Pomimo licznych badań prowadzonych w południowej Polsce dane dotyczące obszarów chronionych, które jednocześnie pełnią funkcję intensywnie użytkowanych terenów rekreacyjnych, pozostają fragmentaryczne. Szczególnie ograniczone są informacje odnoszące się do miejsc bezpośredniego i powtarzalnego kontaktu człowieka z kleszczami, takich jak szlaki turystyczne i ścieżki przyrodniczo-edukacyjne. Brakuje również opracowań łączących ocenę środowiskową z analizą rzeczywistej ekspozycji populacji ludzkiej, co utrudnia całościowe oszacowanie ryzyka zdrowotnego.

Wybór Popradzkiego Parku Krajobrazowego jako terenu badań w niniejszej rozprawie doktorskiej wynikał z potrzeby kompleksowej oceny potencjalnego ryzyka narażenia człowieka na infestację przez kleszcze oraz ekspozycję na patogeny odkleszczowe w obszarze o wysokiej atrakcyjności turystycznej i sprzyjających warunkach środowiskowych. Dotychczasowe badania prowadzone na wybranych trasach rekreacyjnych i edukacyjnych PPK potwierdziły obecność *I. ricinus* oraz istotny odsetek ich zakażeń krętkami *B. burgdorferi* s.l., wskazując

na realne zagrożenie epidemiologiczne zarówno dla mieszkańców regionu, jak i osób odwiedzających ten obszar (Publikacja 1, Publikacja 2).

Niniejsza rozprawa opiera się na cyklu czterech publikacji, które w sposób komplementarny odnoszą się do problematyki ryzyka chorób odkleszczowych na obszarach rekreacyjnych Popradzkiego Parku Krajobrazowego. Obejmują one ocenę obecności patogenów odkleszczowych w populacji *I. ricinus* (Publikacja 1), analizę ryzyka na ścieżkach edukacyjnych i szlakach turystycznych jako miejscach bezpośredniego kontaktu człowieka z kleszczami (Publikacja 2), badania seroepidemiologiczne mieszkańców regionu pozwalające na odniesienie danych środowiskowych do ekspozycji populacji ludzkiej (Publikacja 3) oraz przegląd aktualnego stanu wiedzy dotyczącego zagrożeń chorobami odkleszczowymi na obszarach turystycznych południowej Polski (Publikacja 4).

Zestawienie wyników badań środowiskowych i serologicznych wskazuje, że zagrożenie identyfikowane w środowisku naturalnym Popradzkiego Parku Krajobrazowego może przekładać się na rzeczywistą ekspozycję człowieka. Obecność zakażonych kleszczy w miejscach intensywnie użytkowanych rekreacyjnie, w połączeniu z wykryciem swoistych przeciwciał u części badanych osób, potwierdza zasadność prowadzenia badań ukierunkowanych na obszary realnego kontaktu człowieka z kleszczami (Publikacje 1-3). Jednocześnie wyniki te podkreślają znaczenie działań profilaktycznych i edukacyjnych skierowanych do mieszkańców i turystów odwiedzających PPK (Publikacja 1, Publikacja 2) oraz wskazują na potrzebę systematycznego monitoringu zagrożeń na terenach chronionych (Publikacja 4).

Badania nad kleszczami, ich biologią, ekologią oraz patogenami przez nie przenoszonymi odgrywają kluczową rolę w ochronie zdrowia publicznego i medycynie weterynaryjnej. Umożliwiają ocenę ryzyka epidemiologicznego, planowanie działań prewencyjnych oraz rozwój strategii ograniczania zagrożeń, co nabiera szczególnego znaczenia w obliczu dynamicznych zmian środowiskowych wpływających na aktywność i rozmieszczenie wektorów (Pfäffle i in. 2013). W Polsce, gdzie *I. ricinus* pozostaje gatunkiem dominującym i odpowiada za transmisję najważniejszych patogenów odkleszczowych, badania prowadzone w środowiskach rekreacyjnych stanowią istotny element systemu ochrony zdrowia ludzi i zwierząt (Nowak-Chmura 2018).

2. Cele, hipotezy i zadania badawcze

Celem głównym przeprowadzonych badań była ocena występowania kleszczy *Ixodes ricinus* na terenie Popradzkiego Parku Krajobrazowego oraz określenie poziomu zakażeń patogenami chorób odkleszczowych w populacji kleszczy, a także ocena występowania zakażeń *Borrelia burgdorferi* sensu lato wśród mieszkańców tego regionu. Badania te miały charakter kompleksowy i ich założeniem była całościowa ocena zagrożenia epidemiologicznego wynikającego z obecności kleszczy oraz przenoszonych przez nie patogenów na obszarze o wysokich walorach przyrodniczych, intensywnie wykorzystywanym rekreacyjnie i turystycznie, a jednocześnie zamieszkiwanym przez lokalną społeczność.

Pierwszym celem szczegółowym badań było określenie potencjalnego ryzyka narażenia ludzi na kontakt z kleszczami zakażonymi patogenami odkleszczowymi: *B. burgdorferi* s.l., *Anaplasma phagocytophilum* oraz *Babesia microti*, na terenach rekreacyjnych Popradzkiego Parku Krajobrazowego. Obszary te, ze względu na intensywne użytkowanie przez mieszkańców i turystów oraz dogodne warunki środowiskowe dla bytowania kleszczy *I. ricinus*, stanowią potencjalnie istotne miejsca ekspozycji ludzi na patogeny o znaczeniu medycznym. Cel ten został zrealizowany w **Publikacji 1**, w której dokonano oceny częstości występowania patogenów odkleszczowych w populacji kleszczy *Ixodes ricinus* pozyskanych z ogólnodostępnych obszarów rekreacyjnych Popradzkiego Parku Krajobrazowego, obejmujących łąki oraz trasy spacerowe zlokalizowane w otoczeniu lasów liściastych i mieszanych oraz przeanalizowano zależności pomiędzy lokalizacją zbioru, stadium rozwojowym i płcią kleszczy a obecnością zakażeń. Badania te stanowiły pierwszą ocenę występowania kleszczy oraz wybranych patogenów odkleszczowych na terenie Popradzkiego Parku Krajobrazowego i wskazały na potrzebę dalszego monitorowania obszarów chronionych i rekreacyjnych, co stało się podstawą do kontynuacji badań prowadzonych na trasach turystycznych i ścieżkach edukacyjnych tego regionu (Koczanowicz i in. 2024).

Drugim celem szczegółowym badań była ocena narażenia ludzi na kontakt z kleszczami zakażonymi *B. burgdorferi* s.l. na szlakach turystycznych oraz ścieżkach edukacyjno-przyrodniczych Popradzkiego Parku Krajobrazowego. Szlaki te, ze względu na swoje położenie w środowisku naturalnym oraz stałą obecność człowieka, stanowią szczególnie istotne miejsca potencjalnego kontaktu pomiędzy ludźmi a kleszczami, co uzasadniało konieczność ich odrębnej analizy. Realizacja tego celu została przedstawiona w **Publikacji 2**, w ramach której analizą objęto szlaki turystyczne oraz ścieżki edukacyjno-przyrodnicze, a istotnym elementem badań było określenie realnego zagrożenia zdrowotnego dla osób korzystających z tych obszarów oraz wskazanie tras o podwyższonym ryzyku ekspozycji (Koczanowicz i in. 2025a)

Trzecim celem szczegółowym badań była ocena częstości występowania swoistych przeciwciał z klasy IgM i IgG przeciwko *B. burgdorferi* s.l. w surowicy losowo wybranych mieszkańców Popradzkiego Parku Krajobrazowego, zrealizowana w **Publikacji 3**. W ramach tego etapu badań przeprowadzono analizy serologiczne, a uzyskane wyniki zestawiono z informacjami pozyskanymi w krótkiej ankiecie epidemiologicznej, obejmującej m.in. deklarowany kontakt z kleszczami oraz wcześniejsze rozpoznanie boreliozy. Takie podejście umożliwiło wskazanie obecności swoistych przeciwciał również u osób, u których nie odnotowano wcześniejszej diagnozy choroby. Jednocześnie należy podkreślić, że obecność zakażonych kleszczy w środowisku nie zawsze przekłada się bezpośrednio na rozpoznawalność zakażeń u ludzi, dlatego badania serologiczne stanowiły uzupełnienie analiz środowiskowych i pozwoliły na ostrożne rozszerzenie interpretacji wyników w kontekście ekspozycji populacji ludzkiej na patogeny odkleszczowe (Koczanowicz i in. 2025b).

Uzupełnieniem badań terenowych i molekularnych była analiza o charakterze przeglądowym, której celem było zebranie i syntetyczne podsumowanie aktualnej wiedzy na temat występowania kleszczy i przenoszonych przez nie patogenów w obszarach turystycznych południowej Polski. W pracy tej uwzględniono wpływ zmian klimatycznych, wzrost aktywności rekreacyjnej oraz niedostatecznej świadomości zdrowotnej społeczeństwa na ryzyko ekspozycji na choroby odkleszczowe. Cel ten został zrealizowany w **Publikacji 4**, przygotowanej w formie pracy przeglądowej, w której omówiono główne gatunki kleszczy występujące w południowej Polsce, spektrum patogenów odkleszczowych oraz znaczenie działań edukacyjnych i profilaktycznych w ograniczaniu zagrożeń zdrowotnych (Koczanowicz i in. 2026).

Ostatnim celem szczegółowym badań była całościowa ocena zagrożenia epidemiologicznego związanego z chorobami odkleszczowymi na terenie Popradzkiego Parku Krajobrazowego poprzez powiązanie wyników badań środowiskowych, molekularnych oraz serologicznych. Cel ten został osiągnięty poprzez syntetyczne zestawienie i interpretację wyników uzyskanych w **Publikacjach 1-3**, co pozwoliło na kompleksowe ujęcie problemu ekspozycji ludzi na patogeny odkleszczowe w badanym regionie (Koczanowicz i in. 2026).

Na podstawie przeprowadzonych badań środowiskowych, molekularnych i serologicznych, a także w oparciu o analizę dostępnych danych literaturowych dotyczących występowania kleszczy i chorób odkleszczowych w obszarach o wysokich walorach przyrodniczych i turystycznych, podjęto próbę sformułowania hipotez badawczych odnoszących się do zagrożenia epidemiologicznego na terenie Popradzkiego Parku Krajobrazowego. Kompleksowy charakter pracy, obejmujący zarówno ocenę obecności zakażonych kleszczy w środowisku, jak i analizę odpowiedzi serologicznej w populacji ludzkiej, pozwolił na postawienie hipotez dotyczących skali ekspozycji ludzi na patogeny odkleszczowe oraz znaczenia wybranych obszarów rekreacyjnych jako potencjalnych miejsc ryzyka. Sformułowane hipotezy stanowiły podstawę do realizacji poszczególnych celów szczegółowych i zostały zweryfikowane w ramach badań przedstawionych w Publikacjach 1-4:

1. Na terenie Popradzkiego Parku Krajobrazowego występują populacje kleszczy *Ixodes ricinus* zakażone patogenami chorób odkleszczowych o znaczeniu medycznym, co stanowi potencjalne zagrożenie epidemiologiczne dla ludzi korzystających z tych obszarów (Publikacja 1).
2. Osoby wędrujące po szlakach i ścieżkach edukacyjnych Popradzkiego Parku Krajobrazowego powinny zachować ostrożność, gdyż występujące tam kleszcze przenoszą bakterie wywołujące boreliozę i stanowią realne zagrożenie epidemiologiczne dla odwiedzających ten obszar (Publikacja 2).
3. W populacji mieszkańców Popradzkiego Parku Krajobrazowego występują swoiste przeciwciała z klasy IgM i/lub IgG przeciwko *B. burgdorferi* s.l., zarówno u osób deklarujących kontakt z kleszczami, jak i u osób, które takiego kontaktu nie zgłaszały (Publikacja 3).
4. Obecność swoistych przeciwciał przeciwko *B. burgdorferi* s.l. w populacji ludzkiej nie zawsze jest bezpośrednio związana z wcześniejszym rozpoznaniem klinicznym boreliozy (Publikacja 3).
5. Obszary turystyczne południowej Polski stanowią istotne środowisko potencjalnej ekspozycji ludzi na kleszcze i choroby odkleszczowe (Publikacja 4).
6. Zintegrowanie wyników badań środowiskowych, molekularnych i serologicznych umożliwia kompleksową ocenę zagrożenia epidemiologicznego związanego z chorobami odkleszczowymi na terenie Popradzkiego Parku Krajobrazowego (Publikacje 1-3).

Weryfikacja postawionych hipotez badawczych wymagała zastosowania zróżnicowanych metod badawczych, obejmujących badania terenowe, analizy molekularne i serologiczne, a także syntetyczną analizę danych literaturowych. Przyjęte podejście umożliwiło ocenę występowania kleszczy oraz patogenów odkleszczowych w środowisku naturalnym, a także analizę występowania zakażeń *Borrelia burgdorferi* sensu lato wśród mieszkańców badanego obszaru. Pozwoliło to na lepsze scharakteryzowanie potencjalnego zagrożenia epidemiologicznego na badanym terenie. W związku z tym zaplanowano i zrealizowano następujące zadania badawcze:

1. Przeprowadzenie badań terenowych, zbioru kleszczy *Ixodes ricinus* z wybranych obszarów rekreacyjnych, szlaków turystycznych oraz ścieżek edukacyjnych Popradzkiego Parku Krajobrazowego metodą flagowania (Publikacje 1 i 2).
2. Identyfikacja gatunkowa, określenie stadium rozwojowego oraz płci pozyskanych kleszczy (Publikacje 1 i 2).
3. Izolacja materiału genetycznego z pojedynczych osobników kleszczy oraz detekcja wybranych patogenów odkleszczowych (*Borrelia burgdorferi* sensu lato, *Anaplasma phagocytophilum*, *Babesia microti*) z zastosowaniem metod PCR i nested PCR (Publikacje 1 i 2).
4. Analiza częstości występowania patogenów odkleszczowych w populacji kleszczy w zależności od lokalizacji zbioru, stadium rozwojowego oraz płci kleszczy (Publikacje 1 i 2).
5. Pobranie materiału biologicznego od mieszkańców Popradzkiego Parku Krajobrazowego oraz oznaczenie obecności przeciwciał z klasy IgM i IgG przeciwko *B. burgdorferi* s.l. metodami ELISA i Western Blot (Publikacja 3).
6. Analiza zależności pomiędzy wynikami serologicznymi a danymi ankietowymi dotyczącymi kontaktu z kleszczami i wcześniejszej diagnostyki boreliozy (Publikacja 3).
7. Przeprowadzenie analizy literatury naukowej dotyczącej występowania kleszczy i chorób odkleszczowych w obszarach turystycznych południowej Polski, z uwzględnieniem wpływu zmian klimatycznych i aktywności rekreacyjnej człowieka (Publikacja 4).
8. Synteza wyników badań terenowych, molekularnych, serologicznych oraz danych literaturowych w celu kompleksowej oceny zagrożenia epidemiologicznego związanego z chorobami odkleszczowymi na terenie Popradzkiego Parku Krajobrazowego (Publikacje 1-3).

3. Materiały i metody

3.1 Badanie obecności patogenów chorób odkleszczowych w kleszczach *Ixodes ricinus*:

- W latach 2018-2019 przeprowadzono zbiór kleszczy metodą flagowania w sześciu lokalizacjach Popradzkiego Parku Krajobrazowego. Łącznie zebrano 363 osobniki *Ixodes ricinus* (nimfy i postacie dorosłe), które następnie poddano analizie molekularnej w celu wykrycia *Borrelia burgdorferi* sensu lato, *Anaplasma phagocytophilum* i *Babesia microti* (Publikacja 1).
- W latach 2020-2021 przeprowadzono zbiór kleszczy metodą flagowania w trzech lokalizacjach: były to dwa szlaki turystyczne i jedna ścieżka przyrodniczo-edukacyjna w Popradzkim Parku Krajobrazowym. Łącznie pozyskano 213 osobników *I. ricinus*, które następnie poddano analizie molekularnej w celu wykrycia *Borrelia burgdorferi* sensu lato, *A. phagocytophilum* i *Babesia microti* (Publikacja 2).

3.2. Badanie serologiczne surowicy krwi:

- Materiał badawczy stanowiła surowica uzyskana z próbek krwi pobranych od 99 losowo wybranych pacjentów zgłaszających się na rutynowe badania laboratoryjne w Krynicy-Zdroju. Badanie zostało przeprowadzone zgodnie z obowiązującymi zasadami etyki badań naukowych, na podstawie opinii Komisji Bioetycznej przy Okręgowej Izbie Lekarskiej w Krakowie, która zapoznała się z założeniami badania oraz potwierdziła możliwość jego realizacji i publikacji wyników (opinia nr OIL/KBLT/74/2021 z dnia 16 czerwca 2021 r.). Próbki surowicy przebadano pod kątem obecności swoistych przeciwciał IgM i IgG przeciwko *Borrelia burgdorferi* sensu lato. Każdy uczestnik badania wypełnił autorski kwestionariusz obejmujący dane demograficzne (wiek, płeć), historię kontaktu z kleszczami oraz informacje dotyczące występowania chorób odkleszczowych (Publikacja 3).

3.3 Zastosowane metody laboratoryjne i terenowe

3.3.1. Metody terenowe

- Zastosowano zbiór kleszczy z niskiej roślinności - metodą flagowania (Siuda 1993), która polega na zbiorze kleszczy z roślinności przy pomocy flanelowej chorągiewki (flagi) o wymiarach 60 cm na 40 cm i jest umieszczona na drążku. Za pomocą flagi omiatano niską roślinność do ok 1 metra wysokości. Flagę każdorazowo sprawdzano, kleszcze zbierano za pomocą pęsety i umieszczano we wcześniej przygotowanych

i podpisanych probówkach, wypełnionych 70% alkoholem etylowym. Zbiór został dokonany na terenie Popradzkiego Parku Krajobrazowego na wyznaczonych obszarach. Kleszcze przekazano do badań molekularnych.

3.3.2. Metody laboratoryjne

- Rozpoznawanie gatunków i stadiów rozwojowych kleszczy. Prace laboratoryjne przeprowadzono w Katedrze Zoologii Instytutu Biologii Uniwersytetu Komisji Edukacji Narodowej w Krakowie. Zebrany materiał liczono, segregowano, następnie okazy kleszczy zostały oznaczone pod względem gatunku, oraz stadium rozwojowego przy użyciu lupy stereoskopowej Olympus ZX. Do oznaczenia przynależności systematycznej kleszczy użyto kluczy do oznaczania oraz opisów gatunków zawartych w pracach Siudy (1993), Nowak- Chmury (2013).
- Izolacja DNA. Przeprowadzono metodą amoniakalną.
- Wykrywanie patogenów. Zastosowano PCR i nested PCR ze starterami specyficznymi dla fragmentu genu *flaB* (*B. burgdorferi* s.l.), genu 16S rRNA (*A. phagocytophilum*) oraz genu 18S rRNA (*Babesia microti*, *Babesia* spp.). Produkty amplifikacji rozdzielano elektroforetycznie w 2% żelach agarozowych barwionych bromkiem etydyny i wizualizowano w świetle UV.
- Badania serologiczne. Zastosowano test ELISA (NovaLisa™ *Borrelia burgdorferi* IgM/IgG) jako badanie przesiewowe, a wyniki pozytywne lub wątpliwe weryfikowano metodą Western Blot (EUROLINE-RN-AT-adv). Interpretacja wyników była zgodna z kryteriami producenta.

3.4. Metody statystyczne

- Analizy statystyczne obejmowały test chi-kwadrat do oceny zależności pomiędzy obecnością przeciwciał lub patogenów a zmiennymi ankietowymi (płeć, wiek, kontakt z kleszczami). W przypadku wielokrotnych porównań stosowano poprawkę Bonferroniego. Analizy wykonano w programie Statistica 13 (TIBCO Software Inc., Palo Alto, CA, USA).

3.5. Analiza przeglądowa

Uzupełnieniem badań terenowych, molekularnych i serologicznych była analiza o charakterze przeglądowym, której celem było zebranie i syntetyczne przedstawienie aktualnej wiedzy dotyczącej występowania kleszczy oraz przenoszonych przez nie patogenów odkleszczowych w obszarach turystycznych południowej Polski z uwzględnieniem wyników z PPK przedstawionych w Publikacjach 1-3.

Analiza przeglądowa została przeprowadzona na podstawie dostępnej literatury naukowej obejmującej artykuły oryginalne, prace przeglądowe oraz dane epidemiologiczne dotyczące chorób odkleszczowych. Przeglądem objęto publikacje dotyczące:

- występowania kleszczy w regionach atrakcyjnych turystycznie,
- spektrum patogenów odkleszczowych o znaczeniu medycznym,
- czynników środowiskowych i antropogenicznych wpływających na ryzyko ekspozycji ludzi, w tym zmian klimatycznych oraz wzrostu aktywności rekreacyjnej.

Wyszukiwanie literatury przeprowadzono w międzynarodowych bazach danych (m.in. PubMed, Web of Science, Scopus) z wykorzystaniem słów kluczowych związanych z kleszczami, chorobami odkleszczowymi, turystyką oraz regionami południowej Polski.

Analizowane publikacje zostały poddane jakościowej ocenie pod kątem przydatności do realizacji celu pracy, a następnie zestawione i zsyntetyzowane w formie narracyjnej, z uwzględnieniem implikacji dla zdrowia publicznego oraz działań profilaktycznych (Publikacja 4).

4. Opis badań zrealizowanych w ramach poszczególnych publikacji

Publikacja 1

Tytuł: “The potential risk of human exposure to tick-borne infection by *Borrelia burgdorferi* sensu lato, *Anaplasma phagocytophilum*, and *Babesia microti*” (Koczanowicz i in. 2024)

Celem pracy było określenie potencjalnego ryzyka narażenia ludzi na zakażenie tymi drobnoustrojami na obszarach parku.

Materiał badawczy stanowiły kleszcze zebrane metodą flagowania z sześciu lokalizacji PPK- trzech w 2018 roku i trzech w 2019 roku. Łącznie przebadano 363 osobniki (139 samic, 141 samców i 83 nimfy). Identyfikacji gatunkowej i oznaczenia stadium rozwojowego dokonano przy użyciu mikroskopu stereoskopowego. DNA izolowano metodą amoniakalną, a następnie przeprowadzono detekcję patogenów metodą nested PCR, wykorzystując startery specyficzne dla genów *flaB* (*B. burgdorferi* s.l.), 16S rRNA (*A. phagocytophilum*) oraz 18S rRNA (*B. microti*). Produkty reakcji analizowano elektroforetycznie, a dane opracowano statystycznie z zastosowaniem testu χ^2 oraz poprawki Yatesa.

Zastosowane testy statystyczne (χ^2) wykazały brak istotnych różnic w częstości zakażeń między nimfami a postaciami dorosłymi, jednak ujawniono istotne zróżnicowanie pomiędzy płciami dorosłych osobników - samice były częściej zakażone *B. burgdorferi* s.l., a samce częściej *B. microti*. Łączna prewalencja patogenów w badanych kleszczach *I. ricinus* z Popradzkiego Parku Krajobrazowego (PLP) wyniosła 19,6%. Najczęściej stwierdzano obecność *B. burgdorferi* s.l. (11,8%), następnie *B. microti* (7,4%), natomiast *A. phagocytophilum* wykryto tylko w jednym przypadku (0,3%).

Omówienie wyników

Uzyskane wyniki wskazują, że na obszarze Popradzkiego Parku Krajobrazowego istnieje realne ryzyko kontaktu człowieka z zakażonym kleszczem, co wiąże się z obecnością sprzyjających siedlisk oraz różnorodnością rezerwuarów patogenów. Badanie stanowi jak dotąd pierwszą ocenę częstości występowania wybranych patogenów odkleszczowych u kleszczy *I. ricinus* na terenie Popradzkiego Parku Krajobrazowego, wypełniając istotną lukę w danych epidemiologicznych dotyczących obszarów chronionych południowej Polski.

Odsetek zakażonych kleszczy w Popradzkim Parku Krajobrazowym (*B. burgdorferi* s.l. - 11,8%) jest zbliżony do wartości stwierdzonych w innych lokalizacjach południowej Polski. W Puszczy Niepołomickiej w Małopolsce odnotowano 11,5% zakażonych osobników, natomiast wyższe odsetki wykazano w Ojcowskim Parku Narodowym (25%) oraz w Lesie Wolskim (35,7%) (Stańczak i in. 1999). W Tarnowskich Górach w województwie śląskim

zakażonych było 16,5% kleszczy (Spausta i in. 2003), a na terenie Żywieckiego Parku Krajobrazowego i w jego otoczeniu wartości te wahały się od 1,7% do 26,92% (Asman i in. 2013, 2014). W północnej Polsce wartości te były znacznie niższe - od 0% w Słowińskim Parku Narodowym do 12,4% w Gdańsku (Asman i in. 2017, Stańczak i in. 2004).

Zróźnicowanie częstości zakażeń pomiędzy poszczególnymi lokalizacjami w obrębie Popradzkiego Parku Krajobrazowego wskazuje, że ryzyko ekspozycji na patogeny odkleszczowe nie jest jednorodne nawet na stosunkowo niewielkim obszarze chronionym. Obecność zakażonych kleszczy na łąkach, ścieżkach leśnych oraz w pobliżu popularnych miejsc rekreacyjnych podkreśla konieczność lokalnej, punktowej oceny zagrożenia epidemiologicznego.

Zakażenia *B. burgdorferi* s.l. występowały częściej u samic (20%), rzadziej u samców (2%). Uzyskane wyniki znajdują potwierdzenie w literaturze, gdzie również wykazywano przewagę samic w zakresie częstości zakażeń (Sytykiewicz i in. 2012; Kubiak i in. 2019; Kiewra i in. 2014; Spausta i in. 2003). Dane te wskazują istotną rolę samic *I. ricinus* jako głównych wektorów tego patogenu.

Częstość zarażeń *B. microti* w Popradzkim Parku Krajobrazowym wyniosła 7,4%. Zbliżone, choć nieco wyższe wartości odnotowano w Wolińskim Parku Narodowym, gdzie zakażonych było 10,65% kleszczy (Asman i in. 2021).

Na szczególną uwagę zasługuje fakt, że w niektórych lokalizacjach częstość zarażeń *B. microti* była porównywalna, a nawet wyższa niż częstość zakażeń *B. burgdorferi* s.l., co wskazuje na potencjalnie niedoceniane ryzyko babeszjozy w rekreacyjnych ekosystemach południowej Polski. Obecność tego patogenu w ekosystemach rekreacyjnych południowej Polski ma istotne znaczenie, zważywszy na fakt, że babeszjoza u ludzi często przebiega bezobjawowo lub z niespecyficznymi objawami grypopodobnymi, ale może prowadzić do ciężkich powikłań.

Zakażenia *A. phagocytophilum* stwierdzono w zaledwie jednym kleszczu 0,3%, co stanowi wartość niższą niż raportowane w innych częściach Polski, np. 1,01% w województwie zachodniopomorskim czy 2,5% w zachodniej Polsce, a nawet 14% w województwie pomorskim (Asman i in. 2021; Richter i Matuschka 2012; Stańczak i in. 2004).

Wysoka frekwencja turystów odwiedzających ten obszar zwiększa prawdopodobieństwo ekspozycji na kleszcze, a tym samym choroby odkleszczowe, co uzasadnia konieczność dalszego monitoringu epidemiologicznego i prowadzenia działań

profilaktycznych, takich jak kampanie edukacyjne i promocja skutecznych metod ochrony osobistej.

Wyniki wskazują, że na badanym obszarze ryzyko kontaktu człowieka z zakażonym kleszczem jest wysokie, co może być związane z popularnością turystyczną regionu, obecnością sprzyjających siedlisk oraz bioróżnorodnością rezerwuarów patogenów. Badania te dostarczają cennych danych do oceny zagrożenia epidemiologicznego w południowej Polsce i podkreślają konieczność dalszego monitoringu epidemiologicznego i prowadzenia działań profilaktycznych, takich jak kampanie edukacyjne i promocja skutecznych metod ochrony osobistej. W związku z tym uzyskane wyniki jednoznacznie wskazują na konieczność prowadzenia długoterminowego monitoringu epidemiologicznego na obszarze Popradzkiego Parku Krajobrazowego. Szczególnie istotne jest kontynuowanie oraz rozszerzanie badań na obszary o wysokiej intensywności ruchu turystycznego, takie jak szlaki turystyczne oraz ścieżki przyrodniczo-edukacyjne, gdzie ryzyko ekspozycji ludzi na kleszcze może być największe. Badania te dostarczają cennych danych, które mogą być wykorzystane w lokalnej ocenie zagrożenia epidemiologicznego w południowej Polsce i mogą stanowić podstawę do planowania działań prewencyjnych, w tym kampanii edukacyjnych skierowanych do użytkowników szlaków turystycznych oraz promocji skutecznych metod ochrony osobistej przed ukłuciami kleszczy.

Publikacja 2

Tytuł: “The occurrence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in *Ixodes ricinus* ticks collected from recreational areas of the Poprad Landscape Park, Southern Poland” (Koczanowicz i in. 2025a)

Celem pracy było określenie ryzyka narażenia ludzi na kontakt z kleszczami i patogenami odkleszczowymi - *Borrelia burgdorferi* sensu lato, *Anaplasma phagocytophilum* oraz *Babesia* spp. - na wybranych ścieżkach edukacyjnych i turystycznych parku. Badanie to stanowi odrębne i uzupełniające podejście w stosunku do wcześniejszych analiz prowadzonych na terenie Popradzkiego Parku Krajobrazowego, koncentrując się wyłącznie na ścieżkach przyrodniczo-edukacyjnych oraz szlakach turystycznych, czyli miejscach bezpośredniego kontaktu człowieka z kleszczami.

Materiał zebrano w czerwcu 2020 i 2021 roku z trzech tras: „Rogasiowy Szlak” w Rytrze, „Barani Szlak” w Rytrze oraz ze ścieżki przyrodniczo-edukacyjnej „Na Stoku Jaworzyny Krynickiej” w Krynicy-Zdroju. Wybór lokalizacji badawczych nie był przypadkowy i obejmował wyłącznie trasy intensywnie użytkowane przez turystów i mieszkańców, co pozwalało na ocenę rzeczywistego ryzyka narażenia człowieka na kontakt z zakażonymi kleszczami w trakcie aktywności rekreacyjnej. Łącznie pozyskano 213 kleszczy (61 samców, 59 samic, 93 nimfy) metodą flagowania, przy czterech punktach zbioru na każdej trasie. Osobniki oznaczano pod mikroskopem stereoskopowym, a DNA izolowano metodą amoniakalną. Detekcję patogenów prowadzono metodą nested PCR, stosując startery specyficzne dla genów *flaB*, 16S rRNA i 18S rRNA.

Wyniki wykazały obecność *B. burgdorferi* s.l. w 31,0% badanych kleszczy (n=66), przy czym zakażenia stwierdzono tylko w dwóch z trzech badanych obszarów - najwyższy odsetek wystąpił w obszarze „Rogasiowy Szlak” (43,1%), a na terenie „Baraniego Szlaku” wyniósł 31,8%. W trzeciej lokalizacji „Na Stoku Jaworzyny Krynickiej” patogenu nie wykryto. Zaobserwowane różnice mogą być związane z odmiennymi warunkami środowiskowymi badanych tras, w tym ich położeniem wysokościowym nad poziomem morza oraz typem siedliska, obejmującym obszary pogórza i regla dolnego. Wynik ten wskazuje na możliwe istotne zróżnicowanie ryzyka pomiędzy poszczególnymi szlakami turystycznymi, nawet w obrębie jednego parku krajobrazowego.

Zarówno *A. phagocytophilum* jak i *Babesia* spp. nie stwierdzono w żadnym z badanych kleszczy. Ogólnie *B. burgdorferi* s.l. wykryto we wszystkich stadiach rozwojowych badanych kleszczy *I. ricinus* (20 samców, 19 samic i 27 nimf). Częstość występowania była wyższa u kleszczy dorosłych niż u nimf: odpowiednio 32,5% i 29,0%, ale różnice między stadiami

rozwojowymi i płciami nie były istotne statystycznie. Analiza statystyczna również nie wykazała istotnych różnic w częstości zakażeń pomiędzy strefą pogórza (<600 m n.p.m.) a strefą regla dolnego (>600 m n.p.m.), gdzie odsetek zakażonych wyniósł odpowiednio 34,4% i 30,4%.

Omówienie wyników

Uzyskane wyniki dowodzą, że obszary rekreacyjne PPK stanowią sprzyjające środowisko dla obecności kleszczy. Istnieje potencjalne zagrożenie dla zdrowia ludzi i zwierząt, szczególnie w kontekście rosnącej liczby przypadków boreliozy z Lyme.

Wartość zakażonych kleszczy z *B. burgdorferi* s.l wynosiła (31,0%). W południowej Polsce dane wahają się od 0% do nawet 75% (Stańczak i in. 1999; Strzelczyk i in. 2006). Zbliżony poziom seroprewalencji (22-28,75%) wykazano w badaniach przeprowadzonych w górskich i podgórskich regionach południowej Polski (Lenčáková i in. 2006; Zajac i in. 2023), a także w północno-wschodniej części kraju (20-25,2%) (Grochowska i in. 2022, Zajac i in. 2023).

Zakażenia stwierdzono we wszystkich stadiach rozwojowych kleszczy, co potwierdza, że zarówno nimfy, jak i osobniki dorosłe mogą stanowić źródło zakażenia dla ludzi i zwierząt. Największe ryzyko kontaktu z kleszczami zakażonymi patogenem odnotowano na trasie „Rogasiowy Szlak”, co można wiązać z charakterystyką siedliskową - obecnością lasów bukowo-jodłowych. Szczególnie istotne jest to, że najwyższą prewalencję *B. burgdorferi* s.l. odnotowano na trasie o charakterze edukacyjnym i rekreacyjnym, regularnie uczęszczanej przez turystów, co bezpośrednio przekłada się na zwiększone ryzyko ekspozycji człowieka.

Analiza statystyczna nie wykazała istotnych różnic w częstości zakażeń pomiędzy strefą pogórza a strefą regla dolnego, co nie pozwala jednoznacznie ocenić wpływu wysokości n.p.m. na ryzyko występowania patogenów. Wcześniejsze badania potwierdzają, że *I. ricinus* może zasiedlać znacznie wyższe wysokości - od 1000 m n.p.m. w Chorwacji (Vucelja i in. 2023), 1250 m n.p.m. w Czechach (Materna i in. 2005), aż po 1824 m n.p.m. we Włoszech (Menzano i in. 2024

). Uzyskane wyniki nie wskazują więc na jednoznaczną zależność, a pełniejsze zrozumienie relacji pomiędzy wysokością, warunkami środowiskowymi i liczebnością kleszczy wymaga dalszych, wieloletnich badań.

Z kolei brak detekcji *A. phagocytophilum* i *Babesia* spp. może być wynikiem ograniczonej próby badawczej, sezonowości ich występowania lub niższego rozpowszechnienia tych patogenów w badanym rejonie, wskazuje jednak na konieczność rozszerzenia badań. Dotychczasowe analizy prowadzone w innych rejonach górskich wykazały

znacznie wyższy odsetek zarażeń, m.in. *B. microti* - 35% w Żywieckim Parku Krajobrazowym oraz 58,32% w powiecie tarnogórskim (Asman i in. 2012, 2015), a także *A. phagocytophilum* - 5% w Żywieckim Parku Krajobrazowym oraz 32,7% w gminie Jeleśnia w Beskidzie Żywieckim (Asman i in. 2012, 2013). Z kolei wcześniejsze badania prowadzone w Popradzkim Parku Krajobrazowym potwierdziły jedynie sporadyczne występowanie tych patogenów.

Przeprowadzone badania potwierdziły obecność kleszczy *I. ricinus* na ścieżkach przyrodniczo-edukacyjnych oraz szlakach turystycznych Popradzkiego Parku Krajobrazowego, także na zróżnicowanych wysokościach nad poziomem morza. Wyniki wskazują, że warunki środowiskowe panujące w parku sprzyjają obecności tych pasożytów, a miejsca intensywnie wykorzystywane rekreacyjnie mogą stanowić istotne punkty kontaktu człowieka z kleszczami zakażonymi *B. burgdorferi* s.l.

Uzyskane dane mogą mieć znaczenie praktyczne w kontekście działań informacyjnych prowadzonych na terenie parku, takich jak umieszczanie tablic edukacyjnych lub oznaczeń ostrzegawczych na uczęszczanych trasach turystycznych. Tego typu rozwiązania mogłyby wspierać podnoszenie świadomości turystów i mieszkańców na temat obecności kleszczy oraz podstawowych zasad profilaktyki podczas korzystania z infrastruktury rekreacyjnej.

Publikacja 3

Tytuł: “Assessment of the frequency of IgM and IgG antibodies against *Borrelia burgdorferi* sensu lato in serum of residents of the Poprad Landscape Park, Southern Poland” (Koczanowicz i in. 2025b)

Celem badań była ocena częstości występowania przeciwciał z klasy IgM i IgG przeciwko *B. burgdorferi* s.l. w surowicy pacjentów Szpitalnego Laboratorium Medycznego, SPZOZ Szpitala im. dr. J. Dietla w Krynicy-Zdroju, zlokalizowanego na terenie Popradzkiego Parku Krajobrazowego. Pozwoliło to na ocenę rzeczywistej ekspozycji populacji ludzkiej na kontakt z patogenem w obszarze o wysokim znaczeniu rekreacyjnym i turystycznym.

Badania serologiczne przeprowadzono dwuetapowo - w pierwszej kolejności zastosowano test ELISA, natomiast wyniki dodatnie i wątpliwe zweryfikowano metodą Western blot. W sierpniu 2021 roku przebadano 99 osób w wieku od 18 do 79 lat, które zgłaszały się na rutynowe badania laboratoryjne w Krynicy-Zdroju. Ponadto uczestnicy wypełniali kwestionariusz zawierający pytania dotyczące wieku, płci, kontaktu z kleszczami, wcześniejszej diagnozy boreliozy oraz czasu spędzanego na terenach zielonych. Uzyskane dane analizowano testem chi-kwadrat z uwzględnieniem korekcji Bonferroniego. Od wszystkich uczestników pobrano krew, z której pozyskano surowicę.

Analizy serologiczne wykonano w dwóch etapach. W pierwszym etapie zastosowano test ELISA (NovaLisa™ *B. burgdorferi* IgM/IgG) w celu przesiewowego wykrycia przeciwciał. Próbkę pozytywną lub graniczną weryfikowano metodą Western blot (EUROIMMUN Anti-Borrelia EUROLINE-RN-AT-adv IgM/IgG).

Wyniki badań wykazały, że 22,2% badanych (n=22) miało dodatni lub graniczny wynik testu ELISA w co najmniej jednej klasie przeciwciał przeciw *B. burgdorferi* s.l. W klasie IgM przeciwciała stwierdzono u 16 osób (10 dodatnich, 6 granicznych), a w klasie IgG u 10 osób (8 dodatnich, 2 graniczne). U czterech uczestników wykryto przeciwciała obu klas. Test Western blot wykonano dla 22 próbek z wynikami dodatnimi lub granicznymi w ELISA. Test ten potwierdził obecność przeciwciał w co najmniej jednej klasie we wszystkich badanych próbkach: IgM w 95,4% przypadków, a IgG w 63,6%.

Omówienie wyników

Przeprowadzone badania potwierdzają istotne ryzyko ekspozycji mieszkańców regionu Popradzkiego Parku Krajobrazowego na zakażenie *B. burgdorferi* s.l. Wykrycie przeciwciał u części badanych osób, w tym również u pięciu respondentów, którzy nie deklarowali kontaktu z kleszczem, wskazuje, że ukłucia *I. ricinus* mogą często pozostawać niezauważone, a zakażenie przebiegać bezobjawowo lub skąpoobjawowo. Najwyższy odsetek

wyników dodatnich odnotowano w grupie wiekowej 30-39 lat, co może być związane z większą aktywnością rekreacyjną tej grupy oraz częstszym przebywaniem na terenach zielonych i leśnych, co wiąże się ze zwiększonym ryzykiem kontaktu z kleszczami oraz możliwością zakażenia chorobami odkleszczowymi. W ankiecie aż 98% respondentów ze wszystkich grup wiekowych zadeklarowało regularne przebywanie na obszarach zielonych i leśnych, co wskazuje na zwiększoną ekspozycję na czynniki ryzyka. Podobne zależności odnotowali Zajac i in. (2017), wskazując na istotnie wyższy odsetek reakcji seropozytywnych u osób regularnie przebywających w lasach. Brak przeciwciał w grupie osób powyżej 70. roku życia można interpretować zarówno jako wynik ograniczonej ekspozycji środowiskowej, jak i zmniejszonej reaktywności układu odpornościowego w tej populacji.

Nie stwierdzono istotnych zależności pomiędzy obecnością przeciwciał a płcią, wiekiem, miejscem zamieszkania, kontaktem z kleszczem, wcześniejszym rozpoznaniem boreliozy ani częstotliwością przebywania na terenach zielonych. Spośród osób, które w przeszłości miały rozpoznaną boreliozę (n=8), jedynie u trzech wykryto przeciwciała, potwierdzone w Western blot. Co istotne, u pięciu osób z obecnością przeciwciał nigdy nie stwierdzono żerującego kleszcza na ciele.

Dane literaturowe wskazują na istotne zróżnicowanie regionalne seroprewalencji zakażeń *B. burgdorferi* s.l. w Polsce. W populacji ogólnej w województwie mazowieckim częstość występowania przeciwciał była zdecydowanie niższa (10% dla IgM i 2,2% dla IgG) (Machcińska i in. 2013). Natomiast w województwie warmińsko-mazurskim w grupach zawodowych o zwiększonym ryzyku, zwłaszcza wśród leśników, odsetek seropozytywnych sięgał nawet 63,1% (Kocbach i Kocbach 2014). Wyniki uzyskane w prezentowanej pracy, obejmujące losowo wybraną grupę pacjentów są zbliżone do wartości odnotowanych u rolników (15,3-16,8%) oraz osób aktywnie spędzających czas na terenach zielonych (Zajac i in. 2017), co wskazuje, że ryzyko zakażenia nie ogranicza się wyłącznie do grup zawodowych, lecz dotyczy również populacji ogólnej korzystającej z walorów przyrodniczych badanego regionu. Zbliżone obserwacje odnotowano w badaniach przeprowadzonych w krajach sąsiednich, na Słowacji seroprewalencja przeciwciał wśród osób zawodowo narażonych na kontakt z kleszczami wynosiła 9,9% dla IgM i 19,1% dla IgG (Bušová i in. 2018). Relatywnie wysoki odsetek wyników dodatnich w klasie IgM w prezentowanym badaniu może być związany z okresem pobierania próbek latem, czyli w okresie dużej aktywności kleszczy oraz częstym przebywaniem respondentów w środowisku leśnym i rekreacyjnym w wolnej przyrodzie. Otrzymane wyniki wskazują na wysoki odsetek obecności przeciwciał przeciw *B. burgdorferi* s.l. w populacji mieszkańców oraz turystów

odwiedzających Popradzki Park Krajobrazowy. Jest to spójne z wcześniejszymi badaniami terenowymi dotyczącymi populacji kleszczy prowadzonymi na tym obszarze, w których wykazano wysoką częstość występowania *B. burgdorferi* s.l. u *I. ricinus*. Obecność swoistych przeciwciał u badanych osób potwierdza, że zagrożenie stwierdzone w środowisku naturalnym przekłada się na rzeczywistą ekspozycję człowieka.

Z uwagi na brak szczepień ochronnych w profilaktyce boreliozy kluczowe pozostają działania prewencyjne, takie jak unikanie siedlisk kleszczy, stosowanie repelentów, noszenie odpowiedniej odzieży oraz szybkie usuwanie pasożyta po ukłuciu. Wyniki badań sugerują również, że testy przesiewowe w kierunku boreliozy mają ograniczoną wartość diagnostyczną w przypadku braku objawów klinicznych, a decyzje terapeutyczne powinny opierać się na kompleksowej ocenie klinicznej i diagnostyce różnicowej. Uzyskane wyniki wskazują, że ekspozycja na *B. burgdorferi* s.l. dotyczy nie tylko grup zawodowych o podwyższonym ryzyku, lecz również populacji ogólnej korzystającej z walorów przyrodniczych Popradzkiego Parku Krajobrazowego. Dane serologiczne mogą stanowić uzupełnienie monitoringu środowiskowego i być pomocne w ocenie rzeczywistego obciążenia populacji ludzkiej tym krętkiem.

Publikacja 4

Tytuł: “Tourist attractions of southern Poland - risk of tick infestation and exposure to tick-borne diseases” (Koczanowicz i in. 2026)

W pracy przedstawiono przegląd aktualnego stanu wiedzy dotyczącego występowania kleszczy oraz patogenów chorób odkleszczowych na obszarach turystycznych i rekreacyjnych południowej Polski, obejmujących przede wszystkim teren województw: małopolskiego, śląskiego, podkarpackiego, opolskiego oraz świętokrzyskiego. Praca koncentruje się na regionach intensywnie użytkowanych przez turystów i mieszkańców, w tym na parkach krajobrazowych i narodowych, szlakach pieszych, trasach edukacyjnych, obszarach miejskich oraz miejscach o szczególnym znaczeniu kulturowym i historycznym. Takie ukierunkowanie pozwala na ocenę zagrożeń w miejscach realnego i częstego kontaktu człowieka z kleszczami, co ma istotne znaczenie z punktu widzenia zdrowia publicznego.

Na podstawie analizy dostępnej literatury naukowej dokonano syntetycznego zestawienia danych dotyczących rozmieszczenia kleszczy, w szczególności *I. ricinus* oraz *Dermacentor reticulatus*, a także rzadszych gatunków związanych z określonymi siedliskami, takich jak *Ixodes vespertilionis* czy *Argas reflexus*. W pracy uwzględniono badania prowadzone na terenach zróżnicowanych pod względem krajobrazowym i użytkowym: od obszarów górskich i wyżynnych po tereny zurbanizowane, obejmujące zarówno badania terenowe, jak i analizy laboratoryjne, w tym badania molekularne materiału środowiskowego oraz badania serologiczne dotyczące ekspozycji człowieka na patogeny odkleszczowe. Takie zestawienie umożliwiło połączenie danych środowiskowych z informacjami odnoszącymi się bezpośrednio do populacji ludzkiej.

Szczególną uwagę poświęcono patogenom o znaczeniu dla zdrowia publicznego, w tym *B. burgdorferi* s.l., *A. phagocytophilum*, *B. microti*, wirusowi kleszczowego zapalenia mózgu, riketsjom oraz innym drobnoustrojom wykrywanym u kleszczy na terenie południowej Polski, a także zjawisku koinfekcji różnych patogenów chorób odkleszczowych w populacji wektora. Analiza dostępnej literatury wskazuje na znaczne zróżnicowanie częstości występowania patogenów w zależności od regionu, typu siedliska oraz intensywności użytkowania danego obszaru przez ludzi, co potwierdza wieloczynnikowy charakter ryzyka zakażeń odkleszczowych.

Przegląd dostępnych badań pokazuje, że obszary rekreacyjne i turystyczne południowej Polski stanowią istotne środowisko kontaktu człowieka z kleszczami, a zagrożenie chorobami odkleszczowymi nie ogranicza się wyłącznie do grup zawodowych o podwyższonym ryzyku.

Zgromadzone dane podkreślają znaczenie systematycznych badań nad rozmieszczeniem kleszczy i patogenów oraz konieczność uwzględniania czynników środowiskowych, klimatycznych i antropogenicznych w ocenie zagrożenia epidemiologicznego.

W podsumowaniu wskazano, że dotychczasowe dane są często rozproszone, fragmentaryczne i koncentrują się na wybranych lokalizacjach lub pojedynczych patogenach, co utrudnia całościową ocenę ryzyka. Praca podkreśla potrzebę zintegrowanego podejścia badawczego, łączącego dane środowiskowe, wyniki analiz laboratoryjnych oraz informacje dotyczące ekspozycji człowieka, szczególnie w obszarach intensywnie użytkowanych rekreacyjnie.

Praca przeglądowa stanowi uzupełnienie badań terenowych i laboratoryjnych zaprezentowanych w poprzednich artykułach cyklu, umożliwiając szersze, regionalne spojrzenie na problem chorób odkleszczowych w południowej Polsce. Jej wartość polega na syntetycznym uporządkowaniu aktualnej wiedzy, wskazaniu luk badawczych oraz podkreśleniu znaczenia działań edukacyjnych i profilaktycznych skierowanych do osób korzystających z walorów turystycznych i przyrodniczych badanego obszaru.

5. Podsumowanie i wnioski

- **Występowanie kleszczy *Ixodes ricinus***
 - Kleszcze *Ixodes ricinus* są obecne na terenie Popradzkiego Parku Krajobrazowego, a ich aktywność notowana była we wszystkich analizowanych siedliskach, w tym na ścieżkach turystycznych i edukacyjnych.
 - Potwierdzono ich występowanie zarówno w strefie pogórza, jak i regla dolnego, bez istotnych różnic zależnych od wysokości nad poziomem morza.
 - W innych regionach Polski południowej oraz w obszarach o wysokiej intensywności ruchu turystycznego obserwuje się podobny zasięg występowania kleszczy, co potwierdza, że Popradzki Park Krajobrazowy wpisuje się w szersze trendy epidemiologiczne.
- **Patogeny chorób odkleszczowych wykrywane w kleszczach**
 - W badanych próbach stwierdzono obecność trzech patogenów: *Borrelia burgdorferi* sensu lato, *Babesia microti* oraz *Anaplasma phagocytophilum*.
 - Najczęściej wykrywanym patogenem była *B. burgdorferi* s.l., której prewalencja wahała się od 11,8% do 31,0%.
 - Zakażenia *B. microti* występowały z mniejszą częstością (7,4%), natomiast zakażenia *A. phagocytophilum* stwierdzono w pojedynczym przypadku (0,3%).
 - Zakażenia występowały we wszystkich stadiach rozwojowych kleszczy (nimfy, samce, samice), przy czym samice częściej były nosicielami patogenów niż samce.
 - Dominacja *B. burgdorferi* s.l. oraz współwystępowanie innych patogenów są zjawiskiem powszechnym w populacjach kleszczy w Polsce i Europie, a ryzyko koinfekcji stanowi istotne wyzwanie diagnostyczne i epidemiologiczne.
- **Zakażenia wśród mieszkańców regionu**
 - W badaniu serologicznym, przeprowadzonym na losowo wybranej grupie pacjentów z miejscowości położonej na terenie Popradzkiego Parku Krajobrazowego, potwierdzono u 22,2% osób obecność przeciwciał IgM i/lub IgG przeciw *B. burgdorferi* s.l.
 - Najwyższy odsetek dodatnich wyników obserwowano w grupie wiekowej 30-39 lat.
 - Obecność przeciwciał u osób, które nie zgłaszały kontaktu z kleszczem, może sugerować niezauważone ataki kleszczy lub możliwość przebiegu zakażeń bezobjawowych.

- Nie stwierdzono istotnych zależności pomiędzy obecnością przeciwciał a płcią, wiekiem, miejscem zamieszkania ani wcześniejszym rozpoznaniem boreliozy.
- **Znaczenie epidemiologiczne i profilaktyczne**
 - Popradzki Park Krajobrazowy należy do obszarów o podwyższonym potencjalnym narażeniu na kleszcze i odkleszczową infekcję czynnikami etiologicznymi chorób odkleszczowych, co jest szczególnie istotne w kontekście jego popularności turystycznej.
 - Wyniki badań potwierdzają konieczność prowadzenia długoterminowego monitoringu populacji kleszczy i występowania patogenów w regionie.
 - Otrzymane wyniki wskazują także na potrzebę działań edukacyjnych skierowanych do mieszkańców i turystów, promujących stosowanie skutecznych metod ochrony osobistej (odpowiednia odzież, repelenty, szybkie usuwanie kleszczy).
 - Wysoki odsetek wyników dodatnich w testach serologicznych potwierdza, że ryzyko zakażeń nie dotyczy wyłącznie grup zawodowych, ale także ogólnej populacji aktywnie korzystającej z terenów zielonych.

6. Literatura

1. Albertyńska M., Rozwadowska B., Mendera-Bożek U., Jasik KP., Słodki A., Słodki J., Cieślak Tarkota R. 2016. Obecność *Borrelia burgdorferi* sensu lato, *Babesia microti*, *Anaplasma phagocytophilum*, *Ehrlichia chaffeensis*/*Ehrlichia muris* oraz wirusa kleszczowego zapalenia mózgu (TBEV) w kleszczach z terenu województwa śląskiego. W: Stawonogi. Zależności w układzie żywiciel-ektopasożyt-patogen. (red. Buczek A., Błaszak Cz.). Lublin, Koliber: 67-73.
2. Asman M., Pindel Ł., Solarz K. 2012. Occupational risk of infections with *Borrelia burgdorferi* sensu lato, *Borrelia burgdorferi* sensu stricto, *Borrelia garinii*, and *Borrelia afzelii* in agricultural workers on the territory of Beskid Żywiecki (South Poland). W: Stawonogi: Znaczenie medyczne i gospodarcze. (red. Buczek A., Błaszak Cz.). Lublin, Koliber: 163-170.
3. Asman M., Pindel Ł., Solarz K. 2013. Ryzyko narażenia na kleszcze (Acari: Ixodida) oraz *Borrelia burgdorferi* sensu lato i *Anaplasma phagocytophilum* na wybranych terenach gminy Jeleśnia (Beskid Żywiecki). W: Stawonogi. Aspekty medyczne i weterynaryjne. (red. Buczek A., Błaszak Cz.). Lublin, Koliber: 257-266.
4. Asman M., Pindel Ł., Solarz K. 2014. Ryzyko narażenia zawodowego na krętki *Borrelia burgdorferi* sensu lato, riketsje *Anaplasma phagocytophilum* i pierwotniaki *Babesia microti* na terenie Żywieckiego Parku Narodowego. W: Stawonogi. Zagrożenie zdrowia człowieka i zwierząt. (red. Buczek A., Błaszak Cz.). Lublin, Koliber: 153-162.
5. Asman M., Solarz K., Cuber P., Gąsior T., Szilman P., Szilman E., Tondaś E., Matzullok A., Kusion N., Florek K. 2015. Detection of protozoans *Babesia microti* and *Toxoplasma gondii* and their co-existence in ticks (Acari: Ixodida) collected in Tarnogórski District (Upper Silesia, Poland). *Ann Agric Environ Med.* 22: 80-83.
6. Asman M., Nowak-Chmura M., Solarz K., Szilman E., Semla M., Zyśk B. 2017. *Anaplasma phagocytophilum*, *Babesia microti*, *Borrelia burgdorferi* sensu lato, and *Toxoplasma gondii* in *Ixodes ricinus* (Acari, Ixodida) ticks collected from Słowiński National Park (Northern Poland). *Journal of Vector Ecology.* 42(1): 200-202.
7. Asman M., Witecka J., Korbecki J., Solarz K. 2021. The potential risk of exposure to *Borrelia garinii*, *Anaplasma phagocytophilum* and *Babesia microti* in the Wolin National Park (north-western Poland). *Sci Rep.* 11(1):4860.

8. Asman M., Bartosik K., Jakubas-Zawalska J., Świętek A., Witecka J. 2024. A new endemic locality of *Dermacentor reticulatus* in central-southern Poland and its potential epidemiological implications. *Insects*. 15(8):580.
9. Bartosik K., Sitarz M., Szymańska J., Buczek A. 2011a. Tick bites on humans in the agricultural and recreational areas in south-eastern Poland. *Ann Agric Environ Med*. 18(1): 151-157.
10. Bartosik K., Lachowska-Kotowska P., Szymańska J., Wójcik-Fatla A., Pabis A., Buczek A. 2011b. Environmental conditioning of incidence of tick-borne encephalitis in south-eastern Poland in 1996-2006. *Ann Agric Environ Med*. 18: 119-126.
11. Buczek W., Buczek A., Witecka J., Asman M. 2023. 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*. 30(2): 259-265.
12. Boulanger N., Boyer P., Talagrand-Reboul E., Hansmann Y. 2019. Ticks and tick-borne diseases: a major public health issue. *Med Mal Infect*. 49(3): 165-175.
13. Bušová A., Dorko E., Feketeová E., Rimárová K., Diabelková J., Rovenská T., Csank T. 2018. Association of seroprevalence and risk factors in Lyme disease. *Cent Eur J Public Health*. 26(Suppl):S61-S66.
14. Cuber P., Andreassen Å., Vainio K., Asman M., Dudman S., Szilman P., Szilman E., Ottesen P., Anestad G., Cieśla-Nobis S., Solarz K. 2015. Risk of exposure to ticks (Ixodidae) and the prevalence of tick-borne encephalitis virus (TBEV) in ticks in southern Poland. *Ticks Tick Borne Dis*. 6: 356-363.
15. de la Fuente J., Estrada-Peña A., Cabezas-Cruz A., Brey R. 2015. Flying ticks: anciently evolved associations that constitute a risk of infectious disease spread. *Parasites Vectors*. 8(1): 538.
16. Didyk Y.M., Blaňárová L., Pogrebnyak S., Akimov I., Peťko B., Víchová B. 2017. 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*. 8(2): 219-225.
17. Drelich A., Andreassen Å., Vainio K., Kruszyński P., Wąsik T.J. 2014. Prevalence of tick-borne encephalitis virus in a highly urbanized and low-risk area in southern Poland. *Ticks Tick Borne Dis*. 5: 663-667.
18. ECDC - European Centre for Disease Prevention and Control. 2022. Lyme borreliosis - annual epidemiological report for Europe. Stockholm: ECDC.

19. Estrada-Peña A., Ostfeld R.S., Peterson A.T., Poulin R., de la Fuente J. 2014. Effects of environmental change on zoonotic disease risk: an ecological primer. *Trends Parasitol.* 30(4): 205-214.
20. Estrada-Peña A., de la Fuente J. 2014. The ecology of ticks and epidemiology of tick-borne viral diseases. *Antiviral Res.* 108: 104-128.
21. Gray J.S., Kahl O., Lane R.S., Stanek G. 2002. *Lyme borreliosis: biology, epidemiology and control.* Wallingford: CABI Publishing.
22. Grochowska A., Dunaj-Małyszko J., Pancewicz S., Czupryna P., Milewski R., Majewski P., Moniuszko-Malinowska A. 2022. Prevalence of tick-borne pathogens in questing *Ixodes ricinus* and *Dermacentor reticulatus* ticks collected from recreational areas in northeastern Poland with analysis of environmental factors. *Pathogens.* 11(4):468.
23. Jongejan F., Uilenberg G. 2004. The global importance of ticks. *Parasitology.* 129(Suppl): S3-S14.
24. Khatchikian C.E., Prusinski M.A., Stone M., Backenson P.B., Wang I.N., Foley E., Brisson D. 2015. Recent and rapid population growth and range expansion of the Lyme disease tick vector, *Ixodes scapularis*, in North America. *Evolution.* 69(7): 1678-1689.
25. Kiewra D., Stańczak J., Richter M. 2014. *Ixodes ricinus* ticks (Acari, Ixodidae) as a vector of *Borrelia burgdorferi* sensu lato and *Borrelia miyamotoi* in Lower Silesia, Poland - preliminary study. *Ticks Tick Borne Dis.* 5(6): 892-897.
26. Kocbach P.P., Kocbach B.P. 2014. Ocena częstości występowania boreliozy wśród pracowników leśnictwa / Prevalence of Lyme disease among forestry workers. *Med Pr.* 65(3): 335.
27. Koczanowicz S., Nowak-Chmura M., Witecka J., Rączka G., Asman M.M. 2024. The potential risk of human exposure to tick-borne infection by *Borrelia burgdorferi* sensu lato, *Anaplasma phagocytophilum*, and *Babesia microti* in selected recreational areas of the Poprad Landscape Park in southern Poland. *Ann Agric Environ Med.* 31(3): 345-350.
28. Koczanowicz S., Nowak-Chmura M., Kocoń A., Rączka G., Asman M. 2025a. The occurrence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in *Ixodes ricinus* ticks collected from nature-educational and tourist trails in the Poprad Landscape Park. *Pathogens.* 14(2): 117.
29. Koczanowicz S., Nowak-Chmura M., Hudy D., Baranowska K., Asman M. 2025b. Assessment of the frequency of IgM and IgG antibodies against *Borrelia burgdorferi*

- sensu lato in the serum of inhabitants of the Poprad Landscape Park in southern Poland. *Ann Agric Environ Med*.
30. Koczanowicz S., Kocoń A., Asman M., Nowak-Chmura M. 2026. Tourist attractions of southern Poland - risk of tick infestation and exposure to tick-borne diseases. *Ann Parasitol*.
 31. Kubiak K., Dziekońska-Rynko J., Szymańska H., Kubiak D., Dmitryjuk M., Dzika E. 2019. Questing *Ixodes ricinus* ticks as a vector of *Borrelia burgdorferi* sensu lato and *Borrelia miyamotoi* in an urban area of north-eastern Poland. *Exp Appl Acarol*. 78: 113-126.
 32. Lenčáková D., Hizo-Teufel C., Peťko B., Schulte-Spechtel U., Stanko M., Wilske B., Fingerle V. 2006. Prevalence of *Borrelia burgdorferi* s.l. OspA types in *Ixodes ricinus* ticks from selected localities in Slovakia and Poland. *Int J Med Microbiol*. 296: 108-118.
 33. Machcińska M., Noworyta J., Brasse-Rumin M., Gago J., Ząbek J. 2013. Prevalence of *Yersinia* spp., *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydophila pneumoniae* and *Borrelia burgdorferi* antibodies in healthy blood donors' sera. *Reumatologia*. 51(6): 422-428.
 34. Materna J., Daniel M., Danielová V. 2005. Altitudinal distribution limit of the tick *Ixodes ricinus* shifted considerably towards higher altitudes in Central Europe: results of three years monitoring in the Krkonoše Mts. (Czech Republic). *Cent Eur J Public Health*. 13: 24-28.
 35. Medlock J.M., Hansford K.M., Bormane A., Derdakova M., Estrada-Peña A., George J.-C., Golovljova I., Jaenson T.G.T., Jensen J.-K., Jensen P.M., Kazimirova M., Oteo J.A., Papa A., Pfister K., Plantard O., Randolph S.E., Rizzoli A., Santos-Silva M.M., Sprong H., Vial L., Hendrickx G., Zeller H., Van Bortel W. 2013. Driving forces for changes in geographical distribution of *Ixodes ricinus* ticks in Europe. *Parasites Vectors*. 6: 1.
 36. Menzano A., Tizzani P., Farber M.D., Garcia-Vozmediano A., Martinelli L., Rossi L., Tomassone L. 2024. Zoonotic tick-borne pathogens in ticks from vegetation and alpine ibex (*Capra ibex*) in the Maritime Alps, Italy. *Animals*. 14(15): 2251.
 37. Nowak-Chmura M. 2013. Fauna kleszczy (Ixodida) Europy Środkowej. Kraków: Wydawnictwo Naukowe UP.
 38. Nowak-Chmura M. 2018. Kleszcze (Ixodida) Polski - rozmieszczenie, sezonowa aktywność, biologia. Kraków: Wydawnictwo Naukowe UP.

39. Nuttall P.A. 2022. Climate change impacts on ticks and tick-borne infections. *Biologia*. 77: 1503-1512.
40. Pfäffle M., Littwin N., Muders S.V., Petney T.N. 2013. The ecology of tick-borne diseases. *Int J Parasitol*. 43(12-13): 1059-1077.
41. Randolph S.E. 2010. To what extent has climate change contributed to the recent epidemiology of tick-borne diseases? *Vet Parasitol*. 167(2-4):92-94.
42. Richter D., Matuschka F.R. 2012. "Candidatus *Neoehrlichia mikurensis*", *Anaplasma phagocytophilum*, and Lyme disease spirochetes in questing European vector ticks and in feeding ticks removed from people. *J Clin Microbiol*. 50(3): 943-947.
43. Rizzoli A., Hauffe H.C., Carpi G., Vourc'h G., Neteler M.G., Rosa R. 2011. Lyme borreliosis in Europe. *Euro Surveill*. 16(27): 19906.
44. Rizzoli A., Silaghi C., Obiegala A., Rudolf I., Hubálek Z., Földvári G., Plantard O., Vayssier-Taussat M., Bonnet S., Špitalská E., Kazimírová M. 2014. *Ixodes ricinus* and its transmitted pathogens in urban and peri-urban areas in Europe: new hazards and relevance for public health. *Front Public Health*. 2: 251.
45. Siuda K. 1993. Kleszcze (Acari: Ixodida) Polski. II. Systematyka i rozmieszczenie. Warszawa: PTP.
46. Spausta G., Wiczkowski A., Ciarkowska J., Strzelczyk J., Trapp G., Adamek B., Zalewska-Ziob M. 2003. Częstość występowania *Borrelia burgdorferi* sensu lato u kleszczy *Ixodes ricinus* z okolic Tarnowskich Gór. *Wiad Parazytol*. 49(1): 39-45.
47. Sprong H., Azagi T., Hoornstra D., Nijhof A.M., Knorr S., Baarsma M.E., Hovius J.W. 2018. Control of Lyme borreliosis and other *Ixodes ricinus*-borne diseases. *Parasites Vectors*. 11: 145.
48. Stanek G., Wormser G.P., Gray J., Strle F. 2012. Lyme borreliosis. *Lancet*. 379(9814): 461-473.
49. Stańczak J., Gabre R.M., Kruminis-Łozowska W., Racewicz M., Kubica-Biernat B. 2004. *Ixodes ricinus* as a vector of *Borrelia burgdorferi* sensu lato, *Anaplasma phagocytophilum* and *Babesia microti* in urban and suburban forests. *Ann Agric Environ Med*. 11(1): 109-114.
50. Stańczak J., Racewicz M., Kubica-Biernat B., Kruminis-Łozowska W., Dąbrowski J., Adamczyk A., Markowska M. 1999. Prevalence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in *Ixodes ricinus* ticks (Acari, Ixodidae) in different Polish woodlands. *Ann Agric Environ Med*. 6(2).

51. Stefanoff P., Rosińska M., Zieliński A. 2006. Epidemiologia chorób przenoszonych przez kleszcze w Polsce. *Przeł Epidemiol.* 60(Suppl 1): 151-159.
52. Strzelczyk J.K., Wiczowski A., Spausta G., Ciarkowska J., Ziob-Zalewska M., Izdebska-Straszak G. 2006. Obecność krętków *Borrelia burgdorferi* sensu lato u kleszczy *Ixodes ricinus* na terenach rekreacyjnych okolic Tarnowskich Gór i Zabrze w latach 2001-2003. *Przeł Epidemiol.* 60: 589-595.
53. Sytykiewicz H., Karbowski G., Werszko J., Czerniewicz P., Sprawka I., Mitrus J. 2012. Molecular screening for *Bartonella henselae* and *Borrelia burgdorferi* sensu lato co-existence within *Ixodes ricinus* populations in central and eastern parts of Poland. *Ann Agric Environ Med.* 19(3): 451-456.
54. Tälleklint L., Jaenson T.G. 1998. Increasing geographical distribution and density of *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae) in central and northern Sweden. *J Med Entomol.* 35(4): 521-526.
55. Vourc'h G., Abrial D., Bord S., Jacquot M., Maseglia S., Poux V., Chapuis J.L. 2016. Mapping human risk of infection with *Borrelia burgdorferi* sensu lato, the agent of Lyme borreliosis, in a periurban forest in France. *Ticks Tick Borne Dis.* 7(5): 644-652.
56. Vucelja M., Krčmar S., Habuš J., Perko V.M., Boljfečić M., Bjedov L., Margaletić J. 2023. Altitudinal distribution, seasonal dynamics and *Borrelia burgdorferi* sensu lato infections in hard ticks (Acari: Ixodidae) in different forest communities in inland Croatia. *Sustainability.* 15(6): 4862.
57. WHO - World Health Organization. 2020. Vector-borne diseases. Geneva: WHO.
58. Wilking H., Stark K. 2014. Trends in surveillance data of human Lyme borreliosis from six federal states in eastern Germany, 2009-2012. *Ticks Tick Borne Dis.* 5(3): 219-224.
59. Wójcik-Fatla A., Cisak E., Zajac V., Zwoliński J., Dutkiewicz J. 2011. Prevalence of tick-borne encephalitis virus in *Ixodes ricinus* and *Dermacentor reticulatus* ticks collected from the Lublin region (eastern Poland). *Ticks Tick Borne Dis.* 2(1): 16-19.
60. Zajac V., Pinkas J., Wójcik-Fatla A., Dutkiewicz J., Owoc A., Bojar I. 2017. Prevalence of serological response to *Borrelia burgdorferi* in farmers from eastern and central Poland. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 36: 437-446.
61. Zajac Z., Kulisz J., Woźniak A., Bartosik K., Foucault-Simonin A., Moutailler S., Cabezas-Cruz A. 2023. Tick activity, host range, and tick-borne pathogen prevalence in mountain habitats of the Western Carpathians, Poland. *Pathogens.* 12(9): 1186.
62. Zajkowska J., Waluk E., Świerzbńska R., Dunaj J., Zajkowska O., Wawrzuta D., Niścigorska Olsen J., Matukiewicz M., Oczko-Grzesik B., Veltze D., Bernacka-

Andrzejewska K., Burchart Adamczyk K., Dutkiewicz E., Maciukaję J., Konieczny K., Malcher-Bober D., Dybowska D., Hapyn-Rocha M., Marsik-Styrkosz M., Kmak G., Bociaga-Jasik M., Byś-Chrzanowska M., Paradowska-Stankiewicz I. 2025. The impact of serological testing implementation on tick-borne encephalitis detection in Poland. *PLoS One*. 20: e0323022.

63. Zeman P., Beneš Č. 2013. Spatial distribution of a population at risk: an important factor for understanding the recent rise in tick-borne diseases (Lyme borreliosis and tick-borne encephalitis in the Czech Republic). *Ticks Tick Borne Dis*. 4(6): 522-530.

7. Finansowanie

Publikacje, na podstawie których powstała praca, oraz część materiałów laboratoryjnych sfinansowano z funduszu Szkoły Doktorskiej Uniwersytetu Komisji Edukacji Narodowej w Krakowie.

8. Współpraca

Badania molekularne zostały przeprowadzone w ramach współpracy naukowej ze Śląskim Uniwersytetem Medycznym w Katowicach, w Zakładzie Parazytologii w Sosnowcu oraz w Katedrze i Zakładzie Biologii Medycznej i Molekularnej, Wydziału Nauk Medycznych w Zabrze, pod kierunkiem dr hab. n. med. prof. SUM Marka Asmana.

9. Kopie publikacji wchodzących w skład rozprawy

ORIGINAL ARTICLE

Annals of Agricultural and Environmental Medicine 2024, Vol 31, No 3, 345–350
www.aaem.pl



The potential risk of human exposure to tick-borne infection by *Borrelia burgdorferi sensu lato*, *Anaplasma phagocytophilum*, and *Babesia microti* in selected recreational areas of the Poprad Landscape Park in southern Poland

Sylwia Koczanowicz^{1,A-D} , Magdalena Nowak-Chmura^{1,A,C-F} , Joanna Witecka^{2,E} ,
Grzegorz Rączka^{3,C} , Marek Marcin Asman^{4,C-F} 

¹ Department of Zoology, Institute of Biology and Earth Sciences, University of the National Education Commission, Kraków, Poland

² Department of Parasitology, Faculty of Pharmaceutical Sciences in Sosnowiec, Medical University of Silesia, Katowice, Poland

³ Department of Forest Management Planning, University of Life Sciences, Poznań, Poland

⁴ Department of Medical and Molecular Biology, Faculty of Medical Sciences in Zabrze, Medical University of Silesia, Katowice, Poland

A – Research concept and design, B – Collection and/or assembly of data, C – Data analysis and interpretation, D – Writing the article, E – Critical revision of the article, F – Final approval of the article

Koczanowicz S, Nowak-Chmura M, Witecka J, Rączka G, Asman MM. The potential risk of human exposure to tick borne infection by *Borrelia burgdorferi sensu lato*, *Anaplasma phagocytophilum* and *Babesia microti* on the selected recreational areas of Poprad Landscape Park of southern Poland. *Ann Agric Environ Med.* 2024; 31(3): 345–350. doi: 10.26444/aaem/186025

Abstract

Introduction and Objective. Ticks (Acari: Ixodida) are dangerous ectoparasites and, at the same time, vectors and/or reservoirs of many pathogens, among others *Borrelia burgdorferi sensu lato*, *Anaplasma phagocytophilum* and *Babesia microti*. These ethiological agents of Lyme borreliosis, anaplasmosis and babesiosis are transferred to humans mainly by ticks during feeding. The aim of this study was to estimate the potential risk of human exposure to tick borne infection of *B. burgdorferi s.l.*, *A. phagocytophilum* and *B. microti* in selected areas of Poprad Landscape Park in southern Poland (PLP).

Materials and Method. *Ixodes ricinus* ticks were collected from vegetation by the flagging method. Under a stereoscopic microscope, specimens were determined to the species and developmental stage. In total, DNA was isolated from 363 ticks. To detect *B. burgdorferi s.l.*, two pairs of primers specific to the flagellin gene were used. In turn, to detect *A. phagocytophilum* and *B. microti*, two pairs of primers specific to the 16S rRNA gene fragment and 18S rRNA gene fragment were used, respectively. The amplification products were separated electrophoretically in 2% ethidium bromide stained agarose gels, and visualized under ultra violet light.

Results. Generally, pathogens were observed in 19.6% of ticks. *Borrelia burgdorferi sensu lato* was detected in 11.8% of studied ticks. In turn, *A. phagocytophilum* and *B. microti* were presented, respectively, in 0.3% and 7.4% of examined *I. ricinus*.

Conclusions. The study indicated a potentially high risk of human exposure to infection with tick-borne pathogens, mainly *B. burgdorferi s.l.* and *B. microti*, in the areas of PLP. In turn, the presence of *A. phagocytophilum* in lower percentage was shown in the studied ticks

Key words

Anaplasma phagocytophilum, *Babesia microti*, *Ixodes ricinus*, *Borrelia burgdorferi sensu lato*, tick-borne pathogens, Poprad Landscape Park

INTRODUCTION

The area of southern Poland has a large number of attractive places in which to spend free time close to nature, both for residents and tourists from all parts of Poland and worldwide. There are 6 national parks, eleven landscape parks, and 10 protected landscape areas within the region. Many tourist

trails, bicycle paths, recreation areas, a large number of rivers and forests create perfect conditions for exploring these areas. Tourist traffic in the Poprad Landscape Park (PLP), especially in the season from early spring to late autumn, coincides with the highest seasonal activity of ticks which are looking for hosts. The area of the Province of Lesser Poland has been monitored for over 60 years in terms of the occurrence and activity of ticks (Acari: Ixodida), especially *Ixodes ricinus* [1–5]. Moreover, 13 species of ticks have been registered in the Lesser Poland region, from the *Argasidae* family: *Argas polonicus*, *Carios vespertilionis*, from the *Ixodidae* family: *Ixodes trianguliceps*, *Ixodes arboricola*, *Ixodes crenulatus*,

 Address for correspondence: Sylwia Koczanowicz, Department of Zoology, Institute of Biology and Earth Sciences, University of the National Education Commission, Podchorążych 2, 30-084, Kraków, Poland
E-mail: sylwiakoczanowicz@gmail.com

Received: 08.10.2023; accepted: 13.03.2024; first published: 27.03.2024

Ixodes hexagonus, *Ixodes lividus*, *Ixodes rugicollis*, *Ixodes simplex*, *Ixodes vespertilionis*, and *Ixodes apronophorus*, from the family *Amblyomidae*: *Dermacentor reticulatus* [5–8].

Barcice (49°31'48"N, 20°38'50"E) and Barcice Dolne (49°31'39"N, 20°39'06"E) are summer resorts located in the Lesser Poland Province, in the commune of Stary Sącz, in the Nowy Sącz county, 79 kilometers south-east of Kraków, the regional capital. The resorts are located in the Poprad Landscape Park, in the Poprad Valley (Fig 1). A certain pressure is put on the occurrence of ticks on tourist trails and the regions with conditions for the development of agritourism. However, knowledge about the occurrence of ticks in protected areas, national and landscape parks in Poland, is not fully documented. Among the 19 species of ticks, the common elements of the Polish tick fauna, *I. ricinus* is still the most popular [6, 7, 9], and plays the most important role as a reservoir and carrier of pathogens of all transmission diseases registered in Poland, which results in the number of tick-borne diseases among people in Poland.

For this reason, the aim of this study was to estimate the potential risk of human exposure to tick-borne infection of *B. burgdorferi* s.l., *A. phagocytophilum* and *B. microti* on the selected areas of the Poprad Landscape Park.

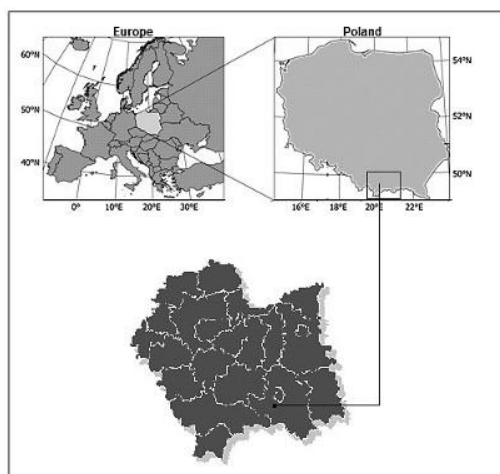


Figure 1. Location of the studied area in Europe and in Poland.

MATERIALS AND METHOD

Ticks were collected from the 6 selected areas of the PLP (3 in 2018 and 3 in 2019) by flagging and placed in plastic tubes containing 70% ethyl alcohol. In 2018, ticks were collected from areas I-III, and in 2019 from areas IV-VI (Figs. 2–3). Next, specimens were identified to the species and developmental stages under a stereoscopic microscope, using keys by Siuda [5] and Nowak-Chmura [7].

DNA was isolated from 363 *I. ricinus* ticks – 139 females, 141 males and 83 nymphs, by the ammonia method [10]. The concentration of DNA was measured spectrophotometrically in a nanospectrophotometer PEARL (Implen, Germany) at the 260/280 nm wave length. Next, DNA was frozen and stored at -20°C for further analysis.

Pathogens in ticks were detected by the nested PCR method. For the detection of *B. burgdorferi* s. l. in ticks the 2 pair of primers specific to the flagelline gene were used [11]. In turn, to detect *A. phagocytophilum* and *B. microti*, the 2 pairs of primers specific to the 16S rRNA gene and 18S rRNA gene were used, respectively [12, 13]. The amplification products were then separated electrophoretically in 2% ethidium bromide stained gels, and visualized under ultra violet light and photographed by an OMEGA 10 device (UltraLum, USA). The obtained results were analyzed by TotalLab software (TotalLab, UK).

To verify the important differences in the number of infected and uninfected ticks in different comparison groups, the χ^2 test (Chi-square test) was used. In order to verify the significance of differences in the number of tick infections with the tested pathogens in different comparative groups, the Yates correction to the χ^2 test (Chi-square test with Yates correction) was used. Calculations were conducted using STATISTICA software.



Figure 2. Sites sampled for ticks in the selected areas of Poprad Landscape Park. A – Area I; B – Area II, C – Area III, D – Area IV, E – Area V, F – Area VI

RESULTS

In total, pathogens were detected in 19.6% of studied ticks. The spirochaetes *B. burgdorferi* s.l., were shown in 11.8 % of studied *I. ricinus*. In turn, *B. microti* in 7.4% of studied ticks was stated. Rickettsiae *A. phagocytophilum* was detected in only 0.3% of ticks. The highest percentage of ticks infected with *B. burgdorferi* s.l. were found in areas IV (27.5%) and V (21.1%), with the lowest percentage of ticks infected by this spirochaete in area I (4.9%) was shown. The highest number of ticks infected with *B. microti* was found in the area I (16,7%) and the lowest in areas III and V. None of the tested ticks from the area IV were infected with this protozoan. *A. phagocytophilum* was detected only in a single female collected in area III (Tab. 1). No co-existence was found of these 3 pathogens in the studied ticks.

B. burgdorferi s.l. and *B. micorti* were found in all developmental stages of the studied *I. ricinus* ticks. The highest number of *B. burgdorferi* s.l. was discovered among

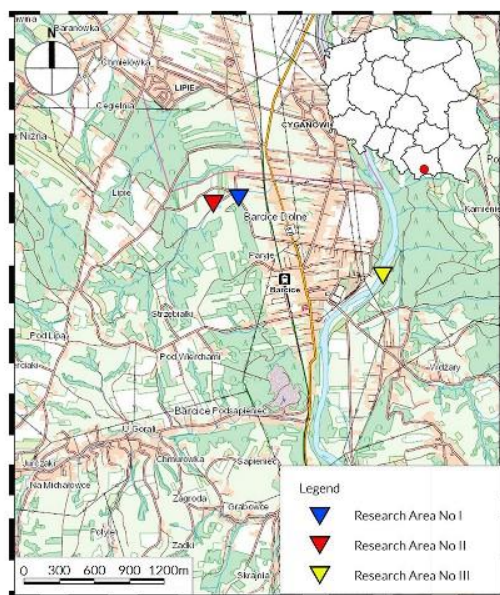


Figure 3. Localities of the 3 studied areas in 2018 within the Poprad Landscape Park. Area I – A meadow surrounded by a deciduous forest, where there is a combat shelter. Geographic coordinates: 49°32'00.4"N 20°38'33.3"E. Area II – A meadow along a popular walking trail, surrounded by a deciduous forest, mostly birch. Geographic coordinates: 49°31'58.3"N 20°38'25.5"E. Area III – A meadow next to a pine forest, near the Poprad River. Geographic coordinates: 49°31'34.9"N 20°39'41.5"E.

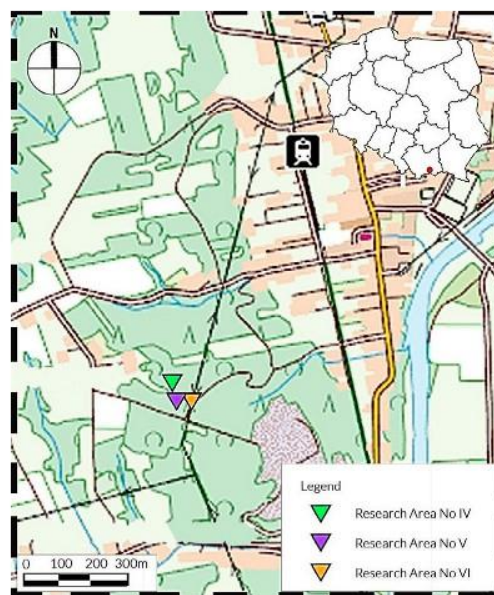


Figure 4. Localities of the 3 studied areas in 2019 within the Poprad Landscape Park. Area IV – A meadow surrounded by a deciduous forest, where there is a high metal cross, visited by local processions. Geographic coordinates: 49°31'12.1"N 20°38'33.1"E. Area V – A path covered with grass leading through a deciduous forest – mostly birch and hornbeam. Geographic coordinates: 49°31'10.7"N 20°38'34.0"E. Area VI – A meadow surrounded by a deciduous forest. Geographic coordinates: 49°31'10.0"N 20°38'36.1"E.

females (20%), and the lowest among males (2%). The majority of females infected with this pathogen were in Area IV (30.8%), and the smallest number in Area I (11.4%). Infected males were found only in Areas IV and V (20% and 10%). In Areas I-III and VI, there were no males with this pathogen. 11% of males were infected with *B. microti* and only 5% of females. The largest number of infected males was found in Area I (17.6%), whereas in IV and VI, no males were carriers of the above-mentioned pathogen. In females, this pathogen was detected only in Areas I and VI (13.6% and 6.7%). This pathogen was not detected in females in other areas (Tab. 1).

Results of the χ^2 test – despite large differences in the number of ticks collected in individual study areas (from N=35 on study plot VI and N=102 on study plot I) – did not show any statistically significant differences ($p < .05$) between the proportions of the number of infected and uninfected ticks in all tested pairs of study fields. This proved the homogeneity of study areas (Tab. 2).

The number of tick infections in individual research areas was characterized by high variability and ranged from 3 – 11 in the case of *B. burgdorferi* s.l., and from 0 – 17 in the case of *B. microti*. Generally, the number of ticks infected with *B. burgdorferi* s.l., was higher than the number of ticks infected with *B. microti*. In 4 study areas, the number of ticks infected with *B. burgdorferi* s.l., was higher than the number of ticks infected with *B. microti*. In one plot the number was the same (plot VI), and in the other plot, more ticks were infected with *B. microti* than with *B. burgdorferi* s.l. (Tab. 1).

To sum up, the number of mature ticks and nymphs of infected ticks was lower than the number of uninfected ticks at these stages of development in all study areas (Tab. 1) The proportions of the number of infected and uninfected ticks in terms of 2 developmental stages (nymphs and mature ticks) did not show statistically significant differences, χ^2 (1, N=363)=.099; p-value=.753. The situation was different with regard to the number of infected and uninfected ticks in terms of the gender of mature individuals. In this case, there was a statistically significant difference ($p < .01$) between females and males – comparably, there were more females and fewer males, χ^2 (1, N=280)=7.029; p-value=.008.

Generally, there were more tick infections caused by *B. burgdorferi* s.l., than by *B. microti* in nymphs, adults (both females and males combined). On the other hand, in the case of males, the number of ticks infected with *B. microti* was higher than the number of ticks infected with *B. burgdorferi* s.l.

Statistical analysis also did not indicate any statistically significant differences in the number of ticks infected with *B. burgdorferi* s.l., and *B. microti* between nymphs and mature individuals (female and male together), χ^2 (1, N=70)=.795; p-value=.373. Highly statistically significant differences ($p < .001$) were revealed in the comparison between the gender of mature individuals, χ^2 (1, N=53)=19.638, p-value<.0001, where statistically significantly more males than females were infected with *B. microti* and more females than males were infected with *B. burgdorferi* s.l.

Table 1. Number of *Ixodes ricinus* males, females and nymphs infected with *Borrelia burgdorferi* sensu lato, *Anaplasma phagocytophilum* and *Babesia microti* in the studied areas of the Poprad Landscape Park

Studied area	Developmental stage	No. of ticks	No. of uninfected ticks	Number of infected ticks			Total
				<i>Borrelia burgdorferi</i> sensu lato	<i>Anaplasma phagocytophilum</i>	<i>Babesia microti</i>	
Area I	Male	51	42	0	0	9	9
	Female	44	33	5	0	6	11
	Nymph	7	5	0	0	2	2
	Total	102	80	5	0	17	22
Area II	Male	28	24	0	0	4	4
	Female	22	16	6	0	0	6
	Nymph	26	25	0	0	1	1
	Total	76	65	6	0	5	11
Area III	Male	32	31	0	0	1	1
	Female	38	27	10	1	0	11
	Nymph	2	2	0	0	0	0
	Total	72	60	10	1	1	12
Area IV	Male	10	8	2	0	0	2
	Female	13	9	4	0	0	4
	Nymph	17	12	5	0	0	5
	Total	40	29	11	0	0	11
Area V	Male	10	8	1	0	1	2
	Female	7	6	1	0	0	1
	Nymph	21	15	6	0	0	6
	Total	38	29	8	0	1	9
Area VI	Male	10	10	0	0	0	0
	Female	15	12	2	0	1	3
	Nymph	10	7	1	0	2	3
	Total	35	29	3	0	3	6
Areas I-VI	Male	141	123	3	0	15	18
	Female	139	103	28	1	7	36
	Nymph	83	66	12	0	5	17
Total [n]	363	292	43	1	27	71	
[%]	100.0	80.4	11.8	0.3	7.4	19.6	

Area I – meadow surrounded by a deciduous forest, where there is a combat shelter.
 Area II – meadow along a popular walking trail, surrounded by a deciduous forest, mostly birch.
 Area III – meadow next to a pine forest, near the Poprad River.
 Area IV – meadow surrounded by a deciduous forest, where there is a high metal cross, visited by local processions.
 Area V – path covered with grass leading through a deciduous forest – mostly birch and hornbeam.
 Area VI – meadow surrounded by a deciduous forest.

Table 2. Results of χ^2 tests between number of infected and uninfected ticks representing every pair of studied areas of the PLP

Studied area	p-value					
	I	II	III	IV	V	VI
I		.228	.297	.452	.789	.575
II	1.452		.891	.089	.223	.717
III	1.087	.019		.119	.277	.804
IV	.567	2.893	2.434		.700	.285
V	.072	1.486	1.182	.149		.489
VI	.314	.132	.061	1.142	.477	

DISCUSSION

The potential risk of tick infestation and acquiring a tick-borne infection may be influenced by the behaviour of

individual persons, including the choice of places for rest and recreation. The places where ticks of this species are mostly found are moist habitats, mainly deciduous and mixed forests, bush thickets, and moist pastures. However, they avoid high mountain areas, dry pine forests, coniferous forests, swamps and peat bogs [7]. The percentage of infections with tick borne pathogens depends on the region of Poland. When choosing places for outdoor activities, it is worth knowing the threats that occur in a particular area, which is important not only for residents, but also for tourists who frequently visit the area. It is commonly known, that *I. ricinus* is the most common tick in Poland which often feeds on humans [7, 14]. The results obtained in this work confirmed this fact, because all the ticks collected in the studied areas of the PLP belonged to the species *I. ricinus*. Moreover, in Poland as in the rest of Europe, this tick species is considered one of the most important arthropod species in the epidemiology of the transmission diseases [15, 16]. The main pathogens

transmitted by this tick are: spirochaete *B. burgdorferi* s.l., the tick-borne encephalitis virus (TBEV), protozoan *B. microti*, and the rickettsiae *A. phagocytophilum*.

For several years, Lyme borreliosis has been a growing problem for infectious disease clinics, and a matter of intensive research [17]. The total number of ticks infected with *B. burgdorferi* s.l., in southern Poland ranges from 0% in the Kraków-Częstochowa Upland to 62% of ticks infected with this pathogen in the Żywiec Beskids [18, 19]. In the current research, of the 363 ticks tested in Barcice, 11.8% were carriers of this pathogen. In the Niepołomice Forest in Lesser Poland, a similar number of infected ticks was found – of 286 *I. ricinus*, 11.5% were the carrier of *B. burgdorferi* s.l. A higher percentage of infected ticks was observed in Ojców National Park (25%) and in Lasek Wolski (35.7%) [20]. In turn, in Tarnowskie Góry in the Silesian District, the spirochaete *B. burgdorferi* s.l., was found in 16.5% of the examined ticks [21], while in the area of the Żywiec Landscape Park and its vicinity – 1.7% – 26.92% [22, 23]. In Lower Silesia, western Poland, the percentage of ticks infected with *B. burgdorferi* s.l., was higher than in Barcice, ranging from 14% – 22.5% [24, 25]. In the Lubelskie Province in eastern Poland, the percentage of infected ticks varied from 6% – 24.3% [26, 27]. In northern Poland, however, *B. burgdorferi* s.l., infection among ticks ranged from 0% in the Słowiński National Park to 12.4% in Gdańsk [28, 29].

In the current study, the highest proportion of ticks infected by *B. burgdorferi* s.l. was found in areas IV (27.5%) and V (21.1%), in places covered with grass, surrounded by deciduous forest. A large number of infections may be due to the fact that these places are far from buildings and roads, and are therefore inhabited by many wild animals that are hosts to ticks and play an important role in the transmission of tick-borne diseases. In turn, the lowest percentage of infected ticks with this spirochaete (4.9%) was found in Area No. I, a large meadow surrounded by deciduous forest. The site is located near a railway line and a narrow road used by local residents, the noise of which can deter, and therefore limit, the number of animals living in this area. In areas II and VI, the number of ticks with *B. burgdorferi* s.l. was similar and constituted 7.9% and 8.6%. Area III is a small meadow located next to a pine forest, where 13.9% of the above pathogen was detected in ticks.

The results of the presented study reveal a large variation in the percentage of infection with *B. burgdorferi* s.l., spirochetes in individual populations of *I. ricinus* in tourist and recreational areas in southern Poland, and clearly indicate the circulation of pathogens for the transmission of diseases in nature. Additionally, it is assumed that females transmit the majority of tick-borne diseases, and are therefore one of the most dangerous developmental stages of this tick species. This fact was confirmed by the results concerning *B. burgdorferi* s.l. in Barcice. Infections among females were established at each of the examined sites and predominated in Areas I-IV and VI. The largest number of infected females were found at Area No. IV (30.8%), where the number of infected males (20%) and nymphs (29.4%) was slightly lower. In Areas No. II and III, there were 27.3% and 26.3% infected females, not a single infected male or nymph tick was detected. In other areas, the value of infections among females was similar and ranged from 11.4% – 14.3%. The exception, where a different developmental stage prevailed, was Area No. V, where as many as 28.6% of *B. burgdorferi* s.l. were detected among the

nymphs. At areas No. I-III, no infections were found among the nymphs. Infected males lived only in Areas No. IV and V, which constitute 20% and 10%, respectively.

To summarize, most infections with *B. burgdorferi* s.l. were detected in females (20%), and the least in males (2%). Sytykiewicz et al. [30] and Kubiak et al. [31] also showed that females dominated the percentage of infections, from 23.6% – 43.3%. Similar results were obtained by Kiewra et al. [24] and Spausta et al. [21], where the highest number of infections were among females, 27% – 26.8%, respectively. The above-mentioned studies prove that female *I. ricinus* are one of the main vectors of this pathogen. In turn, babesiosis is a disease caused by protozoa of the genus *Babesia*, transmitted by ticks, which can be asymptomatic, with flu-like symptoms, and a severe course that leads to coma [32]. In the current study, *B. microti* was detected in 7.4% of the tested ticks, while slightly more of this pathogen was discovered in the study by Asman et al. [33] in the Wolin National Park in north-western Poland. 10.65% of studied *I. ricinus* were infected with this protozoa.

In Barcice, the majority of ticks infected with *B. microti* were detected in Area No. I (16.7%), where infections predominated among nymphs, while in the same area the least *B. burgdorferi* s.l. infections were confirmed, where nymphs were free from this spirochete. This is the only case in which the percentage of *B. microti* infections was higher than that of *B. burgdorferi* s.l. Statistically in Barcice, the number of ticks infected with *B. burgdorferi* s.l., was higher than the number of ticks infected with *B. microti*. In turn, in Area No. IV, no cases of ticks with *B. microti* were found, and interestingly, the highest number of *B. burgdorferi* s.l. infections were detected at the same site.

The above results may prove that the transmission of various tick-borne diseases does not depend on one another. The results also emphasize the importance of a broad spectrum of tick examination. The fact that a particular area is free or slightly infected with a given pathogen does not mean that it is not a concentration of another, equally dangerous, tick-borne pathogen. Moreover, in the current study, the greatest number of *B. microti* was found in males, where at Area No. I the infection rate was 17.6%, and at sites II and V was similar: 14.3% and 10%. In Area No. III, only one male was infected with this pathogen, and in Areas IV and VI, males were free from *B. microti*. In females, this pathogen was found only in Areas No. I and VI – 13.6% and 6.7%, respectively. Among nymphs, the highest percentage of the pathogen was detected at Areas I and VI, similarly at 28.6% and 20%, and at Area II only 3.8% of infections. In turn, in Areas III – V, nymphs were not infected with the above-mentioned pathogen.

To sum-up, highly statistically significant differences were revealed in the comparison between the gender of mature individuals, where statistics show significantly more males than females are infected with *B. microti*, and more females than males are infected with *B. burgdorferi* s.l.

Anaplasmosis is a systemic infectious disease transmitted by ticks and caused by *A. phagocytophilum* bacteria. The frequency of anaplasmosis and the risk of a more severe course of the disease increases among the elderly population and in those with a weakened immune system. The disease can range from a mild, even asymptomatic course, to a very severe, life-threatening infection with high fever [34]. In Barcice, *A. phagocytophilum* was detected in only 0.3% of all tested ticks. This pathogen was confirmed in only one female

tick in Area III, a small meadow located next to a pine forest. A similar percentage of infected ticks was detected in West Pomerania, north-western Poland – 1.01% [33]. More ticks infected with this rickettsia were detected in western Poland – 2.5% [25]. In the Pomeranian Province, the percentage of ticks infected with the above pathogen was 14% [29].

CONCLUSIONS

This study is the first to have been carried out in the area of the Poprad Landscape Park (PLP) of southern Poland. The results obtained indicate the need to monitor places of the natural occurrence of ticks and natural outbreaks of tick-borne diseases. They also indicate a potentially high risk of exposing people to infection with tick-borne pathogens, mainly *B. burgdorferi* s.l., and *B. microti* in the areas of PLP. The zones of national and landscape parks, tourist trails, as well as tourist and recreational places where many people spend time, are especially important. Knowledge about the occurrence of ticks and the risk of human exposure to tick-borne diseases in these areas in Poland is still not sufficiently widespread, and awareness of the inhabitants about the potential threat is also very low. To reduce the risk of people contracting tick-borne diseases in areas where ticks live, especially in forest ecosystems, it is necessary to educate people about the common occurrence of *I. ricinus* ticks. It is important to popularize research on ticks and, more importantly, spread knowledge about prevention methods and the threats posed by tick-borne diseases.

Acknowledgement



The study was funded by the Doctoral School of the University of the Commission of National Education in Kraków, Poland

REFERENCES

- Siuda K, Nowak M, Urbanowicz A. Rytm sezonowej aktywności kleszcza pospolitego *Ixodes ricinus* (Linnaeus, 1758) (Acari: Ixodida) w okolicy Skąły Kmity koło Krakowa. Materiały z Konferencji Badania Naukowe w południowej części Wyżyny Krakowsko-Częstochowskiej. Ojców: Ojcowski Park Narodowy. 2001; 299–301.
- Siuda K, Nowak M, Grycz K, et al. Stan wiadomości nad rozprzestrzenieniem *Ixodes ricinus* (Linnaeus, 1758) (Acari: Ixodida: Ixodidae) na terenie województwa małopolskiego. In: Józef Patryk. Zróżnicowanie i przemiany środowiska przyrodniczo-kulturowego Wyżyny Krakowsko-Częstochowskiej. Ojcowski Park Narodowy. 2004; 1:295–301.
- Siuda K, Nowak M. Zagrożenie atakami kleszczy na szlakach turystycznych w województwie małopolskim. Konspekt. 2006; 26:42–48.
- Solarz K, Asman M, Cuber P, et al. Liczebność kleszcza *Ixodes ricinus* L. (Acari: Ixodida: Ixodidae) w Dolinie Zachwytu (Ojcowski Park Narodowy) w okresie jesiennego szczytu aktywności. Prądnik. Prace Muz. Szafera. 2010; 20:323–332.
- Siuda K. Kleszcze (Acari: Ixodida) Polski. II Systematyka i rozmieszczenie. Warszawa: Polskie Towarzystwo Parazytologiczne; 1993.
- Nowak-Chmura M, Siuda K. Ticks of Poland. Review of contemporary issues and latest research. Ann Parasitol. 2012; 58(3): 125–155.
- Nowak-Chmura M. Fauna Kleszczy (Ixodida) Europy Środkowej. Kraków: Wydawnictwo Naukowe Uniwersytetu Pedagogicznego; 2013.
- Zajkowska P, Nowak-Chmura M, Siuda K. Ticks (Acari: Ixodida) attacking domestic dogs in the Malopolska voivodeship, Poland. In: Buczek A, Blaszkak C, editors. Stawonogi: we współczesnym świecie. Lublin: Koliber; 2015. p. 87–99.
- Bogdanowicz W, Chudzicka E, Pilipiuk I, et al. Fauna Polski. Charakterystyka i wykaz gatunków. 3rd ed. Poland. Muzeum i Instytut Zoologii PAN. 2008; 1:39–44.
- Guy E, Stanek G. Detection of *Borrelia burgdorferi* in patients with Lyme disease by the polymerase chain reaction. J Clin Pathol. 1991; 44(7): 610–611. <https://doi.org/10.1136/jcp.44.7.610>.
- Wodecka B, Rymaszewska A, Sawczuk M, et al. B. Detectability of tick-borne agents DNA in the blood of dogs, undergoing treatment for borreliosis. Ann Agric Environ Med. 2009; 16(1): 9–14.
- Massung RF, Slater K, Owens JH, et al. Nested PCR Assay for detection of granulocytic ehrlichiae. J Clin Microbiol. 1998; 36: 1090–1095. <https://doi.org/10.1128/jcm.36.4.1090-1095.1998>.
- Persing DH, Mathiesen D, Marshall WF, et al. Detection of *Babesia microti* by polymerase chain reaction. J Clin Microbiol. 1992; 30: 2097–2103. <https://doi.org/10.1128/jcm.30.8.2097-2103.1992>.
- Siuda, K. Kleszcze Polski (Acari: Ixodida). Część I. Zagadnienia ogólne. Warszawa, Wrocław: Wydawnictwo Naukowe PWN; 1991.
- Kahl O, Gray JS. The biology of *Ixodes ricinus* with emphasis on its ecology. Ticks Tick Borne Dis. 2022; 102114. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2022.102114>.
- Gray J, Kahl O, Zintl A. What do we still need to know about *Ixodes ricinus*? Ticks Tick Borne Dis. 2021; 12(3): 101682. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2021.101682>.
- Stearns AC, Strle F, Wormser GP, et al. Lyme borreliosis. Nat Rev Dis Primer. 2016; 2(1): 1–19. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2016.90>.
- Asman M, Solarz K, Szilman E, et al. The occurrence of three tick-borne pathogens in *Ixodes ricinus* ticks collected from the area of the Kraków-Częstochowa Upland (Southern Poland). Acarologia. 2018; 58(4): 969–975. <https://doi.org/10.24349/acarologia/20184301>.
- Asman M, Gąsior T, Pająk C, et al. Occupational risk of infections with *Borrelia burgdorferi* sensu lato, *B. burgdorferi* sensu stricto, *B. garinii* and *B. afzelii* in agricultural workers on the territory of Beskid Żywiecki (South Poland). In: Buczek A, Blaszkak C, editors. Stawonogi. Znaczenie medyczne i gospodarcze. Lublin: Koliber; 2012. p. 163–170.
- Stańczak J, Racewicz M, Kubica-Biernat B, et al. Prevalence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in *Ixodes ricinus* ticks (Acari, Ixodidae) in different Polish woodlands. Ann Agric Environ Med. 1999; 6: 127–132.
- Spausta G, Wiczowski A, Ciarkowska J, et al. Częstość występowania *Borrelia burgdorferi* sensu lato u kleszczy *Ixodes ricinus* z okolic Tarnowskich Gór. Wiad Parazytol. 2003; 4(49): 39–45.
- Asman M, Pindel L, Solarz K. Ryzyko narażenia zawodowego na krętki *Borrelia burgdorferi* sensu lato, ricketyje *Anaplasma phagocytophilum* i pierwotniaki *Babesia microti* na terenie Żywieckiego Parku Narodowego. In: Buczek A, Blaszkak Cz, editors. Stawonogi. Zagrożenie zdrowia człowieka i zwierząt. Lublin: Koliber; 2014. p. 153–162.
- Asman M, Pindel L, Solarz K. Ryzyko narażenia na kleszcze (Acari: Ixodida) oraz *Borrelia burgdorferi* sensu lato i *Anaplasma phagocytophilum* na wybranych terenach gminy Jeleśnia (Beskid Żywiecki). In: Buczek A, Blaszkak Cz, editors. Stawonogi. Aspekty medyczne i weterynaryjne. Lublin: Koliber; 2013. p. 257–266.
- Kiewra D, Stańczak J, Richter M. *Ixodes ricinus* ticks (Acari, Ixodidae) as a vector of *Borrelia burgdorferi* sensu lato and *Borrelia miyamotoi* in Lower Silesia, Poland—preliminary study. Ticks Tick Borne Dis. 2014; 6: 892–897. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2014.07.004>.
- Richter D, Matuschka FR. "Candidatus *Neoehrlichia mikurensis*," *Anaplasma phagocytophilum*, and Lyme disease spirochetes in questing European vector ticks and in feeding ticks removed from people. J Clin Microbiol. 2012; 50(3): 943–947. <https://doi.org/10.1128/jcm.05802-11>.
- Wójcik-Fatla A, Zajac V, Sawczyn A, et al. Infections and mixed infections with the selected species of *Borrelia burgdorferi* sensu lato complex in *Ixodes ricinus* ticks collected in eastern Poland: a significant increase in the course of 5 years. Exp Appl Acarol. 2016; 68: 197–212. <https://doi.org/10.1007/s10493-015-9990-4>.
- Wójcik-Fatla A, Zajac V, Cisar E, et al. Leptospirosis as a tick-borne disease? Detection of *Leptospira* spp. in *Ixodes ricinus* ticks in eastern Poland. Ann Agric Environ Med. 2012; 19(4): 656–659.
- Asman M, Nowak-Chmura M, Solarz K, et al. *Anaplasma phagocytophilum*, *Babesia microti*, *Borrelia burgdorferi* sensu lato, and *Toxoplasma gondii* in *Ixodes ricinus* (Acari, Ixodida) ticks collected from Slowinski National Park (Northern Poland). J Vector Ecol. 2017; 42(1): 200–202. <https://doi.org/10.1111/jvec.12258>.
- Stańczak J, Gabre RM, Kruminis-Lozowska W, et al. *Ixodes ricinus* as a vector of *Borrelia burgdorferi* sensu lato, *Anaplasma phagocytophilum* and *Babesia microti* in urban and suburban forests. Ann Agric Environ Med. 2004; 11(1): 109–114.
- Sytykiewicz H, Karbowiak G, Werszko J, et al. Molecular screening for *Bartonella henselae* and *Borrelia burgdorferi* sensu lato co-existence within *Ixodes ricinus* populations in central and eastern parts of Poland. Ann Agric Environ Med. 2012; 19(3): 451–456.
- Kubiak K, Dziekońska-Rynko J, Szymańska H, et al. Questing *Ixodes ricinus* ticks (Acari, Ixodidae) as a vector of *Borrelia burgdorferi* sensu lato and *Borrelia miyamotoi* in an urban area of north-eastern Poland. Exp Appl Acarol. 2019; 78: 113–126. <https://doi.org/10.1007/s10493-019-00379-z>.
- Krause PJ. Human babesiosis. Int J Parasitol. 2019; 49(2): 165–174. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2018.11.007>.
- Asman M, Witecka J, Korbecki J, et al. The potential risk of exposure to *Borrelia garinii*, *Anaplasma phagocytophilum* and *Babesia microti* in the Wolinski National Park (north-western Poland). Sci Rep. 2021; 11(1): 4860. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-84263-0>.
- Dantas-Torres F, Domenico O. Anaplasmosis. Arthropod Borne Dis. 2017; 215–222. https://doi.org/10.1007/978-3-319-13884-8_15

Brief Report

The Occurrence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in *Ixodes ricinus* Ticks Collected from Nature-Educational and Tourist Trails in the Poprad Landscape Park

Sylwia Koczanowicz ^{1,*} , Magdalena Nowak-Chmura ¹, Anna Kocoń ², Grzegorz Rączka ³ and Marek Asman ^{2,*} 

¹ Department of Zoology, Institute of Biology and Earth Sciences, University of the National Education Commission, Podchorążych 2, 30-084 Cracow, Poland

² Department of Medical and Molecular Biology, Faculty of Medical Sciences in Zabrze, Medical University of Silesia, Jordana 19, 41-808 Zabrze, Poland

³ Department of Forest Management Planning, Poznań University of Life Sciences, Wojska Polskiego 28, 60-637 Poznań, Poland

* Correspondence: sylwiakoczanowicz@gmail.com (S.K.); masman@sum.edu.pl (M.A.)

Abstract: Throughout Europe, including Poland, *Ixodes ricinus* ticks are the main vector of numerous pathogenic agents that pose a serious threat to public health. Southern Poland attracts many tourists with its scenic landscapes and abundant recreational opportunities. These areas are ideal habitats for wild fauna, which serve as the main reservoirs and hosts for these pathogens and ticks. The large population and biodiversity of these hosts facilitate the proliferation of ticks. The aim of this study was to determine the potential exposure of humans to ticks and tick-borne pathogens such as *Borrelia burgdorferi* sensu lato, *Anaplasma phagocytophilum*, and *Babesia* spp., along the nature-educational and tourist trails of the Poprad Landscape Park. From 2020 to 2021, ticks were collected using the flagging method on three tourist trails and nature-educational paths within the Poprad Landscape Park. DNA was isolated from 213 *I. ricinus* ticks using the ammonia method. To detect pathogens in ticks, PCR and nested PCR methods were used. To detect *B. burgdorferi* s.l. and *A. phagocytophilum*, two pairs of primers specific to the *flaB* gene fragment and 16S rRNA gene fragment were used, respectively. For *Babesia* spp. detection, primers specific to the 18S rRNA gene were used. The amplification products were separated electrophoretically and visualized under ultraviolet light. In total, among the 213 examined ticks, *B. burgdorferi* s.l. was detected in 31% of the samples. Neither *A. phagocytophilum* nor *Babesia* spp. were detected in the studied material. These results indicate a potentially high risk of ticks and tick-borne *B. burgdorferi* s.l. infections for residents and tourists in the recreational areas of the Poprad Landscape Park.

Keywords: ticks; *Ixodes ricinus*; *Borrelia burgdorferi* s.l.; Poprad Landscape Park



Academic Editors: Roxanne A. Charles, Sebastián Muñoz-Leal and Sara Moutailler

Received: 2 December 2024

Revised: 22 January 2025

Accepted: 22 January 2025

Published: 26 January 2025

Citation: Koczanowicz, S.; Nowak-Chmura, M.; Kocoń, A.; Rączka, G.; Asman, M. The Occurrence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in *Ixodes ricinus* Ticks Collected from Nature-Educational and Tourist Trails in the Poprad Landscape Park. *Pathogens* **2025**, *14*, 117. <https://doi.org/10.3390/pathogens14020117>

Copyright: © 2025 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

animals serving as hosts for ticks makes it an ideal habitat for the development of *Ixodes ricinus* ticks [1,2].

Ixodes ricinus is a tick species of significant medical and veterinary importance, widely distributed in Poland, including its southern regions [3]. The primary reservoirs of tick-borne pathogens are small mammals, such as mice and voles, various bird species, and larger animals, including deer. These hosts sustain pathogens in the environment and play a crucial role in the tick's life cycle and disease transmission. Tick-borne diseases are primarily transmitted through the bite of an infected tick. During feeding, ticks inject saliva containing pathogens, including bacteria, viruses, or parasites, into the host's bloodstream. Tick saliva contains anticoagulants and immunosuppressants, which facilitate pathogen transmission by evading the host's immune response [4].

Both in Europe and specifically in Poland, *I. ricinus* serves as the primary vector of *Borrelia burgdorferi* sensu lato, the etiological agent of Lyme borreliosis, which is the most common tick-borne disease affecting humans in the Northern Hemisphere [5]. The increase in Lyme disease cases observed in recent years may suggest the presence of favorable conditions for spirochetes and their vectors [6]. Moreover, in 2023, a record number of Lyme disease cases was recorded in Poland, totaling 25,285 cases, with an incidence rate of 67.1 per 100,000 population, and 4.6% of the cases required hospitalization [7]. This disease poses a significant health risk due to its widespread prevalence and potential for severe complications. It can manifest with diverse symptoms, including erythema migrans, fever, muscle and joint pain, and, in later stages, neurological or cardiac complications. This is a multisystem disease that is difficult to diagnose and treat, often requiring a multidisciplinary approach [8]. Another significant tick-borne disease, anaplasmosis, is caused by *Anaplasma phagocytophilum*. This pathogen targets white blood cells, disrupting the immune response and leading to symptoms such as fever, muscle pain, and fatigue. In severe cases, particularly in immunocompromised individuals, anaplasmosis can result in organ damage [9]. Babesiosis, another well-known tick-borne disease, is caused by protozoa of the genus *Babesia*. These parasites infect and destroy red blood cells, leading to symptoms such as fever, chills, anemia, and fatigue, which closely resemble malaria. Severe cases are more likely to occur in individuals with weakened immune systems or those lacking a spleen, potentially progressing to organ failure [10].

Although research has been conducted in southern Poland for years, sufficient information on the occurrence of ticks in many tourist areas, including the Poprad Landscape Park, is still lacking. It is crucial to conduct research on the presence of ticks in tourist areas and analyze the pathogens of tick-borne diseases that these parasites carry, enabling the identification of potential public health threats and contributing to the development of effective prevention and treatment methods for tick-borne diseases [11–13]. Consequently, the aim of this study was to assess the potential risk of human exposure to ticks and tick-borne pathogens, including *B. burgdorferi* s.l., *A. phagocytophilum*, and *Babesia* spp., along the selected nature-educational and tourist trails of the Poprad Landscape Park.

2. Materials and Methods

2.1. Sampling Area

The Poprad Landscape Park is predominantly covered with forests and holds significant ecological importance, encompassing numerous protected areas, including 13 nature reserves. In this study, the area is categorized into two distinct climatic altitudinal vegetation zones: the foothill zone and the lower forest zone. In the foothill zone, cultivated fields, meadows, and pastures dominate, interspersed with larger patches of forests and groves. This zone is characterized by the presence of xerothermic plants as well as alder carrs and reed beds in river valleys. In contrast, the lower forest zone primarily consists of

beech forests with mixtures of fir, sycamore, mountain elm, and spruce. In the spring, this zone is rich with a variety of plants including snowdrops, glandular liverleaf, and wild garlic. The park's forests are home to a wide variety of wildlife, including lynxes, wolves, deer, wildcats, and bears, as well as providing a habitat for mountain bird species such as the golden eagle, Ural owl, ring ouzel, and rock thrush. Additionally, the valleys of the Poprad and Dunajec rivers serve as habitats for otters and beavers, further reflecting the park's rich biodiversity and environmental significance. Area 1—the "Rogasiowy Szlak" nature path in Rytro is 12.4 km long, with an elevation range from 443 to 1002 m above sea level. The sampling in this area was conducted in 2020. It features 14 educational boards along the route. This area is predominantly covered by beech and fir-pine trees. Area 2—"Barani Szlak" in Rytro is 4.2 km long, with an elevation range from 569 to 827 m a.s.l. The sampling in this area was carried out in 2021. This trail passes through mixed forests, meadows, and fields. The trail begins at the castle and follows the path to the mountain shelter. Area 3—"Na Stoku Jaworzyny Krynickiej" nature-educational path is 4.5 km long, with an elevation range from 720 to 1100 m a.s.l. The sampling in this area was conducted in 2021. It includes 14 thematic stops that describe the area's flora, fauna, and geology. The path leads through diverse landscapes, including beech-fir forests and meadows (Figure 1).



Figure 1. Examples of tick collection sites within the Poprad Landscape Park.

2.2. Field Sampling

The collection of ticks from each research area (Figure 2) was conducted during spring, specifically in June, of 2020 and 2021. In 2020, 72 ticks were gathered from the "Rogasiowy Szlak" trail (6 males, 7 females, and 59 nymphs); in 2021, 110 ticks were collected along the "Barani Szlak" trail (50 males, 41 females, and 19 nymphs), and also in 2021, 31 ticks were collected from the nature-educational path "Na Stoku Jaworzyny Krynickiej" (5 males, 11 females, and 15 nymphs). Along each research area, 4 sampling points were designated, with the first point marking the beginning of the trail and the last marking its end. The

collection on each trail lasted 40 min, with 10 min at each sampling point. It was performed using the flagging method by a single individual.

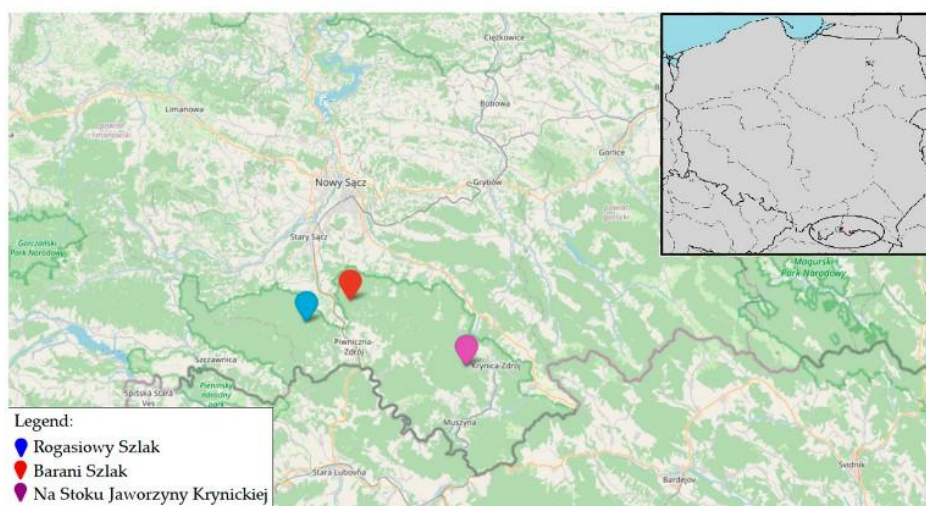


Figure 2. Locations of studied trails and nature-educational paths in the Poprad Landscape Park.

2.3. Laboratory Analysis

2.3.1. Ticks

The collected ticks were placed in tubes filled with 70% ethyl alcohol. Subsequently, the ticks were identified by species and developmental stage under a stereoscopic microscope using the tick identification key by Siuda [3].

2.3.2. PCR

The DNA was isolated from the single ticks using the ammonia method [14]. Its concentration was measured spectrophotometrically in a NanoPhotometer PEARL (Implen, Munich, Germany) at 260/280 nm wavelength. Next, samples were frozen at $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ and stored for further molecular analysis. To detect *B. burgdorferi* s.l. in ticks, two pairs of primers specific to the *flaB* gene fragment were used (Table 1) [15]. For the amplification, a DNA quantity of 200 ng and Maximo DFS Plus Taq DNA Polymerase (GeneOn, Ludwigshafen, Germany) were used. In turn, for the re-amplification, 1 μL of PCR product was added. *Anaplasma phagocytophilum* was detected in the studied material using primers specific to the 16S rRNA gene fragment (Table 1) [16]. For the amplification of 200 ng of DNA, Taq DNA Polymerase (EURx, Gdańsk, Poland) was used. In turn, for the re-amplification, 1 μL of PCR product was added. Protozoan *Babesia* spp. were detected in ticks using a pair of primers specific to the 18S rRNA gene fragment (Table 1) [17]. For the amplification, 200 ng of DNA and Taq DNA Polymerase (EURx, Gdańsk, Poland) were used. The amplification products were separated electrophoretically in 2% ethidium bromide-stained agarose gels and visualized under ultraviolet light. The presence of PCR products with sizes of 774 base pairs [bp] and 605 bp for *B. burgdorferi* s.l., 932 bp and 546 bp for *A. phagocytophilum*, and 620 bp for *Babesia* spp. were considered positive (Table 1). The positive controls of studied pathogens were sourced from the collection of the Department of Medical and Molecular Biology, Faculty of Medical Sciences in Zabrze at the Medical University of Silesia, while the negative was DNA/RNA free water.

Table 1. Oligonucleotide primers and PCR conditions used in the detection of *Borrelia burgdorferi* sensu lato [8], *Anaplasma phagocytophilum* [9], and *Babesia* spp. [10] in ticks collected from the selected tourist trails in the Poprad Landscape Park.

Primer	Sequence (5'–3')	Gene Detected	Size of Amplification Product [bp]	PCR Conditions [°C/s]			N° of Cycles
				Denaturation	Annealing	Extension	
132f	TGGTATGGGAGTTTCTGG	<i>flaB</i>	774	94/30	50/45	72/60	40
905r	TCTGTCATGTAGCATCTTT		605	94/30	54/45	72/60	40
220f	CAGACAACAGAGGGAAT						
824r	TCAAGTCTATTTGGAAAGCACC						
ge3a	CACATGCAAGTCGAACGGAT TATTC	16S rRNA	932	94/30	55/30	72/60	40
ge10r	TTCCGTTAAGAAGGATCTAATCTCC		546	94/30	55/30	72/60	30
ge9f	AACGGATTATTCTTTATAG CTTGCT						
ge2	GGCAGTATTAAGAAGCAGCTCCAGG	18S rRNA	620	94/60	53/45	72/90	35
Babfor	GACTAGGGATTGGAGGTC						
Babrev	GAATAATTCACCGGATCACTC						

2.4. Statistics

To verify the significance of differences in the number of infected and uninfected ticks, χ^2 tests (Chi-square tests) were used. All the calculations were conducted using TIBCO Software Inc. (2017, Palo Alto, CA, USA). Statistica (data analysis software system), version 13.

3. Results

Altogether, 213 ticks (61 males, 59 females, and 93 nymphs) were collected from three collection sites in spring of 2020 and 2021. In total, *B. burgdorferi* s.l. was detected in 31.0% of studied *I. ricinus* ticks (n = 66) and the number of infected ticks was lower than the number of uninfected ones (n = 147, 69.0%). The presence of this spirochete was shown in two out of three studied tourist trails. The highest prevalence, 43.1%, was observed in *I. ricinus* collected in Area 1. In turn, in ticks collected from Area 2, the prevalence of this bacterium was lower, at 31.8%, while there were no ticks with *B. burgdorferi* s.l. detected in Area 3. The presence of *A. phagocytophilum* and *Babesia* spp. was not detected in the studied material (Table 2). Results of the χ^2 test did not show statistically significant differences ($p < 0.05$) between the proportions of the number of infected and uninfected ticks representing Area 1 and Area 2, χ^2 (1, N = 182) = 2.377; p -value = 0.123. Area 3 was excluded from the test because the number of infected ticks was zero.

Generally, *B. burgdorferi* s.l. was found in all developmental stages of *I. ricinus* that were studied (20 males, 19 females, and 27 nymphs). The prevalence was higher in adult ticks than in nymphs, at 32.5% and 29.0%, respectively. The overall frequency of *B. burgdorferi* s.l. in males and females of *I. ricinus* was only slightly different, amounting to 32.8% and 32.2%, respectively (Table 2). The proportions of the number of infected and uninfected ticks in terms of the two developmental stages (mature ticks and nymphs) did not show statistically significant differences ($p < 0.05$), χ^2 (1, N = 213) = 0.295; p -value = 0.587. Similarly, no statistically significant differences were observed between the sexes of mature individuals (males and females), χ^2 (1, N = 213) = 0.005; p -value = 0.946.

Table 2. The total number and percentage of *Ixodes ricinus* developmental stages infected with *Borrelia burgdorferi* sensu lato collected from the selected tourist trails in the Poprad Landscape Park.

Collection Site *	Developmental Stage	Number of Studied Ticks	Number and Percentage of Uninfected Ticks	Number and Percentage of Ticks Infected with <i>Borrelia burgdorferi</i> sensu lato
1	Male	6	0 (0.0%)	6 (100.0%)
	Female	7	6 (85.7%)	1 (14.3%)
	Nymph	59	35 (59.3%)	24 (40.7%)
	Total	72	41 (56.9%)	31 (43.1%)
2	Male	50	36 (72.0%)	14 (28.0%)
	Female	41	23 (56.1%)	18 (43.9%)
	Nymph	19	16 (84.2%)	3 (15.8%)
	Total	110	75 (68.2%)	35 (31.8%)
3	Male	5	5 (100.0%)	0 (0.0%)
	Female	11	11 (100.0%)	0 (0.0%)
	Nymph	15	15 (100.0%)	0 (0.0%)
	Total	31	31 (100.0%)	0 (0.0%)
1-3	Male	61	41 (67.2%)	20 (32.8%)
	Female	59	40 (67.8%)	19 (32.2%)
	Nymph	93	66 (71.0%)	27 (29.0%)
	Grand total	213	147 (69.0%)	66 (31.0%)

* Explanations: 1—Rogasiowy Szlak; 2—Barani Szlak; 3—Na Stoku Jaworzyny Krynickiej.

The entire tick collection (N = 213) was also divided into two groups representing two different climatic altitudinal vegetation zones: the foothill zone, to 600 m a.s.l. (n = 32), and the lower forest zone, from 600 m a.s.l. (n = 181), in which the percentage of ticks infected with *B. burgdorferi* s.l. was 34.4% and 30.4%, respectively. Results of the χ^2 test did not show statistically significant differences ($p < 0.05$) between the proportions of the number of infected and uninfected ticks in these zones, $\chi^2 (1, N = 213) = 0.202$; p -value = 0.653.

4. Discussion

Ixodes ricinus ticks are more commonly found at lower elevations, where populations of their primary hosts are more abundant. In our study, ticks were found in both the foothill and lower forest zones. The highest potential risk of human tick infestation was observed along the Barani Szlak in Rytro. This trail is characterized by the smallest elevation difference between its starting and ending points. Additionally, the surveyed area ends at a relatively low altitude of 827 m above sea level, whereas other trails reach heights exceeding 1000 m. A slightly lower tick count was observed along the educational Rogasiowy Szlak in Rytro, which is notable for its relatively low altitude, especially at its starting point. Conversely, the lowest number of ticks was found on the highest trail Na Stoku Jaworzyny Krynickiej. *Ixodes ricinus* ticks have previously been recorded at similar or higher elevations. In Croatia, they were observed at an altitude of 1000 m above sea level [18], in the Czech Republic at 1250 m [19], and in Italy up to 1824 m [20]. Further detailed research in subsequent years will be necessary to understand the relationships between altitudes, zones, and tick prevalence.

Borrelia burgdorferi sensu lato is the most frequently studied and detected pathogen in southern Poland. The prevalence of this pathogen in southern Poland varies significantly, ranging from 0% to as high as 75% [21,22]. High prevalence values of this spirochete were also detected in the selected recreational regions of Beskid Żywiecki, reaching 62% [23]. In this study, these bacteria were detected in 31% of examined *I. ricinus* ticks, confirming

their presence in all studied developmental stages of this ectoparasite. The prevalence of *B. burgdorferi* s.l. was found to be higher in adult ticks compared to nymphs, with respective infection rates of 32.5% and 29.0%. The proportions of infected and uninfected ticks across the two developmental stages—adult ticks and nymphs—did not show a statistically significant difference. Among adult *I. ricinus* ticks, the frequency of infection exhibited minimal variation between gender, with males and females showing infection rates of 32.8% and 32.2%, respectively. A similar overall prevalence (22–28.75%) for *B. burgdorferi* s.l. was demonstrated in a study conducted in the mountainous and foothill regions of southern Poland [24,25] and even recreational areas in northeastern and eastern Poland (20–25.2%) [26,27]. Additionally, previous studies conducted in other selected recreational areas of the Poprad Landscape Park in the years 2018–2019 showed the presence of *B. burgdorferi* s.l. in nearly three times fewer ticks—11.8%, with the bacteria confirmed in all studied developmental stages—males, females, and nymphs of *I. ricinus*. Moreover, differences in the prevalence of *B. burgdorferi* s.l. were observed between the studied areas, ranging from 4.9% to 27.5% [28]. In this study, the differences between studied areas were greater, ranging from 0–43.1%. The highest prevalence of *B. burgdorferi* s.l. (43.1%) was recorded in ticks collected from the “Rogasiowy Szlak,” an area covered with beech-fir forest. Furthermore, the study revealed that 100% of male ticks from this location carried the pathogen. A slightly lower prevalence (31.8%) of *B. burgdorferi* s.l. was detected along the “Barani Szlak”. *B. burgdorferi* s.l. spirochetes were not detected only on the “Na Stoku Jaworzyny Krynickiej” nature-educational path in Krynica-Zdrój. Additionally, the infection rates of *B. burgdorferi* s.l. were 34.4% and 30.4%, respectively, in these zones. No statistically significant differences were demonstrated between the proportions of infected and uninfected ticks. These differences in the prevalence of *B. burgdorferi* s.l., between the studied areas may be due to, among other factors, the high number and biodiversity of hosts in this area contributing to maintaining a higher infection level within the tick population [29]. Moreover, the study conducted by Taragel'ová et al. [30] showed that the number of ticks infected with *B. burgdorferi* s.l. decreases with altitude. This fact may also explain the differences in tick infection with this spirochete on the studied nature-educational and tourist trails in the Poprad Landscape Park. A high percentage of ticks infected with *B. burgdorferi* s.l. indicates the need to conduct further, more detailed studies on the occurrence of genospecies of this bacterium in the studied areas. So far, nine genospecies of this bacterium have been detected both in *I. ricinus* and its hosts in Poland: *Borrelia afzelii*, *Borrelia bavariensis*, *Borrelia burgdorferi* sensu stricto, *Borrelia garinii*, *Borrelia lusitaniae*, *Borrelia spielmanii*, *Borrelia valaisiana*, *Borrelia bissettii* and *Borrelia turdi* [31,32]. In addition to these, *Borrelia miyamotoi* has also been detected in this tick species [33]. In Poland, the dominant genospecies is *B. afzelii*, the main reservoir of which are rodents [34,35]. This genospecies of spirochete is among those responsible for causing specific skin symptoms in humans. In addition to this genospecies, two other genospecies of this bacterium cause characteristic symptoms in humans: *B. burgdorferi* s.s. causes joint symptoms and *B. garinii* causes neurological symptoms [36]. Such in-depth analysis, including a larger number of ticks as well as their hosts, would be important to assess the actual threat of Lyme disease in these areas, allowing for the development of more effective prevention and intervention strategies. It would also help to adapt local health programs to combat this growing public health problem.

In the current research, *A. phagocytophilum* and *Babesia* spp. were not detected in *I. ricinus* ticks. The lack of detection of these pathogens due to the limited number of ticks studied does not mean that they are absent from the area, but rather that the research should be expanded and continued on a larger scale. In other mountainous areas, studies on ticks collected from vegetation have reported *Babesia microti* prevalence rates of 35%

in the Żywiec Landscape Park and 58.32% in the Tarnowskie Góry District [23,37]. For *A. phagocytophilum*, the prevalence rates were 5% in the Żywiec Landscape Park and 32.7% in the Jeleśnia Municipality in the Żywiec Beskids [23,38]. Moreover, previous studies conducted in other selected recreational areas of the Poprad Landscape Park revealed a low overall prevalence of 0.3% for *A. phagocytophilum* and a higher prevalence of 7.4% for *B. microti* [28]. The results obtained in this study may confirm a low potential risk of human infection with *A. phagocytophilum* in the surveyed areas of the Poprad Landscape Park. *I. ricinus* ticks at higher altitudes encounter additional challenges, such as lower temperatures and shorter snow-free periods. These conditions shorten their active period, reducing the likelihood of locating a host and ultimately resulting in lower population densities [39]. Furthermore, limited access to reservoirs in the form of hosts may restrict the spread of pathogens carried by these ticks. Nonetheless, the occurrence of pathogen-infected ticks in recreational urban and suburban areas poses a direct threat to human and animal health [40,41].

5. Conclusions

This study confirmed the presence of *I. ricinus* ticks at various altitudes. Furthermore, the obtained results indicate a high risk of potential human exposure to tick-borne infections with *B. burgdorferi* s.l. The park's environment provides favorable conditions for the presence of ticks. Both humans and animals are at risk of tick exposure and tick-borne diseases. Given that Lyme disease is becoming an increasingly common illness, it is essential to raise awareness among tourists and residents about the potential health risks and to promote the importance of adhering to preventive measures. These findings underscore the need for further studies and long-term monitoring of additional areas to understand the distribution of ticks and the mechanisms of pathogen transmission. The results may help to define educational and preventive measures aimed at people visiting these areas.

Author Contributions: Conceptualization, S.K., M.N.-C. and M.A.; methodology, S.K., M.N.-C. and M.A.; validation, M.N.-C. and M.A.; formal analysis, M.A. and G.R.; investigation, A.K. and M.A.; resources, S.K., A.K. and M.A.; data curation, G.R. and S.K.; writing—original draft preparation, S.K.; writing—review and editing, S.K., M.N.-C. and M.A.; visualization, M.N.-C. and M.A.; supervision, M.A.; project administration, S.K., M.N.-C. and M.A.; funding acquisition, S.K. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was funded by the Doctoral School of the National Education Commission in Kraków, Poland.

Institutional Review Board Statement: Not applicable.

Informed Consent Statement: Not applicable.

Data Availability Statement: The original contributions presented in the study are included in the article; further inquiries can be directed to the corresponding authors.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflicts of interest.

References

1. Tomczyk, A.M.; Ewertowski, M.W. Recreational Trails in the Poprad Landscape Park, Poland: The Spatial Pattern of Trail Impacts and Use-Related, Environmental, and Managerial Factors. *J. Maps* **2016**, *12*, 1227–1235. [[CrossRef](#)]
2. Nawieśniak, M.; Strutyński, M.; Hernik, J. Hydromorphological and Landscape Valorization of the Poprad River Valley. *Ann. Wars. Univ. Life Sci.—SGGW Land Recl.* **2015**, *47*, 333–342. [[CrossRef](#)]
3. Siuda, K. *Kleszcze (Acari: Ixodida) Polski. II Systematyka i Rozmieszczenie*; Polskie Towarzystwo Parazytologiczne: Warszawa, Poland, 1993.
4. Rocha, S.C.; Velásquez, C.V.; Aquib, A.; Al-Nazal, A.; Parveen, N. Transmission Cycle of Tick-Borne Infections and Co-Infections, Animal Models and Diseases. *Pathogens* **2022**, *11*, 1309. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

5. Medlock, J.M.; Hansford, K.M.; Bormane, A.; Derdakova, M.; Estrada-Peña, A.; George, J.C.; Van Bortel, W. Driving Forces for Changes in Geographical Distribution of *Ixodes ricinus* Ticks in Europe. *Parasites Vectors* **2013**, *6*, 1. [CrossRef]
6. Zbrzeźniak, J.; Paradowska-Stankiewicz, I. Lyme Disease in Poland in 2020. *Epidemiol. Rev.* **2022**, *76*, 3. [CrossRef]
7. Państwowy Zakład Higieny. Choroby Zakaźne i Zatrucia w Polsce w 2023 roku. Available online: https://www.wold.pzh.gov.pl/oldpage/epimeld/2023/Ch_2023.pdf (accessed on 10 January 2025).
8. Barbour, A.G.; Hayes, S.F. Biology of *Borrelia* Species. *Microbiol. Rev.* **1986**, *50*, 381–400. [CrossRef]
9. Bakken, J.S.; Dumler, J.S. Human Granulocytic Anaplasmosis. *Infect. Dis. Clin.* **2015**, *29*, 341–355. [CrossRef] [PubMed]
10. Vannier, E.; Krause, P.J. Babesiosis. In *Hunter's Tropical Medicine and Emerging Infectious Diseases*; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, 2020; pp. 799–802. [CrossRef]
11. Siuda, K. Kleszcze (Ixodida) o znaczeniu epidemiologicznym w Polsce. In *Biologia Molekularna Patogenów Przenoszonych Przez Kleszcze*; Skotarczak, B., Ed.; PZWL: Warszawa, Poland, 2006.
12. Kahl, O.; Gray, J.S. The Biology of *Ixodes ricinus* with Emphasis on Its Ecology. *Ticks Tick-Borne Dis.* **2023**, *14*, 102114. [CrossRef] [PubMed]
13. Jongejans, F.; Uilenberg, G. The Global Importance of Ticks. *Parasitology* **2004**, *129* (Suppl. S1), S3–S14. [CrossRef] [PubMed]
14. Guy, E.; Stanek, G. Detection of *Borrelia burgdorferi* in Patients with Lyme Disease by the Polymerase Chain Reaction. *J. Clin. Pathol.* **1991**, *44*, 610–611. [CrossRef]
15. Wodecka, B.; Rymaszevska, A.; Sawczuk, M. Detectability of Tick-Borne Agents DNA in the Blood of Dogs Undergoing Treatment for Borreliosis. *Ann. Agric. Environ. Med.* **2009**, *16*, 9–14. [PubMed]
16. Massung, R.F.; Slater, K.; Owens, J.H. Nested PCR Assay for Detection of Granulocytic Ehrlichiae. *J. Clin. Microbiol.* **1998**, *36*, 1090–1095. [CrossRef]
17. Blaschitz, M.; Narodoslavsky-Gföller, M.; Kanzler, M.; Stanek, G.; Walochnik, J. *Babesia* Species Occurring in Austrian *Ixodes ricinus* Ticks. *Appl. Environ. Microbiol.* **2008**, *74*, 4841–4846. [CrossRef] [PubMed]
18. Vucelja, M.; Krčmar, S.; Habuš, J.; Perko, V.M.; Boljfečić, M.; Bjedov, L.; Margaletić, J. Altitudinal Distribution, Seasonal Dynamics, and *Borrelia burgdorferi* Sensu Lato Infections in Hard Ticks (*Acari: Ixodidae*) in Different Forest Communities in Inland Croatia. *Sustainability* **2023**, *15*, 4862. [CrossRef]
19. 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 Krkonoše Mts. (Czech Republic). *Cent. Eur. J. Public Health* **2005**, *13*, 24–28. [PubMed]
20. Menzano, A.; Tizzani, P.; Farber, M.D.; Garcia-Vozmediano, A.; Martinelli, L.; Rossi, L.; Tomassone, L. Zoonotic Tick-Borne Pathogens in Ticks from Vegetation and Alpine Ibex (*Capra ibex*) in the Maritime Alps, Italy. *Animals* **2024**, *14*, 2251. [CrossRef] [PubMed]
21. Stańczak, J.; Racewicz, M.; Kubica-Biernat, B.; Kruminis-Lozowska, W.; Dąbrowski, J.; Adamczyk, A.; Markowska, M. Prevalence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in *Ixodes ricinus* ticks (*Acari, Ixodidae*) in different Polish woodlands. *Ann. Agric. Environ. Med.* **1999**, *6*, 127–132. [PubMed]
22. Strzelczyk, J.K.; Wiczowski, A.; Spausta, G.; Ciarkowska, J.; Zaleska-Ziob, M.; Izdebska-Straszak, G.; Strzelczyk, J.; Kasperczyk, J. Obecność krętków *Borrelia burgdorferi* sensu lato u kleszczy *Ixodes ricinus* na terenach rekreacyjnych okolic Tarnowskich Gór i Zabrze w latach 2001–2003. *Przegl. Epidemiol.* **2006**, *60*, 589–595. [PubMed]
23. Asman, M.; Pindel, L.; Solarz, K. Occupational Risk of Infections with *Borrelia burgdorferi* sensu lato, *B. burgdorferi* sensu stricto, *B. garinii*, and *B. afzelii* in Agricultural Workers on the Territory of Beskid Żywiecki (South Poland). In *Stawonogi: Znaczenie Medyczne i Gospodarcze*; Buczek, A., Błaszak, C., Eds.; Koliber: Lublin, Poland, 2012; pp. 163–170.
24. Lenčáková, D.; Hizo-Teufel, C.; Peťko, B.; Schulte-Spechtel, U.; Stanko, M.; Wilske, B.; Fingerle, V. Prevalence of *Borrelia burgdorferi* s.l. OspA types in *Ixodes ricinus* ticks from selected localities in Slovakia and Poland. *Int. J. Med. Microbiol.* **2006**, *296*, 108–118. [CrossRef] [PubMed]
25. Zając, Z.; Kulisz, J.; Woźniak, A.; Bartosik, K.; Foucault-Simonin, A.; Moutailler, S.; Cabezas-Cruz, A. Tick Activity, Host Range, and Tick-Borne Pathogen Prevalence in Mountain Habitats of the Western Carpathians, Poland. *Pathogens* **2023**, *12*, 1186. [CrossRef] [PubMed]
26. Grochowska, A.; Dunaj-Małyszko, J.; Pancewicz, S.; Czupryna, P.; Milewski, R.; Majewski, P.; Moniuszko-Malinowska, A. Prevalence of Tick-Borne Pathogens in Questing *Ixodes ricinus* and *Dermacentor reticulatus* Ticks Collected from Recreational Areas in Northeastern Poland with Analysis of Environmental Factors. *Pathogens* **2022**, *11*, 468. [CrossRef] [PubMed]
27. Zając, Z.; Obregon, D.; Foucault-Simonin, A.; Wu-Chuang, A.; Moutailler, S.; Galon, C.; Kulisz, J.; Woźniak, A.; Bartosik, K.; Cabezas-Cruz, A. Disparate dynamics of pathogen prevalence in *Ixodes ricinus* and *Dermacentor reticulatus* ticks occurring sympatrically in diverse habitats. *Sci. Rep.* **2023**, *13*, 10645. [CrossRef]
28. Koczanowicz, S.; Nowak-Chmura, M.; Witecka, J.; Rączka, G.; Asman, M. The Potential Risk of Human Exposure to Tick-Borne Infection by *Borrelia burgdorferi* Sensu Lato, *Anaplasma phagocytophilum*, and *Babesia microti* in Selected Recreational Areas of the Poprad Landscape Park in Southern Poland. *Ann. Agric. Environ. Med.* **2024**, *31*, 345–350. [CrossRef] [PubMed]

29. Bartosik, K.; Lachowska-Kotowska, P.; Szymańska, J.; Pabis, A.; Buczek, A. Lyme Borreliosis in Southeastern Poland: Relationships with Environmental Factors and Medical Attention Standards. *Ann. Agric. Environ. Med.* **2011**, *18*, 131–137. [[PubMed](#)]
30. Taragel'ová, V.R.; Mahriková, L.; Selyemová, D.; Václav, R.; Derdákova, M. Natural Foci of *Borrelia lusitaniae* in a Mountain Region of Central Europe. *Ticks Tick-Borne Dis.* **2016**, *7*, 350–356. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
31. Wodecka, B. flaB Gene as a Molecular Marker for Distinct Identification of *Borrelia* Species in Environmental Samples by the PCR-Restriction Fragment Length Polymorphism Method. *Appl. Environ. Microbiol.* **2011**, *77*, 7088–7092. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
32. Gryczyńska, A.; Welc-Faleciak, R. Long-term Study of the Prevalence of *Borrelia burgdorferi* s.l. Infection in Ticks (*Ixodes ricinus*) Feeding on Blackbirds (*Turdus merula*) in NE Poland. *Exp. Appl. Acarol.* **2016**, *70*, 381–394. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
33. Kiewra, D.; Stańczak, J.; Richter, M. *Ixodes ricinus* Ticks (Acari, Ixodidae) as a Vector of *Borrelia burgdorferi* sensu lato and *Borrelia miyamotoi* in Lower Silesia. *Tick Tick-Borne Dis.* **2014**, *5*, 892–897. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
34. Stańczak, J.; Kubica-Biernat, B.; Racewicz, M.; Kruminis-Lozowska, W.; Kur, J. Detection of Three Genospecies of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in *Ixodes ricinus* Ticks Collected in Different Regions of Poland. *Int. J. Med. Microbiol.* **2000**, *290*, 559–566. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
35. Kurtenbach, K.; De Michelis, S.; Etti, S.; Schäfer, S.M.; Sewell, H.S.; Brade, V.; Kraiczky, P. Host Association of *Borrelia burgdorferi* sensu lato—The Key Role of Host Complement. *Trends Microbiol.* **2002**, *10*, 74–79. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
36. Balmelli, T.; Piffaretti, J.C. Association between Different Clinical Manifestations of Lyme Disease and Different Species of *Borrelia burgdorferi* sensu lato. *Res. Microbiol.* **1995**, *146*, 329–340. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
37. Asman, M.; Solarz, K.; Szilman, E.; Cuber, P.; Gasior, T.; Tondaś, E.; Matzullo, A.; Kusion, N.; Florek, K. Detection of Protozoans *Babesia microti* and *Toxoplasma gondii* and Their Co-Existence in Ticks (Acari: Ixodida) Collected in Tarnogórski District (Upper Silesia, Poland). *Ann. Agric. Environ. Med.* **2015**, *22*, 80–83. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
38. Asman, M.; Pindel, E.; Solarz, K. Ryzyko Narażenia na Kleszcze (Acari: Ixodida) oraz *Borrelia burgdorferi* sensu lato i *Anaplasma phagocytophilum* na wybranych terenach gminy Jeleśnia (Beskid Żywiecki). In *Stawonogi: Aspekty Medyczne i Weterynaryjne*; Buczek, A., Błaszak, C., Eds.; Koliber: Lublin, Poland, 2013; pp. 257–266.
39. De Pelsmaeker, N.; Korslund, L.; Steifetten, Ø. High-Elevational Occurrence of Two Tick Species, *Ixodes ricinus* and *I. trianguliceps*, at Their Northern Distribution Range. *Parasites Vectors* **2021**, *14*, 161. [[CrossRef](#)]
40. Gray, J.S.; Kirstein, F.; Robertson, J.N.; Stein, J.; Kahl, O. *Borrelia burgdorferi* sensu lato in *Ixodes ricinus* ticks and rodents in a recreational park in south-western Ireland. *Exp. Appl. Acarol.* **1999**, *23*, 717–729. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
41. Stańczak, J.; Gabre, R.M.; Kruminis-Lozowska, W.; Racewicz, M. *Ixodes ricinus* as a vector of *Borrelia burgdorferi* sensu lato, *Anaplasma phagocytophilum* and *Babesia microti* in urban and suburban forests. *Ann. Agric. Environ. Med.* **2004**, *11*, 109–114.

Disclaimer/Publisher's Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.



Assessment of the frequency of IgM and IgG antibodies against *Borrelia burgdorferi* sensu lato in the serum of inhabitants the Poprad Landscape Park in southern Poland

Sylvia Koczanowicz^{1,A-D}, Magdalena Nowak-Chmura^{1,E}, Dorota Hudy^{2,C-D},
Karolina Baranowska^{1,B}, Marek Asman^{2,A,C-F}

¹ Department of Zoology, Institute of Biology and Earth Sciences, University of the National Education Commission, Kraków, Poland

² Department of Medical and Molecular Biology, Faculty of Medical Sciences in Zabrze, Medical University of Silesia, Katowice, Poland

A – Research concept and design, B – Collection and/or assembly of data, C – Data analysis and interpretation, D – Writing the article, E – Critical revision of the article, F – Final approval of the article

Koczanowicz S, Nowak-Chmura M, Hudy D, Baranowska K, Asman M. Assessment of the frequency of IgM and IgG antibodies against *Borrelia burgdorferi* sensu lato in the serum of inhabitants of the Poprad Landscape Park in southern Poland. Ann Agric Environ Med. doi: 10.26444/aaem/208153

Abstract

Introduction and Objective. Borreliosis, also known as Lyme disease, is a chronic, multi-organ illness that is very difficult to diagnose. It is caused by the spirochete *Borrelia burgdorferi* sensu lato and transmitted to humans as a consequence of being bitten by a tick, mostly of the Ixodes genus, infected with the pathogen. The aim of the study is to assess the frequency of *B. burgdorferi* s.l. infections among a randomly selected human population living in the Poprad Landscape Park in southern Poland.

Materials and Method. Serum for the study was obtained from 99 randomly selected patients who reported for routine testing at the medical diagnostic laboratory in Krynica-Zdrój. The presence of IgM and IgG antibodies against *B. burgdorferi* s.l. spirochetes in the sera were defined using the ELISA method. Western Blot test verified positive and doubtful results.

Results. In total, positive or borderline results for at least one class of anti-Borrelia antibodies were found in 22.2% of human sera. Only in two samples were the positive results in anti-Borrelia IgM and IgG shown. Antibodies against the spirochete *B. burgdorferi* s.l. were detected both in people who had found a tick on their body, and in people who claimed they never had.

Conclusions. Studies have shown a high percentage of people with antibodies against detected *B. burgdorferi* s.l. This may indicate frequent bites of the inhabitants of the Poprad Landscape Park by ticks, during which transmission of the *B. burgdorferi* s.l. spirochete occurs.

Key words

serum, *Borrelia burgdorferi* sensu lato, Elisa, Western Blot, Poprad Landscape Park

INTRODUCTION

The Poprad Landscape Park, located along the Poprad River in the southern Beskid Sądecki mountains, is one of Poland's largest landscape parks. It features diverse forest ecosystems and rich biodiversity, valuable for both conservation and tourism. Within its boundaries lies Krynica-Zdrój, a well-known spa town with mineral springs and a developed tourist infrastructure that attracts visitors all year round.

Lyme disease is the most prevalent vector-borne disease in Poland and in Europe, caused by *Borrelia burgdorferi* sensu lato transmitted by *Ixodes* ticks. The spirochete circulates in nature via complex cycles involving birds and rodents as key reservoir hosts. Of the 11 known genospecies in Europe, six are commonly detected in *Ixodes ricinus* ticks, with *B. afzelii*, *B. garinii*, and *B. valaisiana* most frequently isolated in

Central Europe [1]. Three genospecies of this spirochete are responsible for developing Lyme borreliosis in humans: *B. burgdorferi* s.s., *B. afzelii*, and *B. garinii*. The spread of spirochetes in the body takes place through the blood, lymph and peripheral nerves [2, 3]. Lyme disease is a chronic, multi-system infection that progresses through distinct stages. Early localized disease often presents with erythema migrans and flu-like symptoms. In the early disseminated stage, complications such as arthritis, neuroborreliosis, and carditis may occur. Without treatment, the disease can advance to chronic forms, leading to cognitive impairment, joint damage, and persistent neurological symptoms. Some patients experience post-treatment Lyme disease syndrome (PTLDS), marked by fatigue, joint pain, and cognitive issues. Early diagnosis and antibiotic therapy are essential to prevent severe outcomes [4, 5]. In Poland in 2024, nearly 30,000 borreliosis cases were detected in humans [6].

The diagnosis of the early stage of Lyme disease by the appearance of erythema migrans, together with confirmed contact with a tick, can be established based on the clinical picture. The remaining stages of Lyme disease require careful

✉ Address for correspondence: Sylvia Koczanowicz, Department of Zoology, Institute of Biology and Earth Sciences, University of the National Education Commission, Podchorążych 2, 30-084 Kraków, Poland
E-mail: sylvia.koczanowicz@doktorant.uken.krakow.pl

Received: 13.04.2025; accepted: 10.07.2025; first published: 23.07.2025

differential diagnosis and are proven using laboratory tests [7, 8, 9]. The broad spectrum of clinical and serological manifestations of Lyme disease poses significant diagnostic and therapeutic challenges. Limited knowledge of disease progression, insufficient diagnostic tools, and lack of access to specialized methods, often lead to under-diagnosis. The multi-stage nature of the disease and potential coinfections with other tick-borne pathogens complicate both diagnosis and treatment. Therapy can be prolonged and costly, particularly in advanced cases [2, 5].

Standard Lyme disease diagnosis relies on indirect serological tests detecting IgM and IgG antibodies. ELISA is the most commonly used screening method due to its simplicity and low cost. According to European Union (EU) guidelines, positive or equivocal ELISA results should be confirmed by Western Blot to distinguish false positives from true infections. Serological findings must always be interpreted in conjunction with clinical symptoms and a thorough medical history [9, 10, 11].

Recent studies by Koczanowicz et al. [12, 13] conducted in selected recreational areas of the Poprad Landscape Park showed a high potential risk of exposure of residents and tourists to tick-borne infection with these spirochetes. Therefore, the aim of this study was to assess the frequency of *B. burgdorferi* s.l., infections among a randomly selected human population living in the Poprad Landscape Park

MATERIALS AND METHOD

The sera for this study were collected in August 2021 from 99 randomly selected patients reporting for routine tests to the medical diagnostic laboratory of the J. Dietl Hospital in Krynica-Zdrój, located near the Poprad Landscape Park. The serum was obtained in accordance with the opinion of the Bioethics Committee at the District Medical Chamber in Kraków which acknowledged and approved the conduct of the study and the publication of its results, including statistical data (Approval No. OIL/KBLT/74/2021, dated 16 June 2021). The serum was transported to the Department of Parasitology, Faculty of Pharmaceutical Sciences, in Sosnowiec, Medical University of Silesia in Katowice, and stored at -80°C for further serological testing to detect the presence of IgM and IgG antibodies directed against *B. burgdorferi* s.l. The patients from whom serum was collected were asked to complete a short original questionnaire concerning, among others, age, gender, and through the survey, basic information on contact with ticks and Lyme disease. The ELISA test was conducted with the use of the ready-made tests NovaLisa™ *Borrelia burgdorferi* IgM – ELISA (recombinant) and NovaLisa™ *Borrelia burgdorferi* IgG – ELISA (recombinant) (NovaTec Immunodiagnostica GmbH, Dietzenbach, Germany), using the MINDRAY MR-96A device (High-tech Industrial Park, Nanshan, Shenzhen, PR.China) according to the manufacturer's protocol. For the Western Blot analysis, the ready-made sets Anti-Borrelia EUROLINE-RN-AT-adv (IgM) and Anti-Borrelia EUROLINE-RN-AT-adv (IgG) (Euroimmun Medizinische Labordiagnostica AG, Lübeck, Germany) were used according to the manufacturer's protocol. The strips were scored manually using a ready-made control template included with the protocol. Western Blot analysis for IgM concerned the antigens: OspC-adv Bsp, OspC-adv Bg, OspC-adv Bb, OspC-adv Ba, p39, p41, and VlsE

Bb. In turn, analysis for IgG included the following antigens: p18, p19, p20, p21, p58, OspC (p25), p39, p83, p41, LbB, LBa, VIsE Bg, VIsE Bb, and VIsE Ba.

Results from ELISA, Western Blot, and survey information were tested with a chi-square test. The level of significance varied in survey questions because of multiple testing when there were more options in answers, and multiple variants of IgG and IgM status, in which case the Bonferroni correction was used. For questions regarding gender and diagnosis of Lyme disease – $p < 0.017$; for question about the age of patients – $p < 0.002$, and for questions about place of residence, contact with a tick, and contact with nature – $p < 0.005$ was considered significant. Doubtful results of antibody detection were treated as positive for survey analysis. All analyses were performed in Statistica software version 13 (TIBCO Software Inc., Palo Alto, CA, USA).

RESULTS

Most of the collected serum samples (66%; $n=65$) came from women. The majority of respondents were in the age group of 40–70 years and 71%; $n=70$ of respondents confirmed that the tick was found on their body at least once, and 12%; $n=12$ noticed that the tick was moving around in their clothes or on their body to look for a place to bite, but it was removed before it could do so.

Of the 99 samples tested with the ELISA, a positive or borderline result in at least one class of anti-*Borrelia* antibodies was found in 22.2%; $n=22$ of patients.

Table 1. Distribution of results between ELISA results and Western Blot tests detecting antibodies specific to *Borrelia burgdorferi* sensu lato

ELISA test	Western blot test			Total
	IgM (+) /IgG (+)	IgM (+) /IgG (-)	IgM (-) /IgG (+)	
IgM (+) /IgG (+)	2	0	0	2
IgM (+) /IgG (-)	4	2	1	7
IgM (-) /IgG (+)	4	1	0	5
IgM (+/-) /IgG (+)	1	0	0	1
IgM (+) /IgG (+/-)	0	1	0	1
IgM (+/-) /IgG (-)	2	3	0	5
IgM (-) /IgG (+/-)	0	1	0	1
Total	13	8	1	22

IgM (+) – positive result, IgM (+/-) – doubtful result, IgM (-) – negative result, IgG (+) – positive result, IgG (+/-) – doubtful result, IgG (-) – negative result.

In the IgM class, there were 16 people, of whom 10 had a positive result, and 6 had a doubtful result. In the IgG class, antibodies were detected in 10 people, of whom 8 had a positive result, and 2 had a doubtful result. Additionally, 4 people from the tested group showed antibodies in both the IgM and IgG classes, of which 1 person had a positive IgM result, but a doubtful IgG result, 1 person had a positive IgG result but a doubtful IgM result, and 2 people had both a positive IgM result and a positive IgG result (Tab. 1).

A positive or borderline result in at least one class of antibodies appeared in 24.2% of women (16/66) and in 18.2% of men (6/33). The largest number of antibodies against *B. burgdorferi* s.l., was detected in the age group 30–39 years, 40% among women and 50% among men. In both genders,

no antibodies were detected in people aged over 70 years. Moreover, in men, there are no positive and borderline results in the ranges below 18 years of age and between 18–29 years of age.

In total, the Western Blot tests were conducted on 22 samples that had positive or doubtful results from the ELISA tests (Tab. 1). All 22 tested samples showed a positive result in at least one class of antibodies. IgM was confirmed in 21 samples (95.4%), including 9 samples that were positive in the ELISA test, 6 that were previously doubtful, and 6 that were negative. One sample, in which the Western Blot was not confirmed, was positive in the ELISA test. IgG antibodies were confirmed in 14 samples (63.6%), including 7 that were positive in the ELISA test, 3 that were doubtful, and 4 negative. Of the 8 Western Blot samples that were negative in the ELISA tests, 3 were positive, 3 doubtful, and 2 were negative.

The majority of the samples confirmed as positive by Western Blot correlate with the positive or doubtful results of the ELISA test, indicating consistency between the tests. Eight people confirmed that they had been diagnosed with Lyme disease in the past, but only 3 of them people had antibodies detected – 2 in the IgG class, 1 positive in the IgM class, and doubtful in the IgG class. In all 3 patients, IgM and IgG antibodies were confirmed by the Western Blot test.

Statistical analysis of the survey results did not reveal any significant statistical correlation between detected antibodies and gender, age, place of residence, contact with ticks, Borrelia disease, and spending time in nature. The results are presented as Tables in Supplement 1.

DISCUSSION

Among the 22 patients in whom antibodies against *B. burgdorferi* s.l. were detected, as many as 5 had never noticed a tick feeding on their body. Three of these individuals had IgM antibodies, 1 had IgG antibodies, and 1 had both IgM and IgG. This indicates that ticks, due to their small size and painless bite, often go unnoticed by the host, which may lead to *B. burgdorferi* s.l., infection without awareness of tick exposure. Additionally, 8 individuals confirmed that they had been diagnosed with Lyme disease in the past; however, only 3 of them tested positive for antibodies – 2 in the IgG class and 1 in both the IgG and IgM classes. Similarly, in the study by Zalewska-Ziob et al. [14], antibodies were

detected both in individuals with a prior diagnosis of early-stage *B. burgdorferi* s.l., infection, and in those in whom the infection had been ruled out. In these cases, this may indicate that the disease has resolved or that the test result was a false negative. The highest incidence of antibodies against *B. burgdorferi* s.l. was detected in the age group of 30–39 years. Individuals in this age range often actively spend time outdoors in recreational areas, which increases their potential exposure to tick infestation and potential infection with tick-borne diseases. Moreover, in all age groups, as many as 98% of the respondents confirmed that they often or very often spend time in recreational, green and forest areas, which significantly increases the potential risk of exposure to ticks and tick-borne diseases. This was also confirmed by Zajac et al. [15], who in their studies conducted in central and eastern Poland showed that people who often spent time in the forest had a significantly higher rate of seropositive reactions.

In Poland, the ELISA test revealed the lowest percentage of *B. burgdorferi* s.l. antibodies among healthy individuals in the Mazowieckie Province of eastern-central Poland – 10% for IgM and 2.2% for IgG [16]. In contrast, the highest level of antibodies was detected among forestry workers in the West Pomeranian region, with 19.2% for IgM and 26.9% for IgG [17]. In the current study, a positive or borderline result in at least one antibody class was detected in 22% of patients, with 16% in the IgM class and 10% in the IgG class. A similar percentage of positive or borderline IgM antibodies was found among farmers in the Lublin Province in eastern Poland (16.8%) and the Masovian Province (15.3%) [15]. Similarly, a slightly higher percentage of positive or borderline IgG antibodies compared to our study was found among farmers in the Lublin Province (13.6%) and among office workers in southern Poland (13.7%) [18]. Comparable levels of IgM and IgG antibodies detected among farmers, office workers, and the randomly selected group of patients in the current study, suggest that infection with *B. burgdorferi* s.l. is not limited to individuals working in high-risk tick-exposure environments, but also affects those who spend their leisure time in recreational areas. This may also indicate the widespread presence of infected ticks in the region, which has been confirmed in tick surveillance studies conducted between 2018 – 2021 in the Poprad Landscape Park. A high prevalence of *B. burgdorferi* s.l. was found, along with the presence of other tick-borne pathogens, including *Anaplasma phagocytophilum* and *Babesia microti* [12, 13].

Table S1. Sex of participants

	IgM+/IgG+ Western blot	IgM+/IgG- Western blot	IgM-/IgG+ Western blot	IgM+/IgG+ ELISA	IgM+/IgG- ELISA	IgM-/IgG+ ELISA	IgM+ any method	IgM-/IgG- any method	p-value
Female	10	6	0	2	9	5	16	50	Western blot: IgM+/IgG+ vs. rest: 1.785 (0.456 - 6.987); p=0.405 IgM+/IgG- vs. rest: 1.55 (0.295 - 8.136); p=0.604 IgM-/IgG+ vs. rest: NaN (1 case)
Male	3	2	1	2	3	1	6	27	ELISA: IgM+/IgG+ vs. rest: 0.484 (0.065 - 3.602); p=0.479 IgM+/IgG- vs. rest: 1.579 (0.398 - 6.273); p=0.516 IgM-/IgG+ vs. rest: 2.623 (0.294 - 23.420); p=0.388 IgM+ any method vs. IgM-: 1.440 (0.505 - 4.109); p=0.496

Significant results with p<0.017 with Bonferroni correction

Table S2. Age of participants

	IgM+/IgG+ Western blot	IgM+/IgG- Western blot	IgM-/IgG+ Western blot	IgM+/ IgG+ ELISA	IgM+/ IgG- ELISA	IgM-/ IgG+ ELISA	IgM+ any method	IgM-/IgG-	p-value
Under 18	0	1	0	0	1	0	1	5	Under 18: Western blot: IgM+/IgG+ vs. rest: 0.459 (0.024 - 8.622); p=0.603 IgM+/IgG- vs. rest: 2.457 (0.251 - 24.049); p=0.440 IgM-/IgG+ vs. rest: NaN (1 case) ELISA: IgM+/IgG+ vs. rest: 1.530 (0.074 - 31.612); p=0.783 IgM+/IgG- vs. rest: 1.491 (0.159 - 13.968); p=0.726 IgM-/IgG+ vs. rest: 1.036 (0.052 - 20.485); p=0.982 IgM+ any method vs. IgM-: 0.686 (0.076 - 6.197); p=0.737
18-29	1	0	0	0	1	0	1	11	18-29: Western blot: IgM+/IgG+ vs. rest: 0.568 (0.067 - 4.810); p=0.604 IgM+/IgG- vs. rest: 0.374 (0.020 - 6.894); p=0.508 IgM-/IgG+ vs. rest: NaN (1 case) ELISA: IgM+/IgG+ vs. rest: 0.742 (0.038 - 14.637); p=0.845 IgM+/IgG- vs. rest: 0.628 (0.074 - 5.352); p=0.671 IgM-/IgG+ vs. rest: 0.502 (0.027 - 9.463); p=0.645 IgM+ any method vs. IgM-: 0.286 (0.035 - 2.345); p=0.243
30-39	1	2	0	0	2	1	3	4	30-39: Western blot: IgM+/IgG+ vs. rest: 1.111 (0.123 - 10.051); p=0.925 IgM+/IgG- vs. rest: 5.733 (0.913 - 35.987); p=0.062 IgM-/IgG+ vs. rest: NaN (1 case) ELISA: IgM+/IgG+ vs. rest: 1.311 (0.064 - 26.743); p=0.860 IgM+/IgG- vs. rest: 3.280 (0.561 - 19.187); p=0.188 IgM-/IgG+ vs. rest: 2.900 (0.291 - 28.952); p=0.364 IgM+ any method vs. IgM-: 2.882 (0.594 - 13.987); p=0.189
40-55	4	4	1	1	6	2	9	31	40-55: Western blot: IgM+/IgG+ vs. rest: 0.617 (0.176 - 2.162); p=0.451 IgM+/IgG- vs. rest: 1.528 (0.359 - 6.502); p=0.566 IgM-/IgG+ vs. rest: NaN (1 case) ELISA: IgM+/IgG+ vs. rest: 0.479 (0.048 - 4.773); p=0.530 IgM+/IgG- vs. rest: 1.559 (0.465 - 5.232); p=0.472 IgM-/IgG+ vs. rest: 0.724 (0.126 - 4.152); p=0.717 IgM+ any method vs. IgM-: 1.027 (0.392 - 2.694); p=0.956
56-70	7	1	0	3	2	3	8	23	56-70: Western blot: IgM+/IgG+ vs. rest: 3.014 (0.919 - 9.886); p=0.069 IgM+/IgG- vs. rest: 0.291 (0.034 - 2.470); p=0.258 IgM-/IgG+ vs. rest: NaN (1 case) ELISA: IgM+/IgG+ vs. rest: 7.179 (0.716 - 72.016); p=0.094 IgM+/IgG- vs. rest: 0.400 (0.082 - 1.946); p=0.256 IgM-/IgG+ vs. rest: 2.321 (0.441 - 12.216); p=0.320 IgM+ any method vs. IgM-: 1.342 (0.495 - 3.634); p=0.563
Above 70	0	0	0	0	0	0	0	3	Above 70: Western blot: IgM+/IgG+ vs. rest: 0.884 (0.043 - 18.079); p=0.936 IgM+/IgG- vs. rest: 1.487 (0.071 - 31.271); p=0.798 IgM-/IgG+ vs. rest: NaN (1 case) ELISA: IgM+/IgG+ vs. rest: 2.937 (0.131 - 65.881); p=0.497 IgM+/IgG- vs. rest: 0.966 (0.047 - 19.832); p=0.982 IgM-/IgG+ vs. rest: 1.989 (0.093 - 42.773); p=0.661 IgM+ any method vs. IgM-: 0.473 (0.024 - 9.506); p=0.625

Significant results with p<0.002 with Bonferroni correction

Table S3. Participants' contact with a tick

	IgM+/IgG+ Western blot	IgM+/IgG- Western blot	IgM-/IgG+ Western blot	IgM+/ IgG+ ELISA	IgM+/ IgG- ELISA	IgM-/ IgG+ ELISA	IgM+ any method	IgM-/IgG- any method	p-value
Yes – infestation	9	8	0	3	9	5	17	54	Infestation vs. rest: Western blot: IgM+/IgG+ vs. rest: 0.871 (0.245 - 3.097); p=0.831 IgM+/IgG- vs. rest: 7.630 (0.426 - 136.774); p= 0.168 IgM-/IgG+ vs. rest: NaN (1 case) ELISA: IgM+/IgG+ vs. rest: 1.191 (0.119 - 11.961); p=0.882 IgM+/IgG- vs. rest: 1.210 (0.302 - 4.841); p=0.788 IgM-/IgG+ vs. rest: 2.046 (0.228 - 18.336); p=0.522 IgM+ any method vs. IgM-: 1.448 (0.477 - 4.395); p= 0.513
Yes – only superficial	1	0	0	0	1	0	1	11	Superficial vs. rest: Western blot: IgM+/IgG+ vs. rest: 0.568 (0.067 - 4.810); p=0.604 IgM+/IgG- vs. rest: 0.374 (0.020 - 6.894); p= 0.508 IgM-/IgG+ vs. rest: NaN (1 case) ELISA: IgM+/IgG+ vs. rest: 0.742 (0.038 - 14.637); p=0.845 IgM+/IgG- vs. rest: 0.628 (0.074 - 5.352); p=0.671 IgM-/IgG+ vs. rest: 0.502 (0.027 - 9.463); p=0.645 IgM+ any method vs. IgM-: 0.286 (0.035 - 2.345); p=0.244
No	3	0	1	1	2	1	4	12	No vs. Yes Western blot: IgM+/IgG+ vs. rest: 1.685 (0.408 - 6.961); p=0.471 IgM+/IgG- vs. rest: 0.269 (0.015 - 4.899); p=0.375 IgM-/IgG+ vs. rest: NaN (1 case) ELISA: IgM+/IgG+ vs. rest: 1.778 (0.173 - 18.262); p=0.628 IgM+/IgG- vs. rest: 1.043 (0.206 - 5.282); p=0.960 IgM-/IgG+ vs. rest: 1.040 (0.113 - 9.547); p=0.972 IgM+ any method vs. IgM-: 1.204 (0.346 - 4.186); p=0.771

Significant results with p<0.005 with Bonferroni correction

Table S4. Diagnosis of Lyme disease

	IgM+/IgG+ Western blot	IgM+/IgG- Western blot	IgM-/IgG+ Western blot	IgM+/IgG+ ELISA	IgM+/IgG- ELISA	IgM-/IgG+ ELISA	IgM+ any method	IgM-/IgG- any method	p-value
Yes	3	0	0	1	0	2	3	5	Western blot: IgM+/IgG+ vs. rest: 4.86 (1.006 - 23.476); p= 0.049 IgM+/IgG- vs. rest: 0.578 (0.031 to 10.911); p= 0.715 IgM-/IgG+ vs. rest: NaN (1 case)
No	10	8	1	3	12	4	19	72	ELISA: IgM+/IgG+ vs. rest: 4.333 (0.397 - 47.302); p= 0.229 IgM+/IgG- vs. rest: 0.374 (0.020 - 6.894); p= 0.508 IgM-/IgG+ vs. rest: 7.250 (1.097 - 47.908); p= 0.040 IgM+ any method vs. IgM-: 2.274 (0.498 - 10.375); p= 0.289

Significant results with p<0.017 with Bonferroni correction

Similar serological studies have also been conducted across the border in Slovakia, not far from Krynica-Zdrój, where serum samples were collected from gardeners and soldiers occupationally exposed to tick bites. The proportion of positive and borderline results reached 9.9% for IgM and 19.1% for IgG [19]. In the current study, the high percentage of positive and borderline IgM antibody results, which may indicate recent infection, could be associated with the season during which the serum samples were collected.

Blood was drawn in summer when tick exposure is more frequent. Study participants also reported that they often spend time outdoors, which may be related to the attractive landscape of the region and the high number of tourist destinations. Additionally, Western Blot was performed on samples with positive and borderline ELISA results, and confirmed a positive result in at least one antibody class. IgM was confirmed in 95.4% of samples and IgG confirmed in 63.6%. The majority of the samples were confirmed as

Table S5 Participants contact with nature

	IgM+/IgG+ Western blot	IgM+/IgG- Western blot	IgM-/IgG+ Western blot	IgM+/ IgG+ ELISA	IgM+/ IgG- ELISA	IgM-/ IgG+ ELISA	IgM+ any method	IgM-/IgG	p-value
Rarely	1	1	0	0	1	1	2	8	Rarely vs. rest Western blot: IgM+/IgG+ vs. rest: 0.713 (0.083 - 6.143); p=0.758 IgM+/IgG- vs. rest: 1.302 (0.143 - 11.811); p=0.815 IgM-/IgG+ vs. rest: NaN (1 case)
									ELISA: IgM+/IgG+ vs. rest: 0.905 (0.045 - 18.015); p=0.948 IgM+/IgG- vs. rest: 0.788 (0.091 - 6.834); p=0.829 IgM-/IgG+ vs. rest: 1.867 (0.196 - 17.789); p=0.587
									IgM+ any method vs. IgM-: 0.863 (0.169 - 4.391); p=0.859
Often	3	6	0	3	4	2	9	36	Often vs. rest Western blot: IgM+/IgG+ vs. rest: 0.314 (0.081 - 1.222); p=0.095 IgM+/IgG- vs. rest: 4.000 (0.766 - 20.897); p=0.100 IgM-/IgG+ vs. rest: NaN (1 case)
									ELISA: IgM+/IgG+ vs. rest: 3.786 (0.380 - 37.727); p=0.256 IgM+/IgG- vs. rest: 0.561 (0.157 - 2.001); p=0.373 IgM-/IgG+ vs. rest: 0.581 (0.102 - 3.331); p=0.543
									IgM+ any method vs. IgM-: 0.789 (0.302 - 2.061); p=0.628
Very often	9	1	1	1	7	3	11	33	Very often vs. rest Western blot: IgM+/IgG+ vs. rest: 3.279 (0.936 - 11.488); p=0.063 IgM+/IgG- vs. rest: 0.160 (0.019 - 1.349); p=0.092 IgM-/IgG+ vs. rest: NaN (1 case)
									ELISA: IgM+/IgG+ vs. rest: 0.403 (0.041 - 4.017); p=0.439 IgM+/IgG- vs. rest: 1.892 (0.556 - 6.433); p=0.307 IgM-/IgG+ vs. rest: 1.268 (0.243 - 6.616); p=0.778
									IgM+ any method vs. IgM-: 1.333 (0.516 - 3.447); p=0.553

Significant results with p<0.005 with Bonferroni correction

positive by Western Blot and correlated with the positive or doubtful results of the ELISA test, indicating consistency between the tests.

Studies on the prevalence of antibodies against *B. burgdorferi* s.l. conducted using a two-step diagnostic approach (ELISA followed by confirmatory Western Blot), have been carried out in various regions of Poland. In the Warmian-Masurian Province in the northern part of the country, forestry workers were examined and the percentage of positive results reached 63.1% [20]. In turn, in the Lublin Province in eastern Poland, the study population included hunters and individuals who regularly spent time in forested areas, with antibodies detected in 38% of cases [21]. In the same region, farmers and a control group of healthy individuals were also tested. The results revealed a significant difference: antibodies were found in 33% of farmers, while only 6% of healthy controls tested positive [22]. A similar comparison was conducted in the Lublin Province and Podlaskie Province (north-eastern Poland), where both forestry and agricultural workers were examined. The findings showed that forestry workers were at higher risk of infection than farmers – antibodies were detected in 55% of foresters compared to 28% of farmers [23]. In western Poland, where foresters were studied, antibodies were found in 37.5% of samples [24]. In the Łódź Province in central

Poland, the percentage of positive results was 21%, one of the lowest rates among occupational groups at high risk of tick exposure [25].

The above data confirm that forestry workers and individuals who frequently visit forested areas are at a high potential risk of exposure to *B. burgdorferi* s.l. compared to farmers and the general population. At the same time, regional differences suggest that the risk of infection may depend on local environmental conditions and the prevalence of infected ticks.

Currently, no active prophylaxis in the form of vaccination is available against *Borrelia burgdorferi*; therefore, the primary prevention of Lyme disease involves protecting the body from ticks by wearing appropriate clothing and avoiding tall, uncut vegetation. The use of repellents and the prompt mechanical removal of a feeding tick are also helpful. Additionally, removing leaves, tall grass, and shrubs from workplaces or residential areas can reduce tick habitats.

CONCLUSIONS

The study showed that in a high percentage of residents of the Poprad Landscape Park and tourists to the area, their serum showed the presence of antibodies against *B. burgdorferi*

s.l. These antibodies were present both in people who had been diagnosed with Lyme disease in the past and in those who had not yet developed symptoms of the disease, and had not had or did not remember contact with a tick. This high percentage of positive results may confirm the previous results of field studies that showed a high percentage of ticks infected with *B. burgdorferi* s.l. in this area. Unfortunately, the obtained results of screening tests also indicate their questionable effectiveness if specific disease symptoms do not occur. Hence, it seems that clinical assessment and carefully conducted differential diagnosis remain the best tools for making a decision on Lyme disease treatment and assessing its effectiveness.

Funding source. The study was funded by the Doctoral School of the National Education Commission in Kraków, Poland

REFERENCES

- Hanincová K, Taragelová V, Koci J, et al. Association of *Borrelia garinii* and *B. valaisiana* with songbirds in Slovakia. *Appl Environ Microbiol.* 2003;69(5):2825–2830.
- Ford L, Tufts DM. Lyme neuroborreliosis: Mechanisms of *B. burgdorferi* infection of the nervous system. *Brain Sci.* 2021;11(6):789. <https://doi.org/10.3390/brainsci11060789>
- Rudenko N, Golovchenko M, Horak A, et al. Genomic confirmation of *Borrelia garinii*, United States. *Emerg Infect Dis.* 2023;29(1):64. <https://doi.org/10.3201/eid2901.220930>
- Lochhead RB, Strle K, Steere AC. Lyme arthritis: linking infection, inflammation and autoimmunity. *Nat Rev Rheumatol.* 2021;17(7):449–461. <https://doi.org/10.1038/s41584-021-00631-2>
- Shapiro ED, Wormser GP. Lyme disease in 2018: What is new (and what is not). *JAMA.* 2018;320(7):635–636. <https://doi.org/10.1001/jama.2018.11992>
- PZH [https://wwwold.pzh.gov.pl/oldpage/epimeld/2024/INF_24_12B.pdf]
- Branda JA, Steere AC. Laboratory diagnosis of Lyme borreliosis. *Clin Microbiol Rev.* 2021;34(2):10–1128. <https://doi.org/10.1128/CMR.00018-19>
- Russell ALR, Dryden MS, Pinto AA, Lovett JK. Lyme disease: diagnosis and management. *Pract Neurol.* 2018;18(6):455–464. <https://doi.org/10.1136/practneurol-2018-001932>
- Schoen RT. Lyme disease: diagnosis and treatment. *Curr Opin Rheumatol.* 2020;32(3):247–254. <https://doi.org/10.1097/BOR.0000000000000698>
- Donta ST. What we know and don't know about Lyme disease. *Front Public Health.* 2022;9:819541. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2021.819541>
- Carriveau A, Poole H, Thomas A. Lyme disease. *Nurs Clin North Am.* 2019;54(2):261–275. <https://doi.org/10.1016/j.cnur.2019.02.003>
- Koczanowicz S, Nowak-Chmura M, Witecka J, et al. The potential risk of human exposure to tick-borne infection by *Borrelia burgdorferi* sensu lato, *Anaplasma phagocytophilum* and *Babesia microti* in selected recreational areas of the Poprad Landscape Park in southern Poland. *Ann Agric Environ Med.* 2024;31(3):345–350. <https://doi.org/10.26444/aaem/186025>
- Koczanowicz S, Nowak-Chmura M, Koczoń A, et al. The occurrence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in *Ixodes ricinus* ticks collected from nature-educational and tourist trails in the Poprad Landscape Park. *Pathogens.* 2025;14(2):117. <https://doi.org/10.3390/pathogens14020117>
- Zalewska-Ziob M, Adamek B, Strzelczyk JK, et al. Wykładniki serologiczne kontaktu z krętkiem *Borrelia burgdorferi* s.l. wśród mieszkańców aglomeracji śląskiej. *Pediatr Med Rodz.* 2012;8(1):40–45.
- Zajac V, Pinkas J, Wójcik-Fatla A, et al. Prevalence of serological response to *Borrelia burgdorferi* in farmers from eastern and central Poland. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2017;36:437–446.
- Machcińska M, Noworyta J, Brasse-Rumin M, et al. Prevalence of *Yersinia* spp., *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydia pneumoniae* and *Borrelia burgdorferi* antibodies in healthy blood donors' sera. *Reumatologia.* 2013;51(6):422–428.
- Niścigorska J, Skotarczak B, Wodecka B. *Borrelia burgdorferi* infection among forestry workers – assessed with an immunoenzymatic method (ELISA), PCR, and correlated with the clinical state of the patients. *Ann Agric Environ Med.* 2003;10(1):[pagination not provided].
- Buczek A, Rudek A, Bartosik K, et al. Seroepidemiological study of Lyme borreliosis among forestry workers in southern Poland. *Ann Agric Environ Med.* 2009;16(2):257–261.
- Bušová A, Dorko E, Feketeová E, et al. Association of seroprevalence and risk factors in Lyme disease. *Cent Eur J Public Health.* 2018;26(Suppl):S61–S66. <https://doi.org/10.21101/cejph.a5274>
- Kocbach PP, Kocbach BP. Prevalence of Lyme disease among forestry workers. *Med Pr.* 2014;65(3). <https://doi.org/10.13075/mp.5893.2014.042>
- Pańczuk A, Tokarska-Rodak M, Plewik D, Paszkiewicz J. Tick exposure and prevalence of *Borrelia burgdorferi* antibodies among hunters and other individuals exposed to vector ticks in Eastern Poland. *Rocz Panstw Zakl Hig.* 2019;70(2):161–168. <https://doi.org/10.32394/rpzh.2019.0066>
- Cisak E, Chmielewska-Badora J, Zwoliński J, et al. Study on Lyme borreliosis focus in the Lublin region (eastern Poland). *Ann Agric Environ Med.* 2008;15(2):327–332.
- Tokarska-Rodak M, Plewik D, Koziol-Montewka M, et al. Risk of occupational infections caused by *Borrelia burgdorferi* among forestry workers and farmers. *Med Pr.* 2014;65(1):109–117. <https://doi.org/10.13075/mp.5893.2014.017>
- Bura M, Bukowska A, Michalak M, et al. Exposure to hepatitis E virus, hepatitis A virus and *Borrelia* spp. infections in forest rangers from a single forest district in western Poland. *Adv Clin Exp Med.* 2018;27(3):351–355. <https://doi.org/10.17219/acem/65787>
- Chmielewski T, Karbowski G, Kędra E, et al. The occurrence of spotted fever rickettsioses and other tick-borne infections in forest workers in Poland. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2010;10(10):977–984. <https://doi.org/10.1089/vbz.2010.00>

Notifications



[AoP] Editor Decision

2026-02-12 12:27 AM

Sylvia Koczanowicz, Anna Kocoń, Marek Asman, Magdalena Nowak-Chmura:

We have reached a decision regarding your submission to Annals of Parasitology, "Tourist Attractions of Southern Poland – Risk of Tick Infestation and Exposure to Tick-Borne Diseases".

Our decision is to: Accept Submission

[Annals of Parasitology](#)

Tourist Attractions of Southern Poland - Risk of Tick Infestation and Exposure to Tick-Borne Diseases

Sylvia Koczanowicz^{1*}, Anna Kocon^{2*}, Marek Asman², Magdalena Nowak-Chmura¹

¹Department of Zoology, Institute of Biology and Earth Sciences, University of the National Education Commission, Podchorążych 2, 30-084 Kraków, Poland; syl-

wia.koczanowicz@doktorant.up.krakow.pl; magdalena.nowak-chmura@uken.krakow.pl

²Department of Medical and Molecular Biology, Faculty of Medical Sciences in Zabrze, Medical University of Silesia, Jordana 19, 41-808 Zabrze, Poland; anna.kocon@sum.edu.pl; masman@sum.edu.pl

*Correspondence: sylvia.koczanowicz@doktorant.uken.krakow.pl; anna.kocon@sum.edu.pl

Review article

Keywords: recreation; southern Poland; tick-borne diseases; ticks; tourist

Abstract

The southern region of Poland, rich in natural and tourist attractions, encourages outdoor recreation and spending time in nature. Ongoing climate change, including global warming, has contributed to an increased abundance of ticks and an extended period of their seasonal activity. Consequently, the number of tick-borne disease cases continues to rise, and their diagnosis and treatment are often challenging and prolonged. The aim of this study is to summarize current knowledge on the occurrence of ticks in tourist areas of southern Poland and to raise public health awareness among individuals engaged in tourism and recreation, particularly regarding tick presence and the tick-borne diseases they transmit. To achieve the above goal, a review of available scientific and review articles on tick fauna and their role in the transmission of tick-borne disease pathogens in southern Poland was conducted. Electronic databases such as PubMed and Google Scholar were used in the literature analysis. The presence of ticks belonging to the family Ixodidae (*Ixodes ricinus*, *Ixodes vespertilionis*), Amblyommidae (*Dermacentor*

reticulatus), and Argasidae (*Argas reflexus*, *Argas polonicus*) has been confirmed. In ticks collected from vegetation and humans in southern Poland, the presence of the following pathogens has been confirmed: *Borrelia burgdorferi* sensu lato, *Anaplasma phagocytophilum*, *Babesia microti*, *Toxoplasma gondii*, tick-borne encephalitis virus, *Ehrlichia chaffeensis*/*Ehrlichia muris*, *Rickettsia* spp., and *Coxiella burnetii*, as well as various coinfections. Knowledge of tick distribution and the pathogens they transmit plays a key role in assessing the risk of human and animal exposure to tick-borne diseases. Equally important is the dissemination of information on preventive strategies and protective measures against tick bites. The presence of ticks in recreational and tourist areas underscores the need for ongoing educational activities concerning ticks and tick-borne diseases in southern Poland.

1. Introduction

Southern Poland is a region rich in history, culture, and picturesque landscapes. It comprises five voivodeships (Opolskie, Silesian, Świętokrzyskie, Lesser Poland Voivodeship, and Subcarpathian) and offers extensive areas for hiking tourism, including routes for enthusiasts of trekking, history, and culture, as well as numerous thematic trails such as educational, architectural, papal, and cycling paths. The landscapes of southern Poland span mountainous, upland, and lowland areas. These regions provide a variety of tourist attractions: the mountains offer excellent conditions for hiking and climbing, while national and landscape parks serve as additional points of interest and places for recreation. Southern Poland attracts increasing numbers of tourists and local residents each year. The lifestyle of modern societies-active leisure, the development of tourism, growing interest in extreme sports, and the desire to explore and occupy new, previously inaccessible areas-may, however, carry negative consequences. These factors can contribute to an increased risk of developing tick-borne diseases, among other health threats. Ticks are common parasitic arthropods that feed on the blood of animals and humans. In Poland, 19 species of these arachnids are currently considered permanent

components of the native fauna [1-3]. Climate changes associated with global warming - shorter winters, longer and more humid summers, and higher temperatures - have contributed to the extension of tick seasonal activity and increased survival rates. These factors may influence the rising number of tick-borne disease cases observed in Poland and across Europe. These parasites are also expanding into new geographic areas and higher altitudes, which increases the risk of human exposure to infestation [4-5]. The frequency and risk of contact with ticks infected with pathogens in areas used for recreational purposes remain insufficiently defined. The aim of this study is to provide an overall assessment of the potential exposure of humans and animals to tick infestation and to tick-borne pathogens in selected tourist and recreational areas of southern Poland. An important goal is also to increase public health awareness among individuals participating in tourism, particularly regarding tick habitats and the tick-borne diseases they transmit.

2. Materials and Methods

A review of available articles concerning ticks and the tick-borne pathogens detected in them in southern Poland was conducted. The largest number of studies on the occurrence of ticks in tourist, recreational, and protected areas was recorded in the Lesser Poland Voivodeship and Silesian voivodeships, fewer in the Subcarpathian and Opolskie regions, and only limited data are available for the Świętokrzyskie voivodeship. Sampling locations and years were compared, and a species overview of ticks, as well as the presence of tick-borne pathogens in this region of Poland, was compiled. The literature search was conducted using PubMed and Google Scholar with the following keywords: “ticks southern Poland”, “tick-borne pathogen in southern Poland”, “tourist and recreational areas”; in addition, conference abstracts and specialist monographs were reviewed.

3. Hiking tourism and recreation in relation to tick occurrence risk in southern Poland

Southern Poland offers a wide range of hiking trails suitable for both beginners and advanced tourists. The large number of visitors, alongside individuals living or working in protected, tourist, and recreational areas, significantly increases the potential pool of hosts for ticks inhabiting these regions and raises the likelihood of human contact with these dangerous parasites.

In the area of the Silesian Voivodeship, the presence of *I. ricinus* (Linnaeus, 1758) and *Dermacentor reticulatus* (Fabricius, 1794) has been documented (Figure 1). The occurrence of *I. ricinus*, the most widespread tick species in Poland and Europe and of the greatest medical and veterinary importance, has been repeatedly confirmed within the Silesian Voivodeship. *Ixodes ricinus* inhabits moist environments, mainly deciduous and mixed forests, humid pastures, and shrublands. It is increasingly found in urban areas as well, such as housing estate green-spaces, home gardens, and recreational areas. Its presence in the Silesian agglomeration was recorded as early as 1994–2000. Ticks were collected in mixed forests, meadows, pastures, parks, and also near picnic sites and in the vicinity of the “Barbara” coal mine in Mikołów [6–8]. Subsequent studies conducted in 2008–2009 confirmed the presence of this species near water reservoirs, lakes, retention basins, and in areas of landscape and recreational value. In the years 2010–2012, ticks were also found in the vicinity of major cities of the Silesian agglomeration: Katowice, Mikołów, Chorzów, and Sosnowiec [6,9]. Research is often conducted in recreational and tourist areas, where the risk of tick feeding on humans is higher. In the Tarnowskie Góry district, *I. ricinus* ticks were collected repeatedly; studies were conducted between 2001–2003 and again in 2015 in deciduous and mixed forests [10–12]. In 2008–2011, the presence of *I. ricinus* was confirmed during studies carried out across multiple locations throughout the Silesian Voivodeship in recreational areas situated mostly near water reservoirs and/or in forests, including campsites, trekking and cycling trails, restaurants, and entertainment sites [13].

Ticks were also found in 2010 during collections from three geographically distinct areas, including a dry forested region, an industrial and urbanized area, and forested mountain terrain. It was observed that the number of active ticks was significantly higher in spring than in summer and autumn, and their activity gradually decreased from summer to winter [5]. Research also covered the area near Piekary Śląskie, where water reservoirs of high biocenotic, landscape, and recreational value are located, and where numerous recreational facilities are available (campsites, leisure centers, fishing areas) [14-15]. In 2013-2014, the presence of *I. ricinus* was confirmed in the Kraków-Częstochowa Upland, one of the most attractive tourist regions in Poland. Częstochowa, a city located in the Silesian Voivodeship, is a well-known pilgrimage destination, and it also features numerous parks where tourists and residents frequently spend their free time [16].

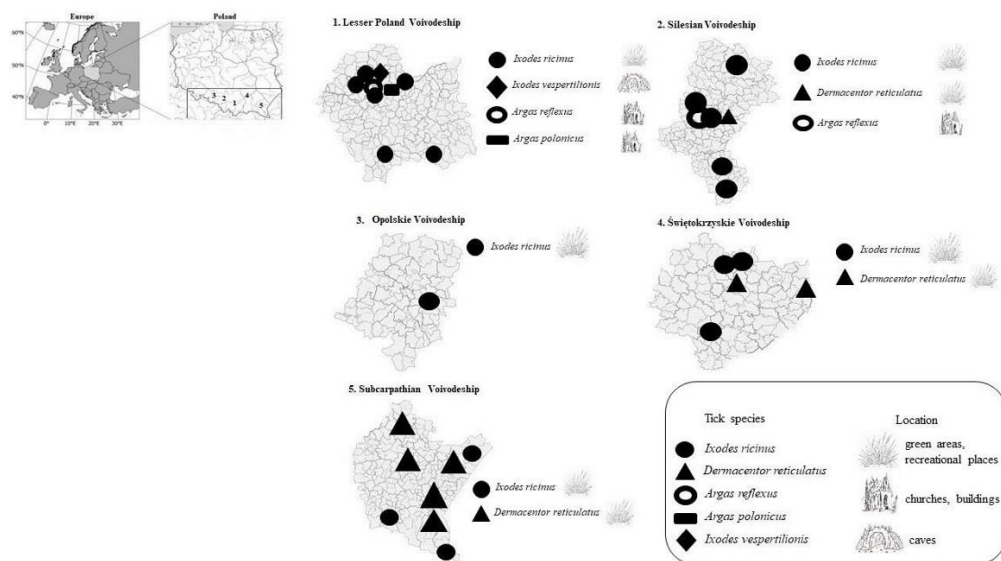


Figure 1. Occurrence of ticks in recreational, tourist, and protected areas of southern Poland

In addition to vegetation sampling, ticks collected in 2011-2013 and in 2015 from sanitary-epidemiological stations, as well as ticks obtained in 2010 from medical facilities in Upper Silesia from patients who received assistance in removing the parasite from their bodies, were also included. The results of survey studies indicated a low percentage of individuals using repellents, which stems from low public awareness regarding the risks associated with tick attacks [17].

In the Lesser Poland Voivodeship, studies confirming the presence of *I. ricinus* in urban and forested areas have been conducted since 1994 [6,8,18] (Figure 1). In 1999-2000, the presence of *I. ricinus* was detected during spring collections [19], and in 2011 in areas located near foresters' lodges, rural farms, and drainage ditches [20]. This species occurs with varying abundance within Kraków: Las Wolski, Kopiec Kościuszki, Lasek Mogiński, Borek Fałęcki, Tyniec, Skotniki, and in its peripheral areas, mainly in habitats containing remnants of natural forests. The castor bean tick was not found in Kraków's central city parks (Park Jordana, Park Lotników Polskich). Additionally, *I. ricinus* was collected along tourist trails in the Beskid Wyspowy and Beskid Sądecki mountain ranges [21]. In the Niepołomice Forest, a woodland area serving as a recreational site for tourists and residents of the Lesser Poland Voivodeship, as well as a location of historical significance and an important scientific base for Polish researchers studying the country's fauna and flora, the risk of exposure to *I. ricinus* ticks has also been confirmed [20]. In the case of the Kraków-Częstochowa Upland, previous studies have shown that *I. ricinus* occurs most abundantly in its southern part [16,22-26].

The Opolskie Voivodeship, despite its numerous tourist areas and picturesque landscapes, remains poorly studied in terms of tick occurrence. In 2016-2018, *I. ricinus* ticks were confirmed in the south-western part of the voivodeship [27] (Figure 1).

In the Świętokrzyskie Voivodeship, a case of *I. ricinus* was recorded in a tick removed from the skin of a person who had previously visited the municipal cemetery in Kielce [28].

Field studies were also conducted in mixed forest areas of major cities, including Kielce, Ostrowiec Świętokrzyski, Busko, Jędrzejów, and Skarżysko-Kamienna [29] (Figure 1).

Field studies conducted in the Subcarpathian Voivodeship also indicate that *I. ricinus* is the most widespread tick species in Poland; its presence was confirmed in the vicinity of Krosno, in areas frequently visited by tourists [30] (Figure 1).

Dermacentor reticulatus is the second most commonly encountered tick species in Central Europe. It inhabits primarily river and stream valleys overgrown with shrubs or trees. It is also found in marshy mixed forests, on shrub-covered pastures, and in logging areas. Additionally, it occurs in open habitats such as clearings and meadows, in mixed forests, and near urban and suburban areas. It prefers moist environments [31-32]. Due to its ability to adapt to diverse habitats and climatic conditions, this species is effectively expanding its range, as confirmed by studies documenting its spread across Europe. *Dermacentor reticulatus* in the Silesian Voivodeship, collected from vegetation, was confirmed for the first time by Asman et al. [2024] [33] (Figure 1). The collection was carried out in mid-April 2023 in the town of Sławków, located in the north-eastern part of the Silesian Voivodeship. Sampling took place in open areas that included meadow habitats and wetland sites. The area was situated near Natura 2000 protected zones. Until recently, the central-southern part of Poland, including the studied area, had been considered free of *D. reticulatus*. Previous research on the distribution of this tick species reported its absence in the Silesian Voivodeship as well as in the neighboring Opolskie and Świętokrzyskie regions [34]. In 2022-2023, *D. reticulatus* ticks were also collected in the Subcarpathian Voivodeship. The study area covered the south-eastern part of the voivodeship, focusing on grassland habitats located near forests in the Central Beskids and the Sandomierz Basin. The continuous range of this tick species is limited to foothill and lowland areas, whereas mountainous regions should be considered free of this species [35] (Figure 1). In the Świętokrzyskie Voivodeship, the presence of *D. reticulatus* was also confirmed at designated

sites characteristic of this species, and it was demonstrated that altitude above sea level, followed by humidity, were the main determinants of tick density [36].

4. Ticks in Landscape and National Parks of Southern Poland

In the southern part of the Silesian Voivodeship, within the Żywiec Landscape Park in the Żywiec Beskids, a mountainous region encompassing both agricultural and recreational areas. The presence of *I. ricinus* was confirmed two times between 2011 and 2013 [37-38]. Studies by Kocoń and Nowak-Chmura M. (2016) conducted in the Żywiec and Silesian Beskids near tourist trails and recreational sites also demonstrated the occurrence of *I. ricinus* in this area [39] (Figure 1).

In the Lesser Poland Voivodeship, in the Kraków-Częstochowa Upland and the Sandomierz Basin, the presence of *I. ricinus* was confirmed both within the Ojców National Park and during collections conducted along forest paths, and even in green areas of large cities [7,21,23-24,40]. The tick fauna of Poland's national parks remains poorly studied. Among the five national parks located in the Lesser Poland Voivodeship, Ojców National Park (OPN) has been the most thoroughly investigated in terms of tick occurrence and abundance [21,41,42]. In the late 1980s, the presence of *I. ricinus* was recorded throughout the entire area of OPN. The best-studied site of this species within the park is the Valley of Delight (Dolina Zachwytu) [40,44] (Figure 1).

Ixodes ricinus was also confirmed in the Poprad Landscape Park, which is the largest landscape park in the Lesser Poland Voivodeship. In 2018-2019, *I. ricinus* was collected from paths and meadows covered mainly by deciduous forests, whereas in 2020 these ticks were collected along a nature-education trail overgrown with beech-fir-pine forest, located near drinking water sources and a quarry. Additionally, studies conducted in 2020-2021 along popular tourist routes and nature-education paths in the Poprad Landscape Park confirmed the presence of this species in selected areas [45-47] (Figure 1).

Thanks to numerous studies on the distribution and occurrence of *I. ricinus* in the Lesser Poland Voivodeship, it was also possible to conduct observations on the seasonal activity of this species. In the Valley of Delight (Dolina Zachwytu) in OPN, it was demonstrated that during both the spring and autumn peaks of *I. ricinus* activity, tourists and local residents are exposed to the presence of ticks in this area [40,43].

In the Subcarpathian Voivodeship, in its south-western part, within the Magura National Park, the common occurrence of *I. ricinus* was confirmed in 2004-2005 during a study of the seasonal activity of ticks in the southern part of the park (Figure 1). Collections were also carried out in the south-eastern part of the voivodeship, in the Bieszczady National Park. Ticks of this species were collected from forested areas, nature trails, mountain routes, and recreational sites located near parking areas and campgrounds. Their presence was confirmed at an altitude of 1107 m a.s.l. [48-49] (Figure 1). In the north-eastern part of the Subcarpathian Voivodeship, ticks were found in forested areas as well [50] (Figure 1).

5. Along the Trail of Caves and Churches

In the Lesser Poland Voivodeship are located some of the most popular caves in Poland, and cave exploration is an additional attraction for tourists. Ticks of the species *Ixodes vespertilionis* (Koch, 1844) inhabit primarily places where their main hosts-the bats (Chiroptera) - are found. They occur in caves, attics, and tree hollows and are active mainly at night. The presence of *I. vespertilionis* was confirmed during studies conducted in the Lesser Poland Voivodeship in 2010-2012, where they were found on the walls of caves - Zbójecka Cave in Łopień in the Beskid Wyspowy and Diabla Dziura in the Rożnów Foothills-as well as in caves located in the Kraków-Częstochowa Upland [51-52] (Figure 1).

Churches are also valuable historical monuments of the Lesser Poland Voivodeship. By visiting these sacred sites - often landmarks of architecture, art, and history - one can learn about the region's heritage and traditions. In 1978, ticks of the species *Argas polonicus* (Siuda,

Hoogstraal, Clifford et Wassef, 1979) were collected and described by Professor Krzysztof Siuda from the attics and the tower of St. Mary's Basilica in Kraków (Lesser Poland Voivodeship). This species is associated with synanthropic habitats, such as house attics, historic buildings, towers of religious sites, and bird-breeding structures (pigeon lofts), where its primary hosts-rock pigeons (*Columba livia*), either wild or domesticated-are easily accessible. In Kraków, cases of *A. polonicus* attacking humans were recorded-the victims included participants of services and concerts at the Dominican Fathers' Monastery and the trumpeters playing the Hejnał on the tower of St. Mary's Basilica [53] (Figure 1). This is a nocturnally active species that hides during the day in cracks within walls, beams, window frames, and any other places providing shelter from daylight. *Argas polonicus* does not pose a threat to humans during the day, but encounters at night are possible, and attacks on the trumpeter fire guards performing night duty in the tower of St. Mary's Basilica in Kraków have been documented [53]. It is assumed that this species may be widespread not only in Poland but also across Europe; however, insufficient research is currently being conducted to confirm this hypothesis.

The second tick species that parasitizes mainly birds and typically attacks at night, and which may be encountered in residential buildings, is *Argas reflexus* (Fabricius, 1794). The first fully documented information on the occurrence of Argasidae in Poland was provided by Rafalski (1956), who described, among others, a site of *A. reflexus* in Kraków (Lesser Poland Voivodeship). Additionally, studies by Siuda confirmed that *A. reflexus* occurs in the attics of old tenement houses in the Old Town of Kraków and the Podgórze districts [54] (Figure 1). In the 1970s, several new localities of this tick were reported in Poland, including Zabrze (Silesian Voivodeship) [55], Ruda Śląska, and Katowice [54]. In 1994, the presence of this species was confirmed in the capital of the Silesian Voivodeship, Katowice, where three specimens belong-

ing to this species were collected [56]. Studies by Buczek et al. 2018 also confirmed the presence of this tick species in selected cities of Upper Silesia, among residents who had been repeatedly attacked by *A. reflexus* [57] (Figure 1).

6. Foci of Tick-Borne Diseases in the Provinces of Southern Poland

It should be emphasized that in Europe, including Poland, ticks pose a potential threat to tourists, residents of recreational and tourist areas, forest foragers, as well as forestry workers, farmers, and individuals involved in forest exploitation and nature conservation. In southern Poland, ticks may act as vectors of, among others: Lyme borreliosis, granulocytic anaplasmosis, babesiosis, tick-borne encephalitis, ehrlichiosis, rickettsiosis, and Q fever (Table 1).

Table 1. The presence of tick-borne disease pathogens in ticks collected from vegetation and humans in southern Poland

Tick species	Location (voivodeship)	Pathogen	Coinfections
<i>Ixodes ricinus</i>	Lesser Poland Voivodeship	<i>Borrelia burgdorferi</i> sensu lato	<i>Babesia</i> spp. + <i>Anaplasma phagocytophilum</i>
		<i>Anaplasma phagocytophilum</i>	<i>Anaplasma phagocytophilum</i> , <i>Babesia microti</i> + <i>Borrelia burgdorferi</i> sensu lato
		<i>Babesia</i> spp.	<i>Borrelia burgdorferi</i> sensu lato + <i>Anaplasma phagocytophilum</i>
		<i>Borrelia burgdorferi</i> sensu lato	<i>Borrelia burgdorferi</i> sensu lato + <i>Babesia microti</i>
		<i>Anaplasma phagocytophilum</i>	<i>Borrelia burgdorferi</i> sensu lato + <i>Babesia microti</i>
		<i>Babesia</i> spp.	<i>Borrelia burgdorferi</i> sensu lato + <i>Babesia microti</i>
	Silesian	Tick-borne encephalitis virus	<i>Borrelia burgdorferi</i> sensu lato + <i>Rickettsia</i> spp.
		<i>Ehrlichia chaffeensis</i> i <i>Ehrlichia muris</i>	<i>Borrelia burgdorferi</i> sensu lato + <i>Ehrlichia chaffeensis</i> / <i>Ehrlichia muris</i>
		<i>Rickettsia</i> spp.	<i>Borrelia burgdorferi</i> sensu lato + <i>Ehrlichia chaffeensis</i> / <i>Ehrlichia muris</i>
		<i>Toxoplasma gondii</i>	<i>Babesia microti</i> + <i>Anaplasma phagocytophilum</i> <i>Babesia microti</i> + <i>Toxoplasma gondii</i>

		<i>Borrelia burgdorferi</i> sensu lato	
	Opolskie	<i>Anaplasma phagocytophilum</i>	Not found
		<i>Babesia</i> spp.	
	Świętokrzyskie	<i>Coxiella burnetii</i>	Not found
	Silesian	<i>Rickettsia</i> spp.	
		<i>Borrelia burgdorferi</i> sensu lato	
		<i>Anaplasma phagocytophilum</i>	Not found
		<i>Babesia</i> spp.	
		<i>Rickettsia</i> spp.	
	Świętokrzyskie	<i>Rickettsia</i> spp.	No data
<i>Ixodes vespertilionis</i>	Lesser Poland Voivodeship	No data	No data
	Silesian	No data	
<i>Argas reflexus</i>	Lesser Poland Voivodeship	No data	No data

6.1. *Borrelia burgdorferi* sensu lato is a spiral-shaped, Gram-negative bacterium belonging to the spirochete group. In Europe, three genospecies of this bacterium occur most frequently: *Borrelia afzelii*, *Borrelia garinii*, and *Borrelia burgdorferi* sensu stricto. The primary vectors are ticks of the genus *Ixodes*. *Borrelia burgdorferi* s.l. is the main etiological agent of Lyme borreliosis, a widely known and the most common tick-borne disease in Poland and Europe [58-59]. Moreover, *B. burgdorferi* s.l. may persist in a latent, spherical form during a long period of dormancy, when no clinical symptoms are observed in the infected host organism. Three phases of this disease are distinguished. The first, the so-called early localized phase, is characterized by flu-like symptoms: muscle, joint, and headache, as well as fever. In this phase, some infected individuals develop erythema migrans, a hallmark of the disease. When Lyme

borreliosis remains undiagnosed and untreated, it may progress to the second phase, the so-called early disseminated stage. It manifests with neurological problems, memory and speech disturbances, and may involve meningitis. The third, late phase of the disease may present with chronic arthritis, polyneuropathy, encephalopathy, and atrophic skin changes [60].

In southern Poland, over the past 10 years (2013–2023), 80,133 cases of Lyme borreliosis were reported to the National Institute of Public Health, with the highest number of cases registered in the Lesser Poland Voivodeship (38%) and Silesian (32%) Voivodeships. Fewer infections were recorded in the Subcarpathian (17%), Opolskie (8%), and Świętokrzyskie (5%) Voivodeships [61].

Borrelia burgdorferi s.l. spirochetes are the most frequently studied pathogens in collected ticks-mainly *I. ricinus* - in southern Poland, particularly in the Lesser Poland Voivodeship and Silesian Voivodeships (Figure 2). The lowest values of *B. burgdorferi* s.l. prevalence ranged from 1.7% to 6.9% [13,38]. In many locations, detection levels ranged between 11.8% and 19.2% [46,56], while others fell between 26.9% and 37.5% [7,20,47]. The highest recorded values of this pathogen were 49.5%, 53.3%, and 75.5% [6,33] (Figure 2). Individual results also indicate a risk in the Subcarpathian (28.57%) [35] and Opolskie (5.4%) [27] Voivodeships, with no available data from the Świętokrzyskie Voivodeship (Figure 2; Table 1).

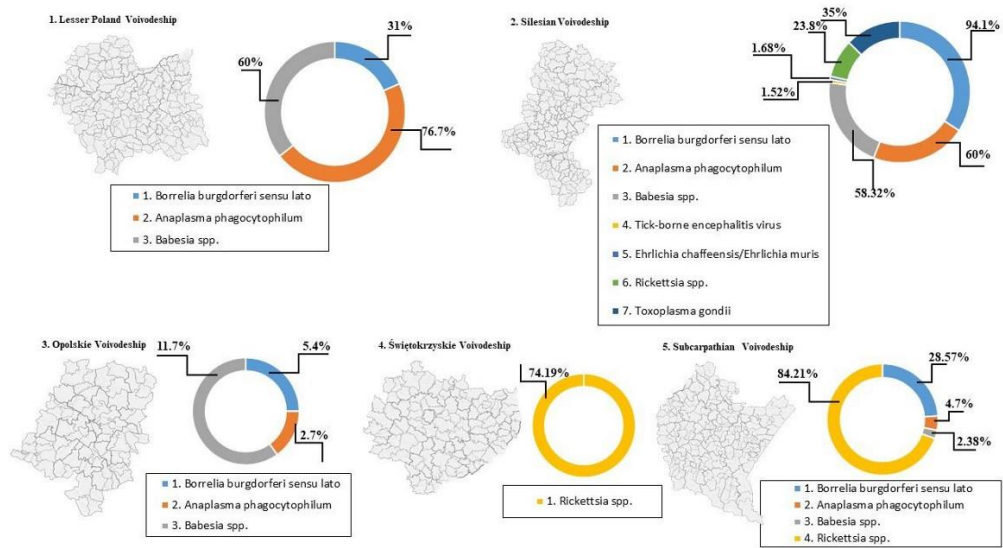


Figure 2. Prevalence of pathogens in ticks collected from vegetation in southern Poland

6.2. *Anaplasma phagocytophilum* is a Gram-negative bacterium that causes the disease anaplasmosis. Numerous animal species, as well as humans, can become infected. In humans, the disease is referred to as human granulocytic anaplasmosis. It may be asymptomatic or mild, and flu-like symptoms often occur, including fever, headache, muscle pain, and malaise. Severe forms of the disease are rare; however, they may lead to death, particularly in patients with comorbidities. In Poland, only isolated cases of human granulocytic anaplasmosis are recorded [62-63]. According to available epidemiological data, the number of anaplasmosis cases in Poland is relatively low—only a few cases per year. However, the actual number of infections may be higher due to diagnostic challenges and nonspecific symptoms that may be confused with other diseases [61].

In southern Poland, studies on *A. phagocytophilum* are becoming increasingly common. Most reports confirming the presence of *A. phagocytophilum* in collected material concern the Silesian and Lesser Poland Voivodeship. In many locations, infection rates were low, ranging from 0.3% to 8.97% [46,64]. Higher values were confirmed in the range of 32.7% to 38.9% [15,20,37]. The highest recorded values ranged from 60% to as much as 76.7% [14,20] (Figure 2). The tested ticks belonged to the species *I. ricinus* and *D. reticulatus*. Individual results also indicate a risk in the Subcarpathian (4.7%) [35] and Opolskie (2.7%) [27] Voivodeships, with no available data from the Świętokrzyskie Voivodeship (Figure 2, Table 1).

6.3. *Babesia microti* is a protozoan belonging to the *Babesia* spp. group that causes a disease known as babesiosis. This pathogen is primarily transmitted via tick vectors; however, transmission may also occur through blood transfusion, organ transplantation, or vertically. The infection may be asymptomatic, and its symptoms often resemble malaria. Babesiosis is accompanied by fever, weakness, muscle pain, nausea, and vomiting. Enlarged lymph nodes, as well as enlargement of the liver and spleen, may occur. The disease may also take a severe

course and lead to death, particularly in individuals with weakened immunity and in those infected through blood transfusion [65].

Babesia microti has been confirmed in several locations in southern Poland, mainly in the Silesian and Lesser Poland Voivodeship. The results varied widely, with a very large range - from low levels between 3.85% and 7.4% [47,65], to moderate levels ranging from 21.3% to 35% [16,38], and finally to high detection rates of *B. microti* in ticks, ranging from 58.32% to 60% [12,20] (Figure 2). *Babesia microti* was detected in ticks of the species *I. ricinus*. Individual studies originate from the Opolskie Voivodeship (11.7%) [27] and the Subcarpathian Voivodeship (2.38%) [35] (Figure 2, Table 1). No data are available from the Świętokrzyskie Voivodeship.

6.4. Tick-borne encephalitis virus (TBEV) is a virus of the Flaviviridae family that causes tick-borne encephalitis. It is transmitted primarily by ticks of the genus *Ixodes*. Tick-borne encephalitis (TBE) is spreading into wider geographic areas and affecting countries previously free of this disease, a trend influenced, among other factors, by climate change. Two phases of the disease are distinguished. The first phase, which occurs immediately after infection, resembles a common cold and is accompanied by fatigue, muscle and joint pain, headache, and fever; nausea and vomiting may also occur. After this stage, the patient may recover, or a second phase of the disease may develop. Characteristic symptoms of the second phase include very high fever, severe headaches, dizziness, and depressive states. Vomiting, low blood pressure, and photophobia may also occur. This phase lasts from several weeks to several months. The clinical course depends on the form of the disease: encephalitic, meningeal, or spinal. In Poland, the milder meningeal form predominates [66-67]. Vaccination against TBE should be administered to individuals at risk of tick exposure. Furthermore, people who work professionally in forested areas may, as a result of repeated tick feeding and the introduction of minimal doses

of TBEV into their bodies, develop immunity to the disease through the production of specific antibodies [66].

In 2015–2019, the average incidence of tick-borne encephalitis in southern Poland was 0.28 per 100,000 inhabitants. The highest incidence of cases was recorded in the Świętokrzyskie Voivodeship – 0.51 per 100,000, followed closely by the Opolskie Voivodeship – 0.50 per 100,000, then the Lesser Poland Voivodeship – 0.30 per 100,000, only 0.08 per 100,000 in the Subcarpathian Voivodeship, and 0.03 per 100,000 in the Silesian Voivodeship [61].

Tick-borne encephalitis virus has been examined several times in southern Poland, and the current infection rate remains low. In one study conducted in the Silesian Voivodeship, the virus was not detected in the tested ticks [68]. In other locations, TBEV infection rates ranged from 0.11% to 1.28% and up to 1.52% [5,9,64] (Figure 2, Table 1). Studies by Bartosik et al. 2011 [69] revealed the emergence of new TBE infection foci in the Świętokrzyskie Voivodeship, a region previously classified as non-endemic for TBE. Similarly, research by Zajkowska et al. 2025 [71] also documented cases of TBE in areas historically considered non-endemic, challenging the prevailing assumptions and underscoring the need for increased vigilance across the country. Through analysis of serum or cerebrospinal fluid (CSF) samples collected from patients with neuroinfections of unknown origin, it was observed that the highest positive rates were recorded in the Lesser Poland Voivodeship (31%) and the Świętokrzyskie Voivodeship (24%).

6.5. *Ehrlichia chaffeensis* and *Ehrlichia muris* are two distinct bacterial species of the genus *Ehrlichia* that cause a disease known as ehrlichiosis. *Ehrlichia muris* is most commonly found in rodents, whereas *E. chaffeensis* is responsible for causing disease in humans. Symptoms may be mild or severe, particularly in elderly individuals, those with weakened immune systems, and individuals infected with HIV or undergoing immunosuppressive therapy due to malignant cancers. Symptoms include malaise, muscle pain, fever, headache, and chills. Less

commonly, vomiting, joint pain, and diarrhea may occur. A rash is present in some patients. Severe complications of ehrlichiosis are rare but may include pneumonia, acute respiratory distress syndrome, renal failure, and neurological disorders [71-73].

In southern Poland, testing for the presence of *E. chaffeensis* and *E. muris* was conducted twice on ticks obtained from the Provincial Sanitary-Epidemiological Station in the Silesian Voivodeship. The sample analyzed in 2011–2013 did not reveal the presence of these pathogens. In contrast, in 2015, the bacterium did not occur as a monoinfection in any tick, but was confirmed as a coinfection together with *B. burgdorferi* s.l., with a tick infection rate of 1.68% [64,68] (Figure 2, Table 1).

6.6. Gram-negative bacteria of the genus *Rickettsia* comprise a diverse group of microorganisms transmitted mainly by arthropods (Arthropoda), including certain insects (Insecta) and arachnids (Arachnida). Bacteria transmitted by ticks are referred to as spotted fever group rickettsiae (SFGR) and may cause nonspecific fever in humans, accompanied by headaches, muscle and joint pain, respiratory problems, and, in some cases, an erythematous rash consisting of small red spots [74]. They may also lead to meningitis [75]. *Rickettsia slovaca* and *Rickettsia raoulti* in Poland are pathogens transmitted primarily by *D. reticulatus*. They can lead to tick-borne lymphadenitis syndrome and necrotizing erythema-lymphadenopathy syndrome (SENLAT- scalp eschars and neck lymphadenopathy, formerly referred to as TIBOLA- tick-borne lymphadenopathy or DEBONEL), and in case *Rickettsia sibirica* subsp. *mongolitimonae* (lymphangitis-associated rickettsiosis, LAR) [76]. *Rickettsia* spp. has been detected in *D. reticulatus* (23.8%) and *I. ricinus* (5.8%) ticks collected in Upper Silesia (Silesian Voivodeship) [33], as well as in the Subcarpathian Voivodeship (35.71% and 84.21%) [35] and in the Świętokrzyskie Voivodeship (24.00%–74.19%) [36] (Figure 2, Table 1).

6.7. *Toxoplasma gondii* is a protozoan that causes a disease known as toxoplasmosis. This disease is widespread globally. Humans are intermediate hosts, and infection occurs through

ingestion of parasite oocysts from contaminated water, soil, or undercooked meat, and also congenital and iatrogenic transmission. Infection may also occur through contact with cat feces, as cats are the definitive hosts of this protozoan. It is estimated that up to one-third of the world's population may become infected with *T. gondii* during their lifetime. The mechanism of the pathogen's spread across such vast geographic areas and its broad host range is not fully understood, which may suggest a potential role of ticks in transmitting *T. gondii*, although there is no scientific evidence to support this. Toxoplasmosis may be asymptomatic in humans or resemble a mild flu-like illness. The disease is particularly dangerous for immunocompromised individuals, pregnant women, and newborns infected during the fetal period [77-78]. *Toxoplasma gondii* spreads through the bloodstream to various tissues and organs, including the brain. It may cause visual disturbances, severe headaches, seizures, or even coma. It leads to retinitis, pneumonia, and numerous neurological problems. Special care is required for newborns infected in utero, and treatment in such cases may be prolonged and challenging [77,79].

Toxoplasma gondii was detected in *I. ricinus* ticks in southern Poland in the Silesian Voivodeship by Asman et al. (2015) [12], with the pathogen identified in 35% of ticks (Figure 2, Table 1). The role of ticks in the circulation of this pathogen in nature is not yet fully understood. Further studies on the occurrence of *T. gondii* in ticks in Poland are necessary.

6.8. *Coxiella burnetii* is the etiological agent of Q fever. Q fever is caused by Gram-negative bacilli belonging to the genus *Coxiella* and is a zoonotic disease affecting both humans and animals. In Poland, several Q fever outbreaks have been described, with their sources attributed to imported animals and their products [80]. In most cases, the disease is asymptomatic, and infection occurs primarily through inhalation of contaminated particles of feces or urine, consumption of animal milk, or, less commonly, through ticks, or direct contact with an infected individual [80]. According to the literature, in the Świętokrzyskie Voivodeship, a single case of an infected tick removed from human skin has been described [28].

6.9. Coinfections

Coinfection in ticks occurs when a single individual carries more than one pathogenic agent. Ticks may act as vectors for numerous bacterial, viral, and protozoan diseases. The diagnosis of tick-borne diseases has long been challenging due to a wide range of nonspecific symptoms and limited access to diagnostic tools. Coinfections, which present a significant public health concern, can further complicate the diagnostic process. Disease severity may increase, and typical symptoms may change or overlap. Diagnostic difficulties lead to delays in treatment implementation, which must be individually tailored to the co-occurring symptoms of tick-borne diseases. Infection with two or more tick-borne pathogens poses a direct threat to the health and lives of both humans and animals [81-83]. A frequently detected combination is *B. burgdorferi* s.l. with *A. phagocytophilum*. In the Silesian Voivodeship, this value ranged from 0.84% to 3.85%, and up to 6.7% [20,64,68] (Table 1). *Borrelia burgdorferi* s.l. with *B. microti* has also been confirmed in the Silesian Voivodeship at levels ranging from 1.7% to 3.85% and up to 20% [33,38,64] (Table 1). The range of coinfections involving *B. microti*/*Babesia* spp. and *A. phagocytophilum* is considerable, from 0.6% to 46.7% [16,20]. Moreover, in the location with the highest number of such cases, the coexistence of three pathogens-*A. phagocytophilum*, *Babesia* spp., and *B. burgdorferi* s.l.-

was confirmed at 3.3% [20] (Table 1). A case of coinfection with *B. burgdorferi* s.l. and *E. chaffeensis*/*E. muris* was also confirmed, with an infection rate of 1.68%, as well as coinfection of *B. microti* with *T. gondii*, detected in as many as 32% of ticks [12,68] (Table 1). Recent studies of *B. burgdorferi* s.l. with *Rickettsia* spp. confirmed the presence of this coinfection in 10% of ticks [33] (Table 1).

Although coinfections are usually detected at low levels, awareness of their potential impact on the human body-combined with individual studies reporting high coinfection rates-highlights the need for continued and expanded research.

7. Conclusions

The conducted review of the scientific literature indicates the need for further research and ongoing monitoring to better identify tick habitats and assess the potential risk of exposure to the etiological factors of tick-borne diseases transmitted by these parasites. The analysis revealed the presence of the following pathogens in ticks collected from vegetation and humans in southern Poland: *B. burgdorferi* s.l., *A. phagocytophilum*, *B. microti*, *T. gondii*, TBEV, *E. chaffeensis*/*E. muris*, *Rickettsia* spp., and *C. burnetii*, as well as various co-infections. The potential threat of tick attacks and tick-borne infections with one or more pathogens in the analyzed regions of southern Poland indicates the need for ongoing awareness raising among residents and tourists about the threats associated with ticks and tick-borne diseases. Therefore, further research on the distribution of these arthropods and their role as vectors, encompassing a broader spectrum of pathogens, is crucial. Furthermore, informing the public about vaccinations against tick-borne encephalitis and promoting appropriate preventive measures that reduce the risk of tick attacks – such as using repellents against these parasites, checking the body and pets after returning from a walk, and mowing lawns in home gardens – is also important from a public health perspective.

References

1. Siuda K., Nowak M., Stanko M., Pet'ko B., Karbowski G., Solarz K., Lencakova D. 2005. Ryzyko atakowania przez kleszcze *Ixodes ricinus* ludzi w atrakcyjnych turystycznie obszarach województwa małopolskiego. In: *Streszczenia Materiałów II Konferencji "Medycyna Podróży"*. Białystok, Poland: 12–14.

2. Siuda K. 2008. Kleszcze Ixodida. In: *Fauna Polski – charakterystyka i wykaz gatunków*. (Eds. W. Bogdanowicz, E. Chudzicka, I. Pilipiuk, Skibińska). Muzeum i Instytut Zoologii PAN, Warszawa, Poland: 39–44.
3. Krantz G.W., Walter D.E. 2009. *A manual of acarology*, 3rd ed. Texas Tech University Press, Lubbock, Texas: 807.
4. Achazi K., Ruzek D., Donoso-Mantke O., Schlegel M., Ali H.S., Wenk M., Schmidt-Chanasit J., Ohlmeyer L., Rühle F., Vor T., Kiffner C., Kallies R., Ulrich R.G., Niedrig M. 2011. Rodents as sentinels for the prevalence of tick-borne encephalitis virus. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* 11: 641–647. doi:10.1089/vbz.2010.0236
5. Cuber P., Andreassen Å., Vainio K., Asman M., Dudman S., Szilman P., Szilman E., Ottesen P., Anestad G., Cieśla-Nobis S., Solarz K. 2015. Risk of exposure to ticks (Ixodidae) and the prevalence of tick-borne encephalitis virus (TBEV) in ticks in Southern Poland. *Ticks and Tick-Borne Diseases* 6: 356–363. doi:10.1016/j.ttbdis.2015.02.010 .
6. Pet'ko B., Siuda K., Stanko M., Tresová G., Karbowski G., Fricova J. 1997. *Borrelia burgdorferi* sensu lato in the *Ixodes ricinus* ticks in southern Poland. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine* 4: 263–269.
7. Stańczak J., Racewicz M., Kubica-Biernat B., Kruminis-Lozowska W., Dabrowski J., Adamczyk A., Markowska M. 1999. Prevalence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in *Ixodes ricinus* ticks [Acari, Ixodidae] in different Polish woodlands. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine* 6: 127–132.

8. Pet'ko B. 2002. Lyme borreliosis in Carpathian region of Central Europe – ecological aspect of diagnostics. In: *Stawonogi w medycynie*. (Eds. A. Buczek, C. Błaszak). Koliber, Lublin, Poland: 93–104.
9. Drelich A., Andreassen Å., Vainio K., Kruszyński P., Wąsik T.J. 2014. Prevalence of tick-borne encephalitis virus in a highly urbanized and low risk area in Southern Poland. *Ticks and Tick-Borne Diseases* 5: 663–667. doi:10.1016/j.ttbdis.2014.04.020.
10. Strzelczyk J.K., Wiczowski A., Spausta G., Ciarkowska J., Ziob-Zalewska M., Izdebska-Straszak G. 2006. Obecność krętków *Borrelia burgdorferi* sensu lato u kleszczy *Ixodes ricinus* na terenach rekreacyjnych okolic Tarnowskich Gór i Zabrze w latach 2001–2003. *Przeegląd Epidemiologiczny* 60: 589–595.
11. Strzelczyk J.K., Wiczowski A., Kwaśniewski M., Strzelczyk J., Gawron K., Adamek B., Spausta G. 2006. Prevalence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato genospecies in *Ixodes ricinus* ticks from recreational areas of Silesia. *Advances in Clinical and Experimental Medicine* 15: 1003–1008.
12. Asman M., Solarz K., Cuber P., Gąsior T., Szilman P., Szilman E., Tondaś E., Matzullok A., Kusion N., Florek K. 2015. Detection of protozoans *Babesia microti* and *Toxoplasma gondii* and their co-existence in ticks (Acari: Ixodida) collected in Tarnogórski district (Upper Silesia, Poland). *Annals of Agricultural and Environmental Medicine* 22: 80–83.
doi:10.5604/12321966.1141373
13. Strzelczyk J.K., Gaździcka J., Cuber P., Asman M., Trapp G., Gołąbek K., Zalewska-Ziob M., Nowak-Chmura M., Siuda K., Wiczowski A., Solarz K. 2015. Prevalence of *Borrelia*

- burgdorferi* sensu lato in *Ixodes ricinus* ticks collected from southern Poland. *Acta Parasitologica* 60: 666–674. doi:10.1515/ap-2015-0095
14. Cuber P., Asman M., Solarz K., Szilman E., Szilman P. 2010. Pierwsze stwierdzenia obecności wybranych patogenów chorób transmisyjnych w kleszczach *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae) zebranych w okolicach zbiorników wodnych w Rogoźniku (województwo śląskie). In: *Arthropods. Ecological and pathological aspects of parasite-host relationships*. (Eds. A. Buczek, C. Błaszak). Koliber, Lublin, Poland: 93–104.
 15. Cuber P., Asman M., Solarz K., Szilman E., Szilman P. 2011. The prevalence of *Anaplasma phagocytophilum* and *Babesia* sp. in ticks (Acari, Ixodida) collected from recreational areas of Silesian Province. In: *Arthropods. Human and animal parasites*. (Eds. A. Buczek, Cz. Błaszak). Akapit, Lublin, Poland: 105–114.
 16. Asman M., Solarz K., Szilman E., Szilman P., Sikora B., Jakubas-Zawalska J. 2018. The occurrence of three tick-borne pathogens in *Ixodes ricinus* ticks collected from the area of the Kraków-Częstochowa Upland (Southern Poland). *Acarologia* 58: 969–975. doi:10.24349/acarologia/20184301.
 17. Asman M., Gąsior T., Jacek E., Cuber P., Solarz K. 2012. Isolation of rickettsiae *Anaplasma phagocytophilum* and protozoans *Babesia* sp. in castor bean ticks (*Ixodes ricinus*) collected from patients of public health centres on the territory of Upper Silesia. In: *Arthropods. The medical and economic importance*. (Eds. A. Buczek, C. Błaszak). Akapit, Lublin, Poland: 171–180.

18. Siński E., Karbowski G., Siuda K., Buczek A., Jongejan F. 1994. *Borrelia burgdorferi* infection of ticks in some regions of Poland. *Przegląd Epidemiologiczny* 48: 461–465.
19. Siuda K., Pet'ko B., Stanko M., Karbowski K. 2002. The distribution of the ticks *Ixodes ricinus* (Linnaeus, 1758) (Acari: Ixodida: Ixodidae) on the area of Kraków. In: *Postępy polskiej akarologii*. (Ed. S. Ignatowicz). SGGW, Warszawa, Poland: 119–130.
20. Asman M., Nowak M., Cuber P., Strzelczyk J., Szilman E., Szilman P., Trapp G., Siuda K., Solarz K., Wiczowski A. 2013. The risk of exposure to *Anaplasma phagocytophilum*, *Borrelia burgdorferi* sensu lato, *Babesia* sp. and co-infections in *Ixodes ricinus* ticks on the territory of Niepołomice Forest (southern Poland). *Annals of Parasitology* 59.
21. Siuda K., Nowak M. 2006. Zagrożenie atakami kleszczy na szlakach turystycznych w województwie małopolskim. *Konspekt* 2–3: 42–48.
22. Siuda K., Solarz K., Deryło A., Buczek A., Sadowski T., Kwiatkowski S. 1992. Studies on ticks (Acari: Ixodida) from the Krakow-Czestochowa Upland with particular consideration of the occurrence and quantity of the population of *Ixodes ricinus* (L.) (Ixodidae) on the territories affected at various stages of antropopressure. *Prądnik, Prace Muzeum Szafera* 5: 235–245.
23. Siuda K., Nowak M., Urbanowicz A. 2001. Rytm sezonowej aktywności kleszcza pospolitego *Ixodes ricinus* (Linnaeus, 1758) (Acari: Ixodida) w okolicy Skały Kmity koło Krakowa. In: *Materiały Konferencji Badania Naukowe w południowej części Wyżyny Krakowsko-Częstochowskiej*. (Ed. J. Partyka). Ojcowski Park Narodowy, Ojców, Poland: 299–301.

24. Siuda K., Ślusarczyk J., Nowak M. 2001. Rozprzestrzenienie kleszcza *Ixodes ricinus* (Linnaeus, 1758) (Acari: Ixodida: Ixodidae) na terenie Garbu Tenczyńskiego. In: *Materiały Konferencji Badania Naukowe w południowej części Wyżyny Krakowsko-Częstochowskiej*. (Ed. J. Partyka). Ojcowski Park Narodowy, Ojców, Poland: 295–298.
25. Siuda K., Nowak M., Grycz K., Solarz K. 2004. Stan wiadomości nad rozprzestrzenieniem *Ixodes ricinus* (Linnaeus, 1758) (Acari: Ixodida: Ixodidae) na terenie województwa małopolskiego. In: *Zróżnicowanie i przemiany środowiska przyrodniczo-kulturowego Wyżyny Krakowsko-Częstochowskiej*. (Ed. J. Partyka). Ojcowski Park Narodowy, Ojców, Poland. Volume 1: 295–301.
26. Nowak M., Siuda K. 2009. Kleszcze. In: *Magurski Park Narodowy – Monografia przyrodnicza*. (Eds. A. Górecki, B. Zemanek). Oficyna Wydawnicza Text, Kraków, Poland: 177–180.
27. Asman M., Witecka J., Solarz K., Zwonik A., Szilman P. 2019. Occurrence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato, *Anaplasma phagocytophilum* and *Babesia microti* in *Ixodes ricinus* ticks collected from selected areas of Opolskie Province in south-west Poland. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine* 26: 544–547. doi:10.26444/aaem/110214.
28. Tylewska-Wierzbanowska S., Kruszewska D., Chmielewski T., Żukowski K., Żabicka J. 1996. Kleszcze jako rezerwuar *Borrelia burgdorferi* i *Coxiella burnetii* na terenie Polski. *Przegląd Epidemiologiczny* 50: 245–251.
29. Bartosik K., Lachowska-Kotowska P., Szymańska J., Pabis A., Buczek A. 2011. Lyme borreliosis in south-eastern Poland: relationships with environmental factors and medical attention standards. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine* 18: 131–137.

30. Bartosik K., Szymańska J., Buczek A. 2011. Risk to human health posed by *Ixodes ricinus* ticks in relation to diagnostic and therapeutic possibilities in south-eastern Poland. *Zdrowie Publiczne* 121: 263–266.
31. Nowak-Chmura M. 2013. *Fauna of ticks (Ixodida) of Central Europe*. Wydawnictwo Naukowe Uniwersytetu Pedagogicznego, Kraków, Poland.
32. Rubel F., Brugger K., Pfeiffer M., Chitimia-Dobler L., Didyk Y.M., Leverenz S., Dautel H., Kahl O. 2016. Geographical distribution of *Dermacentor marginatus* and *Dermacentor reticulatus* in Europe. *Ticks and Tick-Borne Diseases* 7: 224–233.
doi:10.1016/j.ttbdis.2015.10.015.
33. Asman M., Bartosik K., Jakubas-Zawalska J., Świętek A., Witecka J. 2024. A new endemic locality of *Dermacentor reticulatus* in central–southern Poland and its potential epidemiological implications. *Insects* 15: 580. doi:10.3390/insects15080580.
34. Mierzejewska E.J., Estrada-Peña A., Alsarraf M., Kowalec M., Bajer A. 2016. Mapping of *Dermacentor reticulatus* expansion in Poland in 2012–2014. *Ticks and Tick-Borne Diseases* 7: 94–106. doi:10.1016/j.ttbdis.2015.09.003.
35. Zając Z., Kulisz J., Woźniak A., Obregón D., Foucault-Simonin A., Bartosik K., Moutailler S., Cabezas-Cruz A. 2024. Spatial distribution and pathogen profile of *Dermacentor reticulatus* ticks in southeastern Poland: a genetic and environmental analysis. *Transboundary and Emerging Diseases* 1: 5458278. doi:10.1155/2024/5458278.

36. Zając Z., Woźniak A., Kulisz J., Foucault-Simonin A., Obregón D., Moutailler S., Bartosik K., Cabezas-Cruz A. 2025. High prevalence of *Rickettsia* spp. among moderately dense population of *Dermacentor reticulatus* ticks in south-central Poland. *Medical and Veterinary Entomology* 39. doi:10.1111/mve.12817.
37. Asman M., Gąsior T., Pająk C., Cuber P., Szilman P., Szilman E., Solarz K. 2012. Occupational risk of infections with *Borrelia burgdorferi* sensu lato, *B. burgdorferi* sensu stricto, *B. garinii* and *B. afzelii* in agricultural workers on the territory of Beskid Żywiecki (South Poland). In: *Stawonogi. Znaczenie medyczne i gospodarcze*. (Eds. A. Buczek, C. Błaszak). Koliber, Lublin, Poland: 163–170.
38. Asman M., Pindel Ł., Solarz K. 2014. Ryzyko narażenia zawodowego na krętki *Borrelia burgdorferi* sensu lato, riketsje *Anaplasma phagocytophilum* i pierwotniaki *Babesia microti* na terenie Żywieckiego Parku Krajobrazowego. In: *Stawonogi. Zagrożenie zdrowia człowieka i zwierząt*. (Eds. A. Buczek, C. Błaszak). Koliber, Lublin, Poland: 153–162.
39. Kocoń A., Nowak-Chmura M. 2016. The treatment of attacks by the ticks *Ixodes ricinus* in the selected areas in Żywiec and Silesian Beskids (Silesian province – southern Poland). *Annales Universitatis Paedagogicae Cracoviensis Studia Naturae* 1: 55–67.
40. Solarz K., Piec M., Batoryna O., Kwiecień W., Szilman P. 2007. Liczebność kleszczy *Ixodes ricinus* L. (Acari: Ixodida: Ixodidae) na terenie Ojcowskiego Parku Narodowego. *Prądnik, Prace Muzeum Szafera* 17: 113–120.
41. Siuda K. 1990. Dotychczasowy stan badań nad kleszczami (Acari: Ixodida) Ojcowskiego Parku Narodowego. *Prądnik, Prace Muzeum Szafera* 1: 45–47.

42. Siuda K., Buczek A., Solarz K., Deryło A., Sadowski T., Kwiatkowski S., Horak B., Procyk A. 1991. Wstępne badania nad występowaniem *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodida: Ixodidae) na obszarach Jury Krakowsko-Częstochowskiej w różnym stopniu zmienionych antropopresją. *Wiadomości Parazytologiczne* 37: 17–20.
43. Solarz K., Asman M., Cuber P., Gomółka P., Komosińska B., Nazarkiewicz M. 2009. Liczebność kleszcza *Ixodes ricinus* L. (Acari: Ixodida: Ixodidae) w dolinie Zachwytu (Ojcowski Park Narodowy) w okresie jesiennego szczytu aktywności. *Wiadomości Parazytologiczne* 55: 39–45.
44. Siuda K. 1991. *Kleszcze (Acari: Ixodida) Polski. Cz. I. Zagadnienia ogólne*. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa–Wrocław, Poland.
45. Koczanowicz S., Nowak-Chmura M. 2021. Exposition to ticks in the Poprad Landscape Park – short faunistic note. *Annales Universitatis Paedagogicae Cracoviensis Studia Naturae* 6: 149–156.
46. Koczanowicz S., Nowak-Chmura M., Witecka J., Rączka G., Asman M. 2024. The potential risk of human exposure to tick-borne infection by *Borrelia burgdorferi* sensu lato, *Anaplasma phagocytophilum*, and *Babesia microti* in selected recreational areas of the Poprad Landscape Park in southern Poland. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine* 31: 345–350.
47. Koczanowicz S., Nowak-Chmura M., Kocoń A., Rączka G., Asman M. 2025. The occurrence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in *Ixodes ricinus* ticks collected from nature-educational and tourist trails in the Poprad Landscape Park. *Pathogens* 14: 117. doi:10.3390/pathogens14020117.

48. Nowak M., Siuda K., Solarz K., Góra A., Cuber P. 2009. A risk of infection with ticks of *Ixodes ricinus* (Linnaeus, 1758) species (Acari: Ixodidae) in south-eastern Poland depending on the daily and seasonal rhythm. In: *Arthropods. Invasions and their control.* (Eds. A. Buczek, Cz. Błaszak). Akapit, Lublin, Poland: 31–44.
49. Nowak-Chmura M., Siuda K. 2011. Rozmieszczenie *Ixodes ricinus* (Linnaeus, 1758) na terenie Bieszczadzkiego Parku Narodowego. In: *Materiały Konferencyjne XXXII Sympozjum Akarologiczne.* Tomaszowice k/Krakowa, Poland: 47.
50. Siuda K., Sebesta R., Dańczak A., Ślusarczyk J., Orzechowska K., Nowak M., Urbanowicz A., Radwan E. 2000. Zagrożenie atakami kleszczy (Acari: Ixodida: Ixodidae) na szlakach turystycznych i terenach rekreacyjnych południowo-wschodniej Polski. In: *Streszczenie Materiałów Konferencji Medycyna Podróży.* Białystok, Poland: 98–99.
51. Siuda K., Stanko M., Piksa K., Górz A. 2009. Ticks (Acari: Ixodida) parasitizing bats in Poland and Slovakia. *Wiadomości Parazytologiczne* 55: 39–45.
52. Piksa K., Górz A., Nowak-Chmura M., Siuda K. 2013. Mass occurrence of *Ixodes vespertilionis* (Acari: Ixodidae) in caves, on bats roosting in caves and in nursery colony. *International Journal of Acarology* 39: 257–262. doi:10.1080/01647954.2012.762041.
53. Siuda K. 1982. Zróżnicowanie morfologiczne nimf *Argas (Argas) polonicus* Siuda, Hoogstraal, Clifford et Wassef, 1979 (Acarina: Ixodides: Argasidae). *Wiadomości Parazytologiczne* 27: 51–55.
54. Siuda K. 1984. Stan wiadomości nad rozmieszczeniem w Polsce obrzeżków z rodzaju *Argas* (Acarina: Ixodides: Argasidae). *Wiadomości Parazytologiczne* 5–6: 595–601.

55. Grzybek A., Dzikowski A., Stefańska E. 1973. *Argas reflexus* w Zabrze. In: *Materiały XI Zjazdu PTP*. Poznań, Poland: 53.
56. Siński E., Karbowski G., Siuda K., Buczek A., Jongejan F. 1994. *Borrelia burgdorferi* infection of ticks in some regions of Poland. *Przegląd Epidemiologiczny* 48: 461–465.
57. Buczek A., Bartosik K., Kulina D., Raszewska-Famielec M., Borzęcki A. 2018. Skin lesions in humans bitten by European pigeon tick *Argas reflexus* (Fab.) (Ixodida: Argasidae) massively occurring in the Upper Silesian conurbation of south-west Poland. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine* 25: 234–240. doi:10.26444/aaem/74137.
58. Gąsiorowski J., Witecka-Knysz E., Knysz B., Gerber H., Gładysz A. 2007. Diagnostics of Lyme disease. *Medycyna Pracy* 58: 439.
59. Steere A.C., Strle F., Wormser G.P., Hu L.T., Branda J.A., Hovius J.W., Li X., Mead P.S. 2016. Lyme borreliosis. *Nature Reviews Disease Primers* 2: 1–19. doi:10.1038/nrdp.2016.90.
60. Stanek G., Strle F. 2018. Lyme borreliosis – from tick bite to diagnosis and treatment. *FEMS Microbiology Reviews* 42: 233–258. doi:10.1093/femsre/fux047.
61. Zakład Epidemiologii Chorób Zakaźnych i Nadzoru. Pracownia Monitorowania i Analizy Sytuacji Epidemiologicznej. 2025. https://wwwold.pzh.gov.pl/oldpage/epimeld/index_p.html.
62. Dumler J.S. 1996. Human ehrlichiosis: clinical, laboratory, epidemiologic, and pathologic considerations. In: *Rickettsiae and Rickettsial Diseases*. (Eds. J. Kazar, R. Toman). Veda, Bratislava, Slovakia: 287–302.

63. Stuen S., Granquist E.G., Silaghi C. 2013. *Anaplasma phagocytophilum* - a widespread multi-host pathogen with highly adaptive strategies. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 3: 31. doi:10.3389/fcimb.2013.00031.
64. Albertyńska M., Rozwadowska B., Mendera-Bożek U., Jasik K.P., Słodki A., Słodki J., Cieślik-Tarkota R. 2016. Obecność *Borrelia burgdorferi* sensu lato, *Babesia microti*, *Anaplasma phagocytophilum*, *Ehrlichia chaffeensis*/*Ehrlichia muris* oraz wirusa kleszczowego zapalenia mózgu i opon mózgowych (TBEV) w kleszczach z terenu woj. śląskiego. In: *Stawonogi. Zależności w układzie żywiciel-ektopasożyt-patogen*. (Eds. A. Buczek, C. Błaszak). Koliber, Lublin, Poland: 67–73.
65. Gajda P., Rustecka A., Kalicki B. 2015. Babeszjoza człowieka – mało znana choroba odkleszczowa. *Pediatrics, Medycyna Rodzinna* 11: 75–82.
66. Kaiser R. 2016. Frühsommermeningoenzephalitis. *Der Nervenarzt* 87: 667–680. doi:10.1007/s00115-016-0134-9.
67. Johnson N., Migné C.V., Gonzalez G. 2023. Tick-borne encephalitis. *Current Opinion in Infectious Diseases* 36: 198–202. doi:10.3390/pathogens10091168.
68. Rozwadowska B., Albertyńska M., Hudzik G., Jasik K., Okła H., Dłodki A., Słodki J. 2014. Badania nad występowaniem *Borrelia burgdorferi* sensu lato, *Anaplasma phagocytophilum*, *Ehrlichia chaffeensis*/*E. muris* oraz wirusa kleszczowego zapalenia mózgu i opon mózgowych (TBEV) u kleszczy z terenu województwa śląskiego. In: *Stawonogi. Zagrożenie zdrowia człowieka i zwierząt*. (Eds. A. Buczek, Cz. Błaszak). Koliber, Lublin, Poland: 121–128.

69. Bartosik K., Lachowska-Kotowska P., Szymańska J., Wójcik-Fatla A., Pabis A., Buczek A. 2011. Environmental conditioning of incidence of tick-borne encephalitis in south-eastern Poland in 1996–2006. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine* 18: 119–126.
70. Zajkowska J., Waluk E., Świerzbńska R., Dunaj J., Zajkowska O., Wawrzuta D., Niścigorska-Olsen J., Matukiewicz M., Oczko-Grzesik B., Veltze D., Bernacka-Andrzejewska K., Burchart-Adamczyk K., Dutkiewicz E., Maciukajć J., Konieczny K., Malcher-Bober D., Dybowska D., Hapyn-Rocha M., Marsik-Styrkosz M., Kmak G., Bociaga-Jasik M., Byś-Chrzanowska M., Paradowska-Stankiewicz I. 2025. The impact of serological testing implementation on tick-borne encephalitis detection in Poland. *PLOS ONE* 20: e0323022. doi:10.1371/journal.pone.0323022.
71. Paddock C.D., Childs J.E. 2003. *Ehrlichia chaffeensis*: a prototypical emerging pathogen. *Clinical Microbiology Reviews* 16: 37–64. doi:10.1128/cmr.16.1.37-64.2003.
72. Rikihisa Y. 2015. Molecular pathogenesis of *Ehrlichia chaffeensis* infection. *Annual Review of Microbiology* 69: 283–304. doi:10.1146/annurev-micro-091014-104411
73. Johnson D.K.H., Schiffman E.K., Davis J.P., Neitzel D.F., Sloan L.M., Nicholson W.L., Fritsche T.R., Steward C.R., Ray J.A., Miller T.K., Feist M.A., Uphoff T.S., Franson J.J., Livermore A.L., Deedon A.K., Theel E.S., Priott B.S. 2015. Human infection with *Ehrlichia muris*-like pathogen, United States, 2007–2013. *Emerging Infectious Diseases* 21: 1794. doi:10.3201/eid2110.150143.
74. Walker D.H. 2007. Rickettsiae and rickettsial infections: the current state of knowledge. *Clinical Infectious Diseases* 45 (Suppl. 1): S39–S44.

75. Nilsson K., Elfving K., Pahlson C. 2010. *Rickettsia helvetica* in patient with meningitis, Sweden, 2006. *Emerging Infectious Diseases* 16: 490–492. doi:10.3201/eid1603.090184.
76. Buczek K., Koman-Izko A., Buczek Alicja M., Buczek A., Bartosik K., Kulina D., Ciura D. 2020. Spotted fever group rickettsiae transmitted by *Dermacentor* ticks and determinants of their spread in Europe. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine* 27(4): 505–511. doi.org/10.26444/aaem/120602.
77. Kochanowsky J.A., Koshy A.A. 2018. *Toxoplasma gondii*. *Current Biology* 28: R770–R771. doi:10.1016/j.cub.2018.05.035.
78. Ben-Harari R.R. 2019. Tick transmission of toxoplasmosis. *Expert Review of Anti-Infective Therapy* 17: 911–917. doi:10.1080/14787210.2019.1682550.
79. Skotarczak B. 2016. The role of ticks in transmission cycle of *Toxoplasma gondii*. *Annals of Parasitology* 62: 185–191. doi:10.17420/ap6203.52.
80. Chmielewski T., Sidi-Boumedine K., Duquesne V., Podsiadły E., Thiéry R., Tylewska-Wierzbanowska S. 2009. Molecular epidemiology of Q fever in Poland. *Polish Journal of Microbiology* 58: 9–13.
81. Angelakis E., Raoult D. 2010. Q fever. *Veterinary Microbiology* 140: 297–309. doi:10.1016/j.vetmic.2009.07.016.
82. Moutailler S., Valiente Moro C., Vaumourin E., Michelet L., Tran F.H., Devillers E., Cosson J.F., Gasqui P., Van V.T., Mavingui P., Voure'h G., Vayssier-Taussat M. 2016. Co-infection of ticks: the rule rather than the exception. *PLOS Neglected Tropical Diseases* 10: e0004539. doi:10.1371/journal.pntd.0004539.

83. Cutler S.J., Vayssier-Taussat M., Estrada-Peña A., Potkonjak A., Mihalca A.D., Zeller H.
2021. Tick-borne diseases and co-infection: current considerations. *Ticks and Tick-Borne Dis-*
eases 12: 101607. doi:10.1016/j.ttbdis.2020.101607.

10. Oświadczenia współautorów o wkładzie w powstanie publikacji

Sylvia Koczanowicz
Wydział Nauk Ścisłych i Przyrodniczych
Instytut Biologii i Nauk o Ziemi
Katedra Zoologii
Uniwersytet Komisji Edukacji Narodowej w Krakowie
ul. Podchorążych 2
30-084 Kraków
e-mail: sylvia.koczanowicz@doktorant.uken.krakow.pl

Oświadczenie współautora o wkładzie w powstanie artykułów

Niniejszym oświadczam, że mój wkład jako współautora w powstanie poniższych artykułów był następujący:

1. **Koczanowicz S.**, Nowak-Chmura M., Witecka J., Rączka G., Asman M. 2024. The potential risk of human exposure to tick-borne infection by *Borrelia burgdorferi* sensu lato, *Anaplasma phagocytophilum*, and *Babesia microti* in selected recreational areas of the Poprad Landscape Park in southern Poland. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*. 31(3):345–350. <https://doi.org/10.26444/aaem/186025>

Mój wkład polegał na zaplanowaniu badań, zebraniu materiału badawczego, identyfikacji zebranego materiału, współudziale w wykonaniu badań molekularnych, opracowaniu i analizie danych, przygotowaniu zdjęć, tabel i rycin, interpretacji wyników, napisaniu manuskryptu oraz pełnieniu roli autora korespondencyjnego. Mój całkowity wkład w pracę wynosi 50%.

2. **Koczanowicz S.**, Nowak-Chmura M., Kocoń A., Rączka G., Asman M. 2025. The occurrence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in *Ixodes ricinus* ticks collected from nature-educational and tourist trails in the Poprad Landscape Park. *Pathogens*. 14(2):117. <https://doi.org/10.3390/pathogens14020117>

Mój wkład polegał na zaplanowaniu badań, zebraniu i identyfikacji materiału badawczego, współudziale w wykonaniu badań molekularnych, opracowaniu i analizie danych, przygotowaniu zdjęć i rycin, interpretacji wyników, napisaniu manuskryptu oraz pełnieniu roli autora korespondencyjnego. Mój całkowity wkład w pracę wynosi 50%.

3. **Koczanowicz S.**, Nowak-Chmura M., Hudy D., Baranowska K., Asman M. 2025. Assessment of the frequency of IgM and IgG antibodies against *Borrelia burgdorferi* sensu lato in the serum of residents from the Poprad Landscape Park region (southern Poland). *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*. <https://doi.org/10.26444/aaem/208153>

Mój wkład polegał na zaplanowaniu badań, uzyskaniu opinii komisji bioetycznej na przeprowadzenie badań, nawiązaniu współpracy z laboratorium diagnostycznym, przygotowaniu ankiet, pozyskaniu materiału do badań, współudziale w wykonaniu badań serologicznych, opracowaniu i analizie danych z badań serologicznych i ankietowych, interpretacji wyników, napisaniu manuskryptu oraz pełnieniu roli autora korespondencyjnego. Mój całkowity wkład w pracę wynosi 50%.

4. **Koczanowicz S.**, Kocoń A., Asman M., Nowak-Chmura M. 2026. Tourist attractions of southern Poland - risk of tick infestation and exposure to tick-borne diseases. *Annals of Parasitology*. Praca przyjęta do druku, w trakcie procesu wydawniczego.

Mój wkład polegał na zgromadzeniu i przeglądzie literatury przedmiotu, analizie danych literaturowych, napisaniu manuskryptu oraz pełnieniu roli autora korespondencyjnego. Mój całkowity wkład w pracę wynosi 45%.

24.02.2026 Sylvia Koczanowicz
(data i podpis)

dr hab. Magdalena Nowak-Chmura, prof. UKEN
Wydział Nauk Ścisłych i Przyrodniczych
Instytut Biologii i Nauk o Ziemi
Katedra Zoologii
Uniwersytet Komisji Edukacji Narodowej w Krakowie
ul. Podchorążych 2
30-084 Kraków
e-mail: magdalena.nowak-chmura@uken.krakow.pl

Oświadczenie współautora o wkładzie w powstanie artykułów

Niniejszym oświadczam, że mój wkład jako współautora w powstanie poniższych artykułów był następujący:

1. Koczanowicz S., **Nowak-Chmura M.**, Witecka J., Rączka G., Asman M. 2024. The potential risk of human exposure to tick-borne infection by *Borrelia burgdorferi* sensu lato, *Anaplasma phagocytophilum*, and *Babesia microti* in selected recreational areas of the Poprad Landscape Park in southern Poland. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*. 31(3):345–350.
<https://doi.org/10.26444/aaem/186025>

Mój wkład polegał na opracowaniu koncepcji pracy, krytycznej rewizji manuskryptu, nadzorze nad projektem badawczym oraz nadzorze merytorycznym nad realizacją badań. Mój całkowity wkład w pracę wynosi **15%**.

2. Koczanowicz S., **Nowak-Chmura M.**, Kocoń A., Rączka G., Asman M. 2025. The occurrence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in *Ixodes ricinus* ticks collected from nature-educational and tourist trails in the Poprad Landscape Park. *Pathogens*. 14(2):117. <https://doi.org/10.3390/pathogens14020117>

Mój wkład polegał na współdziałaniu w opracowaniu koncepcji pracy, krytycznej rewizji manuskryptu, nadzorze nad projektem badawczym oraz nadzorze merytorycznym nad realizacją badań. Mój całkowity wkład w pracę wynosi **15%**.

3. Koczanowicz S., **Nowak-Chmura M.**, Hudy D., Baranowska K., Asman M. 2025. Assessment of the frequency of IgM and IgG antibodies against *Borrelia burgdorferi* sensu lato in the serum of residents

from the Poprad Landscape Park region (southern Poland). *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*. <https://doi.org/10.26444/aaem/208153>

Mój wkład polegał na opracowaniu koncepcji pracy, krytycznej rewizji manuskryptu, nadzorze nad projektem badawczym oraz sprawowaniu nadzoru merytorycznego nad przebiegiem badań. Mój całkowity wkład w pracę wynosi **15%**.

4. Koczanowicz S., Kocoń A., Asman M., **Nowak-Chmura M.** 2026. Tourist attractions of southern Poland - risk of tick infestation and exposure to tick-borne diseases. *Annals of Parasitology*. Praca przyjęta do druku, w trakcie procesu wydawniczego.

Mój wkład polegał na opracowaniu koncepcji pracy, krytycznej rewizji manuskryptu, nadzorze nad projektem badawczym oraz nadzorze merytorycznym nad realizacją badań. Mój całkowity wkład w pracę wynosi **15%**.

23.02.2026 *Nowak-Chmura*

(data i podpis)

dr hab. n. med. Marek Asman, prof. ŚUM
Katedra i Zakład Biologii Medycznej i Molekularnej
Wydział Nauk Medycznych w Zabrze
Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach
ul. Jordana 19
41-800 Zabrze
e-mail: masman@sum.edu.pl

Oświadczenie współautora o wkładzie w powstanie artykułów

Niniejszym oświadczam, że mój wkład jako współautora w powstanie poniższych artykułów był następujący:

1. Koczanowicz S., Nowak-Chmura M., Witecka J., Rączka G., **Asman M.** 2024. The potential risk of human exposure to tick-borne infection by *Borrelia burgdorferi* sensu lato, *Anaplasma phagocytophilum*, and *Babesia microti* in selected recreational areas of the Poprad Landscape Park in southern Poland. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*. 31(3):345–350.
<https://doi.org/10.26444/aaem/186025>

Mój wkład polegał na nadzorze merytorycznym nad realizacją badań, przeprowadzeniu badań molekularnych, doborze metodologii badawczej oraz krytycznej rewizji manuskryptu. Mój całkowity wkład w pracę wynosi 15%.

2. Koczanowicz S., Nowak-Chmura M., Koczeń A., Rączka G., **Asman M.** 2025. The occurrence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in *Ixodes ricinus* ticks collected from nature-educational and tourist trails in the Poprad Landscape Park. *Pathogens*. 14(2):117. <https://doi.org/10.3390/pathogens14020117>

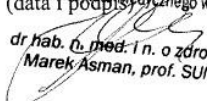
Mój wkład polegał na nadzorze merytorycznym nad realizacją badań, przeprowadzeniu badań molekularnych, doborze metodologii oraz krytycznej rewizji manuskryptu. Mój całkowity wkład w pracę wynosi 15%.

3. Koczanowicz S., Nowak-Chmura M., Hudy D., Baranowska K., **Asman M.** 2025. Assessment of the frequency of IgM and IgG antibodies against *Borrelia burgdorferi* sensu lato in the serum of residents from the Poprad Landscape Park region (southern Poland). *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*. <https://doi.org/10.26444/aaem/208153>

Mój wkład polegał na nadzorze merytorycznym nad realizacją badań, przeprowadzeniu badań molekularnych, doborze metodologii badawczej oraz krytycznej rewizji manuskryptu. Mój całkowity wkład w pracę wynosi 15%.

4. Koczanowicz S., Kocoń A., **Asman M.**, Nowak-Chmura M. 2026. Tourist attractions of southern Poland - risk of tick infestation and exposure to tick-borne diseases. *Annals of Parasitology*. Praca przyjęta do druku, w trakcie procesu wydawniczego.

Mój wkład polegał na współautorstwie manuskryptu, analizie i redakcji tekstu oraz nadzorze merytorycznym nad jego ostateczną wersją. Mój całkowity wkład w pracę wynosi 10%.

24.07.2026
Profesor SUM, Badawczo-Dydaktyczny
Katedry i Zakładu Biologii Medycznej i Molekularnej
Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach
(data i podpis)

dr hab. n. med. i n. o zdrowiu
Marek Asman, prof. SUM

dr n. biol. Anna Kocoń
Katedra i Zakład Biologii Medycznej i Molekularnej
Wydział Nauk Medycznych w Zabrze
Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach
ul. Jordana 19
41-800 Zabrze
e-mail: anna.kocon@sum.edu.pl

Oświadczenie współautora o wkładzie w powstanie artykułów

Niniejszym oświadczam, że mój wkład jako współautora w powstanie poniższych artykułów był następujący:

1. Koczanowicz S., Nowak-Chmura M., **Kocoń A.**, Rączka G., Asman M. 2025. The occurrence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in *Ixodes ricinus* ticks collected from nature-educational and tourist trails in the Poprad Landscape Park. *Pathogens*. 14(2):117. <https://doi.org/10.3390/pathogens14020117>

Mój wkład polegał na przeprowadzeniu badań molekularnych oraz współautorstwie manuskryptu. Mój całkowity wkład w pracę wynosi 10%.

2. Koczanowicz S., **Kocoń A.**, Asman M., Nowak-Chmura M. 2026. Tourist attractions of southern Poland - risk of tick infestation and exposure to tick-borne diseases. *Annals of Parasitology*. Praca przyjęta do druku, w trakcie procesu wydawniczego.

Mój wkład polegał na przeglądzie literatury przedmiotu, analizie danych literaturowych, opracowaniu, analizie i redakcji tekstu manuskryptu, przygotowaniu tabel i rycin oraz udziale w pracach nad jego ostateczną wersją. Mój całkowity wkład w pracę wynosi 30%.

24.02.2026 Kocoń Anna

(data i podpis)

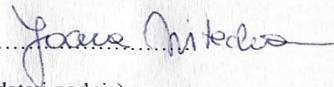
dr n. farm. Joanna Witecka
Katedra i Zakład Mikrobiologii
Wydział Nauk Farmaceutycznych w Sosnowcu
Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach
41-200 Sosnowiec
ul. Jedności 8
e-mail: jwitecka@sum.edu.pl

Oświadczenie współautora o wkładzie w powstanie artykułów

Niniejszym oświadczam, że mój wkład jako współautora w powstanie poniższych artykułów był następujący:

1. Koczanowicz S., Nowak-Chmura M., **Witecka J.**, Rączka G., Asman M. 2024. The potential risk of human exposure to tick-borne infection by *Borrelia burgdorferi* sensu lato, *Anaplasma phagocytophilum*, and *Babesia microti* in selected recreational areas of the Poprad Landscape Park in southern Poland. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*. 31(3):345–350.
<https://doi.org/10.26444/aaem/186025>

Mój wkład polegał na przeprowadzeniu badań molekularnych oraz udziale w rewizji manuskryptu.
Mój całkowity wkład w pracę wynosi 10%.

12.11.2024 
(data i podpis)

dr inż. Grzegorz Rączka
Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu
Wydział Leśny i Technologii Drewna
Katedra Użytkowania Lasu
ul. Wojska Polskiego 71C
60-625 Poznań
e-mail: grzegorz.raczka@up.poznan.pl

Oświadczenie współautora o wkładzie w powstanie artykułów

Niniejszym oświadczam, że mój wkład jako współautora w powstanie poniższych artykułów był następujący:

1. Koczanowicz S., Nowak-Chmura M., Witecka J., **Rączka G.**, Asman M. 2024. The potential risk of human exposure to tick-borne infection by *Borrelia burgdorferi* sensu lato, *Anaplasma phagocytophilum*, and *Babesia microti* in selected recreational areas of the Poprad Landscape Park in southern Poland. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*. 31(3):345–350. <https://doi.org/10.26444/aaem/186025>

Mój wkład polegał na przeprowadzeniu analiz statystycznych z wykorzystaniem testu chi-kwadrat (χ^2) oraz testu chi-kwadrat z poprawką Yatesa. Analizy wykonano w programie STATISTICA. Przygotowałem również tabele prezentujące wyniki analiz. Mój całkowity wkład w pracę wynosi 10%.

2. Koczanowicz S., Nowak-Chmura M., Kocoń A., **Rączka G.**, Asman M. 2025. The occurrence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in *Ixodes ricinus* ticks collected from nature-educational and tourist trails in the Poprad Landscape Park. *Pathogens*. 14(2):117. <https://doi.org/10.3390/pathogens14020117>

Mój wkład polegał na przeprowadzeniu analiz statystycznych z wykorzystaniem testu chi-kwadrat (χ^2). Analizy wykonano w programie STATISTICA. Przygotowałem również tabele prezentujące wyniki analiz. Mój całkowity wkład w pracę wynosi 10%.

10 II 2026 

(data i podpis)

dr inż. Dorota Hudy
Katedra i Zakład Biologii Medycznej i Molekularnej
Wydział Nauk Medycznych w Zabrze
Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach
ul. Jordana 19
41-800 Zabrze
e-mail: dorota.hudy@sum.edu.pl

Oświadczenie współautora o wkładzie w powstanie artykułów

Niniejszym oświadczam, że mój wkład jako współautora w powstanie poniższych artykułów był następujący:

I. Koczanowicz S., Nowak-Chmura M., **Hudy D.**, Baranowska K., Asman M. 2025. Assessment of the frequency of IgM and IgG antibodies against *Borrelia burgdorferi* sensu lato in the serum of residents from the Poprad Landscape Park region (southern Poland). *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*. <https://doi.org/10.26444/aaem/208153>

Mój wkład polegał na opracowaniu i przeprowadzeniu analiz statystycznych z zastosowaniem testu chi-kwadrat (χ^2) oraz korekty Bonferroniego. Analizy statystyczne przeprowadzono w programie STATISTICA. Przygotowałam również tabele prezentujące wyniki analiz. Mój całkowity wkład w pracę wynosi 15%.

10.02.2026 Dorota Hudy

(data i podpis)

Mgr Karolina Baranowska

Wydział Nauk Ścisłych i Przyrodniczych

Instytut Biologii i Nauk o Ziemi

Katedra Zoologii

Uniwersytet Komisji Edukacji Narodowej w Krakowie

ul. Podchorążych 2

30-084 Kraków

Oświadczenie współautora o wkładzie w powstanie artykułów

Niniejszym oświadczam, że mój wkład jako współautora w powstanie poniższych artykułów był następujący:

1. Koczanowicz S., Nowak-Chmura M., Hudy D., **Baranowska K.**, Asman M. 2025. Assessment of the frequency of IgM and IgG antibodies against *Borrelia burgdorferi* sensu lato in the serum of residents from the Poprad Landscape Park region (southern Poland). *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*. <https://doi.org/10.26444/aaem/208153>

Mój wkład obejmował opracowanie i korektę bibliografii oraz wsparcie procesu redakcyjnego manuskryptu. Mój całkowity wkład w pracę wynosi 5%.

10.02.2026r. Karoline
Baranowska

(data i podpis)

11. Krótka charakterystyka dorobku naukowego

Wykształcenie:

- 2015 - 2017 Uniwersytet Pedagogiczny im. Komisji Edukacji Narodowej w Krakowie (obecnie Uniwersytet Komisji Edukacji Narodowej w Krakowie), Wydział Geograficzno-Biologiczny, kierunek: biologia, specjalność: biologia z nauczaniem przyrody, tytuł pracy licencyjnej: „Epidemiologia chorób pasożytniczych w Krakowie i powiecie krakowskim w latach 2014-2016”, promotor pracy: dr hab. prof. UKEN Magdalena Nowak-Chmura
- 2017 - 2019 Uniwersytet Pedagogiczny im. Komisji Edukacji Narodowej w Krakowie (obecnie Uniwersytet Komisji Edukacji Narodowej w Krakowie), Wydział Geograficzno-Biologiczny, kierunek: biologia, specjalność: biologia eksperymentalna i środowiskowa, tytuł pracy magisterskiej: „Ryzyko ekspozycji na kleszcze i choroby odkleszczowe w Barcicach i Barcicach Dolnych (woj. małopolskie)”, promotor pracy: dr hab. prof. UKEN Magdalena Nowak-Chmura
- 2020 - obecnie: Szkoła Doktorska Uniwersytetu Komisji Edukacji Narodowej w Krakowie, Katedra Zoologii, Instytut Biologii i Nauk o Ziemi
- 2025 - obecnie: Akademia Leona Koźmińskiego, Warszawa, Prowadzenie i monitorowanie badań klinicznych

Artykuły naukowe:

Wchodzące w skład rozprawy doktorskiej:

1. Koczanowicz S., Nowak-Chmura M., Witecka J., Rączka G., Asman M. 2024. The potential risk of human exposure to tick-borne infection by *Borrelia burgdorferi* sensu lato, *Anaplasma phagocytophilum*, and *Babesia microti* in selected recreational areas of the Poprad Landscape Park in southern Poland. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*. 31(3):345-350.
<https://doi.org/10.26444/aaem/186025>
IF = 1.3, MNiSW = 100
2. Koczanowicz S., Nowak-Chmura M., Kocoń A., Rączka G., Asman M. 2025. The occurrence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in *Ixodes ricinus* ticks collected from nature-educational and tourist trails in the Poprad Landscape Park. *Pathogens*. 14(2):117. <https://doi.org/10.3390/pathogens14020117>
IF = 3.3, MNiSW = 100

3. Koczanowicz S., Nowak-Chmura M., Hudy D., Baranowska K., Asman M. 2025. Assessment of the frequency of IgM and IgG antibodies against *Borrelia burgdorferi* sensu lato in the serum of residents from the Poprad Landscape Park region (southern Poland). *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*. <https://doi.org/10.26444/aaem/208153>
IF = 1.3, MNiSW = 100
4. Koczanowicz S., Kocoń A., Asman M., Nowak-Chmura M. 2026. Tourist attractions of southern Poland - risk of tick infestation and exposure to tick-borne diseases. *Annals of Parasitology*. Praca przyjęta do druku, w trakcie procesu wydawniczego.
MNiSW = 40

Nie wchodzące w skład rozprawy doktorskiej:

1. Izdebska A.M., Kłysz M., Nowak-Chmura M., Koczanowicz S. 2023. Lower dose of plant substance more effective in repelling *Rhyzopertha dominica* F. (Coleoptera, Bostrichidae) and *Sitophilus granarius* L. (Coleoptera, Dryophthoridae). *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*. 30(3):407-412.
<https://doi.org/10.26444/aaem/163326>
IF = 1.3, MNiSW = 140
2. Koczanowicz S., Nowak-Chmura M. 2021. Exposition to ticks in the Poprad Landscape Park-short faunistic note. *Annales Universitatis Paedagogicae Cracoviensis Studia Naturae*. 6:149-156.
MNiSW = 20
3. Kocoń A., Janiczek S., Malejky-Kłusek N. 2019. Methods of protection against ticks (Acari: Ixodida). *Annales Universitatis Paedagogicae Cracoviensis Studia Naturae*. 4:161-169.
MNiSW = 20

Rozdziały w monografiach:

1. Koczanowicz S., Kocoń A., Nowak-Chmura M. 2020. Ścieżka przyrodnicza "Rogasiowy Szlak" w Popradzkim Parku Krajobrazowym - pilotażowe badania narażenia na ataki kleszczy najmłodszych turystów. W: *Stawonogi pasożytnicze i alergenne*. T. 3 (red. Buczek A., Błaszak Cz.). Lublin, Koliber: 3: 72-83.
MNiSW= 3

Łącznie: 8

Całkowity IF: 7,2

Punkty MNiSW: 523

Referaty konferencyjne:

- XI 2021 r. - referat pt. „The risk of Tick attacks *Ixodes ricinus* (Linnaeus, 1758) on selected tourist trails and educational-environmental paths in the Poprad landscape park”. Międzynarodowa Konferencja WVSP2021 (The sixth Workshop of Vietnamese Students in Poland) PolVietSym2021 (The second Poland-Vietnam Symposium on Natural Sciences, High Technologies and Humanities for Young Scientists), Kraków
- XI 2022 - referat pt. „Ryzyko zakażenia *Borrelia burgdorferi* wśród mieszkańców Popradzkiego Parku Krajobrazowego”. VI Ogólnopolska Konferencja Naukowa Choroby zakaźne i pasożytnicze człowieka. Fundacja na Rzecz Promocji Nauki i Rozwoju TYGIEL, Lublin
- VI 2024 - referat pt. „Ryzyko narażenia mieszkańców i turystów Popradzkiego Parku Krajobrazowego na kleszcze na terenie wybranych szlaków turystycznych i ścieżek przyrodniczo edukacyjnych”. Sympozjum Akarologiczne, organizowane przez Polskie Towarzystwo Akarologiczne w Tomaszowicach koło Krakowa
- Postery konferencyjne:
- III 2021 r. - poster pt. „Ryzyko ekspozycji na kleszcze (Acari: Ixodida) podczas spacerów w Lesie Wolskim w Krakowie. XIII Interdyscyplinarna Konferencja Naukowa TYGIEL 2021 Interdyscyplinarność kluczem do rozwoju, konferencja online
- VI 2021 r. - poster pt. „Kleszcze (Acari: Ixodida) zagrożeniem na wybranych ścieżkach turystycznych Popradzkiego Parku Krajobrazowego i otuliny (woj. małopolskie), badania wstępne”. Ogólnopolska konferencja Środowisko a zdrowie i dobrostan ludzi i zwierząt. Polskie Towarzystwo Parazytologiczne, Szczecin
- VIII 2024 - poster pt “The occurrence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato, *Babesia* spp., and *Bartonella* spp. in *Ixodes ricinus* ticks collected from nature-educational and tourist trails in the Poprad Landscape Park”. Międzynarodowa Konferencja - 14'th European Multicolloquium of Parasitology (EMOP), Wrocław

Promocja i popularyzacja nauki:

- I 2023 - referat naukowy pt. „Ryzyko zakażenia *Borrelia burgdorferi* wśród mieszkańców Popradzkiego Parku Krajobrazowego” na zebraniu katowickiego oddziału Polskiego Towarzystwa Parazytologicznego w Katerze i Zakładzie Biologii Medycznej i Molekularnej, Wydziału Nauk Medycznych w Zabrze, Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach
- III 2023 - autoprezentacja pt. „Ryzyko narażenia człowieka na infestację przez kleszcze (Acari: Ixodida) i choroby odkleszczowe na wybranych terenach Popradzkiego Parku Krajobrazowego” na seminarium naukowym Instytutu Biologii i Nauk o Ziemi UKEN
- I 2024 - referat naukowy pt. „Ryzyko narażenia mieszkańców i turystów Popradzkiego Parku Krajobrazowego na kleszcze i choroby odkleszczowe na terenie wybranych szlaków turystycznych i ścieżek przyrodniczo-edukacyjnych: „Rogasiowy Szlak” w Rytrze, „Barani Szlak” w Rytrze oraz „Na Stoku Jaworzyny-Krynickiej” w Krynicy-Zdrój” na zebraniu katowickiego oddziału Polskiego Towarzystwa Parazytologicznego w Katedrze i Zakładzie Biologii Medycznej i Molekularnej, Wydziału Nauk Medycznych w Zabrze, Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach
- Reprezentacja uczelni na wydarzeniach takich jak: Festiwal Nauki i Sztuki; Małopolska Noc Naukowców.
- VII 2021 r. - The 1st International Electronic Conference on Entomology. The international journal Insects. Online conference.

Udział w seminariach naukowych:

- VI 2025 seminarium naukowe Polskiego Towarzystwa Akarologicznego: “The Arachnida Collections at the Natural History Museum (London), with an emphasis on Acari” Jan Beccaloni - online
- V 2025: II Seminarium Naukowe Polskiego Towarzystwa Badań nad Kleszczami: „Zagrożenia ze strony ciepłolubnych gatunków kleszczy w dobie ocieplenia klimatu: *Hyalomma* spp. (monster tick), wirus krymsko-kongijskiej gorączki krwotocznej (CCHFV) i nauka obywatelska (citizen science)” prof. dr hab. Anna Bajer i mgr Wiktoria Romanek - online
- V 2025: Seminarium Naukowe Polskiego Towarzystwa Akarologicznego: „Środowiskowa rola drzewostanów rosnących na gruntach porolnych w kształtowaniu zgrupowań roztoczy z rzędu Mesostigmata (Acari, Mesostigmata)” mgr Jacek Malica - online

- III 2025: Seminarium Naukowe Polskiego Towarzystwa Akarologicznego: „Mechowce (Acari, Oribatida) wybranych mikrosiedlisk jednopiętrowych borów suchych Cladonio-Pinetum na gruntach leśnych i porolnych” dr hab. inż. Radomir Graczyk - online

Finansowanie i warsztaty

- Uzyskano finansowanie w projekcie PROM, co umożliwiło uczestnictwo w warsztatach online organizowanych przez NAVA: 26.04 - 28.04.2021 r. - *Preparation of Proposals and Management of EU funded projects under ERASMUS+*, European Association of ERASMUS Coordinators, 36 Stasinou Street, Office 104, Strovolos 2003, Nicosia, Cyprus.
- Złożono wniosek o finansowanie projektu badawczego doktoranta Szkoły Doktorskiej na kwotę 25 430 zł, który został zaakceptowany. Środki przeznaczone na finansowanie publikacji naukowych, zakup odczynników do badań kleszczy oraz udział w konferencjach naukowych.

Kursy i szkolenia:

- IV 2021 - Spotlight on science in Poland: The Ulam NAWA Programme - Polonium Foundation (online)
- V 2021 - Publishing Open Access in Cambridge Journals - Cambridge University Press (online)
- VI 2021 - Szkolenie dla wnioskodawców - Narodowe Centrum Nauki (online)
- V 2024 Szkoła letnia: International Summer School - Young Researcher's Workshop - program NAWA STER

Staże krajowe:

- 30-dniowy staż w Zakładzie Parazytologii w Sosnowcu oraz w Katedrze i Zakładzie Biologii Medycznej i Molekularnej, Wydziału Nauk Medycznych w Zabrze, Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach.

Wykaz członkostwa w organizacjach i towarzystwach naukowych

- Polskie Towarzystwo Parazytologiczne
- Polskie Towarzystwo Akarologiczne
- Polskie Towarzystwo Badań nad Kleszczami im. Profesora Krzysztofa Siudy

Praktyki dydaktyczne

- Systematyka bezkręgowców (Biologia, studia I stopnia, semestr III, stacjonarne)
 - XI 2021 - 9h
 - Temat: *Budowa morfologiczna wybranych bezkręgowców*
- Zoologia kręgowców (Psychologia i biologia zwierząt, studia I stopnia, semestr II, stacjonarne)
 - III 2023 - 15h
 - Temat: *Strunowce (Chordata)*
- Systematyka bezkręgowców (Biologia, studia I stopnia, semestr III, stacjonarne)
 - IV - VI 2024 - 22h
 - Tematy: *Szkarłupnie; Chelicerata (Szczękoczułkowce); Polyplacophora (Wielopłytkowce) i Gastropoda (Ślimaki); Bivalvia (Małże) i Cephalopoda (Głównogi); zajęcia terenowe - Magurski Park Narodowy*

Łączny wymiar godzin dydaktycznych: 46h

Sylvia Kozzanowicz
imię, nazwisko/ name

Kraków, dnia/date. 24.02.2026

OŚWIADCZENIE / DECLARATION
o zgodności wersji elektronicznej z wydrukiem
on the conformity of the electronic version with the hard copy

Ja niżej ~~podpisany~~/podpisana* oświadczam, że wersja elektroniczna jest zgodna z wersją papierową rozprawy doktorskiej.
I, the undersigned, declare that the electronic version is compatible with the paper version of the dissertation.*

24.02.2026
Data/date

Sylvia Kozzanowicz
Podpis doktoranta/ PhD student's signature

*Niewłaściwe skreślić/Delete as appropriate

Sylvie Koczanowicz
imię, nazwisko/ name

Kraków, dnia/date. 24.02.2026

OŚWIADCZENIE / DECLARATION

Ja niżej ~~podpisany~~/podpisana* wyrażam zgodę/~~nie wyrażam zgody~~* na udostępnianie mojej rozprawy doktorskiej w wersji papierowej i elektronicznej dla celów naukowych i dydaktycznych.

I, the undersigned, consent/do not consent to my dissertation being made available in hard copy and electronic format for research and teaching purposes.*

24.02.2026
Data/date

Sylvie Koczanowicz
.....
Podpis doktoranta/ PhD student's signature

*Niewłaściwe skreślić/Delete as appropriate