

ANGELINA WÓJCIK-FATLA¹, JOLANTA SZYMAŃSKA², ALICJA BUCZEK³

Choroby przenoszone przez kleszcze. Część II. Patogeny *Borrelia burgdorferi*, *Anaplasma phagocytophilum*, *Babesia microti*

Tick-transmitted diseases. Part II. Pathogens *Borrelia burgdorferi*, *Anaplasma phagocytophilum*, *Babesia microti*

Streszczenie

Kleszcze *Ixodes ricinus* są rezerwuarem i wektorem licznych wirusów, bakterii i pierwotniaków, w tym również gatunków o znaczeniu klinicznym i epidemiologicznym. Wśród mikroorganizmów chorobotwórczych, przenoszonych przez kleszcze *Ixodes ricinus*, znajdują się między innymi bakterie *Borrelia burgdorferi* i *Anaplasma phagocytophilum* oraz pierwotniaki *Babesia microti*. Powyższe patogeny są czynnikiem etiologicznym chorób odkleszczowych, które stanowią ważny problem zdrowia publicznego – diagnostyczny, kliniczny i profilaktyczny. Dotyczy to najczęściej występującej boreliozy, która charakteryzuje się wielopostaciowością i objawami wielonarządowymi, rzadziej występującej anaplazmozy o niecharakterystycznym obrazie klinicznym i babeszjozy, przypominającej obrazem klinicznym malarię. Jednak ze względu na koinfekcje kleszczy *Ixodes ricinus* patogenami *Borrelia burgdorferi*, *Anaplasma phagocytophilum* i *Babesia microti* możliwe jest występowanie zakażeń mieszanych. W przypadku koinfekcji wspomnianymi patogenami pojawiać się może mozaika objawów klinicznych i cięższy przebieg choroby.

W pracy przedstawiono aktualną wiedzę na temat epidemiologii i chorobotwórczości boreliozy, anaplazmozy i babeszjozy. Omówiono metody stosowane w diagnostyce chorób odkleszczowych – wykrywania zakażeń patogenami: *Borrelia burgdorferi*, *Anaplasma phagocytophilum* i *Babesia microti* u kleszczy i metody stosowane w diagnostyce u ludzi.

Słowa kluczowe: choroby przenoszone przez kleszcze, *Borrelia burgdorferi*, *Anaplasma phagocytophilum*, *Babesia microti*.

Summary

Ixodes ricinus ticks are a reservoir and vector for numerous viruses, bacteria and protozoa, including species of medical and epidemiological significance. The bacteria *Borrelia burgdorferi* and *Anaplasma phagocytophilum* as well as the protozoa *Babesia microti* are among the pathogenic microorganisms transmitted by *Ixodes ricinus* ticks. The mentioned pathogens are etiological factors of tick-borne diseases that constitute an important public health problem: diagnostic, clinical and prophylactic. This concerns the most frequently occurring borreliosis which has many forms and multi-organ symptoms, the less frequent anaplasmosis with a non-characteristic clinical picture, and babesiosis – with the clinical picture similar to that of malaria. However, due to co-infections of *Ixodes ricinus* ticks with the pathogens: *Borrelia burgdorferi*, *Anaplasma phagocytophilum* and *Babesia microti*, mixed infections are possible. In the case of co-infection with the mentioned pathogens, patients may experience a mosaic of symptoms and a more severe course of disease.

The paper presents the current knowledge on epidemiology and pathogenicity of *Borrelia burgdorferi*, *Anaplasma phagocytophilum* and *Babesia microti*. It also describes methods used in diagnostics of tick-borne diseases to detect infections with this pathogens: both in ticks and in humans.

Key words: tick-transmitted diseases, *Borrelia burgdorferi*, *Anaplasma phagocytophilum*, *Babesia microti*.

¹ Zakład Biologicznych Szkodliwości Zawodowych, Instytut Medycyny Wsi im. W. Chodźki w Lublinie

² Katedra i Zakład Stomatologii Wieku Rozwojowego, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

³ Katedra i Zakład Biologii i Parazytologii, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

BORRELIA BURGDORFERI

Epidemiologia

Kleszcze pospolite odgrywają kluczową rolę w epidemiologii boreliozy z Lyme zarówno jako wektor, jak i rezerwuuar krętków *Borrelia burgdorferi*. Określenie stopnia zakażenia kleszczy tym patogenem w poszczególnych rejonach danego kraju pozwala ustalić ryzyko nabycia infekcji, jak również daje podstawę do uznania badanego rejonu za obszar endemiczny choroby [1]. W tym celu przeprowadzane są badania zarówno kleszczy na obecność krętka *B. burgdorferi*, jak i ludzi zamieszkujących badany obszar (głównie leśników i rolników, czyli osób szczególnie narażonych na ukłucia kleszczy z racji miejsca zamieszkania lub wykonywanego zawodu).

Częstość zakażenia kleszczy krętkami z rodzaju *Borrelia* w Europie waha się od kilku do kilkudziesięciu procent. Różnice mogą również występować między różnymi regionami w obrębie jednego kraju. W Polsce stopień zakażenia kleszczy waha się od 5,4% [2] do 10% [3], czy nawet do 12,4% [4]. Na Słowacji odsetek zakażeń waha się od 8% do 22,5% [5]. W Niemczech zanotowano 17,9% zakażeń [6], w Hiszpanii – 9,3% [7], a w Norwegii 16% [8]. W Stanach Zjednoczonych odnotowano 18% zakażonych kleszczy [9], zaś w Kanadzie 12,9% [10].

Wśród badanych kleszczy obserwuje się nie tylko różnice ilościowe, ale i jakościowe, dotyczące różnych genogatunków *Borrelia burgdorferi*, jakimi są zainfekowane. W niektórych rejonach Polski (Lubelszczyzna, Pomorze Zachodnie) najczęściej spotykanym genogatunkiem jest *B. burgdorferi* sensu stricto [2, 11]. Natomiast w innych regionach najwyższy odsetek stwierdzono dla *Borrelia afzelii* [12].

Tak wysoki stopień zakażenia kleszczy ma odzwierciedlenie w wynikach badań serologicznych ludzi, zwłaszcza leśników, zawodowo narażonych na kontakt z pasożytem. Odsetek występowania swoistych przeciwciał przeciw *Borrelia burgdorferi* w surowicy krwi leśników dochodzi niekiedy do kilkudziesięciu procent, np. na terenie Polski południowo-wschodniej wynosi 43,2% [13], w regionie Dolnego Śląska – 66,7% [14], a w rejonie zachodniopomorskim – od 35% do 61,9% [15]. W innych krajach europejskich odsetek leśników i pracowników o dużej ekspozycji na ukłucie kleszczy, posiadających przeciwciała przeciwko antygenom *B. burgdorferi*, jest zróżnicowany i wynosi np. w Niemczech – 30% [16], na Słowacji – 12,8% [17], a we Włoszech – 7,5% [18].

Chorobotwórczość

W oparciu o badania molekularne wyróżniono trzy szczególnie patogenne dla człowieka genogatunki: *Borrelia burgdorferi* sensu stricto, *Borrelia afzelii* i *Borrelia garinii*. Są one odpowiedzialne za wywołanie boreliozy z Lyme. Wszystkie trzy genogatunki mogą być przyczyną powstawania rumienia wędrującego (*erythema migrans*, EM). Jest on najczęściej występującym objawem w porównaniu z innymi zmianami skórnymi obserwowanymi w przebiegu infekcji. Rumień wędrujący najczęściej umiejscawia się w miejscu ukłucia kleszcza i początkowo jest niewielkim wykwitem lub plamką, stopniowo zwiększając swe wymiary [19]. Wykwitom rumienia często towarzyszą inne objawy miejscowe, do których zalicza się świąd, pieczenie, a nawet ból związany

z miejscowym zapaleniem nerwu [20]. Pacjenci z EM mogą mieć również niespecyficzne dolegliwości ogólne, takie jak: zmęczenie, stany podgorączkowe, bóle głowy i mięśni, nudności [21].

Genogatunek *Borrelia burgdorferi* sensu stricto wywołuje postać stawową boreliozy, *Borrelia afzelii* – przewlekłe zanikowe zapalenie skóry i chłoniaka limfatycznego skóry, zaś *Borrelia garinii* – objawy neurologiczne [22].

Borelioza jest chorobą wieloukładową i w zależności od czasu jaki upłynął od zakażenia rozróżnia się w jej przebiegu trzy stadia. W pierwszym stadium wczesnej infekcji występuje rumień wędrujący, świadczący o migracji krętka w skórę, a także chłoniak limfocytarny skóry (*lymphadenosis benigna cutis*, LBC) w postaci guzowatej, niebolesnej zmiany o sino-czerwonym zabarwieniu, pojawiającej się na płatku ucha, sutku lub mosznie. W drugim stadium (tzw. postać wczesna zlokalizowana) dochodzi do dalszych zmian skórnych (LBC) oraz do wystąpienia ostrych zmian zapalnych narządów, obejmujących stawy, serce, ośrodkowy i obwodowy układ nerwowy. W tym stadium wczesna neuroborelioza może przebiegać pod postacią zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych. Możliwe jest także zapalenie błony naczyniowej oka, wątroby, jąder i jelit. Trzecie stadium, tzw. późna postać boreliozy, ma charakter infekcji przewlekłej pojawiającej się od jednego roku do kilku lat od zakażenia. W tym stadium występują przewlekłe zanikowe zapalenia skóry, przewlekłe zapalenia stawów oraz przewlekłe zespoły neurologiczne i psychiatryczne. Najczęściej są to jednak uszkodzenia ośrodkowego lub obwodowego układu nerwowego [23, 24].

Metody wykrywania

Do wykrywania zakażeń kleszczy patogenem *Borrelia burgdorferi* sensu lato najczęściej stosuje się metodę łańcuchowej reakcji polimerazy – PCR (*polymerase chain reaction*). Stosowane w tej metodzie różne sekwencje starterów są komplementarne do sekwencji genów *rrs* i *fla* obszaru międzygenowego *rrl-rrf*, oraz genów plazmidowych *ospA* i *ospB* [25]. Do identyfikacji genogatunków stosowana jest metoda nested-PCR z wykorzystaniem różnych par wewnętrznych primerów, odpowiadających danemu genogatunkowi [12]. Alternatywna do tej metody jest identyfikacja gatunków metodą RFLP-PCR, opartą na analizie polimorfizmu długości fragmentów restrykcyjnych [26]. Hodowla krętków i ich obserwacja w ciemnym polu widzenia jest metodą dużo rzadziej stosowaną, z uwagi na długi czas wykonywania i trudności techniczne [2].

Jak dotąd nie udało się jednoznacznie stwierdzić korelacji metod wykrywania *B. burgdorferi* w kleszczach z metodami stosowanymi w diagnostyce boreliozy u pacjentów. Badania wykazały, że gen *fla* stosowany przy kleszczach nie jest dobrym markerem do wykrywania DNA *Borrelia* w ludzkiej krwi. Podobnie jest w przypadku użycia primerów komplementarnych do obszaru genu 16S rRNA (SC1 i SC2). Uzyskane tą metodą wyniki nie mają odzwierciedlenia w testach serologicznych [27, 28].

W diagnostyce ludzkiej boreliozy najczęściej stosuje się metody immunoenzymatyczne. Zastosowanie w testach ELISA zestawów rekombinantów genetycznych, z wykorzystaniem antygenów swoistych białek charakterystycznych dla poszczególnych genogatunków indukujących swoiste

przeciwiała, zwiększa czułość i swoistość metody. Istnieje jednak pewien odsetek nieswoistych wyników dodatnich, jak i też wyników fałszywie ujemnych. Wpływa na to fakt, że w niesprzyjających warunkach krętka *B. burgdorferi* mogą przyjmować postać pozbawionych ściany komórkowej sferoplastów, które są odporne na leczenie antybiotykami, lub formę drobnych pęcherzyków zawierających DNA krętka i antygeny powierzchniowe, tzw. „blebs” [29]. W ostatnich latach przy weryfikacji wyników fałszywie dodatnich lub fałszywie ujemnych, a także w przypadku wyników wątpliwych zastosowanie znalazła, jako test referencyjny, metoda Western-Blot. Pozwala ona na wykrycie przeciwciał w klasie IgM i IgG dla białek powierzchniowych z grupy Osp: A, B i C [23]. Ostatnie wyniki badań potwierdzają przewagę testu Western-Blot nad testami ELISA w zakresie czułości i swoistości metody [1].

ANAPLASMA PHAGOCYTOPHILUM

Epidemiologia

Zakażenie kleszczy *Ixodes ricinus* patogenem *Anaplasma phagocytophilum* na terenach endemicznych Lubelszczyzny zostało oszacowane na poziomie 8,9%. Jednocześnie wśród pracowników leśnictwa z tych samych rejonów stwierdzono ponad dwukrotnie wyższy odsetek zakażeń (19,3%). Odsetek wyników dodatnich grupy kontrolnej (5,4%) potwierdza krążenie patogenu w przyrodzie [30]. Dane te są zgodne z wcześniejszymi badaniami prowadzonymi w makroregionie lubelskim, gdzie w 2005 roku odsetek wyników dodatnich u kleszczy badanych w kierunku *Anaplasma phagocytophilum* wyniósł 6,1%, natomiast wyników seropozytywnych u leśników – 17,7% [31]. Wyższy odsetek zakażeń kleszczy (14%) zebranych z roślinności stwierdzono w północnej części Polski (okolice i centrum Trójmiasta) [4]. Kleszcze usunięte w trakcie żerowania ze skóry ludzi okazały się zakażone w 23,7% [32].

W niektórych krajach Europy stwierdza się podobny stopień zakażenia kleszczy bakterią *Anaplasma phagocytophilum*. We Włoszech odsetek kleszczy z wynikami dodatnimi wyniósł 9,7% [33], zaś na Słowacji – 8,3% [34]. Natomiast w Słowenii stwierdzono DNA patogenu u 3,2% kleszczy [35], a w Holandii jedynie u 0,3% badanych osobników [36]. Z kolei u pracowników leśnictwa na Słowenii odsetek wyników seropozytywnych dochodził aż do 24% [37], a we Włoszech do 8,6% [18].

W Stanach Zjednoczonych występowanie *Anaplasma phagocytophilum* w kleszczach *Ixodes scapularis* i *Ixodes pacificus* odnotowuje się na poziomie kilku procent. W New Jersey i Pensylwanii odsetek wyników dodatnich wyniósł 1,9% [38, 39], a w stanie Minnesota – 3,8% [40]. W Chinach zakażenie kleszczy zebranych z roślin waha się od 0,7% w przypadku *Dermacentor silvarum* do 4,0% u *Ixodes persulcatus*. Podobne odsetki odnotowano również w przypadku okazów napitych zebranych z drobnych ssaków – głównie gryzoni (2,8%) [41].

Wysokie odsetki wyników seropozytywnych w kierunku *Anaplasma phagocytophilum* stwierdzano natomiast u zwierząt domowych, m.in. w Iranie u bydła – 9,37%, u owiec – 80,3% i kóz – 38,92% [42]. Również w Szwajcarii wykazano występowanie przeciwciał u jeleni (61%) i u kozic (28%) [43].

Chorobotwórczość

Bakteria *Anaplasma phagocytophilum* po wnikięciu do organizmu przeżywa w neutrofilach, co powoduje blokadę ich funkcji fagocytarnych i bakteriobójczych [44]. Namnażają się one w wakuolach, wytwarzając specyficzne morule dzięki zdolności do hamowania apoptozy neutrofilii [45].

Ludzka anaplazmoza granulocytarna jest chorobą o ostrym przebiegu, z pojawiającą się po okresie wylegania gorączką sięgającą około 38,5°C. Mogą temu towarzyszyć bóle mięśniowe, złe samopoczucie i bóle głowy. U mniejszej części pacjentów (20-39%) występują również nudności, wymioty, kaszel, dreszcze, pocenie się, bóle stawowe i zapalenie spojówek. W badaniach laboratoryjnych stwierdza się głównie leukopenię, trombocytopenię oraz niewielkie podwyższenie enzymów wątrobowych (aminotransferazy alaninowej i asparanowej, fosfatazy zasadowej i dehydrogenazy mleczanowej). Występuje również podwyższenie OB i poziomu białka C-reaktywnego [44, 46, 47]. W odróżnieniu od anaplazmozy monocytarnej, w której dominują objawy stawowe, w anaplazmozie granulocytarnej występują objawy rzekomogrypowe oraz zaburzenia świadomości [48].

Ze względu na niespecyficzne objawy anaplazmoza jest wstępnie poprawnie diagnozowana jedynie w około 22% przypadków [49]. Najprawdopodobniej większość zachorowań przebiega bezobjawowo [50]. Jak dotąd nie stwierdzono przypadków śmiertelnych w Europie. W Stanach Zjednoczonych śmiertelność na skutek powikłań w przebiegu anaplazmozy wynosi od 7 do 10% [51].

Metody wykrywania

Do podstawowych badań na obecność *Anaplasma phagocytophilum* należą testy serologiczne i analiza DNA. Test serologiczny immunofluorescencji pośredniej (OIF) jest testem diagnostycznym, stosowanym w celu wykrycia przeciwciał przeciwko *A. phagocytophilum*. Badania najczęściej są prowadzone przy użyciu komercyjnych zestawów diagnostycznych produkcji Focus Technologies, gdzie antygenem są komórki HL-60 zakażone szczepem *A. phagocytophilum* HGE1, izolowanym od pacjenta w USA, dzięki czemu wyniki z różnych ośrodków mogą być porównywalne [30].

W materiale klinicznym (pełna krew pobrana na koagulant) i biologicznym (np. kleszcze) bakteria ta jest wykrywana za pomocą łańcuchowej reakcji polimerazy (PCR). Najczęściej stosowanymi primerami do reakcji PCR są GE9f i GE10r oraz EHR521 i EHR747, komplementarne do genu 16S rRNA [52]. Zalecane są również primery LA1 i LA6 (gen *epank1*) [53, 54].

BABESIA MICROTI

Epidemiologia

W Polsce odsetek zakażeń kleszczy pierwotniakiem *Babesia microti* jest zróżnicowany w zależności od regionu. Badania przeprowadzone w północnej części kraju wykazują odsetek zakażeń na poziomie 2,3% [4], natomiast w rejonie Mazur jest on znacznie niższy i wynosi 0,6% [55]. W Polsce północno-zachodniej rozbieżność wyników otrzymanych przez różne zespoły badawcze mieści się w granicach od 1,9% do 16,3% [27, 56-58].

Poziom zakażeń kleszczy *B. microti* oszacowany w kraju wydaje się być wyższy, niż w krajach centralnej i wschodniej Europy. W Niemczech stwierdzono infekcje kleszczy tym patogenem na poziomie 1,0% [59]. Na Węgrzech odsetek ten wyniósł 0,9% [60], zaś w Czechach – 1,5% u przebadanych nimf [61]. Nieco wyższy odsetek wyników dodatnich, zbliżony do wyników w Polsce, uzyskano w Szwajcarii, gdzie 3,7% kleszczy zebranych z drobnych gryzoni wykazało obecność *B. microti* [62]. Z kolei z innych badań w tym kraju wynika, że jedynie 0,8% kleszczy jest zainfekowanych *Babesia* spp. [63]. Natomiast znacznie wyższy odsetek zakażeń stwierdzono w Słowenii (9,6%) [64].

Zróżnicowanie w zakażeniach kleszczy (głównie *Ixodes scapularis* i *Ixodes spinipalpis*) w zależności od części kraju widoczne jest również w Stanach Zjednoczonych. W New Jersey odsetek infekcji wyniósł 8,4% [38], podczas gdy w Maine – 1,9% [65], a w Colorado – 3,2% [66]. W Rosji kleszcze tajgowe (*Ixodes persulcatus*) były zakażone w 0,9% [67]. W Japonii w zbiorach kleszczy *Ixodes ovatus* stwierdzono 7,1% zakażonych osobników [68].

Chorobotwórczość

Większość przypadków zarażenia *Babesia microti* obserwuje się w Stanach Zjednoczonych, podczas gdy w Europie babeszjozę wywołuje głównie *Babesia divergens* i *Babesia bovis* [69]. Okres inkubacji babeszjozy wynosi od 1 do 6 tygodni po ukłuciu przez kleszcza. Choroba może mieć przebieg ostry bądź łagodny, a w niektórych przypadkach bezobjawowy. Obraz kliniczny przypomina malarię i jest on związany z wewnątrznaczyniową hemolizą i hemoglobinurią. U pacjentów obserwuje się nieregularne skoki temperatur (do 40°C), pocenie, dreszcze, bóle głowy, mięśni i stawów, nudności, wymioty i zmiany osobowości [70-72]. U osób z obniżoną odpornością ostry przebieg choroby wiąże się z powikłaniami w postaci zaburzeń oddechowych, niedokrwistości, niewydolności nerek i wątroby [73]. Możliwość zakażenia patogenem *Babesia* spp. istnieje również podczas transfuzji krwi. W Stanach Zjednoczonych stwierdzono znaczny odsetek prób seropozytywnych u dawców krwi (3,3-4,9%). W Europie nie potwierdzono jak dotąd takich przypadków [74].

Metody wykrywania

Do głównych metod diagnostycznych, stosowanych przy wykrywaniu *Babesia* spp., zalicza się: wykonywanie rozmazu z pełnej krwi i testów serologicznych. W obrazie mikroskopowym rozmazu barwionego metodą Giemzy lub Wright'a obserwuje się gruszkowate, amebowate, pierścieniowate lub owalne formy pierwotniaka w komórkach erytrocytów [75].

Testy serologiczne (test Elisa i test immunofluorescencji pośredniej IFA) są metodami potwierdzającymi badania rozmazów, jak również mogą być stosowane w celu wykrycia pojedynczych pasożytów we krwi. Charakterystyczne jest wówczas miano przeciwciał (1:256) dla aktywnej lub niedawno przebytej inwazji. Istnieje jednak ryzyko występowania reakcji krzyżowych z *Plasmodium*, dlatego zaleca się jednoczesne wykonanie testów na obydwa patogeny. Wskazane jest również wykonanie morfologii krwi obwodowej, w której stwierdza się obniżony poziom hemoglobiny, hematokrytu i liczby erytrocytów [70, 71].

Jedną z nowszych metod biologii molekularnej, stosowaną do wykrywania *Babesia* spp. zarówno w epidemiologii, jak i w diagnostyce, jest wysoce czuła i szybka łańcuchowa reakcja polimerazy (PCR). Pozwala ona na wykrywanie DNA pierwotniaka w materiale biologicznym, a w połączeniu z analizą sekwencji badanego genu może być wysoce skuteczną metodą w wykrywaniu *Babesia* spp.

PODSUMOWANIE

Z badań wynika, że częstość koinfekcji kleszczy z występowaniem różnych kombinacji patogenów wynosi od mniej niż 1% do 28%, natomiast wielokrotne zakażenia patogenami odkleszczowymi u ludzi dotyczą od 10% do 39% badanej populacji [76]. Stwierdzono również wzajemny wpływ patogenów na przebieg chorób, co może mieć wpływ na niejasne symptomy chorobowe i utrudniać prawidłowe diagnozowanie.

Wiedza na temat mikroorganizmów przenoszonych przez kleszcze i ich współwystępowania pozwala na ocenę ryzyka wystąpienia chorób odkleszczowych u ludzi, ma istotne znaczenie dla postępowania diagnostyczno-leczniczego i profilaktyki tych chorób.

PIŚMIENNICTWO

- Chmielewska-Badora J, Cisak E, Zwoliński J, Dutkiewicz J. Ocena występowania krętków *Borrelia burgdorferi* sensu lato w kleszczach *Ixodes ricinus* na terenie wybranych rejonów Lubelszczyzny przy zastosowaniu metody łańcuchowej reakcji polimerazy (PCR). Wiad Parazytol. 2003;49:165-71.
- Cisak E, Wójcik-Fatla A, Stojek NM, Chmielewska-Badora J, Zwoliński J, Buczek A, Dutkiewicz J. Prevalence of *Borrelia burgdorferi* genospecies in *Ixodes ricinus* ticks from Lublin region (eastern Poland). Ann Agric Environ Med. 2006;13:301-6.
- Humiczewska M. Ekologiczne uwarunkowania prevalencji kleszcza pospolitego *Ixodes ricinus* oraz zakażenie krętkami *Borrelia burgdorferi* na zachodnim wybrzeżu Bałtyku. W: Buczek A i Błaszak Cz, (red.). Stawonogi. Różnorodność form i oddziaływań. Lublin: Wydawnictwo Koliber; 2005. s. 225-33.
- Stańczak J, Gabre RM, Kruminis-Łozowska W, Racewicz M, Kubica-Biernat B. *Ixodes ricinus* as a vector of *Borrelia burgdorferi* sensu lato, *Anaplasma phagocytophilum* and *Babesia microti* in urban and suburban forests. Ann Agric Environ Med. 2004;11:109-14.
- Lencáková D, Hizo-Teufel C, Petko 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 Supl. 40:108-18.
- Maetzel D, Maier WA, Kampen H. *Borrelia burgdorferi* infection prevalence in questing *Ixodes ricinus* ticks (Acari: Ixodidae) in urban and suburban Bonn, western Germany. Parasitol Res. 2005;95:5-12.
- Barral M, García-Pérez AL, Juste RA, Hurtado A, Escudero R, Sellek RE, Anda P. Distribution of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae) ticks from the Basque Country, Spain. J Med Entomol. 2002;39:177-84.
- Jenkins A, Kristiansen BE, Allum AG, Aakre RK, Strand L, Kleve-land EJ, Van de Pol I, Schouls L. *Borrelia burgdorferi* sensu lato and *Ehrlichia* spp. in *Ixodes* ticks from southern Norway. J Clin Microbiol. 2001;39:3666-71.
- Lingren M, Rowley WA, Thompson C, Gilchrist M. Geographic distribution of ticks (Acari: Ixodidae) in Iowa with emphasis on *Ixodes scapularis* and their infection with *Borrelia burgdorferi*. Vector Borne Zoonotic Dis. 2005;5:219-26.
- Morshed MG, Scott JD, Fernando K, Geddes G, McNabb A, Mak S, Durden LA. Distribution and characterization of *Borrelia burgdorferi* isolates from *Ixodes scapularis* and presence in mammalian hosts in Ontario, Canada. J Med Entomol. 2006;43:762-73.
- Wodecka B, Sawczuk M. Occurrence of pathogenic genospecies of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in *Ixodes ricinus* ticks collected from north-western Poland. Wiad Parazytol. 2004;50:545-53.

12. Stańczak J, Kubica-Biernat B, Racewicz M, Kruminis-Łozowska W, Kur W. Detection of three genospecies of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in *Ixodes ricinus* ticks collected from different regions of Poland. *Int J Med Microbiol*. 2000;290:559-66.
13. Zwoliński J, Chmielewska-Badora J, Cisak E, Buczek A, Dutkiewicz J. Występowanie przeciwciał przeciw *Anaplasma phagocytophilum* i *Borrelia burgdorferi* u leśników w regionie lubelskim. *Wiad Parazytol*. 2004;50:221-7.
14. Dobracki W, Dobracka B. Zakażenia *B. burgdorferi* a występowanie boreliozy z Lyme u pracowników nadleśnictw Dolnego Śląska. Materiały zjazdowe VII Międzynarodowego Sympozjum *Stawonogi pasożytnicze, alergogenne i jadowite – znaczenie medyczne i sanitarne*. Kazimierz Dolny 2005. s. 21.
15. Niścigorska J, Morańska I, Szych Z. Serological marker of *Borrelia burgdorferi* infection among forestry workers of West Pomerania region during a five year period. *Adv Agric Sci*. 2004;9:63-8.
16. Rojko T, Ruzic-Sabljic E, Strle F, Lotric-Furlan S. Prevalence and incidence of Lyme borreliosis among Slovene forestry workers during the period of tick activity. *Wien Klin Wochenschr*. 2005;117:219-25.
17. Bazovska S, Machacova E, Spalekova M, Kontrosova S. Reported incidence of Lyme disease in Slovakia and antibodies to *B. burgdorferi* antigens detected in healthy population. *Bratisl Lek Listy*. 2005;106:270-3.
18. Santino I, Cammarata E, Franco S, Galdiero F, Oliva B, Sessa R, Cipriani P, Tempera G, Del Piano M. Multicentric study of seroprevalence of *Borrelia burgdorferi* and *Anaplasma phagocytophilum* in high-risk groups in regions of central and southern Italy. *Int J Immunopathol Pharmacol*. 2004;17:219-23.
19. Juskiewicz-Borowiec M, Wojnowska D, Chodorowska G, Urban J. Borelioza z Lyme jako problem dermatologiczny. W: Buczek A, Błaszczak Cz, (red.). *Stawonogi. Różnorodność form i oddziaływań*. Lublin: Wydawnictwo Koliber; 2005. s. 159-69.
20. Stanek G, Strle E. Lyme borreliosis. *Lancet*. 2003;362(9396):1639-47.
21. Siwak E. Zmiany skórne w boreliozie. W: Hermanowska-Szapakowicz T, (red.). *Borelioza z Lyme*. Białystok: Wydawnictwo Akademia Medyczna w Białymstoku; 1999. s. 29-35.
22. Hermanowska-Szapakowicz T, Zajkowska JM, Grygorczuk S, Pancewicz SA, Kondrusik M. Zawiłości patogenetyczne i wynikające z nich trudności diagnostyczno-terapeutyczne choroby z Lyme. W: Buczek A, Błaszczak Cz, (red.). *Stawonogi i żywicieli*. Lublin: Wydawnictwo Liber; 2003. s. 185-99.
23. Hermanowska-Szapakowicz T. Diagnostyka boreliozy z Lyme. W: Hermanowska-Szapakowicz T, (red.). *Borelioza z Lyme*. Białystok: Wydawnictwo Akademia Medyczna w Białymstoku; 1999. s. 81-8.
24. Wodecka B. Detection of *Borrelia burgdorferi* sensu lato DNA in *Ixodes ricinus* ticks in north-western Poland. *Ann Agric Environ Med*. 2003;10:171-8.
25. Wodecka B. Rozpowszechnienie genogatunków z kompleksu *Borrelia burgdorferi* s.l. w populacjach kleszczy *Ixodes ricinus* w krajach europejskich. W: Skotarczak, (red.). *Biologia molekularna patogenów przenoszonych przez kleszcze*. Szczecin: Wydawnictwo Lekarskie PZWL; 2006. s. 105-10.
26. Wodecka B. Lokalne zróżnicowanie rozmieszczenia genogatunków *Borrelia burgdorferi* sensu lato przenoszonych przez kleszcze *Ixodes ricinus* (L.) w północno-zachodniej Polsce. W: Buczek A, Błaszczak Cz, (red.). *Stawonogi. Interakcje pasożyt-żywicieli*. Lublin: Wydawnictwo Liber; 2004. s. 185-91.
27. Skotarczak B, Wodecka B, Cichocka A. Coexistence of DNA of *Borrelia burgdorferi* sensu lato and *Babesia microti* in *Ixodes ricinus* ticks from north-western Poland. *Ann Agric Environ Med*. 2002;9:25-8.
28. 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;10:15-9.
29. Zajkowska JM, Hermanowska-Szapakowicz T. Nowe aspekty patogenetyczne boreliozy z Lyme. *Przegl Epidemiol*. 2002;56 Suppl. 1:57-67.
30. Zwoliński J, Wójcik-Fatla A, Chmielewska-Badora J, Cisak E, Buczek A, Dutkiewicz J. Relationship between *Anaplasma phagocytophilum* infection in *Ixodes ricinus* ticks and expose forestry workers on the territory of Lublin Region. *Zdr Publ*. 2007;117:134-7.
31. Cisak E, Chmielewska-Badora J, Zwoliński J, Wójcik-Fatla A, Polak J, Dutkiewicz J. Risk of tick-borne bacterial diseases among workers of Roztocze National Park (southeastern Poland). *Ann Agric Environ Med*. 2005;12:127-32.
32. Grzeszczuk A, Stańczak J. High prevalence of *Anaplasma phagocytophilum* infection in ticks removed from human skin in north-eastern Poland. *Ann Agric Environ Med*. 2006;13:45-8.
33. Mantelli B, Pecchioli E, Hauffe HC, Rosa R, Rizzoli A. Prevalence of *Borrelia burgdorferi* s. l. and *Anaplasma phagocytophilum* in the wood tick *Ixodes ricinus* in the province of Trento, Italy. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2006;25:737-9.
34. Derdákóvá M, Halánová M, Stanko M, Štefančíková A, Čisláková A, Pet'ko B. Molecular evidence for *Anaplasma phagocytophilum* and *Borrelia burgdorferi* sensu lato in *I. ricinus* ticks from eastern Slovakia. *Ann Agric Environ Med*. 2003;10:269-71.
35. Petrovec M, Sumner JW, Nicholson WL, Childs JE, Strle F, Barlič J, Lotrič-Furlan S, Avšič-Županc T. Identity of ehrlichial DNA sequences derived from *Ixodes ricinus* ticks with those obtained from patients with human granulocytic ehrlichiosis in Slovenia. *J Clin Microbiol*. 1999;37:209-10.
36. Wielinga PR, Gaasenbeek C, Fonville M, De Boer A, De Vries A, Dimmers W, Akkerhuis Op Jagers G, Schouls LM, Borgsteede F, Van der Giessen JWB. Longitudinal analysis of tick densities and *Borrelia*, *Anaplasma*, and *Ehrlichia* infections of *Ixodes ricinus* ticks in different habitat areas in the Netherlands. *Appl Environ Microbiol*. 2006;72:7594-601.
37. Rojko T, Ursic T, Avšič-Županc T, Petrovec M, Strle F, Lotrič-Furlan S. Seroprevalence of human anaplasmosis in Slovene forestry workers. *Ann N Y Acad Sci*. 2006;1078:92-4.
38. Adelson ME, Rao RVS, Tilton RC, Cabets K, Eskov E, Fein L, Occi JL, Mordechai E. Prevalence of *Borrelia burgdorferi*, *Bartonella* spp., *Babesia microti*, and *Anaplasma phagocytophilum* in *Ixodes scapularis* ticks collected in northern New Jersey. *J Clin Microbiol*. 2004;42:2799-801.
39. Courtney JW, Dryden RL, Montgomery J, Schneider BS, Smith G, Massung RF. Molecular characterization of *Anaplasma phagocytophilum* and *Borrelia burgdorferi* in *Ixodes scapularis* ticks from Pennsylvania. *J Clin Microbiol*. 2003;41:1569-73.
40. Layfield D, Guilfoile P. The prevalence of *Borrelia burgdorferi* (*Spirochaetales: Spirochaetaceae*) and the agent of human granulocytic ehrlichiosis (*Rickettsiaceae: Ehrlichieae*) in *Ixodes scapularis* (*Acari: Ixodidae*) collected during 1998 and 1999 from Minnesota. *J Med Entomol*. 2002;39:218-20.
41. Cao WC, Zhan L, He J, Foley JE, De Vlas SJ, Wu XM, Yang H, Richardus JH, Habbema JDF. Natural *Anaplasma phagocytophilum* infection of ticks and rodents from a forest area of Jilin province, China. *Am J Trop Med Hyg*. 2006;75:664-8.
42. Razmi GA, Dastjerdi K, Hossieni H, Naghibi A, Barati F, Aslani MR. An epidemiological study on *Anaplasma* infection in cattle, sheep, and goats in Mashhad Suburb, Khorasan province, Iran. *Ann N Y Acad Sci*. 2006;1078:479-481.
43. Liz JS, Sumner JW, Pfister K, Brossard M. PCR detection and serological evidence on granulocytic ehrlichial infection in roe deer (*Capreolus capreolus*) and chamois (*Rupicapra rupicapra*). *J Clin Microbiol*. 2002;40:892-7.
44. Zwoliński J, Chmielewska-Badora J, Wójcik-Fatla A, Cisak E, Buczek A, Dutkiewicz J. Anaplazmoza granulocytarna jako nowy problem zdrowia publicznego. *Zdr Publ*. 2007;117:213-9.
45. Lee HC, Goodman JL. *Anaplasma phagocytophilum* causes global induction of antiapoptosis in human neutrophils. *Genomics*. 2006;88:496-503.
46. Grzeszczuk A, Stańczak J, Pogorzelska J, Prokopowicz D. Diagnostyka ludzkiej anaplazmozy granulocytarnej. *Wiad Parazytol*. 2005;51:109-14.
47. Bakken JS, Dumler JS. Clinical diagnosis and treatment of human granulocytotropic anaplasmosis. *Ann N Y Acad Sci*. 2006;1078:236-47.
48. Fota-Markowska H. Erlichioza – wybrane aspekty etiopatogenetyczne, epidemiologiczne i kliniczno-diagnostyczne. W: Buczek A i Błaszczak Cz, (red.). *Stawonogi i żywicieli*. Lublin: Wydawnictwo Liber; 2003. s. 147-59.
49. Fishbein DB, Dawson JE, Robinson LE. Human ehrlichiosis in the United States, 1985 to 1990. *Annals Intern Med*. 1994;120:736-43.
50. Bukowska B, Walory J. *Anaplasma phagocytophilum* – epidemiologia, diagnostyka i terapia. *Post Mikrobiol*. 2005;44:211-26.
51. Raymond S, Weinstein MD. Human ehrlichiosis. *Am Fam Physician*. 1996;54:1971-6.
52. Dumler JS, Brouqui P. Molecular diagnosis of human granulocytic anaplasmosis. *Expert Rev Mol Diagn*. 2004;4:559-69.
53. Walls JJ, Caturegli P, Bakken JS, Asanovich KM, Dumler JS. Improved sensitivity of PCR for diagnosis of human granulocytic ehrlichiosis using *epank1* genes of *Ehrlichia phagocytophila*-group Ehrlichiae. *J Clin Microbiol*. 2000;38:354-6.
54. Rymaszewska A. Comparing the sensitivity of *Anaplasma phagocytophilum* DNA detection in *Ixodes ricinus* ticks by amplifying a fragment of the *epank-1* and the 16S rDNA genes. *Folia Med Cracov*. 2004;45:79-85.

55. Siński E, Bajer A, Welc R, Pawełczyk A, Ogrzewalska M, Behnke JM. *Babesia microti*: Prevalence in wild rodents and *Ixodes ricinus* ticks from the Mazury Lakes District of north-eastern Poland. *Int J Med Microbiol*. 2006;296:137-43.
56. Skotarczak B, Cichocka A. Isolation and amplification by polymerase chain reaction DNA of *Babesia microti* and *Babesia divergens* in ticks in Poland. *Ann Agric Environ Med*. 2001;8:187-9.
57. Kuźna-Grygiel W, Bukowska K, Cichocka A, Kosik-Bogacka D, Skotarczak B. The prevalence of piroplasms in a population of *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae) from north-western Poland. *Ann Agric Environ Med*. 2002;9:175-8.
58. Pieniżek N, Sawczuk M, Skotarczak B. Molecular identification of *Babesia* parasites isolated from *Ixodes ricinus* ticks collected in northwestern Poland. *J Parasitol*. 2006;92:32-5.
59. Hartelt K, Oehme R, Frank H, Brockmann SO, Hassler D, Kimmig P. Pathogens and symbionts in ticks: prevalence of *Anaplasma phagocytophilum* (Ehrlichia sp.), *Wolbachia* sp., *Rickettsia* sp., and *Babesia* sp. in Southern Germany. *Int J Med Microbiol*. 2004;293 Suppl. 37: 86-92.
60. Sréter T, Kálmán D, Sréterné Lancz Z, Széll Z, Egyed L. *Babesia microti* and *Anaplasma phagocytophilum*: two emerging zoonotic pathogens in Europe and Hungary. *Orv Hetil*. 2005;146:595-600.
61. Rudolf I, Golovchenko M, Sikutová S, Ruderko N, Grubhoffer L, Hubálek Z. *Babesia microti* (Piroplasmida: Babesiidae) in nymphal *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae) in the Czech Republic. *Folia Parasitol (Praha)*. 2005;52:274-6.
62. Hilpertshauser H, Deplazes P, Schnyder M, Gern L, Mathis A. *Babesia* spp. identified by PCR in ticks collected from domestic and wild ruminants in southern Switzerland. *Appl Environ Microbiol*. 2006; 72:6503-7.
63. Casati S, Sager H, Gern L, Piffaretti JC. Presence of potentially pathogenic *Babesia* sp. for human in *Ixodes ricinus* in Switzerland. *Ann Agric Environ Med*. 2006;13:65-70.
64. Duh D, Petrovec M, Trilar T, Avsic-Zupanc T. The molecular evidence of *Babesia microti* infection in small mammals collected in Slovenia. *Parasitology*. 2003;126:113-7.
65. Holman MS, Caporale DA, Goldberg J, Lacombe E, Lubelczyk C, Rand PW, Smith RP. *Anaplasma phagocytophilum*, *Babesia microti* and *Borrelia burgdorferi* in *Ixodes scapularis*, southern coastal Maine. *Emerg Infect Dis*. 2004;10:744-6.
66. Burkot TR, Schneider BS, Pieniżek NJ, Happ CM, Rutherford JS, Slemenda SB, Hoffmeister E, Maupin GO, Zeidner NS. *Babesia microti* and *Borrelia bisettii* transmission by *Ixodes spinipalpis* ticks among prairie voles, *Microtus ochrogaster*, in Colorado. *Parasitology*. 2000; 21:595-9.
67. Alekseev AN, Semenov AV, Dubinina HV. Evidence of *Babesia microti* infection in multi-infected *Ixodes persulcatus* ticks in Russia. *Exp Appl Acarol*. 2003;29:345-53.
68. Yano Y, Saito-Ito A, Dantrakool A, Takada N. Japanese *Babesia microti* cytologically detected I salivary glands of naturally infected tick *Ixodes ovatus*. *Microbiol Immunol*. 2005;49:891-7.
69. Meer-Scherrer L, Adelson M, Mordechai E, Lottaz B, Tilton R. *Babesia microti* infection in Europe. *Curr Microbiol*. 2004;48:435-7.
70. Homer MJ, Aguilar-Delfin I, Telford, III, SR, Krause PJ, Persing DH. Babesiosis. *Clin Microbiol Rev*. 2000;13:451-69.
71. Buczek A. Choroby pasożytnicze. Epidemiologia, diagnostyka, objawy. Wyd. II popr. Lublin: Wydawnictwo Liber; 2004.
72. Hunfeld KP, Brade V. Zoonotic *Babesia*: possibly emerging pathogens to be considered for tick-infested humans in central Europe. *Int J Med Microbiol*. 2004;293 Suppl.37:93-103.
73. Jaroszewicz J, Rogalska M. *Babesia microti* i inne. W: Prokopowicz D, (red.). *Zagrożenia oportunistyczne*. Białystok: Wydawnictwo Ekonomia i Środowisko; 2005. s. 134.
74. Siński E. Biologia i naturalne źródła zarażenia *Babesia microti* u ludzi. W: Buczek A, Błaszak Cz, (red.). *Stawonogi i żywicieli*. Lublin: Wydawnictwo Liber; 2003. s. 249-61.
75. Sawczuk M. Identyfikacja chorobotwórczych dla człowieka pierwotniaków *Babesia* na podstawie analizy sekwencji genu 18S rRNA. W: Buczek A, Błaszak Cz, (red.). *Stawonogi. Interakcje pasożyt-żywicieli*. Lublin: Wydawnictwo Liber; 2004. s. 245-52.
76. Wójcik-Fatla A, Szymańska J, Wdowiak L, Buczek A, Dutkiewicz J. Coincidence of three pathogens (*Borrelia burgdorferi* sensu lato, *Anaplasma phagocytophilum*, *Babesia microti*) in *Ixodes ricinus* ticks in the Lublin makroregion. *Ann Agric Environ Med*. 2009;16:151-8.

Informacje o Autorach

Dr n. med. ANGELINA WÓJCIK-FATLA – asystent, Zakład Biologicznych Szkodliwości Zawodowych, Instytut Medycyny Wsi w Lublinie; dr hab. n. med. JOLANTA SZYMAŃSKA – adiunkt, Katedra i Zakład Stomatologii Wzrostu i Rozwoju, Uniwersytet Medyczny w Lublinie; prof. dr hab. n. biol. ALICJA BUCZEK – kierownik, Katedra i Zakład Biologii i Parazytologii, Uniwersytet Medyczny w Lublinie.

Adres do korespondencji

Dr n. med. Angelina Wójcik-Fatla
Zakład Biologicznych Szkodliwości Zawodowych IMW
ul. Jaczewskiego 2, 20-950 Lublin