

Zjawiska odpornościowe w przebiegu babeszjozy bydła oraz możliwości swoistej immunoprofilaktyki tej choroby

Łukasz Adaszek, Marta Staniec, Łukasz Mazurek, Oliwier Teodorowski, Stanisław Winiarczyk

z Katedry Epizootologii i Kliniki Chorób Zakaźnych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie

Immunological phenomena in bovine babesiosis and possibility for specific immunoprophylaxis

Adaszek Ł., Staniec M., Mazurek M., Teodorowski O., Winiarczyk S.,
Department of Epizootiology and Clinic of Infectious Diseases, Faculty of
Veterinary Medicine, Lublin University of Life Sciences

We aim at the presentation of some important immune events during babesiosis in cattle. Bovine babesiosis, caused by protozoan parasites of the genus *Babesia*, is one of the world's most severe tick-borne disease of cattle in temperate to tropical areas. These protozoa belong to the order Piroplasmida, phylum Apicomplexa, and subclass Piroplasmia. Three species *Babesia bovis*, *B. divergens* and *B. bigemina* are the main causative agents of the disease. In this review are presented the basic information concerning the immunologic processes in the course of bovine babesiosis, as well as the methods of immunoprophylaxis of this disease.

Keywords: *Babesia*, cows, tick-borne disease, vaccination.

Babeszjoza jest transmisyjną pasożytniczą chorobą wywoływaną przez pierwotniaki z rodzaju *Babesia*, należące do rodziny Babesidae, rzędu Piroplasmida, typu Apicomplexa. Wektorem choroby są kleszcze. Najistotniejszymi gatunkami pajęczaków zdolnymi do przenoszenia babeszjozy są *Rhipicephalus annulatus* i *Rhipicephalus microplus*. Występują one przede wszystkim w obszarze klimatu tropikalnego i subtropikalnego.

Czynnik etiologiczny

Babeszjoza, nazywana także gorączką teksańską, czerwoną gorączką, gorączką odkleszczową lub piroplazmozą, jest chorobą szeroko rozpowszechnioną na całym świecie. Największe straty ekonomiczne powoduje w pogłowie bydła, zwłaszcza w strefie klimatu tropikalnego i subtropikalnego (1).

Pierwsze doniesienia dotyczące wpływu choroby na populację bydła pochodzą ze Stanów Zjednoczonych. W połowie XIX wieku, w okresie wzmożonego przemieszczania bydła, zanotowano upadki rzędu 90% na terenie stanów Missisipi, Illinois oraz Kansas. Wprowadzony w roku 1906 program zwalczania choroby zakończył się sukcesem dopiero w 1943 r., a wyznaczona wówczas na granicy z Meksykiem strefa kwarantanny obowiązuje do chwili obecnej (2, 3, 4).

W rozwoju pierwotniaków *Babesia* spp. można wyróżnić dwa etapy – rozmnażanie bezpłciowe, zachodzące w erytrocytach kręgowca (żywiciela pośredniego) oraz rozmnażanie płciowe, które ma miejsce w organizmie bezkręgowca (żywiciela ostatecznego; 5).

Pierwotniaki są wprowadzane do organizmu kręgowca wraz ze śliną żerujących na nim kleszczy, po minimum 48–72 godz. pasożytowania (6). Sporozycy trafiają do erytrocytów, gdzie przechodzą podział bezpłciowy (proces merogonii), przekształcając się w stadium trofozoitów i dzielą się na merozoity – właśnie ten moment można wykazać, oglądając barwione rozmazy krwi (7). W wyniku namnożenia i nagromadzenia merozoitów, następuje pęknięcie błony komórkowej erytrocyta, a merozoity przechodzą następnie do nowych krwinek gospodarza (8).

Na podstawie wielkości merozoitów przyjmuje się umowny podział pierwotniaków *Babesia* spp. na dwie grupy – duże *Babesia* (*B. bigemina*, *B. major*, *B. occultans*, *B. ovata*, *B. jakimovi*), których merozoity są dłuższe od promienia erytrocytów, oraz małe *Babesia* (*B. bovis*, *B. divergens*), z merozoitami mniejszymi niż promień krwinek czerwonych (1, 5, 8, 9, 10).

Aspekt ekonomiczny babeszjozy bydła

Straty związane z występowaniem babeszjozy u bydła wynikają z wielu aspektów. Oprócz spadku mleczności, obniżenia przyrostów masy ciała, ronień oraz pogorszenia ogólnego statusu zdrowotnego zwierząt, co jest bezpośrednio związane z rozwojem procesu chorobowego, należy też brać pod uwagę koszty diagnostyki, leczenia i profilaktyki, wydatki związane ze zwalczaniem kleszczy w danym środowisku, regulacje ograniczające transport zwierząt, a także obniżenie jakości skór służących do produkcji galanterii (11, 12, 13, 14).

Szacuje się, iż na świecie ok. 400 mln krów jest zagrożonych babeszjozą (15), brak jednak aktualnych danych na temat globalnych strat powodowanych przez tę chorobę w populacji bydła. Choroby odkleszczowe stanowią najpoważniejszy problem w Afryce, Ameryce Południowej oraz w Azji (10). Według de Castro (16), pod koniec XX wieku globalne roczne straty kształtowały się na poziomie 13,9–18,7 mld dolarów.

Na kontynencie połunioamerykańskim straty związane z występowaniem chorób odkleszczowych w pogłowie bydła oceniane były w Argentynie na 100 mln (17), w Brazylii na 500 mln (18), w Meksyku na 287 mln, a w Kolumbii na 133 mln dolarów (19). Według Bocka i wsp. (1) straty ekonomiczne w poszczególnych krajach Afryki i Azji kształtowały się następująco: Kenia – 5,1 mln, RPA – 21,6 mln, Tanzania – 6,8 mln, Zimbabwe – 5,4 mln, Chiny – 19,4 mln, Filipiny – 0,6 mln, Indie – 57,2 mln, Indonezja – 3,1 mln dolarów. W Australii koszty związane z występowaniem chorób odkleszczowych u bydła oceniane były

na ok. 23–26 mln dolarów rocznie (11, 14). W Europie roczne straty z powodu babeszjozy bydła w Szwecji szacowane były na 2,5 mln dolarów (20), a w Irlandii – na 250 tys. funtów (21).

Zjawiska odpornościowe w przebiegu babeszjozy bydła

Przedstawiciele bydła domowego (*Bos taurus*) są znacznie bardziej narażeni na zachorowanie na babeszjozę niż osobniki wywodzące się od zebu, czyli bydła domowego garbatego (*Bos indicus*), przy czym stopień tej wrażliwości jest różny u przedstawicieli czystych ras oraz ich krzyżówek (13, 22, 23, 24). Podobna sytuacja ma miejsce w odniesieniu do podatności na infestację kleszczy (25, 26, 27). Rasy podatne na zarażenie to m.in. hereford, shorthorn, charolaise i droughtmaster (28), zaś do mniej wrażliwych należy m.in. brahman (13, 14). Fakt, iż rasy endemiczne są bardziej odporne na zarażenie niż rasy egzotyczne, wykorzystywany jest jako jeden z elementów kontroli rozprzestrzeniania się choroby i ograniczania populacji kleszczy (16, 25, 26, 29).

Jednym z najistotniejszych aspektów epidemiologicznych babeszjozy bydła jest odporność stada ('enzootic stability', 'endemic stability') – stan, w którym wytwarza się niejako równowaga pomiędzy obecnością czynnika zakaźnego w środowisku a potencjalnie wrażliwym organizmem, co prowadzi do sytuacji, w której zarażenie w stadzie przebiega jako utajone i nie objawia się klinicznie (30, 31, 32). Jest to wynik długoletniej selekcji naturalnej i przystosowywania się bydła z terenów endemicznych do kontaktu z wektorem i przenoszonym przez niego patogenem.

Ryzyko wybuchu choroby na terenach endemicznych wiąże się przede wszystkim z zachwianiem tej równowagi, m.in. poprzez wprowadzanie nowych, egzotycznych ras, czy też wyeliminowanie czynnika zakaźnego ze środowiska bytowania stada, np. w wyniku stosowania środków do zwalczania kleszczy (14, 32).

Młode cielęta są mniej wrażliwe na zachorowanie ze względu na odporność siarową trwającą ok. 2–3 miesięcy oraz naturalną odporność wrodzoną (innate resistant, age resistant) – nieswoiste mechanizmy odpornościowe, których działanie utrzymuje się do ok. dziewiątego miesiąca życia (1, 33). Już kilkadziesiąt lat temu badania *in vitro* nad *B. bovis* wykazały obecność w surowicy młodych cieląt czynnika odpowiedzialnego za ich zmniejszoną podatność na zachorowanie (34). Udowodniono, że istotną rolę immunoregulacyjną w momencie zarażenia pełni m.in. zmieniona produkcja interleukiny IL-12 i IFN- γ oraz indukcja syntazy tlenu azotu w porównaniu do dorosłych krów (35, 36). Dzięki tym mechanizmom, nawet jeśli dochodzi do zarażenia, choroba u młodych cieląt przebiega zazwyczaj bezobjawowo.

Dodatkowo u zwierząt, które miały kontakt z patogenem przed ukończeniem dziewiątego miesiąca życia, przy ponownym zarażeniu w dorosłym wieku, przebieg choroby jest łagodny (13). Rozwijają się u nich długotrwała odporność, z reguły bez całkowitej eliminacji patogenu, a w momencie obniżenia statusu immunologicznego, np. wskutek transportu czy

innego czynnika stresogennego, zarażenie może się uaktywnić (24). Jeżeli zwierzę nie uległo ekspozycji na czynnik zakaźny w młodym wieku, pierwszy kontakt z patogenem w późniejszym okresie życia skutkuje zazwyczaj rozwojem choroby o ciężkim przebiegu (37).

U bydła po przechorowaniu babeszjozy utrzymuje się z reguły zarażenie latentne z parazytemiä na bardzo niskim poziomie, chroniące przed ponownym zachorowaniem przy zarażeniu tym samym szczepem (5, 38). U ras europejskich *B. bovis* może utrzymywać się w organizmie przez całe życie, u przedstawicieli zebu do dwóch lat. W przypadku *B. bigemina* czas ten wynosi zazwyczaj około roku. Ozdrowieńcy stanowią źródło patogenu dla żerujących na nich kleszczy przez okres od 4–7 tygodni (*B. bigemina*) do dwóch lat (*B. bovis*; 39). Zjawisko odporności na ponowne zachorowanie towarzyszącej obecności patogenu w organizmie po przechorowaniu nosi nazwę odporności towarzyszącej (12).

Przechorowanie inwazji spowodowanej przez pierwotniaki powoduje rozwój naturalnej odporności (odporność nabyta). Zjawisko to przez lata wykorzystywane było w celu sztucznego uodporniania zwierząt poprzez podawanie środków przeciwpierwotniaczych krótko po celowym kontakcie z patogenem lub też przez stosowanie szczepionek opartych na zabitych pierwotniakach *Babesia* lub ich antygenach (sterile immunity; 40).

Zagadnienie powstawania odporności u bydła, zwłaszcza mechanizmu odpowiedzi humoralnej w przypadku inwazji *B. bovis* i *B. bigemina*, nie zostało jeszcze w pełni poznane. Badania osobników odpornych na inwazje *B. divergens* wykazały u nich niskie miana przeciwciał, jednocześnie stwierdzono, iż wysoki poziom swoistych przeciwciał we krwi nie zawsze chroni przez inwazją (41).

Badania Garcíi i wsp. (42) udowodniły m.in. istotną rolę komórek Th1 w regulacji odpowiedzi na zarażenie. W momencie wniknięcia sporozoitów do krwi pierwszą linię obrony stanowią przeciwciała IgG. Następnie, przy nasileniu parazytemii, istotną rolę pełnią interferon gamma (IFN- γ), czynnik martwicy nowotworu (TNF- α), tlenek azotu (NO) oraz reaktywne formy tlenu (43). Ważną funkcję odgrywają również mechanizmy zależne od śledziony (12, 36, 41).

Profilaktyka swoista babeszjozy bydła

Znajomość mechanizmów immunologicznych zachodzących w organizmie bydła po kontakcie z pierwotniakami *Babesia* stanowi podstawę do opracowania skutecznej immunoprofilaktyki choroby. Szeroko zakrojone programy zwalczania babeszjozy skutecznie ograniczają zasięg jej występowania, wiąże się to jednak z ogromnymi nakładami finansowymi. W przypadku wybuchu choroby na terenach, gdzie dotychczas nie była notowana, niekiedy jedynym rozwiązaniem jest ubój bydła w celu wyeliminowania rezerwuaru pierwotniaka. Przeprowadzenie całkowitej eradykacji możliwe jest właściwie tylko na wyspach, taka sytuacja miała miejsce m.in. na Nowej Kaledonii (44). Dlatego na terenach endemicznego występowania choroby podstawę jej profilaktyki stanowią szczepienia (45).

Do produkcji preparatów wykorzystuje się całe pierwotniaki, ekstrakty z pasożytów lub ich pojedyncze antygeny (41). Pierwotniaki namnażane są w organizmach krów poddanych splenektomii (*B. bigemina* oraz *B. bovis*) i gerbili (*B. divergens*) lub w hodowlach komórkowych (46).

Preparaty komercyjne oparte są zazwyczaj o szczepki miejscowe, jednak niektóre z nich wykazują skuteczność również na większym obszarze (46).

Szczepionki żywe cechują się dość wysoką efektywnością, ich stosowanie wiąże się jednak z ryzykiem uzjadliwienia się patogenu i rozwoju choroby (41, 44). Dodatkowo istnieje możliwość zanieczyszczenia preparatu innymi patogenami lub wystąpienia zjawiska dryftu antygenowego przy wysokiej liczbie pasaży (46, 47, 48, 49). Produkcja szczepionek atenuowanych jest bardzo kosztowna, a preparaty odznaczają się wyjątkowo krótkim okresem trwałości, wynoszącym kilka dni (47, 49, 50). Jedną z głównych niedogodności wiążących się ze stosowaniem żywych szczepionek jest trudność rozróżnienia w badaniach serologicznych osobników chorych od szczepionych (51).

Szczepionki atenuowane powinny być stosowane u młodych zwierząt, do 9. miesiąca życia, przy czym rewakcyjnacja nie jest zazwyczaj konieczna (48, 50). Ich aplikacja u starszych, bardziej wrażliwych osobników, powodowała niekiedy rozwój klinicznej postaci choroby, a w celu uniknięcia tych powikłań rekomendowano podawanie diminazenu w dawce 1,16 mg/kg m.c. w siódmym dniu po szczepieniu. Obecnie takie postępowanie jest niezalecane (52, 53).

Ważnym aspektem mającym wpływ na skuteczność szczepień profilaktycznych jest m.in. stosowanie leków przeciwko pierwotniakom (diminazenu i imidokarbu). Badania Combrinka i wsp. (53) wykazały, iż minimalny odstęp między leczeniem a aplikacją mrożonych szczepionek przeciwko *B. bovis* i *B. bigemina* powinien wynieść – odpowiednio – 12 i 24 tygodnie.

Obecnie dostępne są m.in. atenuowane trójwartne szczepionki przeciwko babeszjozie (powodowanej przez *B. bovis* i *B. bigemina*) oraz anaplazmozie bydła (54).

Szczepienia powodują rozwój długotrwałej odporności zazwyczaj już po jednokrotnym podaniu. Odporność rozwija się w ciągu 3–4 tygodni i chroni zwierzę przed zachorowaniem przez kilka lat (55).

Skuteczność szczepionek inaktywowanych jest niższa w porównaniu z preparatami atenuowanymi, dodatkowo stosowane w nich adiuwanty odznaczają się niekiedy wysoką toksycznością (41). Niemniej jednak niektóre z tych preparatów, np. przeciwko *B. divergens*, mają udowodnioną skuteczność (56).

Brak efektywności szczepień lub ewentualne powikłania po aplikacji preparatu mogą być spowodowane nieodpowiednim wiekiem szczepionych osobników, nieprawidłowym sposobem przechowywania szczepionek, współistniejącymi chorobami, równoczesnymi szczepieniami przeciwko innym chorobom, obniżonym statusem immunologicznym zwierzęcia, czy też brakiem odpowiedniego odstępu czasowego pomiędzy stosowaniem leków przeciwpierwotniaczych a immunizacją czynną (50, 55).

Podsumowanie

Babeszjoza bydła występuje głównie na obszarze klimatu tropikalnego i subtropikalnego, niemniej jednak coraz więcej przypadków choroby notowanych jest także w Europie. Jak dotychczas na terenie naszego kontynentu *Babesia* spp. stwierdzono m.in. w Austrii (56), Belgii (57), we Francji (58), w Grecji (59), Hiszpanii – (60), Holandii (61), Irlandii (62), Niemczech (62), Norwegii (63), Portugalii (64), Szwajcarii (65), Szwecji (20), Turcji (66), na Węgrzech (67), w Wielkiej Brytanii (62) i we Włoszech (68).

Także w populacji bydła na terenie naszego kraju istnieje problem babeszjozy. Jak wynika z badań Staniec i wsp. (69), na wschodnich obszarach Polski odsetek krów zarażonych pierwotniakami *Babesia occultans* może wynosić nawet 10,4%. Dlatego też omawianą jednostkę chorobową należy brać pod uwagę w diagnostyce różnicowej chorób bydła przebiegających z niedokrwistością, natomiast metody zapobiegania chorobie powinny być znane zarówno hodowcom, jak i lekarzom weterynarii.

Piśmiennictwo

- Bock R., Jackson L., de Vos A., Jorgensen W.: Babesiosis of cattle. *Parasitology* 2004, **129**, S247–S269.
- Assadian O., Stanek G.: Theobald Smith – The discoverer of ticks as vectors of disease. *Wien. Klin. Wochenschr.* 2002, **114**, 479–481.
- Pelzel A.M.: Cattle fever tick surveillance in Texas. *NAHSS Outlook*, 2005, www.aphis.usda.gov/vs/ceah/ncahs/nsu/outlook
- Schultz M.: Theobald Smith. *Emerg. Infect. Dis.* 2008, **14**, 1940–1942.
- Chauvin A., Moreau E., Bonnet S., Plantard O., Malandrin L.: Babesia and its hosts: adaptation to long-lasting interactions as a way to achieve efficient transmission. *Vet. Res.* 2009, **40**, 37.
- Suarez C.E., Noh S.: Emerging perspectives in the research of bovine babesiosis and anaplasmosis. *Vet. Parasitol.* 2011, **180**, 109–125.
- Siński E., Karbowiak G.: Kleszcze (*Ixodidae*) w zoonotycznym rozprzestrzenianiu piroplazm *Babesia microti* i *Babesia divergens*. *Wiad. Parazytol.* 1995, **41**, 321–327.
- Uilenberg G.: Babesia – a historical overview. *Vet. Parasitol.* 2006, **138**, 3–10.
- de Vos A.J.: Distribution, economic importance and control measures for *Babesia* and *Anaplasma*. W: Recent development in the control of anaplasmosis, babesiosis and cowdriosis. *Proceedings of a Workshop Held at ILRAD Nairobi, Kenya*, 13–15 May 1991. The International Laboratory for Research on Animal Diseases.
- Jongejan F., Uilenberg G.: The global importance of ticks. *Parasitology* 2004, **129**, S3–S14.
- Bock R.E., de Vos A.J.: Tick-borne diseases of cattle. *Australian and New Zealand Standard Diagnostic Procedures*, 2006.
- Brown C.G.D.: Dynamics and impact of tick-borne diseases of cattle. *Trop. Anim. Health Prod.* 1997, **29**, 1S–3S.
- Chudleigh F., Franco-Dixon M.A.: An economic evaluation of tick line deregulation in Queensland. *Australian Agricultural and Resource Economics Society National 2010 Conference (54th)*, February 10–12, 2010, Adelaide, Australia.
- Jonsson N.N., Bock R.E., Jorgensen W.K.: Productivity and health effects of anaplasmosis and babesiosis on *Bos indicus* cattle and their crosses, and the effects of differing intensity of tick control in Australia. *Vet. Parasitol.* 2008, **155**, 1–9.
- Sparagano O.A.E.: Impact of ticks and tick-borne diseases on agriculture and human populations in Europe. *J. Agr. Sci.* 2005, **143**, 463–468.
- de Castro: Sustainable tick and tickborne disease control in livestock improvement in developing countries. *Vet. Parasitol.* 1997, **71**, 77–97.
- Guglielmone A.A.: The level of infestation with the vector of cattle babesiosis in Argentina. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 1992, **87**, Suppl. III, 133–137.
- Barros S.L., Madruga C.R., Araújo F.R., Menk C.F., de Almeida M.A., Melo E.P.S., Kessler R.H.: Serological survey of *Babesia bovis*, *Babesia bigemina*, and *Anaplasma marginale* antibodies in cattle from the semi-arid region of the state of Bahia, Brazil, by enzyme-linked immunosorbent assays. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 2005, **100**, 613–617.

19. Montenegro-James S: Prevalence and control of babesiosis in the Americas. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 1992, **87**, 27–36.
20. Zwart D.: Haemoparasitic diseases of bovines. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* 1985, **4**, 447–458.
21. Taylor S.M.: Assessment of prevalence of clinical babesiosis in cattle in Northern Ireland. *Vet. Rec.* 1983, **112**, 247–250.
22. Bock R.E., de Vos A.J., Kingston T.G., McLellan D.J.: Effect of breed of cattle on innate resistance to infection with *Babesia bovis*, *B. bigemina* and *Anaplasma marginale*. *Aust. Vet. J.* 1997, **75**, 337–340.
23. Bock R.E., Kingston T.G., de Vos A.J.: Effect of breed of cattle on transmission rate and innate resistant to infection with *Babesia bovis* and *B. bigemina* transmitted by *Boophilus microplus*. *Aust. Vet. J.* 1999, **77**, 461–464.
24. Minjauw B., McLeod A.: Tick-borne diseases and poverty. The impact of ticks and tick-borne diseases on the livelihoods of small-scale and marginal livestock owners in India and eastern and southern Africa. *Research Report, DFID Animal Health Programme, 2003*, Centre for Tropical Veterinary Medicine, University of Edinburgh, Edinburgh, UK.
25. Frisch J.E.: Towards a permanent solution for controlling cattle ticks. *Int. J. Parasitol.* 1999, **29**, 57–71.
26. Jongejan F., Uilenberg G.: Ticks and control methods. *Rev. Sci. Tech.* 1994, **13**, 1201–1226.
27. Piper E.K., Jonsson N., Gondro C., Lew-Tabor A.E., Moolhuijzen P., Vance M.E., Jackson L.A.: Immunological profiles of *Bos taurus* and *Bos indicus* cattle infested with the cattle tick, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Clin. Vaccine Immunol.* 2009, **16**, 1074–1086.
28. Benavides M.V., Sacco A.M.: Differential *Bos taurus* cattle response to *Babesia bovis* infection. *Vet. Parasitol.* 2007, **150**, 54–64.
29. Muhammad G., Naureen A., Firyal S., Saqib M.: Tick control strategies in dairy production medicine. *Pakistan Vet. J.* 2008, **28**, 43–50.
30. Musisi F.L., Lawrence J.A.: Prospects for control of tick-borne diseases in cattle by immunization in eastern, central and southern Africa. *Agr. Hum. Val.* 1995, **12**, 95–106.
31. Regassa A., Penzhorn B. L., Bryson N.R.: Progression towards endemic stability to bovine babesiosis in cattle introduced onto a game ranch. *Onderstepoort J. Vet. Res.* 2004, **71**, 333–336.
32. Torr S., Eisler M., Coleman P., Morton J., Machila N.: *Integrated control of ticks and tse tse: a report for the DFID Advisory and Support Services Contract*, 2002.
33. Ramirez G.T., Jones T.W., Brown C.G.D., Dominguez J.L.D., Honhold N.: Bovine babesiosis in dual purpose calves in the state of Yucatan, Mexico. *Trop. Anim. Health Prod.* 1998, **30**, 45–52.
34. Levy M.G., Clabaugh G., Ristic M.: Age resistance in bovine babesiosis: role of blood factors in resistance to *Babesia bovis*. *Infect. Immun.* 1982, **37**, 1127–1131.
35. Goff W.L., Johnson W.C., Parish S.M., Barrington G.M., Tuo W., Valdez R.A.: The age-related immunity in cattle to *Babesia bovis* infection involves the rapid induction of interleukin-12, interferon-gamma and inducible nitric oxide synthase mRNA expression in the spleen. *Parasite Immunol.* 2001, **23**, 463–471.
36. Goff W.L., Johnson W.C., Tuo W., Valdez R.A., Parish S.M., Barrington G.M., Davis W.C.: Age-related immune response in calves to *Babesia bovis* involves IL-12 induction and IL-10 modulation. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2002, **969**, 164–168.
37. Alonso M., Arellano-Sota C., Cereser V.H., Cordoves C.O., Guglielmo A.A., Kessler R., Mangold A.J., Nari A., Patarroyo J.H., Solari M.A., Vega C.A., Vizcaino O., Camus E.: Epidemiology of bovine anaplasmosis and babesiosis in Latin America and the Caribbean. *Rev. Sci. Tech.* 1992, **11**, 713–733.
38. Brown W.C., Palmer G.H.: Designing blood-stage vaccines against *Babesia bovis* and *B. bigemina*. *Parasitol. Today* 1999, **15**, 275–281.
39. Stevens K.B., Spickett A.M., Vosloo W., Pfeiffer D.U., Dyason E., Du Plessis B.: Influence of dipping practices on the seroprevalence of babesiosis and anaplasmosis in the foot-and-mouth disease buffer zone adjoining the Kruger national Park in South Africa. *Onderstepoort J. Vet. Res.* 2007, **74**, 87–95.
40. Todorovic R.A., Gonzalez E.F., Adams L.G.: Bovine babesiosis – sterile immunity to *Babesia bigemina* and *Babesia argentina* infections. *Trop. Anim. Health Prod.* 1973, **5**, 234–245.
41. Zintl A., Mulcahy G., Skerrett H.E., Taylor S.M., Gray J.S.: *Babesia divergens*, a bovine blood parasite of veterinary and zoonotic importance. *Clin. Microbiol. Rev.* 2003, **16**, 622–636.
42. García-Sanmartín J., Nagore D., García-Pérez A.L., Juste R.A., Hurtado A.: Molecular diagnosis of *Theileria* and *Babesia* species infecting cattle in Northern Spain using reverse line blot macroarrays. *Vet. Res.* 2006, **2**, 16.
43. Homer M.J., Aguilar-Delfin I., Telford III S.R., Krause P.J., Persing D.H.: Babesiosis. *Clin. Microb. Rev.* 2000, **13**, 451–469.
44. Barré N., Happold J., Delathière J.M., Desoutter D., Salery M., de Vos A., Marchald C., Perrot R., Graillies M., Mortelecque A.: A campaign to eradicate bovine babesiosis from New Caledonia. *Ticks Tick Borne Dis.* 2011, **2**, 55–61.
45. de Vos A.J.: Distribution, economic importance and control measures for *Babesia* and *Anaplasma*. W: Recent development in the control of anaplasmosis, babesiosis and cowdriosis. *Proceedings of a Workshop Held at ILRAD Nairobi, Kenya*, 13–15 May 1991. The International Laboratory for Research on Animal Diseases.
46. Bovine babesiosis. W: World Organisation of Animal Health. *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals 2013*. Chapter 2.4.2. http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.04.02_BOVINE_BABESIOSIS.pdf
47. Bissuel G., Gorenflot A., Vidor E., Brasseur P., Precigout E., Valentin A., Schrevel J., Moreau Y.: Identification of *Babesia divergens* protective antigens. W: Recent development in the control of anaplasmosis, babesiosis and cowdriosis. *Proceedings of a Workshop held at ILRAD Nairobi, Kenya*, 13–15 May 1991. The International Laboratory for Research on Animal Diseases.
48. de Vos A.J., Bock R.E.: Vaccination against bovine babesiosis. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2000, **916**, 540–545.
49. Gohil S., Herrmann S., Günther S., Cooke B. M.: Bovine babesiosis in 21st century: Advances in biology and functional genomics. *Int. J. Parasitol.* 2013, **43**, 125–132.
50. Bock R.E., de Vos A.J.: Immunity following use of Australian tick fever vaccine: a review of the evidence. *Aust. Vet. J.* 2001, **79**, 832–839.
51. Pérez de León A., Vannier E., Almazán C., Krause P.J.: Tick-borne protozoa. W: Sonenshine DE, Roe RM (eds): *Biology of ticks*. Vol. 2. Oxford University Press. Oxford–New York, 2014:147–79.
52. Combrink M.P., Carr G., Mans B. J., Marais F.: 2012: Blocking *Babesia bovis* vaccine reactions of dairy cattle in milk. *Onderstepoort J. Vet. Res.* 2012, **79**, E1–4.
53. Combrink M.P., Troskie P.C.: Effect of diminazene block treatment on live redwater vaccine reactions. *Onderstepoort J. Vet. Res.* 2004, **71**, 113–117.
54. Benavides E., Vizcaino O., Britto C.M., Romero A., Rubio A.: Attenuated trivalent vaccine against babesiosis and anaplasmosis in Colombia. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2000, **916**, 613–616.
55. de Waal D.T., Combrink M.P.: Live vaccines against bovine babesiosis. *Vet. Parasitol.* 2006, **138**, 88–96.
56. Edelhofer R., Kanout A., Schuh M., Kutzer E.: Improved disease resistance after *Babesia divergens* vaccination. *Parasitol. Res.* 1998, **84**, 181–187.
57. Lempereur L., Lebrun M., Cuvelier P., Sépult G., Caron Y., Saegerman C., Shiels B., Losson B.: Longitudinal field study on bovine *Babesia* spp. and *Anaplasma phagocytophilum* infections during a grazing season in Belgium. *Parasitol. Res.* 2012, **110**, 1525–1530.
58. Devos J., Geysen D.: Epidemiological study of the prevalence of *Babesia divergens* in a veterinary practice in the mid-east France. *Vet. Parasitol.* 2004, **125**, 237–249.
59. Papadopoulos B., Brossard M., Perié N.M.: Piroplasms of domestic animals in the Macedonia region of Greece. 2. Piroplasms of cattle. *Vet. Parasitol.* 1996, **63**, 57–66.
60. Ros-García A., García-Pérez A.L., Verdera J., Juste R.A., Hurtado A.: Monitoring piroplasms infection in three cattle farms in Minorca (Balearic Islands, Spain) with previous history of clinical piroplasmosis. *Vet. Parasitol.* 2012, **190**, 318–325.
61. Uilenberg G.: Ruminant babesiosis in Netherlands: parasites – epidemiology – clinical data. W: *Agriculture – Some important parasitic infections in bovines considered from economic and social (zoonosis) point of view*, 17–29. Commission of the European Communities. Parasitological Symposium, Lyon, 24–26 October 1983.
62. Purnell R.E.: Bovine babesiosis in the European Community. *Vet. Sci. Commun.* 1977, **1**, 289–296.
63. Hasle G., Bjune G.A., Christensoon D., Røed K.H., Whist A.C., Leinaas H.P.: Detection of *Babesia divergens* in southern Norway by using an immunofluorescence antibody test in cow sera. *Acta Vet. Scand.* 2010, **52**, 55.
64. Gomes J., Soares R., Santos M., Santos-Gomes G., Botelho A., Amaro A., Inácio J.: Detection of *Theileria* and *Babesia* infections amongst asymptomatic cattle in Portugal. *Ticks Tick Borne Dis.* 2013, **4**, 148–151.
65. Hilperthaus H., Deplazes P., Meli M.L., Hofmann-Lehmann R., Lutz H., Mathis A.: Genotyping of *Babesia bigemina* from cattle from a non-endemic area (Switzerland). *Vet. Parasitol.* 2007, **145**, 59–64.
66. Ibrahim O., Taha Z., Jassim S.: Prevalence of *Babesia bovis* in cattle in Tikreet city and its surroundings with hematological study. *Tikrit J. Pure Sci.* 2012, **17**, 32–34.
67. Hornok S., Edelhofer R., Szołtáczky I., Hajtós I.: *Babesia divergens* becoming extinct in cattle of Northeast Hungary: new data on the past and present situation. *Acta Vet. Hung.* 2006, **54**, 493–501.
68. Galuppi R., Bonoli C., Aureli S., Cassini R., Marcer F., Foley J.E., Tampieri M.P.: Comparison of diagnostic methods to detect piroplasms in asymptomatic cattle. *Vet. Parasitol.* 2012, **183**, 364–368.
69. Staniec M., Adaszek Ł., Winiarczyk M., Skrzypczak M., Nowakiewicz A., Buczek K., Winiarczyk S.: Share Detection of *Babesia occultans* protozoa in cattle from territory of eastern Poland. *Tierarztl. Prax. Ausg. G Grosstiere Nutztiere.* 2018 Aug; **46**(4): 257–259. doi: 10.15653/TPG-180045. Epub 2018 Aug 24.