

## Wpływ koinfekcji u kleszczy (Ixodidae) na transmisję mikro- pasożytów krwi<sup>1</sup>

## Effect of coinfections in Ixodidae ticks on transmission of blood microparasites

Edward Siński

Zakład Parazytologii, Instytut Zoologii, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski, ul. Ilji Miecznikowa 1, 02-096 Warszawa; E-mail: esinski@biol.uw.edu.pl

**ABSTRACT.** The purpose of this review was to describe and discuss the current spectrum of coinfections in Ixodidae ticks and their effects on the transmission of blood microparasites. Coinfections with *Borrelia burgdorferi* s. l. and *Anaplasma phagocytophilum* and/or *Babesia* sp. in ticks from Poland appear to be common, however, the potential influence on transmission dynamics, the mechanism of genetic variation and the ecology of interactions between pathogens remain poorly understood compared with infections by single pathogen.

**Key words:** coinfection, ticks, blood parasites, prevalence

Koinfekcje i ich wpływ na dynamikę transmisji mikropasożytów krwi, omówione w tym opracowaniu, wpisują się w obszar badań dotyczących złożonych oddziaływań w układzie patogen–żywiciel–wektor–środowisko. Obecnie znanych jest 1415 gatunków mikroorganizmów patogenicznych dla człowieka [1], z czego 61% występuje u zwierząt [2]. W ramach tej grupy patogenów ponad 200 gatunków to mikropasożyty przenoszone przez krwiopijne stawonogi, tzw. wektory chorób transmisyjnych. Stanowią one zróżnicowaną grupę drobnoustrojów, do której należą wirusy, riketsje, bakterie i pasożytnicze Protista. Są to patogeny kilkuset gatunków zwierząt, a także człowieka. Naturalnym źródłem zakażenia są najczęściej dziko żyjąco zwierzęta, a proces transmisji w środowisku naturalnym odbywa się z udziałem krwiopijnych stawonogów. Im wyższy poziom zakażenia w środowisku naturalnym (zoonotycznym) wyrażony wiremią, bakterie-mią lub parazytemią, tym większa jest skuteczność wektora w transmisji tych patogenów. Nie można

także zapominać, że konsekwencją ukształtowanych ewolucyjnie układów patogen–żywiciel–wektor–środowisko są groźne dla człowieka choroby przenoszone przez krwiopijne stawonogi (VBD; ang. vector-borne diseases). Choroby VBD, w tym również choroby przenoszone przez kleszcze Ixodidae, tzw. choroby odkleszczowe (TBD; ang. tick-borne diseases) stanowią obecnie coraz poważniejszy problem zdrowia publicznego. Kleszcze *Ixodes ricinus* „kompleks”, takie jak: *I. pacificus* (Kalifornia, USA), *I. scapularis* (wschodnie wybrzeże USA), *I. persulcatus* (Azja) i *I. ricinus* (Europa), mogące przechodzić długotrwałe infekcje, są nie tylko wektorami różnych chorób TBD, ale również ich naturalnym rezerwuarem.

### Koewolucja wektor–patogen

Bezpośrednich dowodów wskazujących na koewolucję patogenicznych wirusów, riketsji, bakterii i Protista z ich wektorami jest niewiele. Ostatnio

<sup>1</sup> Praca prezentowana w trakcie XVIII Wrocławskiej Konferencji Parazytologicznej „Różnorodność oddziaływania układów pasożyt–żywiciel w środowisku”; Wrocław-Karpacz, 21-23 maja 2009 r.

podjęto bardzo interesujące badania zmierzające do wyjaśnienia, jak i kiedy w przeszłości dochodziło do koewolucji kleszczy Ixodidae [3] i bakterii z rodzaju *Anaplasma* [4].

Badania prowadzone w oparciu o mitochondrialną filogenetykę (mitochondrialne DNA) podtypu Chelicerata [3] wykazały, że grupa Ixodida (obecnie rząd Ixodida – kleszcze) wyłoniła się z Acari (roztozcze) w późnym Paleozoiku, w Karbonie (ok. 300 ±27 mln lat temu). W tym okresie nastąpiło rozdzielanie Ixodida na kleszcze twarde (Ixodidae) i kleszcze miękkie (Argasidae). Na lądzie istniały już wtedy gady i ptaki. Wyodrębnienie się z kleszczy twardej dwóch grup: Prostriata i Metastrriata nastąpiło znacznie później, w Mezozoiku (ok. 196 do 134 mln lat temu, na przełomie Jury i Kredy). Równolegle ewoluowały ptaki, a później ssaki – grupy żywicieli kleszczy. Około 300 mln lat temu, kleszcze Ixodidae najprawdopodobniej wkroczyły na pasożytniczy tryb życia, a w licznych procesach specjacji i ekstynkcji ewoluowały Ixodidae, w tym linia Prostriata, do której należy 220 gatunków współcześnie żyjących kleszczy z rodzaju *Ixodes*. Kleszcze te stały się hematofagami i tym samym wektorami mikroorganizmów pasożytujących we krwi ptaków i ssaków.

Koewolucję dwóch gatunków patogenicznych bakterii z rodzaju *Anaplasma* z kleszczami z rodzaju *Ixodes* datuje się na późny okres Kredy, ok. 78,3 mln lat dla *A. phagocytophilum* i środek Eocenu, ok. 43,5 ml lat dla *A. marginale* [4]. W procesie koewolucji wektor-patogen różnicowały się 3 drogi infekcji żywiciela. Takie patogeny jak *Borrelia*, *Babesia*, *Anaplasma* są przekazywane przez ślinę. Wirusy KZM i *B. divergens* – transowarialnie, natomiast *Francisella tularensis* oraz inne riketsje są przekazywane drogą sterkoralną [5].

### Transmisja patogenów i koinfekcje

Pierwszą chorobą z grupy VBD przenoszoną przez hemofagiczne wektory była opisana w 1877 roku limfatyczna filarioza przenoszona z człowieka na człowieka przez komary (za Pherz'em [6]). W roku 1892 wykazano po raz pierwszy transowarialne zakażenie u kleszczy *Boophilus annulatus* przez *B. bigemina* – pasożyta krwi, który wywołuje gorączkę Teksasu u bydła [7]. Poza malarią, filariozą i leiszmaniozą, trzema najczęstszymi chorobami VBD, które dotykają miliony ludzi na świecie, również choroby TBD przenoszone przez kleszcze stanowią spore zagrożenie. W Euro-

pie szczególnie dużym zagrożeniem są cztery mikroorganizmy przenoszone przez kleszcze *Ixodes ricinus*: wirus KZM, krętka *Borrelia* sp., *Anaplasma* sp. i *Babesia* sp.

W dalszej części omówiony jest problem koinfekcji, tj. równoczesnego zakażenia co najmniej dwoma gatunkami mikropasożytów u kleszczy Ixodidae. Jest to ważny problem z tego względu, że koinfekcje stają się przyczyną trudnych w diagnozowaniu i leczeniu zakażeń u ludzi oraz dlatego, że objawy kliniczne współwystępujących zakażeń są silniejsze, co stwierdzano przy równoczesnym zakażeniu *B. burgdorferi* i *A. phagocytophilum*, i/lub *Babesia* sp. [8]. W epidemiologii chorób TBD, czy to z udziałem koinfekcji dwoma lub większą liczbą patogenów przekazanych równocześnie przez pojedynczego kleszcza, czy też w drodze kilkakrotnych infekcji różnymi stadiami rozwojowymi zakażonych kleszczy, istotną rolę odgrywają drogi transmisji mikroorganizmów (horyzontalna i/lub wertykalna). Na przykład horyzontalna transmisja krętków *Borrelia* ułatwia horyzontalny transfer genów pomiędzy różnymi szczepami danego gatunku *Borrelia* lub blisko spokrewnionymi gatunkami [9], natomiast wertykalna droga transmisji *Rickettsia rickettsii* u kleszcza *Dermacentor andersoni* w oddziaływaniu z innymi riketsjami nie patogennymi wpływa negatywnie na prevalencję [10]. Przykład pozytywnego oddziaływania opisują Sutakova i Rehacek [11] wykazując m. in., że u kleszczy *D. reticulatus* zakażenie *Coxiella burnetii* jest ułatwione w obecności *Rickettsia phytoseiuli*. Transmisja patogenów może zachodzić także między nie zakażonymi i zakażonymi wektorami w czasie ich współżerowania. Tę drogę transmisji opisano dla bakterii *B. burgdorferi* s. l., czynnika patogenicznego boreliozy z Lyme [12]. Najczęściej występujące koinfekcje u kleszczy (Ixodidae) dotyczą kilku gatunków mikropasożytów wymienionych poniżej (Tabela 1).

Szereg cech, w tym cechy morfologiczne, fizjologiczne, behawioralne i populacyjne kleszczy (Ixodidea) sprzyja transmisji patogenów i podtrzymywaniu naturalnych ognisk chorób TBD (Tabela 2).

Dynamika zmian struktury genetycznej danego szczepu mikropasożyta, tempo mutacji, antygenowa zmienność, jak również ograniczenia w skuteczności układu odpornościowego w stosunku do zmienionych szczepów mają zasadniczy wpływ na epidemiologię chorób VBD [13]. Omawiając więc problem koinfekcji należy mieć na uwadze fakt, że prokariotyczne i eukariotyczne mikroorganizmy ulegają intensywnym procesom mikroewolucyjnym. Ob-

Tabela 1. Prokaryotyczne i eukaryotyczne mikropasożyty przenoszone przez kleszcze Ixodidae  
Table 1. Prokaryotic and eukaryotic microparasites transmitted by Ixodidae ticks

Wirusy	Bakterie	Protista
Wirus KZM (Flaviviridae)	<i>Anaplasma phagocytophilum</i> <i>Borrelia burgdorferi</i> <i>Coxiella burnetii</i> <i>Francisella tularensis</i> <i>Rickettsia conori</i> <i>Rickettsia slovacia</i>	<i>Babesia divergens</i> <i>Babesia microti</i>

serwowana jest duża zmienność genetyczna mikropasożytów pomiędzy szczepami i wewnątrz szczepów danego gatunku (ang. interstrains and intrastrain diversity). Również w obrębie danego gatunku wykrywane są nowe, zmutowane patogeny, które zostały nazwane przez Futse i wsp. [14] „strain superinfection”. Są to procesy zachodzące na poziomie molekularnym, wpływające w sposób istotny na epidemiologię chorób TBD. Procesy te sprawiają, że pojawiają się nowe, lub rozszerzają się i przemieszczają istniejące strefy zagrożenia chorobami TBD.

Dobrym przykładem ilustrującym ten proces są krętki z rodzaju *Borrelia*. W ciągu ostatnich 20 lat obserwowana była duża zmienność między szczepami i wewnątrz szczepów trzech gatunków: *B. burgdorferi* s. s., *B. garinii*, *B. afzelii*, które to gatunki, jak wiemy, są silnie patogeniczne dla człowieka. Molekularne oddziaływania wektor-żywiiciel na przykładzie krętków *Borrelia* wyjaśniają

mechanizm transmisji i selekcji różnych genogatunków *Borrelia*. W czasie żerowania na żywicielu zainfekowanego krętkami kleszcza, bakterie te przechodzą z systemu oddziaływań charakterystycznych dla wektora (kleszcza) do warunków panujących u kręgowca i *vice versa*. Jest to etap, który decyduje o przeżyciu bakterii, a w rzeczywistości zaś o dynamice transmisji i ich zmienności genetycznej. U krętków *Borrelia* występują dwa białka (lipoproteidy) (OspA i OspC), tzw. outer surface protein, wchodzące w skład grupy białek CRASPs (ang. complement regulatory-acquiring surface proteins). Ekspresja genów i duża zmienność białek OspA bakterii ma miejsce w jelicie kleszcza, co umożliwia przyleganie bakterii do komórek jelita kleszcza i ich agregację. Wyciszenie syntezy OspA następuje kiedy kleszcz pobiera krew żywiciela, i w tym czasie wzrasta ekspresja genów i synteza białka OspC, które utrzymuje się na powierzchni bakterii w czasie ich przemieszczania się w zakażonym żywicielu.

Tabela 2. Wewnętrzne i zewnętrzne czynniki wpływające na kompetencję kleszczy (Ixodidae) w transmisji patogenów

Table 2. Intrinsic and extrinsic factors influence transmission dynamics of Ixodidae ticks

Czynniki wewnętrzne (Intrinsic factors)	Czynniki zewnętrzne (Extrinsic factors)
Biologia kleszczy (behawior, preferencja do gatunku żywiciela, sezonowość żerowania różnych stadiów rozwojowych)	Ekologia zwierząt – nosicieli patogenów (zagęszczenie i zróżnicowanie populacji, aktywność sezonowa)
Zagęszczenie kleszczy i ich intensywność kontaktów z żywicielem	Genetyczne uwarunkowania (wrażliwość/oporność żywiciela w stosunku do patogenów)
Czas i okres żerowania	Czynniki środowiskowe: klimat, urbanizacja, sposób użytkowania obszarów nieurbanizowanych, bioróżnorodność, szybkie transkontynentalne przemieszczanie się ludzi, intensywna międzynarodowa i krajowa turystyka, wzrost demograficzny populacji ludzkiej
Uwarunkowania genetyczne i fizjologiczne wspomagające sukces żerowania	
Transmisja transowarialna	
Transmisja transstadialna	

Tabela 3. Koinfekcje *Borrelia burgdorferi* s. l., *Anaplasma phagocytophilum* i *Babesia microti* u kleszczy *Ixodes ricinus* w różnych regionach PolskiTable 3. Coinfections of *Borrelia burgdorferi* s. l., *Anaplasma phagocytophilum*, and *Babesia microti* in *Ixodes ricinus* ticks from different part of Poland

Rodzaj koinfekcji	% zakażonych kleszczy*	Autorzy
<i>Borrelia burgdorferi</i> + <i>Anaplasma phagocytophilum</i>	8,30	Stańczak i wsp. 2004 <sup>(1)</sup> [28]
<i>Borrelia burgdorferi</i> + <i>Anaplasma phagocytophilum</i>	0,93	Wójcik-Fatla i wsp. 2009 <sup>(2)</sup> [30]
<i>Borrelia burgdorferi</i> + <i>Babesia microti</i>	0,60	Skotarczak i wsp. 2002 <sup>(3)</sup> [25]
<i>Borrelia burgdorferi</i> + <i>Babesia microti</i>	0,30	Stańczak i wsp. 2004 [28]
<i>Borrelia burgdorferi</i> + <i>Babesia microti</i>	0,25	Welc-Fałęciak 2008 <sup>(4)</sup> [29]
<i>Borrelia burgdorferi</i> + <i>Babesia microti</i>	0,10	Wójcik-Fatla i wsp. 2009 [30]
<i>Anaplasma phagocytophilum</i> + <i>Babesia microti</i>	2,00	Stańczak i wsp. 2004 [28]
<i>Anaplasma phagocytophilum</i> + <i>Babesia microti</i>	1,05	Wójcik-Fatla i wsp. 2009 [30]
<i>Borrelia burgdorferi</i> + <i>Anaplasma phagocytophilum</i> + <i>Babesia microti</i>	0,06	Wójcik-Fatla i wsp. 2009 [30]

Objaśnienia/Explanations: \* = % kleszczy obliczany na podstawie liczby kleszczy z koinfekcją do liczby kleszczy badanych; % of infected ticks = number of ticks with coinfection to number of ticks examined

(1) = okolice Trójmiasta

(2) = okolice Lublina

(3) = Pomorze Zachodnie

(4) = Pojezierze Mazurskie

Immunologiczny mechanizm regulacji syntezy białek OspA w warunkach doświadczalnych u myszy C3H-*scid* został opisany w pracy Hodzica i wsp. [15]. Trzy komponenty molekularne żywiciela: plazminogen – plazmina, dopełniacz i tzw. czynnik H, dostając się wraz z krwią do jelita kleszcza decydują o permissywnym systemie transmisji. Krętki *Borrelia* które zdołają agregować czynnik H, nie ulegają lizie z udziałem dopełniacza w ciągu pierwszych 48 godzin żerowania i mogą przedostać się z jelita do gruczołów ślinowych kleszcza przy udziale plazminogenu – plazminy. W niepermissywnym systemie transmisji krętki nie wydzielają białek CRASPs i nie wiążą białkowego czynnika H, a tym samym są zabijane przez białka dopełniacza (C5b-9) na drodze alternatywnej aktywacji dopełniacza [16]. Mutacje w genach syntetyzujących białka CRASPs powodują dużą zmienność fenotypową pomiędzy szczepami i wewnątrz szczepów tych bakterii. Często opisywane koinfekcje różnymi gatunkami *Borrelia* i ich szczepami powodują znaczne różnice w symptomach chorobowych u ludzi.

Przykładem wskazującym na zróżnicowanie genetyczne szczepów u eukariotycznych Protista jest

*B. microti*, jeden z pięciu gatunków *Babesia* występujących w Europie. Gatunki te są inwazyjne dla ludzi [17]. Ostatnio w Zakładzie Parazytologii Instytutu Zoologii UW zbadano molekularną różnorodność *B. microti* w izolatach uzyskanych od dziko żyjących gryzoni oraz w izolatach od kleszczy *I. ricinus* i *D. reticulatus*. W wyniku analizy fragmentu genu (dł. 265 pz) małej podjednostki rybosomu (18S rRNA) wykazano dwa genotypy *B. microti*. Genotyp pierwszy był identyczny ze szczepem *B. microti* „Munich” (AB071177). Genotyp drugi wykazał wysokie podobieństwo (99,7%) do sekwencji genu szczepu *B. microti* „Gray” (AY-693840) oraz 100 % podobieństwa do *B. microti* „Jena” (EF143181). Genotyp ten jest inwazyjny dla ludzi [18].

Przypadki koinfekcji u kleszczy z rodzaju *Ixodes* są opisywane na całym świecie (cytowane jest tutaj tylko wybrane piśmiennictwo od 2005 roku) [9,19–24]. W Polsce badania koinfekcji *B. burgdorferi*, *B. microti* i *Anaplasma phagocytophilum* u kleszczy prowadzone były na Pomorzu Zachodnim, w okolicach Trójmiasta, na Pojezierzu Mazurskim oraz w okolicach Lublina [25–30]. Mechanizm

i konsekwencje oddziaływań pomiędzy wektorem i patogenem oraz wzajemne oddziaływania pomiędzy patogenami w wektorze są bardzo słabo poznane. Niemniej, Ginsberg [9] wyróżnia na przykładzie kleszczy z rodzaju *Ixodes* 3 typy oddziaływań pomiędzy patogenami: (1) pozytywne, (2) antagoniczne i (3) obojętne. Wcześniejsze badania doświadczalne nie wykazały wyraźnej interakcji pomiędzy zakażeniem kleszczy *I. scapularis* przez *B. burgdorferi* i *Ehrlichia phagocytophila*. W czasie żerowania nimf na zakażonych myszach (*Peromyscus leucopus*), obecność każdego z patogenów nie wpłynęła na nabycie drugiego. Również transmisja obu patogenów przez pojedyncze larwy kleszczy *I. scapularis* była na równi skuteczna i niezależna [31].

Odsetek kleszczy *I. ricinus* w Polsce zakażonych jednocześnie przez *B. burgdorferi* s. l. i *A. phagocytophilum*, waha się w granicach od 0,93% do 8,30%; *B. burgdorferi* i *B. microti* od 0,12% do 0,60%; *A. phagocytophilum* i *B. microti* od 1,05% do 2,00%, w zależności od regionu kraju. Natomiast bardzo rzadko występują zakażenia kleszczy trzema patogenami; dla kleszczy z okolic Lublina wartość ta wynosi 0,06% [30] (Tabela 3). Wyniki te są porównywalne ze średnimi koinfekcji u kleszczy *I. ricinus* stwierdzanych w innych krajach Europy Środkowej [19–22].

### Indeks koinfekcji

Obliczenie indeksu koinfekcji ( $I_c$ ) zaproponował Ginsberg w 2008 roku [9]. Indeks ten określany jest jako różnica w liczbie koinfekcji od liczby przewidzianych pojedynczych infekcji w stosunku do wszystkich kleszczy zakażonych w próbie.

$$I_c = [(O - E) / N] \times 100$$

$$E = [(a + b)(a + c)] / (a + b + c + d)$$

$$N = a + b + c$$

gdzie: a=liczba kleszczy zakażonych przez dwa patogeny; b=liczba kleszczy zakażonych tylko jednym patogenem; c=liczba kleszczy zakażonych jednym z dwóch patogenów; d=liczba kleszczy nie zakażonych; O=stwierdzona koinfekcja; E=liczba pojedynczych infekcji; N=liczba kleszczy zainfekowanych jednym lub dwoma patogenami.

Natomiast, prawdopodobieństwa ekspozycji ( $P_e$ ) na patogen można określić stosując wzór:

$$P_e = 1 - (1 - k_v)^n$$

gdzie: n=liczba kleszczy żerujących na żywicielu;  $k_v$ =prewalencja zakażenia kleszczy według Ginsberga [32,33].

### Podsumowanie

Wpływ koinfekcji na transmisję przez kleszcze (Ixodidae) nabiera istotnego znaczenia w epidemiologii niektórych patogenów chorób TBD, gdyż w koinfekcjach, nieoczekiwanie pojawiają się nowe problemy związane z diagnostyką i leczeniem tych chorób. W Polsce odsetek kleszczy *I. ricinus* zakażonych jednocześnie przez *B. burgdorferi* s. l. i *A. phagocytophilum* i/lub *B. microti* waha się w granicach od 0,12% do 8,30% badanych kleszczy, w zależności od regionu kraju. Problem koinfekcji jest, jak dotąd, słabo zauważany, o czym świadczy mała liczba doniesień na ten temat w porównaniu z publikacjami dotyczącymi pojedynczych infekcji. Aby poznać efektorową rolę kleszczy jako przenosicieli patogenów TBD należy uwzględnić wszystkie mechanizmy związane z koinfekcjami, gdyż m.in. zmienność genetyczna tych patogenów i jej dynamika mogą sprzyjać szerzeniu się chorób TBD, i w znacznym stopniu utrudniać zapobieganie tym chorobom.

### Literatura

- [1] Cunningham A. A. 2005. A walk on the wild side – emerging wildlife diseases. *British Medical Journal* 331: 1214-1215.
- [2] Vorou R. M., Papavaddilious V. G., Tsiodras S., 2007. Emerging zoonoses and vector-borne infections affecting humans in Europe. *Epidemiology of Infection* 135: 123-1247.
- [3] Jeyaprakash A., Hoy M. A. 2009. First divergence time estimate of spiders, scorpions, mites and ticks (subphylum: Chelicerata) inferred from mitochondrial phylogeny. *Experimental and Applied Acarology* 47: 1-18.
- [4] Foley J., Nieto N. C., Foley P., Teglas M. B. 2008. Co-phylogenetic analysis of *Anaplasma phagocytophilum* and its vectors, *Ixodes* spp. ticks. *Experimental and Applied Acarology* 45: 155-170.
- [5] Aeschlimann A. 1993. Ticks and disease: susceptible hosts, reservoir hosts, and vectors. In: *Parasite-host associations coexistence or conflict?* (Eds. C. A. Toft, A. Aeschlimann, L. Bolis). Oxford University Press: 148-158.
- [6] Perez F. M. 2007. Factors affecting the emergence and prevalence of vector borne infections (VBI) and the role of vertical transmission (VT). *Journal of Vector Borne Diseases* 44: 157-163.
- [7] Marquardt W. C., Demare R. S., Grieve R. B. 2000. *Parasitology and Vector Biology*. Harcourt/Academic Press.
- [8] Belongia, E., 2002. Epidemiology and impact of co-infections acquired from *Ixodes* ticks. *Vector Borne*

- Zoonotic Diseases* 2: 265-273.
- [9] Ginsberg H. S. 2008. Potential effects of mixed infections in ticks on transmission dynamics of pathogens: comparative analysis of published records. *Experimental and Applied Acarology* 46: 29-41.
- [10] Schriefer M. E., Azad A. F. 1994. Changing ecology of Rocky Mountain Spotted Fever. In: *Ecological dynamics of ticks-borne zoonoses*. (Eds. D. E. Sonenshine, T. N. Mather). Oxford University Press, New York: 314-326.
- [11] Sutáková G., Reháček J. 1990. Mixed infection of *Rickettsia phytoseiuli* and *Coxiella burnetii* in *Dermacentor reticulatus* female ticks: electron microscope study. *Journal of Invertebrate Pathology* 55: 407-416.
- [12] Randolph S., Gern L. 2003. Co-feeding ticks and its contribution to the perpetuation of the Lyme disease spirochete *Borrelia afzelii*. *Emerging Infectious Diseases* 9: 893-894.
- [13] Gog J. R., Grenfell B. T. 2002. Dynamics and selection of many-strain pathogens. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 99: 17209-17214.
- [14] Futse J. E., Brayton K. A., Dark M. J., Knowles Jr. D. P., Palmer G. H. 2008. Superinfection as a driver of genomic diversification in antigenically variant pathogens. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 104: 2123-2127.
- [15] Hodzic E., Tunev S., Feng S., Freet K. J., Barthold S. W. 2005. Immunoglobulin-regulated expression of *Borrelia burgdorferi* outer surface protein A in vitro. *Infection and Immunity* 73: 3313-3321.
- [16] Kurtenbach K., De Michelis S., Etti S., Schafer S. M., Sewell H-S., Brade V., Kraiczy P. 2002. Host association of *Borrelia burgdorferi* sensu lato – the key role of host complement. *Trends in Microbiology* 10: 75-79.
- [17] Siński E., Welc-Falęciak R. 2008. *Babesia* spp. w Polsce: Identyfikacja i epidemiologiczne znaczenie. *Postępy Mikrobiologii* 47: 299-305.
- [18] Welc-Falęciak, R., Bajer, A., Behnke, J. M., Siński, E. 2008. Effects of host diversity and the community composition of ixodid ticks (Ixodidae) on *Babesia microti* infection. *International Journal of Medical Microbiology* 289, S1: 235-242.
- [19] Halos L., Jamal T., Maillard R., Beugnet F., Le Menach A., Boulois H. J., Vayssier-Taussat M. 2005. Evidence of *Bartonella* sp. in questing adults and nymphal *Ixodes ricinus* ticks from France and co-infection with *Borrelia burgdorferi* sensu lato and *Babesia* sp. *Veterinary Research* 36: 79-87.
- [20] Piccolin, G., Benedetti, G., Doglioni, C., Lorenzato, C., Mancuso S., Papa, N., Pitton, L., Ramon, M. C., Zasio, C., Bertiato, G., 2006. A study of the presence of *B. burgdorferi*, *Anaplasma* (previously *Ehrlichia*) *phagocytophilum*, *Rickettsia*, and *Babesia* in *Ixodes ricinus* collected within the territory of Belluno, Italy. *Vector Borne Zoonotic Diseases* 6: 24-31.
- [21] Barandika J. F., Huratado A., Garcia-Sanmartin J., Juste R. A., Anda P., Garcia-Perez A. L. 2008. Prevalence of tick-borne zoonotic bacteria in questing adult ticks from northern Spain. *Vector Borne and Zoonotic Diseases* 8: 829-835.
- [22] Milutinoić M., Masuzawa T., Tomanović S., Radulovic Z., Fukui T., Okamoto Y. 2008. *Borrelia burgdorferi* sensu lato, *Anaplasma phagocytophilum*, *Francisella tularensis* and their co-infections in host-seeking *Ixodes ricinus* ticks collected in Serbia. *Experimental and Applied Acarology* 45: 171-183.
- [23] Sun J., Liu Q., Lu L., Ding G., Guo J., Fu G., Zhang J., Meng F., Wu H., Song X., Ren D., Li D., Guo Y., Wang J., Li G., Liu J., Lin H. 2008. Coinfection with four genera of bacteria (*Borrelia*, *Bartonella*, *Anaplasma*, and *Ehrlichia*) in *Haemaphysalis longicornis* and *Ixodes sinensis* ticks from China. *Vector Borne and Zoonotic Diseases* 8: 791-795.
- [24] Nieto C., Foley J. E., 2009. Meta-analysis of coinfection and coexposure with *Borrelia burgdorferi* and *Anaplasma phagocytophilum* in humans, domestic animals, wildlife, and *Ixodes ricinus*-complex ticks. *Vector Borne Zoonotic Diseases* 9: 93-101.
- [25] Skotarczak B., Wodecka B., Cichocka A. 2002. Coexistence of DNA of *Borrelia burgdorferi* sensu lato and *Babesia microti* in *Ixodes ricinus* ticks from north-western Poland. *Annales of Agricultural and Environmental Medicine* 9: 25-28.
- [26] Stańczak J., Racewicz M., Kruminis-Łozowska W., Kubica-Biernat B. 2002. Coinfection of *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae) in northern Poland with the agents of Lyme borreliosis (LB) and human granulocytic ehrlichiosis (HGE). *International Journal of Medical Microbiology* 291 (Suppl. 330): 198-201.
- [27] Skotarczak B., Rymaszewska A., Wodecka B., Sawczuk M. 2003. Molecular evidence of coinfection of *Borrelia burgdorferi* sensu lato, human granulocytic ehrlichiosis agent, and *Babesia microti* in ticks from northwestern Poland. *Journal of Parasitology* 89: 194-196.
- [28] 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. *Annales of Agricultural and Environmental Medicine* 11: 109-114.
- [29] Welc-Falęciak, R. 2008. Pasożyty krwi gryzoni *Babesia microti* i *Bartonella* spp. patogenne dla człowieka: badania środowiskowe i molekularne. Praca doktorska, Zakład Parazytologii, Instytut Zoologii, Uniwersytet Warszawski.
- [30] Wójcik-Falta A., Szymańska J., Wdowiak L., Buczek A., Dudkiewicz J. 2009. Coincidence of three pathogens (*Borrelia burgdorferi* sensu lato, *Anaplasma phagocytophilum* and *Babesia microti*) in ticks in the Lublin macroregion. *Annales of Agricultural and Environmental Medicine* 16: 151-158.

- [31] Levin M. L., Fish D. 2000. Acquisition of coinfection and simultaneous transmission of *Borrelia burgdorferi* and *Ehrlichia phagocytophila* by *Ixodes scapularis* ticks. *Infection and Immunity* 68: 2183-2186.
- [32] Ginsberg H. S. 1993. Transmission risk of Lyme disease and implications for tick management. *American Journal of Epidemiology* 138: 65-73.
- [33] Ginsberg H. S. 2001. Integrated pest management and allocation of control efforts for vector-borne diseases. *Journal of Vector Ecology* 26: 3-38.

Wpłynęło 21 września 2009

Zaakceptowano 15 listopada 2009