

## Babeszjoza psów – wciąż aktualny problem

### Dogs babesiosis – still actually problem

Łukasz Adaszek, Stanisław Winiarczyk

Katedra Epizootiologii i Klinika Chorób Zakaźnych, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Akademia Rolnicza, ul. Głęboka 30, 20-612 Lublin

Adres do korespondencji: Łukasz Adaszek, Klinika Chorób Zakaźnych, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Akademia Rolnicza, ul Głęboka 30, 20-612 Lublin; E-mail: ukaszek0@wp.pl

**ABSTRACT.** Babesiosis (piroplasmosis) is a tick-borne disease with a symptoms of hemolytic anemia. For the first time babesiosis was described in dogs in United States in 1934. The etiological factor of this disease in Poland is protozoa *Babesia canis*, and its vector – *Dermacentor*-tick. The most common symptoms of babesiosis are: icterus, hemoglobinuria, occasionally vomits and diarrhea. The biochemical examination of blood serum from sick animals can reveal the increase of activity of AST, ALT, the increase of total bilirubine, urea and creatynine concentrations. The results of hematological examinations can show anemia, leucopenia and thrombocytopenia. The diagnosis of babesiosis bases on anamnesis, clinical examinations of dogs, microscopical examinations of blood smears from sick animals; IF-assay and PCR can also be helpful for the diagnosis of babesiosis. Till now does not exist the effective immunoprophylaxis against this disease. Babesiosis is well-known disease, however there are still problems with therapy of infected animals. Most effective drug in therapy of dog piroplasmosis is imidocarb, but sometimes can be observed side effects after it application. It is possible that the genetically differences which are detected in subspecies may have an influence on the severity of disease and the effectiveness of therapy.

**Key words:** *Babesia canis*, dogs, ticks, tick-borne disease

### Wprowadzenie

Babeszjoza (piroplazmoza) jest ciężką chorobą psów, przebiegającą z objawami anemii hemolitycznej. Wywoływana jest przez pierwotniaki z rodziny *Babesidae*, głównie przez *Babesia canis* oraz *Babesia gibsoni*. Częściej wykrywana *B. canis* ma wielkość około 4–5  $\mu\text{m}$ , *B. gibsoni* jest znacznie mniejsza – 1–2,5  $\mu\text{m}$  [1]. Obecnie w obrębie gatunku *B. canis* wyróżnia się trzy podgatunki: *B. canis canis*, którego wektorem są kleszcze *Dermacentor reticulatus*, *B. canis vogeli*, przenoszony przez *Rhipicephalus sanguineus* oraz *B. canis rossi*, wektorem którego jest *Haemaphysalis leachi* [2–4]. W naszych warunkach klimatycznych czynnikiem etiologicznym babeszjozy psów jest *B. canis canis* [5].

Po raz pierwszy chorobę opisano w Stanach Zjednoczonych [6]. Wykazano wówczas obecność

pierwotniaków w erytrocytach krwi psa poddanego badaniu w kierunku mikrofilariozy. Obecnie babeszjoza występuje na całym świecie. Jej przypadki notowano w Europie [1, 5, 7–9], Brazylii [10], Południowej Afryce [11–13] Japonii [14, 15], Australii [16], Ameryce [2, 17, 18], Izraelu [19], Zimbabwie [20], Egipcie [21] oraz Malezji [22, 23].

Zachorowania na babeszjozę pojawiają się wiosną oraz jesienią i związane są z sezonową aktywnością kleszczy. Do zarażenia psów dochodzi podczas inwazji tymi pajęczakami. W trakcie pobierania krwi przez kleszcze do organizmu psa zostają wprowadzone sporozycy, które przekształcają się w trofozoity, a następnie w obrębie krwinek czerwonych ulegają podziałom na dwa gruszkowate merozoity. Z czasem doprowadzają one do destrukcji erytrocytów, co klinicznie objawia się anemią [24, 25].

Stegman i wsp. [26] opisali zarażenie sukki

owczarka niemieckiego pierwotniakami *Babesia* poprzez transfuzję krwi. U psa biorcy wystąpiły niespecyficzne objawy ogólne w postaci gorączki, apatii i spadku masy ciała. Badaniem hematologicznym wykazano anemię oraz niską wartość hematokrytu, zaś badaniem biochemicznym surowicy krwi – podwyższone stężenie bilirubiny. Diagnozę choroby postawiono na podstawie mikroskopowej oceny rozmazów krwi pobranej od psa chorego oraz amplifikacji DNA w reakcji PCR z użyciem starterów swoistych dla *B. gibsoni*. Badaniem krwi psa dawcy metodą PCR wykryto również DNA tych pasożytów. Sekwencjonowanie produktów amplifikacji pochodzących od obu zwierząt wykazało 100% homologię pomiędzy porównywanymi izolatami, co było podstawą ustalenia związku pomiędzy wystąpieniem choroby a przetoczeniem krwi.

Do zarażenia pierwotniakami *Babesia* może dochodzić także na skutek kontaktu ran z zainfekowaną krwią. Sytuacje takie mają często miejsce podczas walk psów. Nie dziwi więc fakt, iż rasami, u których najczęściej dochodzi do inwazji tą drogą są american pitt bull terrier oraz tosa inu, zwłaszcza w Stanach Zjednoczonych oraz Azji, gdzie walki psów, jakkolwiek nielegalne, cieszą się dużą popularnością [27, 28]. W badaniach nad występowaniem babeszjozy, przeprowadzonych w USA, aż w 93% przypadków zarażenia *B. gibsoni* i *B. canis* dotyczyły rasy american pitt bull terrier [27].

## Objawy kliniczne

Pierwsze objawy babeszjozy są niespecyficzne. U zarażonych zwierząt pojawia się gorączka, apatia, spadek apetytu, przyspieszenie tętna i zwiększenie częstości oddechów. Z czasem pojawia się błądzenie błon śluzowych, hemoglobinuria, a niekiedy wymioty i biegunka. Ponieważ elementy uszkodzonych erytrocytów mogą blokować kłębuszki nerkowe i prowadzić do uszkodzenia wątroby, w zaawansowanym procesie chorobowym można zaobserwować brak oddawania moczu oraz zażółcenie błon śluzowych [29]. Niekiedy u psów występują objawy nerwowe [30]. Badaniem hematologicznym na ogół stwierdza się niski poziom erytrocytów oraz trombocytów, spadek hematokrytu, zaś liczba białych ciałek krwi może być podwyższona lub obniżona w zależności od organizmu [5, 14].

Uważa się, że zarażenia *B. canis*, w porównaniu z wywoływanych przez *B. gibsoni*, przebiegają ostrzej ze względu na szybszą hemolizę krwi powodowaną przez pierwszy z wymienianych pasożytów

[22]. Niemniej jednak Farwell [31] opisał liczne przypadki kliniczne spowodowane obydwoma gatunkami tych pierwotniaków, w których choroba przebiegała podobnie, niezależnie od czynnika etiologicznego. Obserwowano depresję, brak apetytu i regeneratywną anemię. Wartość hematokrytu wahała się w granicach 13–38%. Rozpoznanie różnicowe można było postawić tylko na podstawie oceny rozmazu krwi, wyników testu Coombsa oraz odczynu immunofluorescencji (IF). W 35 przypadkach choroba wywołana była przez pierwotniaki *B. gibsoni*, zaś w 11 przez *B. canis*.

Zwierzęta młode są bardziej podatne na zarażenie pierwotniakami, a choroba przebiega u nich gwałtowniej aniżeli u osobników dorosłych. Potwierdzają to doniesienia Harveya i wsp. [2], którzy rozpoznali babeszjozę w miocie trzytygodniowych szczeniąt rasy mastiff. U psów zaobserwowano osłabienie, zażółcenie błon śluzowych, powiększenie śledziony, tachykardię i wzrost temperatury wewnętrznej ciała. Badaniem hematologicznym wykazano anemię i trombocytopenię. W przeciwieństwie do szczeniąt, u sukien nie obserwowano żadnych objawów chorobowych, a w erytrocytach krwi nie stwierdzono obecności pierwotniaków, mimo że na powłokach jej ciała były kleszcze *Rhipicephalus sanguineus*. Natomiast badanie serologiczne (IF) wykazało w surowicy krwi obecność swoistych przeciwciał dla *B. canis*. Opis babeszjozy u 5 szczeniąt w hodowli psów rasy greyhound znajdujemy w doniesieniu opublikowanym przez Breitschwerdt [32]. U szczeniąt stwierdzono objawy depresji, osłabienia i braku łaknienia, ponadto u 2 osobników zanotowano gorączkę, u jednego azotemię i bilirubinemię, natomiast u wszystkich trombocytopenię. Badaniem rozmazów krwi wykazano u wszystkich zwierząt obecność w erytrocytach *B. canis*. U dwóch szczeniąt w następstwie zarażenia pierwotniakami doszło do zejścia śmiertelnego. Badanie sekcyjne wykazało silnego stopnia żółtaczkę, powiększenie węzłów chłonnych oraz silne powiększenie śledziony. W żyłach płuc, śledziony, nerek, opon mózgowych, blaszki właściwej żołądka i jelit wykazano erytrocyty zawierające pierwotniaki. Dodatkowo w naczyniach opon mózgowych zaobserwowano zakrzepy złożone z włóknika, zaś w substancji białej mózgu ogniskowe wybroczyny. Podobne zmiany zaobserwowano w płucach.

Niejednokrotnie choroba prowadzi do śmierci zwierzęcia. Na ogół jest ona wynikiem anemii hemolitycznej, prowadzącej do wstrząsu [33, 34]. Rozwijający się w przebiegu choroby i nieleczoney

zespół wykrzepiania wewnątrznaczyniowego (disseminated intravascular coagulation, DIC) może również prowadzić do padnięć [35]. Śmierć może być także następstwem rozwijającej się kwasicy metabolicznej przy braku dostatecznej ilości tlenu. Gromadzący się wówczas kwas mlekowy jest przyczyną uszkodzenia komórek [33]. Padnięcia zwierząt mogą także wynikać z uszkodzenia kłębuszków nerkowych przez elementy rozpadłych erytrocytów bądź też kompleksy antygen-przeciwciała. Rozwija się wówczas azotemia, prowadząca do mocznicy i intoksykacji organizmu. Taki przypadek u psa leczonego na babeszjozę opisują Conrad i wsp. [34]. Objawami dominującymi były biegunka oraz wymioty. Badanie biochemiczne surowicy krwi wykazało wzrost stężenia bilirubiny całkowitej, kreatyniny, fosforu, hiperglikemię, hipercholesterolemię, hipokalcemię, hipoalbuminemię oraz wzrost aktywności fosfatazy zasadowej, amylazy oraz aminotransferazy alaninowej. W trakcie leczenia pies padł, a sekcja zwłok wykazała silnego stopnia kłębuszkowe zapalenie nerek.

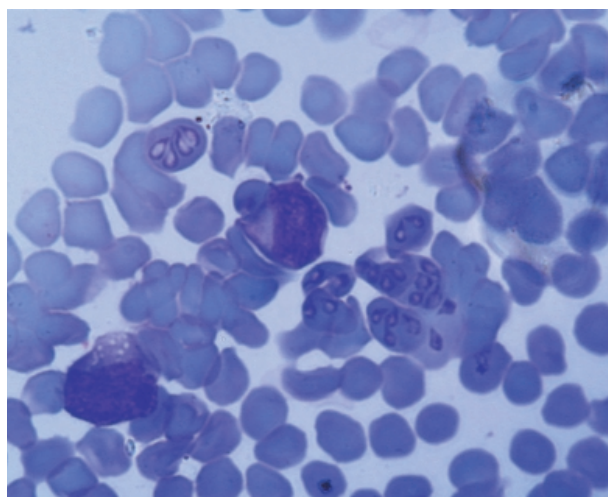
W badaniach własnych [5] przeprowadzonych na 76 psach z województwa Lubelskiego zarażonych przez *Babesia canis* najczęściej stwierdzano pogorszenie stanu ogólnego (100%), odwodnienie (89,47%), brunatne zabarwienie moczu (81,58%), wzrost ciepłoty wewnętrznej ciała (81,58%) i częstości tętna (78,95%). Natomiast w badaniu hematologicznym rejestrowano trombocytopenię oraz leukopenię odpowiednio w 96,05% i 76,32% przypadków. Anemię wykazano w 53,95% przypadków, zaś spadek hematokrytu w 56,58%. Wartości wskaźników biochemicznych surowicy krwi wskazywały na uszkodzenia wątroby i nerek. U wszystkich zwierząt zanotowano wzrost stężenia mocznika ponad normę fizjologiczną, w 96,05% przypadkach wzrosło stężenie kreatyniny, podwyższony poziom bilirubiny całkowitej wykazano w 92,11% przypadków, zaś wzrost aktywności aminotransferaz asparaginowej i alaninowej zarejestrowano w 72,37% i 59,21% przypadków. Wyniki badań klinicznych, hematologicznych i biochemicznych krwi, niedokrwistość, błądź lub zażółcenie błon śluzowych, brunatne zabarwienie moczu oraz trombocytopenia wskazywały na hemolityczną formę babeszjozy.

## Rozpoznawanie

Ze względu na różnorodność objawów klinicznych rozpoznawanie babeszjozy u psów może być trudne. W diagnostyce różnicowej pod uwagę nale-

ży brać leptospirozę, zatrucia warfaryną oraz inwazję pasożytów żołądkowo-jelitowych. Wczesne rozpoznanie choroby pozwala na skuteczne jej leczenie, jednak aby rozpocząć terapię konieczna jest pewność, iż czynnikiem etiologicznym są pierwotniaki z rodzaju *Babesia*. Związane jest to z toksycznością leków przeciwprzywrotniacych obciążających silnie narządy mięsaszowe, zwłaszcza wątrobę [2, 36].

Standardowa diagnostyka babeszjozy na terenach jej enzootypnego występowania opiera się na danych z wywiadu (obecność kleszczy u psa), objawach klinicznych (gorączka, anemia, żółtaczkę, hemoglobinuria) oraz na mikroskopowej ocenie rozmazów krwi zwierząt chorych barwionych metodami Giemzy [37, 38], Romanowskiego [39] lub Diff-Quick [35]. Gruszkowate trofozoity *B. canis* można wykazać w erytrocytach krwi psów już w 2–3 dni po zarażeniu. Ulegają one podziałom i atakują kolejne krwinki. Następnie obserwuje się okres raptownego zaniku trofozoitów w krwinkach czerwonych. Ponownie można je wykazać po okresie 1,5–2 tygodni od zarażenia i wówczas pierwotniaki utrzymują się w erytrocytach psów nieleczonych aż do śmierci [39]. Najwyższą parazytemię, wahającą się na poziomie 4,5%, obserwuje się około czternastego dnia po zarażeniu, w tym okresie w zaatakowanych erytrocytach można wykazać 2, 4, 6, a nawet 8 merozoitów (Fot. 1), stykających się ze sobą węższą częścią komórek [40].



Fot. 1. Obecność gruszkowatych merozoitów w erytrocytach krwi psa

Phot. 1. Merozoites in erythrocytes of dog blood

Niekiedy w limfocytach i neutrofilach krwi pobranej od psów zarażonych pierwotniakami z rodzaju *Babesia* można wykazać obecność swoistego ro-

dzaju ciałek wrętowych. Pierwsze doniesienie o tych strukturach pochodzi z 1963 roku [39], jednakże w tamtym czasie autor nie potrafił jeszcze wykazać związku pomiędzy ich obecnością a zarażeniem tymi patogenami. Simpson [41] po raz pierwszy stwierdził, że są to sfagocytowane fragmenty krwinek czerwonych zarażonych pasożytami i same pasożyty.

Mikroskopowe badanie rozmazów krwi stanowi stosunkowo szybką metodę diagnozowania babeszjozy, niemniej jednak jego wynik uzależniony jest z jednej strony od intensywności inwazji, z drugiej zaś, od dokładności i doświadczenia osoby oceniającej preparat. Zdarza się bowiem, że przy niskiej, niejednokrotnie okresowej parazytemii bardzo trudno jest wykazać obecność pierwotniaków. Ponadto często nie mają one typowego gruszkowatego kształtu, zaś erytrocyty chorych psów ulegają wakuolizacji co dodatkowo utrudnia rozpoznanie zarażenia [31, 34, 42]. Z tego też względu istnieje konieczność równoległego użycia w diagnostyce babeszjozy innych technik, takich jak odczyn immunofluorescencji (IF) czy też łańcuchowa reakcja polimerazy (PCR) [1, 43].

Anderson i wsp. [44] przeprowadzili badania nad zastosowaniem odczynu immunofluorescencji w rozpoznawaniu zarażeń na tle *Babesia* u psów. Uzyskane wyniki wskazywały, że przy niskiej parazytemii rzędu 0,01% najniższe miano przeciwciał w surowicy uznawane za dodatnie w IF (1:64) pojawia się u psów z usuniętą śledzioną w dziesiątym dniu po zarażeniu i osiąga ono swoje maksimum dwadzieścia pięć dni później.

U psów z zachowaną śledzioną miano przeciwciał anti-*Babesia* w dwudziestym piątym dniu po infekcji wynosiło 1:256 i wzrosło do 1:65,536 w osiemnastym tygodniu po zarażeniu.

W związku z tym, że detekcja przeciwciał w surowicy psów zarażonych pierwotniakami możliwa jest dopiero w kilka dni po zarażeniu, gdy pojawiają się one na wykrywalnym poziomie, badania serologiczne nie znajdują zastosowania w rozpoznawaniu przypadków o przebiegu ostrym. Na ogół są one wykorzystywane w diagnostyce babeszjozy przewlekłej [34] oraz w badaniach seroepidemiologicznych [45].

Coraz częściej w rozpoznawaniu babeszjozy oraz w ocenie sytuacji epizootycznej, w tym w wykrywaniu zarażeń subklinicznych tymi pierwotniakami [46], wykorzystywane są metody biologii molekularnej, a przede wszystkim łańcuchowa reakcja polimerazy [5]. Druga reakcja PCR, tzw. nested

PCR, jest niezwykle czuła i pozwala na wykazanie obecności materiału genetycznego *Babesia* już przy parazytemii wynoszącej zaledwie 0,0001% [47]. Dodatkowo określanie sekwencji uzyskanych ampikonów dostarcza cennych informacji do analizy epidemiologicznej i taksonomii.

### Immunoprofilaktyka i leczenie

Opracowanie skutecznej immunoprofilaktyki wymaga dokładnego poznania budowy antygenowej pierwotniaków z rodzaju *Babesia*, a zwłaszcza wykrycia wspólnych dla wszystkich ich przedstawicieli determinant antygenowych indukujących krzyżową odporność w organizmach szczepionych psów. Do chwili obecnej nie udało się skonstruować szczepionki w pełni chroniącej psy przed rozwojem choroby. Próby wprowadzenia w Polsce francuskiej szczepionki pod nazwą Pirodog zakończyły się niepowodzeniem, z powodu jej niskiej skuteczności klinicznej. Ten sam produkt immunologiczny wykazywał jednak dobre działanie ochronne u psów na terenie Francji i Szwajcarii [48]. Potwierdzeniem tych obserwacji klinicznych są wyniki badań doświadczalnych Schettera i wsp. [49, 50], którzy testowali immunogenność rozpuszczalnych antygenów *B. canis canis* (soluble parasite antigens, SPA). Uzyskana odporność ochronna po podaniu tych antygenów zabezpieczała psy jedynie przed zarażeniem homologicznym szczepem pasożyta, nie obserwowano natomiast krzyżowej odporności wobec innych szczepów pasożytów należących do tego rodzaju [13]. Obecnie prowadzone są intensywne prace nad właściwościami antygenowymi glikozylfosfatydyloinozytolu zakotwiczonego w powierzchniowym białku Bc28 merozoitów (GPI-anchor MSA). Białko to cechuje się stosunkowo dużym polimorfizmem i warunkuje przeżywalność pierwotniaków w organizmach psów, które miały wcześniej kontakt z pasożytami *Babesia* i wytworzyły swoiste przeciwciała. Sugeruje się istnienie w obrębie cząsteczki tego białka wspólnych domen antygenowych, reagujących krzyżowo pomiędzy różnymi szczepami *B. canis* [51].

Jednym z głównych problemów na drodze do opracowania szczepionki w skali technicznej jest trudność uzyskania odpowiedniej ilości antygeny. Pierwotniaki *Babesia* próbuje się hodować *in vitro* na krwinkach czerwonych oraz *in vivo* na psach pozabawionych śledziony [50]. Hodowle *in vitro* przygotowuje się poprzez zawieszenie erytrocytów w odpowiednich płynach odżywczych o wysokim

stężeniu potasu z dodatkiem surowicy psiej rządu 7,5–40%, zakażone zaś komórki inkubuje się w temperaturze 37°C w atmosferze zawierającej 5% CO<sub>2</sub> [52–54]. Zawiesiny pasożytów przeznaczone do inokulacji hodowli erytrocytów przechowuje w stanie zamrożenia w ciekłym azocie [54] lub w temperaturze –70°C [29].

Należy podkreślić, że nie tylko immunoprofilaktyka babeszjozy, lecz także jej leczenie stanowią dość poważny problem. Mimo szerokiego wachlarza leków o działaniu przeciwpierwotniaczym, wskaźnik śmiertelności jest wciąż relatywnie wysoki [2, 34, 35, 55]. Obecnie lekiem z wyboru jest imidokarb [34–36, 55], którego silne działanie bójcze polega na uszkodzeniu jąder komórkowych pasożyta. Jego stosowanie powoduje u psów pojawianie się szeregu działań niepożądanych, najczęściej obserwuje się ślinienie, wymioty, łzawienie oraz biegunkę [36]. Objawy te można znieść, stosując atropinę [55]. Niekiedy zdarza się wystąpienie oporności pierwotniaków *Babesia* na terapię imidokarbem. Taką sytuację opisuje Zygner [55], gdy przy braku reakcji po zastosowaniu imidokarbu, psu podano chlorochinę. Mechanizm jej działania polega na zahamowaniu syntezy DNA pierwotniaka. Zarówno chlorochina, jak i chinina są lekami stosowanymi głównie do zwalczania malarii, niemniej jednak istnieją doniesienia o ich skuteczności w zwalczaniu infekcji pasożytami *Babesia*, zwłaszcza *B. gibsoni* [56, 57].

Z innych chemioterapeutyków stosowanych w zwalczaniu babeszjozy psów wymienić należy diminazę, zaburzający procesy tlenowe pasożytów [24, 31, 55], pentamidynę [31], a także klindamycynę [26], metronidazol oraz błękit trypanu. W rutynowej terapii choroby stosowanie leków przeciwpierwotniaczych wspomaganie jest podawaniem antybiotyków, sterydów, witamin, a niejednokrotnie przy niskiej wartości hematokrytu wykonaniem u pacjentów transfuzji krwi [34, 35].

Leczenie babeszjozy psów może być utrudnione współistniejącymi infekcjami na tle riketsji z rodzaju *Ehrlichia* [20] oraz krętków *Borrelia* [5], których wektorami są także kleszcze *Dermacentor* i *Rhipicephalus*.

Reasumując należy stwierdzić, że jakkolwiek babeszjoza psów uchodzi za chorobę dobrze poznaną, to jednak w dalszym ciągu przysparza lekarzom weterynarii wiele problemów zwłaszcza związanych z jej diagnostyką i leczeniem. Nie bez znaczenia jest fakt stosunkowo dużej zmienności genetycznej tych pierwotniaków w obrębie podgatun-

ków, co z kolei może przekładać się na przebieg choroby, jak i skuteczność zastosowanych metod terapii [5].

## Literatura

- [1] Foldvari G., Hell E., Farkas R. 2005. *Babesia canis canis* in dogs from Hungary: detection by PCR and sequencing. *The Veterinary Parasitology* 127: 221–226.
- [2] Harvey J.W., Taboada J., Lewis J. 1988. Babesiosis in a litter of pups. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 192: 1751–1752.
- [3] Uilenberg G., Franssen F.F., Perie N.M., Spanjer A.A. 1989. Three groups of *Babesia canis* distinguished and a proposal for nomenclature. *Veterinary Quarterly* 11: 33–40.
- [4] Zahler M., Gothe R. 1997. Endemic risk of *Babesia canis* by *Dermacentor reticulatus* in Germany. An epidemiologic study. *Tierärztliche Praxis* 25: 666–670.
- [5] Adaszek Ł. 2007. Wybrane aspekty epidemiologii babeszjozy, boreliozy i erlichiozy psów. Praca doktorska, Akademia Rolnicza, Lublin.
- [6] Eaton P. 1934. *Piroplasma canis* in Florida. *The Journal of Parasitology* 20: 312–313.
- [7] Duh D., Tozon N., Pertovec M., Strasek K., Avsic-Zupanc T. 2004. Canine babesiosis in Slovenia: molecular evidence of *Babesia canis canis* and *Babesia canis vogeli*. *Veterinary Research* 35: 363–368.
- [8] Gothe R., Wegerdt S. 1991. Babesiosis of dogs in Germany: epidemiologic case analysis. *Tierärztliche Praxis* 19: 170–173.
- [9] Zahler M., Schein E., Rinder H., Gothe R. 1998. Characteristic genotypes discriminate between *Babesia canis* isolates of differing vector specificity and pathogenicity to dogs. *Parasitology Research* 84: 544–548.
- [10] Bastos C. de V., Moreira S.M., Passos L.M. 2004. Retrospective study (1998–2001) on canine babesiosis in Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1026: 158–160.
- [11] Collett M.G. 2000. Survey of canine babesiosis in South Africa. *Journal of the South African Veterinary Association* 71: 180–186.
- [12] Matjila P.T., Penzhorn B.L., Bekker C.P., Nijhof A.M., Jongejan F. 2004. Confirmation of occurrence of *Babesia canis vogeli* in domestic dogs in South Africa. *The Veterinary Parasitology* 122: 119–125.
- [13] Reyars F., Leisewitz A.L., Lobetti R.G., Milner R.J., Jacobson L.S., van Zyl M. 1998. Canine babesiosis in South Africa: more than one disease. Does this serve as a model for falciparum malaria? *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* 92: 503–511.
- [14] Inokuma H., Yoshizaki Y., Matsumoto K., Okuda M., Onishi T., Nakagome K., Kosugi R., Hirakawa M. 2004. Molecular survey of *Babesia* infection in dogs

- in Okinawa, Japan. *The Veterinary Parasitology* 121: 341–346.
- [15] Inokuma H., Yoshizaki Y., Shimada Y., Sakata Y., Okuda M., Onishi T. 2003. Epidemiological survey of *Babesia* species in Japan performed with specimens from ticks collected from dogs and detection of new *Babesia* DNA closely related to *Babesia odocoilei* and *Babesia divergens* DNA. *Journal of Clinical Microbiology* 41:3494–3498.
- [16] Jefferies U.M.R., Muhnckel C.J., Irwin P.J. 2003. Two species of canine *Babesia* in Australia: detection and characterization by PCR. *The Journal of Parasitology* 89: 409–412.
- [17] Herwaldt B., Persing D.H., Precigout E.A., Goff W.L., Mathiesen D.A., Taylor P.W., Eberhard M.L., Gorenflot A.F. 1996. A fatal case of babesiosis in Missouri: identification of another piroplasm that infects humans. *Annals of Internal Medicine* 124: 643–650.
- [18] Kordick S.K., Breitschwerdt E.B., Hegarty B.C., Southwick K.L., Colitz C.M., Hancock S.I., Bradley J.M., Rumbough R., Mcpherson J.T., MacCormack J.N. 1999. Coinfection with multiple tick-borne pathogens in a Walker Hound kennel in North Carolina. *Journal of Clinical Microbiology* 37: 2631–2638.
- [19] Baneth G., Breitschwerdt E.B., Hegarty B.C., Pappalardo B., Ryan J. 1998. A survey of tick-borne bacteria and protozoa in naturally exposed dogs from Israel. *The Veterinary Parasitology* 31: 133–142.
- [20] Matthewman L.A., Kelly P.J., Bobde P.A., Tagwira M., Mason P.R., Majok A., Brouqui P., Raoult D. 1993. Infections with *Babesia canis* and *Ehrlichia canis* in dogs in Zimbabwe. *The Veterinary Record* 133: 344–346.
- [21] Maronpot R.R., Guindy E. 1970. Preliminary study of *Babesia gibsoni* in wild carnivores and domesticated dogs in Egypt. *American Journal of Veterinary Research* 31: 797–799.
- [22] Groves M.G., Yap L.F. 1968. *Babesia gibsoni* in a dog. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 153: 689–694.
- [23] Rajamanickam C., Wiesenhutter E., Zin F.M., Hamid J. 1985. The incidence of canine haematozoa in Peninsular Malaysia. *The Veterinary Parasitology* 17: 151–157.
- [24] Gundlach L.J., Sadzikowski A.B. 2004. Parazytologia i parazytozy zwierząt. Państwowe Wydawnictwo Rolne i Leśne, Warszawa.
- [25] Gundlach L.J., Sadzikowski A.B., Tomczuk K. 1995. Babeszjoza psów. *Medycyna Weterynaryjna* 51: 584–555.
- [26] Stegman J.R., Birkenheuer A.J., Kruger J.M., Breitschwerdt E.B. 2003. Transfusion associated *Babesia gibsoni* infection in a dog. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 222: 959–963.
- [27] Birkenheuer A.J., Correa M.T., Levy M.G., Breitschwerdt E.B. 2005. Geographic distribution of babesiosis among dogs in the United States and association with dog bites: 150 cases (2000–2003). *Journal of the American Veterinary Medical Association* 227: 942–947.
- [28] Matsuo A., Kawabe A., Koshida Y., Ikadai H., Okano S., Hiduchi S. 2004. Incidence of canine *Babesia gibsoni* infection and subclinical infection among Tosa dogs in Aomori Prefecture, Japan. *The Journal of Veterinary Medical Science* 66: 893–897.
- [29] Botros B.A.M., Moch R.W., Barsoum I.S. 1975. Some observations on experimentally induced infection of dogs with *Babesia gibsoni*. *American Journal of Veterinary Research* 36: 293–296.
- [30] Jacobson L.S. 1994. Cerebellar ataxia as a possible complication of babesiosis in two dogs. *Journal of the South African Veterinary Association* 65: 130–131.
- [31] Farwell G.E., LeGrand E.K., Cobb C.C. 1982. Clinical observations on *Babesia gibsoni* and *Babesia canis* infections in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 180: 507–511.
- [32] Breitschwerdt E.B., Malone J.B., MacWilliams P., Levy M.G., Qualls C.W., Prudich M.J. 1983. Babesiosis in the Greyhound. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 182: 978–982.
- [33] Button C. 1979. Metabolic and electrolyte disturbances in acute canine babesiosis. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 175: 475–479.
- [34] Conrad P., Thomford J., Yamane I., Whiting J., Bosma L., Uno T., Holshuh H.J., Shelly S. 1991. Hemolytic anemia caused by *Babesia gibsoni* infection in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 199: 601–605.
- [35] Suarez M.L., Espino L., Goicoa A., Fidalgo L.E., Santamarina G. 2001. Fatal *Babesia gibsoni* infection in a dog from Spain. *The Veterinary Record* 148: 819–820.
- [36] Freeman M.J., Kirby B.M., Panciera D.L., Henik R.A., Posin E., Sullivan L.J. 1994. Hypotensive shock syndrome associated with acute *Babesia canis* infection in a dog. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 204: 94–96.
- [37] Casapulla R., Baldi L., Avallone V., Sannino R., Pazzanese L., Mizzoni V. 1998. Canine piroplasmosis due to *Babesia gibsoni*: clinical and morphological aspects. *The Veterinary Record* 142: 168–169.
- [38] Schuster F.L. 2002. Cultivation of *Babesia* and *Babesia*-like blood parasites: agents of an emerging zoonotic disease. *Clinical Microbiology Reviews* 15: 365–373.
- [39] Ewing S.A. 1963. Observations on leukocytic inclusion bodies from dogs infected with *Babesia canis*. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 143: 503–506.
- [40] Liebisch A., Gillani S. 1979. Experimentelle Übertragung der Hundbabesiose (*Babesia canis*) durch einheimische deutsch Zeckenarten: Die braune Hundzecke (*Rhipicephalus sanguineus*). *Deutsche*

- Tierärztliche Wochenschrift* 86: 149–152.
- [41] Simpson C. 1974. Phagocytosis of *Babesia canis* by neutrophils in the peripheral circulation. *American Journal of Veterinary Research* 35: 701–704.
- [42] Meinkoth J.H., Kocan A., Loud S.D., Lorenz M.D. 2002. Clinical and hematologic effects of experimental infection of dogs with recently identified *Babesia gibsoni*-like isolates from Oklahoma. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 220: 185–89.
- [43] Levy M.G., Breitschwerdt E.B., Moncol D.J. 1987. Antibody activity to *Babesia canis* in dogs in North Carolina. *American Journal of Veterinary Research* 48: 339–341.
- [44] Anderson J.F., Magnarelli L.A., Sulzer A.J. 1980. Canine babesiosis: indirect fluorescent antibody test for North American isolate of *Babesia gibsoni*. *American Journal of Veterinary Research* 41: 2102–2105.
- [45] Taboada J., Harvey J.W., Levy M.G., Breitschwerdt E.B. 1992. Seroprevalence of babesiosis in Greyhounds in Florida. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 200: 47–50.
- [46] Macintire D.K., Boudeaux M.K., West G.D., Bourne C., Wright J.C., Conrad P.A. 2002. *Babesia gibsoni* infection among dogs in the southwestern United States. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 220: 325–329.
- [47] Ano H., Makimura S., Harasawa R. 2001. Detection of *Babesia* species from infected dog blood by polymerase chain reaction. *The Journal of Veterinary Medical Science* 63: 111–113.
- [48] Moreau Y., Vidor E., Bissuel G., Dubreuil N. 1989. Vaccination against canine babesiosis: an overview of field observations. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 83 Suppl: 95–96.
- [49] Schetters Th.P.M., Kleuskens J.A.G.M., Scholtes N.C., Pasman J.W., Goovaerts D. 1997. Vaccination of dogs against *Babesia canis* infection. *The Veterinary Parasitology* 73: 35–41.
- [50] Schetters Th.P.M., Kleuskens J.A.G.M., Scholtes N.C., Pasman J.W., Bos H.J. 1994. Vaccination of dogs against *Babesia canis* infection using antigens from culture supernatants with emphasis on clinical babesiosis. *The Veterinary Parasitology* 52: 219–233.
- [51] Carcy B., Precigout E., Schetters T., Gorenflot A. 2008. Genetic basis for GPI-anchor merozoite surface antigen polymorphism of *Babesia* and resulting antigenic diversity. *Veterinary Parasitology* (w druku).
- [52] Sunaga F., Namikawa K., Kanno Y. 2002. Continuous in vitro culture of erythrocytic stages of *Babesia gibsoni* and virulence of the cultivated parasite. *The Journal of Veterinary Medical Science* 64: 571–575.
- [53] Yamasaki M., Asano H., Otsuka Y., Yamato O., Tajima M., Maede Y. 2000. Use of canine red blood cell with high concentrations of potassium, reduced glutathione and free amino acid as host cells for in vitro cultivation of *Babesia gibsoni*. *American Journal of Veterinary Research* 61: 1520–1524.
- [54] Schetters Th.P.M., Kleuskens J.A.G.M., Scholtes N.C., Gorenflot A., Moubri K., Vermeulen A.N. 2001. Vaccination of dogs against heterologous *Babesia canis* infection using antigen from culture supernatants. *The Veterinary Parasitology* 100: 75–86.
- [55] Zygnier W., Frydrych M. 2005. Zastosowanie chlorochiny w leczeniu opornej na imidokarb babeszjozy u psa. *Życie Weterynaryjne* 80: 404–406.
- [56] Fowler J.L., Ruff M.D., Fernau R.C., Furusho Y. 1972. *Babesia gibsoni*: chemotherapy in dogs. *American Journal of Veterinary Research* 33: 1109–1114.
- [57] Ruff M.D., Fowler J.L., Fernau R.C., Matsuda K. 1973. Action of certain antiprotozoal compounds against *Babesia gibsoni* in dogs. *American Journal of Veterinary Research* 34: 641–645.

Wpłynęło 5 grudnia 2007

Zaakceptowano 15 stycznia 2008