

## DOŚWIADCZALNE ZARAŻENIE MYSZY *BABESIA MICROTI*: CHARAKTERYSTYKA PARAZYTEMII\*

EWA KONOPKA I EDWARD SIŃSKI

Zakład Parazytologii Instytutu Zoologii UW  
00-927 Warszawa, ul. Krakowskie Przedmieście 26/28

### EXPERIMENTAL INFECTION OF MICE *BABESIA MICROTI*: CHARACTERIZATION OF PARASITEMIA

**Abstract.** The apicomplexan parasites of the genus *Babesia*, the etiologic agents of the disease not only in domestic and wild mammals but also in humans, live and reproduce in erythrocytes of the host. Transmission of *Babesia* species is by tick (Ixodidae) bite. In natural conditions, trans-stadial and trans-ovarial passage occurs in *Ixodes ricinus* infected with some species of *Babesia*, e.g. *B. divergens*. However, there is apparently trans-stadial passage of *B. microti* in *Ixodes* sp. only from larvae to nymphs, but trans-stadial passage from nymphs to adults or trans-ovarial passage has not been reported.

The present study was undertaken to compare the parasitemia of *B. microti* infection in BALB/c and F1 (B10 × CBA) mice by two different methods: intraperitoneal injection of parasites or infection by the oral route. In both groups, experimental mice were inoculated with  $5 \times 10^7$  infected erythrocytes in 100  $\mu$ l of blood.

*Babesia* infection was acquired by all mice infected intraperitoneally with maximum 57% of parasitemia on day 6 post infection (pi) in F1 (B10 × CBA) mice and 40% of parasitemia on day 8 and 10 pi in BALB/c mice. Ten of 27 (37%) BALB/c mice infected by oral route showed low parasitemia (9%) during first two weeks pi. In this group of mice the pick of parasitemia (26%) was observed on day 22 pi. In both groups of infected mice the period of prepatency ended between days 35 and 40 pi. Experiments have confirmed that the maintenance of babesiosis may be continued in the absence of a tick vector. Demonstration, under experimental conditions, of infection of *Babesia* by oral route may suggest that in nature cannibalism of rodents, occurring under certain circumstances, can be considered as a natural way of oral transmission of *B. microti*.

### WSTĘP

Przedstawiciele rodzaju *Babesia* występują w warunkach naturalnych u dziko żyjących gryzoni (Rodentia) i owadożernych (Insectivora). *Babesia microti* jest patogeniczna również dla człowieka i może być przyczyną

---

\* Wyniki tych badań były prezentowane na IX Wrocławskiej Konferencji Parazytologicznej pt. „Behawior żywiciela w pasożytach”, Wrocław 24–25 maja, 1996.

groźnych inwazji u ludzi (HEALY i wsp. 1976, HERWALDT i wsp. 1995). Gatunek *B. microti* został odkryty i opisany przez TYZZER'a w 1938 roku. Forma troficzna jest małym organizmem (1,0–2,5  $\mu\text{m}$ ), kształtu gruszkowatego; pasożytuje w erytrocytach, nie tworząc wokół siebie wakuoli.

Cykl życiowy *B. microti* przebiega w dwóch żywicielach, u gryzonia i u kleszcza. W rozwoju tym, podobnie jak u wszystkich Apicomplexa, wyróżnia się charakterystyczne trzy fazy: schizogonię (merogonię) w erytrocytach, gamogonię w jelicie środkowym kleszcza, gdzie następuje połączenie izogamet i powstanie kinety, która dalszy rozwój przechodzi w komórkach epidermy, w cewkach MALPIGHIEGO i w hemolimfie. Według COXA (1993) również u kleszcza może zachodzić proces merogonii. Ostatnią fazą rozwoju jest sporogonia, która ma miejsce w gruczołach ślinowych kleszcza. W procesie tym, poprzez liczne bezpłciowe podziały, powstają tysiące małych sporozoitów, które podczas żerowania kleszcza przedostają się do krwi nowego żywiciela. W początkowej fazie cyklu rozwojowego *B. microti* ma zdolność wnikania również do limfocytów. *B. microti*, jako jedyny gatunek z rodzaju *Babesia*, ma zdolność wielokrotnych podziałów w zarażonej krwince (YOUNG i MORZARIA 1986). Do typowych, często spotykanych w zarażonych erytrocytach należą: forma podziałowa (gruszkowata) i wakuolarna. Po dwóch natomiast kolejnych podziałach merozoity mogą się układać bardzo charakterystycznie w tzw. krzyż maltański. Cechą wszystkich gatunków z rodzaju *Babesia* jest niewytwarzanie pigmentu z hemoglobiny, co powoduje, że grupy hemowe nie są odkładane w śledzionie żywiciela, lecz wydalane z moczem, czego efektem jest hemoglobinuria.

Krażenie *B. microti* w środowisku naturalnym odbywa się za pośrednictwem larw i nimf dwóch gatunków kleszczy z rodzaju *Ixodes*: *I. ricinus* i *I. trianguliceps* oraz kilku gatunków gryzoni z rodziny nornikowatych i myszowatych; w Europie są to: nornica ruda (*Clethrionomys glareolus*) i mysz leśna (*Apodemus flavicollis*) oraz drobne ssaki owadożerne, np. ryjówka aksamitna (*Sorex araneus*). Również w Polsce ostatnio stwierdzono 3 przypadki zarażenia *B. microti* u nornicy rudej na 510 przebadanych gryzoni (SIŃSKI i KARBOWIAK 1996).

Przebieg zarażenia gryzoni przez *B. microti* ma charakter nasilającej się infekcji erytrocytów, która po osiągnięciu maksimum parazytemii zaczyna ustępować, przybierając formę łagodno-chroniczną, lub infekcja całkowicie zanika w wyniku samowyleczenia przy udziale układu immunologicznego żywiciela.

Doświadczalnie wykazano, że przebieg inwazji zależy od gatunku oraz szczepu zarażonego gryzonia, a także od sposobu zarażenia: poprzez wektor (droga naturalna), lub sztucznie (przez podanie pasożyta dootrzewnowo). Różnice te dotyczą głównie dynamiki zarażenia, czasu trwania fazy ostrej inwazji (wysokiej parazytemii) oraz jej nasilenia (RANDOLPH i NUTTALL 1994).

Na szczególną uwagę zasługuje możliwość zarażenia gryzoni drogą pokarmową (enteralną). MALAGON i TAPIA (1994) wykazali doświadczalnie, że 15,1% myszy ulega zarażeniu w wyniku skarmiania myszy mięsiami zarażonej *B. microti* innej myszy, natomiast 3,7% zwierząt uległo zarażeniu po podaniu

im *per os* zakażonej krwi mysiej. Doświadczenia te wskazują na możliwość rozprzestrzeniania się *B. microti* w środowisku naturalnym bez udziału kleszczy, co może sprzyjać podtrzymaniu naturalnych ognisk zarażenia *B. microti* w populacji wolno żyjących gryzoni. Jest to szczególnie godne uwagi ze względu na coraz częstsze przypadki zachorowań wywołanych przez tego pasożyta u ludzi z niedoborami immunologicznymi, po splenektomii lub w podeszłym wieku. Babesioza jest dla człowieka często chorobą śmiertelną.

Celem prezentowanej pracy było zbadanie przebiegu doświadczalnej parazytemii wywołanej przez *B. microti* u myszy w zależności od genotypu i płci żywiciela, sposobu zarażenia oraz form (izolowane merozoity lub zawarte w erytrocytach) podawanych pasożytów.

### Material i metody

Do doświadczeń użyto 8–12 tygodniowych myszy wsobnych szczepu BALB/c, hodowanych w Zakładzie Parazytologii Instytutu Zoologii UW oraz myszy pokolenia F1 o znanym haplocybie H-2<sup>(k-b)</sup> szczepów wsobnych B10 i CBA pochodzących z hodowli w Centrum Onkologii w Warszawie. Użyte do badań myszy były wolne od robaków pasożytniczych, co potwierdzono wcześniejszymi badaniami koproskopowymi. W czasie doświadczeń zwierzęta przetrzymywano w standardowych warunkach hodowli laboratoryjnej. Wykorzystany do doświadczeń szczep *B. microti* jest utrzymywany od 1992 r. w ciągłej hodowli *in vivo* w Zakładzie Parazytologii UW. Szczep ten pochodzi z Zakładu Parazytologii Instytutu Chorób Infekcyjnych i Immunologii Uniwersytetu w Utrechcie, Holandia. Doświadczenia prowadzono na 5 grupach myszy: (1) 6 samców BALB/c zarażanych dootrzewnowo, (2) 11 samców F1 zarażanych dootrzewnowo, (3) 6 samic F1 zarażanych dootrzewnowo, (4) 27 samców BALB/c zarażanych *per os* i (5) 8 samców BALB/c zarażanych dootrzewnowo wyizolowanymi pasożytami.

W celu określenia wielkości parazytemii pobierano z ogona zarażonej myszy kroplę krwi, z której robiono rozmaz. Po wysuszeniu rozmaz utrwalano 3 min w metanolu, następnie barwiono 60 min roztworem barwnika GIEMSY w buforze fosforanowym o pH 7,2, w rozcieńczeniu 1:12. Po spłukaniu wodą nadmiaru barwnika rozmaz suszono i oglądano pod obiektywem immersyjnym (powiększenie 100×) przy powiększeniu okularów 10×. Oglądano 10–30 pól widzenia (w zależności od grubości rozmazu i zagęszczenia pierwotniaków). W każdym polu widzenia liczono wszystkie erytrocyty z wyróżnieniem erytrocytów zarażonych. Po zestawieniu danych z wszystkich pól widzenia obliczano procent erytrocytów zarażonych, stanowiący wskaźnik parazytemii. Z wyników uzyskanych dla poszczególnych myszy obliczano średnią oraz odchylenia standardowe, i wykreślano krzywą zmian parazytemii.

W celu określenia liczby zarażonych pasożytami erytrocytów w określonej objętości krwi pobierano z ogona myszy automatyczną pipetą do heparynowa-

nej końcówki 2,5  $\mu$ l krwi i wykonywano równomierny, tej samej grubości na całej powierzchni rozmaz. Rozmazy utrwalano, barwiono i oglądano według metodyki opisanej wyżej. Liczono zarażone erytrocyty w 10–30 polach widzenia oraz wszystkie erytrocyty w każdym z pól widzenia oraz mierzono powierzchnię całego rozmazu. Liczbę zarażonych erytrocytów w 1 ml krwi obliczano wg wzoru:

$$N = \frac{X \times 25 \times P}{V}$$

gdzie:

- $N$  = liczba zarażonych erytrocytów 1 ml krwi;  
 $X$  = średnia liczba zarażonych erytrocytów w 1 polu widzenia;  
 $25$  = liczba pól widzenia w 1 mm<sup>2</sup> rozmazu (wyznaczona dla użytego do obserwacji obiektywu Carl Zeiss Jena, 100 $\times$ );  
 $P$  = pole rozmazu w mm<sup>2</sup>;  
 $V$  = objętość pobranej krwi w ml.

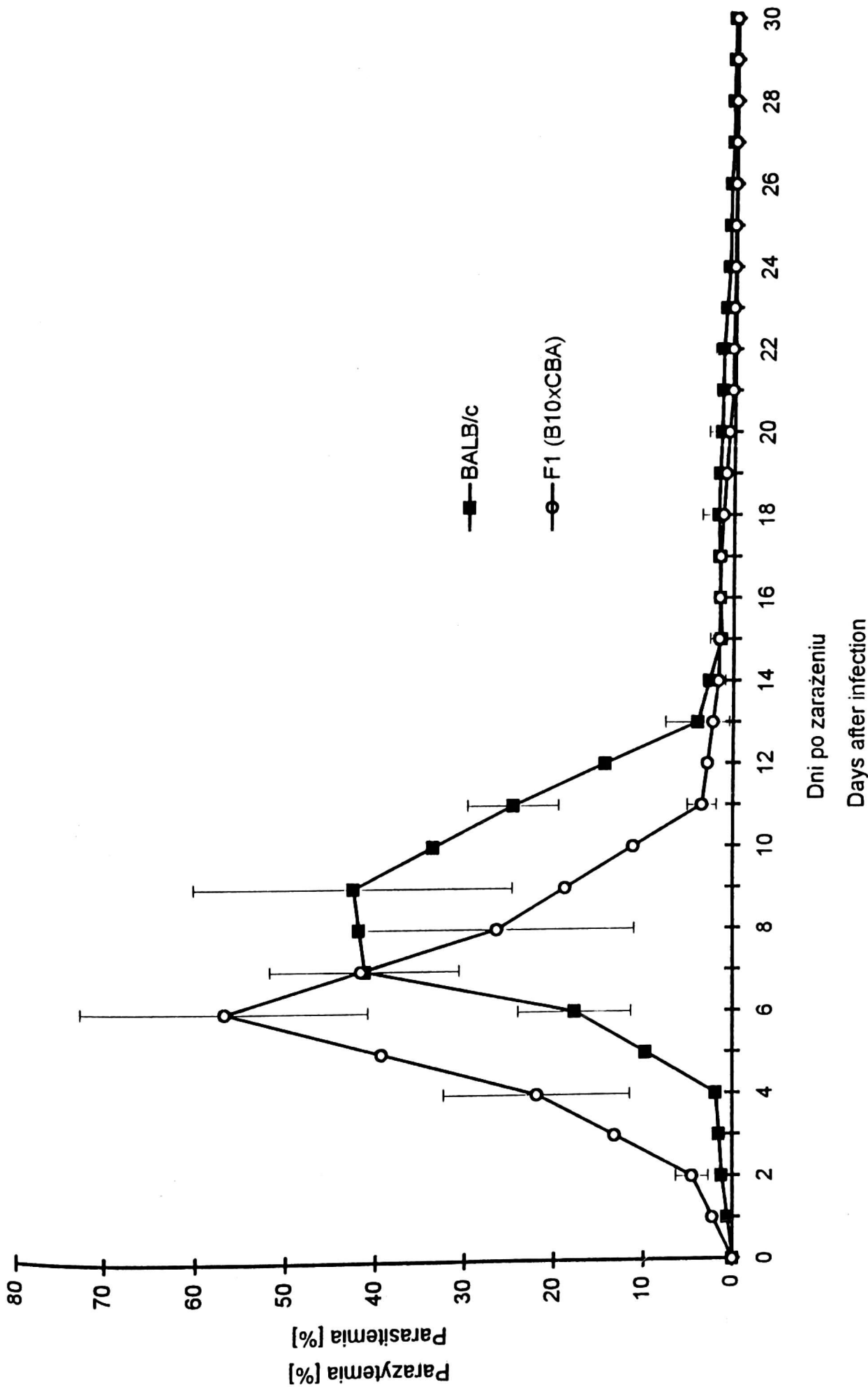
Izolację merozoitów *B. microti* z erytrocytów prowadzono dla grup myszy BALB/c, które były dawcami pasożyta. Krew pobierano w 7 dniu po zarażeniu (dpz) i określano liczbę zarażonych erytrocytów. Pobraną krew rozcieńczano solą fizjologiczną (0,85% NaCl) z heparyną (40 jednostek/1 ml roztworu), następnie wirowano 5 min przy obrotach 1000 g. Supernatant odrzucano, a osad zawieszano w soli fizjologicznej z heparyną i ponownie wirowano. Płukanie, które miało na celu pozbycie się płytek krwi i wolnych pasożytów, przeprowadzano 3 razy. Po ostatnim wirowaniu osad rozcieńczano w stosunku 1:4 solą fizjologiczną z heparyną i poddawano działaniu buforu lizującego wg. MACHADO i wsp. (1994), o składzie: 0,83% NH<sub>4</sub>Cl + 0,17 M TRIS w stosunku 9:1, przy pH 7,4. Do uzyskanej objętości otrzymanej zawiesiny dodawano 9 objętości buforu. Lizę prowadzono w temperaturze 37°C przez 7 min. Właściwy czas lizy określono wcześniej doświadczalnie, badając rozmazy krwi wykonane po 3, 5, 7, 10 i 15 min lizy). Zawiesinę wirowano przez 10 min przy 1500 g., następnie płukano 3 razy w soli fizjologicznej (w celu usunięcia hemoglobiny), a po ostatnim wirowaniu osad zawieszano w 1 ml soli fizjologicznej.

Myszy obu szczepów, w grupach po 6 zwierząt, zarażano dootrzewnowo lub *per os* dawką  $5 \times 10^7$  zarażonych erytrocytów. Grupie myszy zarażanych izolowanymi merozoitami, podobnie podano dootrzewnowo pasożyty pochodzące z  $5 \times 10^7$  zarażonych erytrocytów.

Do obliczania wartości średnich, odchylenia standardowego i wykazania statystycznej istotności zmian ( $P < 0,05$ ) stosowano program ANOVA.

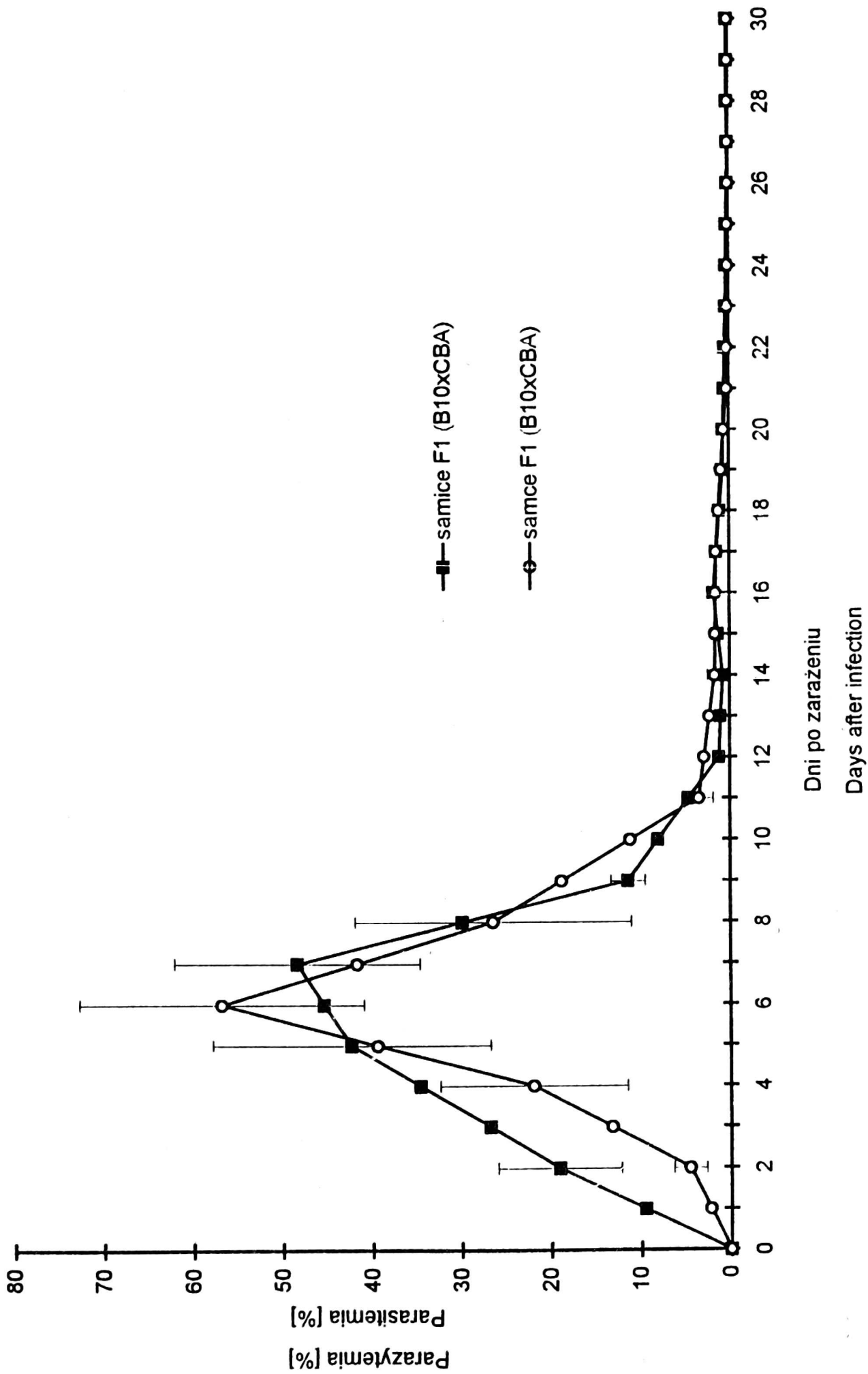
### Wyniki

W różnych wariantach doświadczenia wszystkie myszy obu szczepów, za-



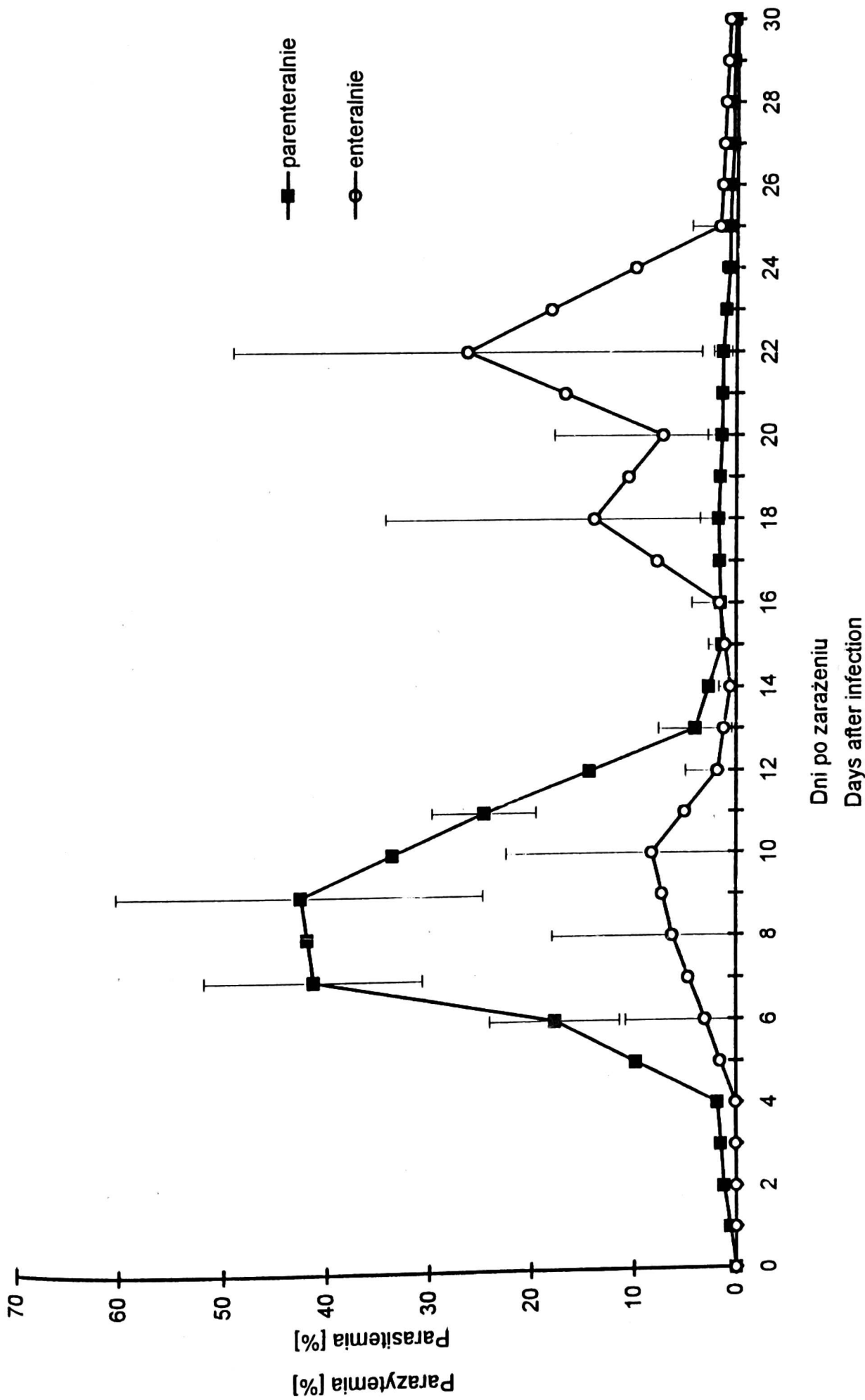
Ryc. 1. Porównanie przebiegu zarażenia *Babesia microti* u myszy BALB/c (ciemne kwadraty) i myszy F1 (B10 × CBA) (jasne kółka) po dootrzewnowym zarażeniu  $5 \times 10^7$  zarażonych erytrocytów

Fig. 1. Comparison of *Babesia microti* parasitemia in BALB/c mice (closed squares) with F1 (B10 × CBA) mice (open circles) after intraperitoneal infection with  $5 \times 10^7$  parasitized erythrocytes



Ryc. 2. Porównanie przebiegu zarażenia *Babesia microti* u myszy F1 (B10 × CBA) po dootrzewnowym zarażeniu  $5 \times 10^7$  zainfekowanych erytrocytów: samice (ciemne kwadraty), samce (jasne kółka)

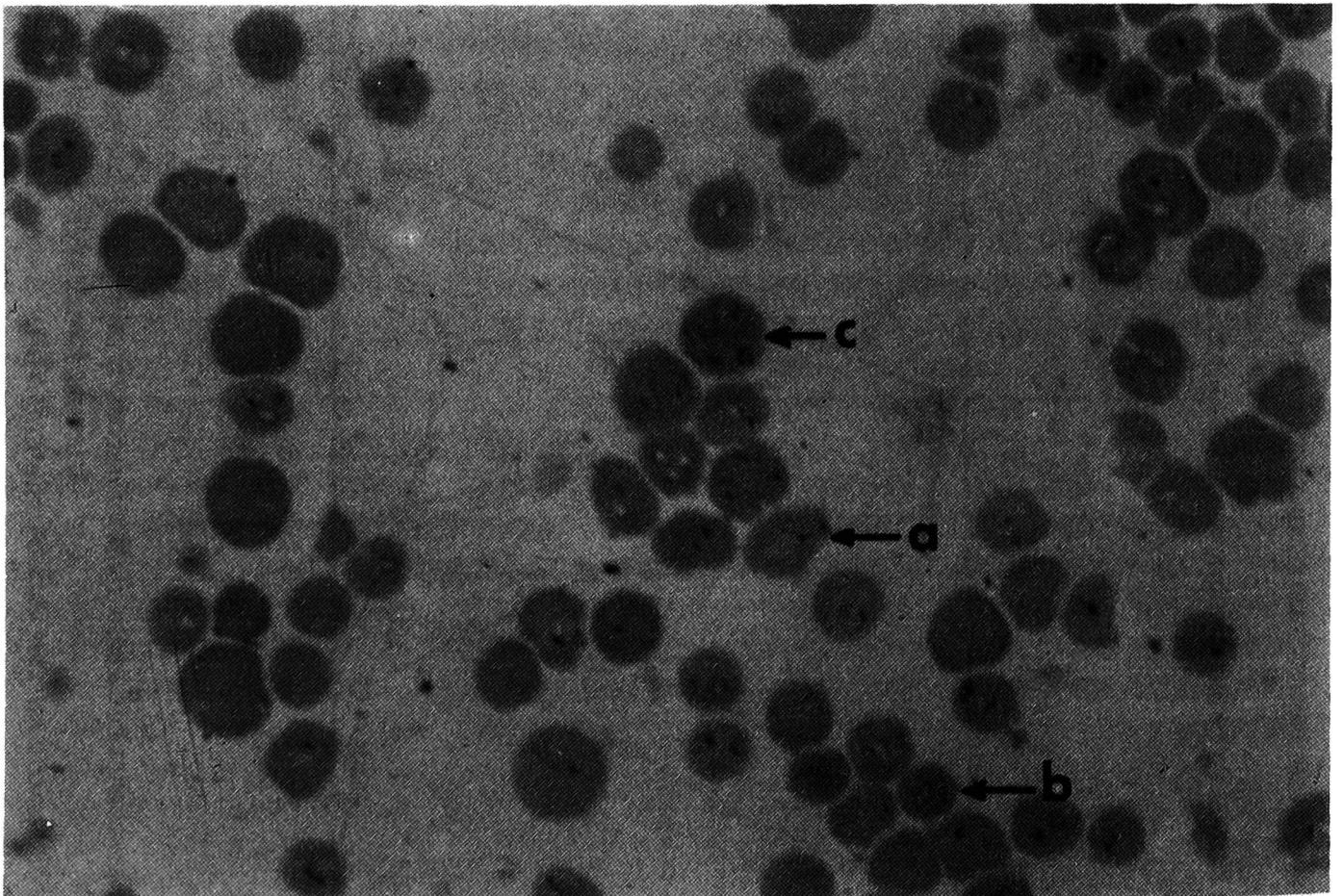
Fig. 2. Comparison of *Babesia microti* parasitemia in F1 (B10 × CBA) mice after intraperitoneal infection with  $5 \times 10^7$  parasitized erythrocytes in relation to sex: females (closed squares), males (open circles)



Ryc. 3. Porównanie przebiegu zarażenia *Babesia microti* u myszy BALB/c po zarażeniu  $5 \times 10^7$  zainfekowanych erytrocytów: zarażenie dootrzewnowe (ciemne kwadraty), zarażenie *per os* (jasne kółka)  
 Fig. 3. Comparison of *Babesia microti* parasitemia in BALB/c mice after intraperitoneal (closed squares) and oral (open circles) infection with  $5 \times 10^7$  parasitized erythrocytes

rażane drogą parenteralną (dootrzewnowo) dawką  $5 \times 10^7$  zarażonych erytrocytów lub wolnymi merozoitami pochodzącymi z tej samej liczby zarażonych erytrocytów, ulegały w 100% zarażeniu. Wyraźne natomiast różnice w dynamice zarażenia występowały w zależności od genotypu myszy (ryc. 1). Nie wykazano statystycznie istotnych różnic w intensywności zarażenia, którego maksimum dla obu szczepów myszy zawierało się w granicach, od 42% dla myszy BALB/c do 57% dla myszy F1 (B10  $\times$  CBA). Istotne różnice natomiast występowały w czasie osiągnięcia najwyższej parazytemii oraz podczas fazy ostrej inwazji. Różnice te bardzo wyraźnie obrazuje ryc. 1. Badając wpływ płci myszy na przebieg parazytemii stwierdzono różnice nieistotne w intensywności i przebiegu zarażenia (ryc. 2).

W grupie myszy BALB/c zarażonych drogą enteralną (*per os*) ekstensywność zarażenia wynosiła 37%. Ryc. 3. przedstawia różnice w intensywności i przebiegu parazytemii dla tej grupy myszy w porównaniu z grupą myszy BALB/c zarażanych drogą parenteralną. Ryc. 4. obrazuje różne formy rozwojowe *B. microti* wewnątrz erytrocyta oraz wskazuje na wielokrotne podziały pasożyta w zarażonym erytrocycie.



Ryc. 4. Różne stadia rozwojowe *Babesia microti* w zarażonych erytrocytach myszy BALB/c:  
 a — forma wakuolarna; b — forma podziałowa; c — kilkakrotne podziały  
 Fig. 4. Various stages of *Babesia microti* in parasitized erythrocytes of BALB/c mice: a — vacuolar stage; b — division stage; c — multiple divisions



### Dyskusja

Zgodnie z przedstawionymi wynikami, przebieg zarażenia *B. microti* w warunkach laboratoryjnych może mieć różny charakter w zależności od genotypu, płci i sposobu zarażenia badanych myszy. Różnice te dotyczą ekstensywności zarażenia i czasu trwania fazy prepatentnej, kiedy nie obserwuje się jeszcze pasożytów we krwi, oraz intensywności infekcji. Przeprowadzone doświadczenia wskazują na to, że różne szczepy myszy nieco odmiennie reagują na zarażenie *B. microti*.

Okazało się, że po dootrzewnowym zarażeniu, samce myszy F1 krzyżówki (B10 × CBA) były bardziej wrażliwe na zarażenie niż myszy BALB/c. U myszy F1 (B10 × CBA) szybciej następowała faza ostra infekcji (4 dpz) i jej maksimum (6 dpz), natomiast u BALB/c faza ostra pojawiła się 6 dpz z maksimum 9 dpz. Parazytemia osiągnęła wtedy wartość 57%, podczas gdy u BALB/c 42%. Analiza statystyczna wskazuje jednak, że różnice te nie są istotne. Wynika to z dużych odchyłeń standardowych przy stosunkowo niewielkiej liczbie badanych zwierząt. Podobnie ma się sprawa przy porównaniu maksimum parazytemii we wszystkich wariantach doświadczeń. Porównanie prezentowanych wyników przebiegu infekcji u myszy BALB/c i F1 (B10 × CBA) z przedstawionymi w pracy RANDOLPH i NUTTALL (1994) wynikami dla myszy CBA × C57, gdzie szczyt infekcji następuje 13 dpz, potwierdza, że znaczny wpływ na przebieg zarażenia *B. microti* ma genotyp myszy. Spodziewano się, że drugim czynnikiem wpływającym na dynamikę zarażenia może być płeć zarażanych zwierząt. Porównanie przebiegu infekcji u samic i samców F1 (B10 × CBA) zarażanych dootrzewnowo nie potwierdziło tego, choć nieznaczne różnice dotyczą samego przebiegu zarażenia. U samic obserwuje się szybszy początek fazy ostrej (już od 2 dpz, podczas gdy u samców od 4 dpz) i dłuższy czas trwania tej fazy (7 dni u samic, podczas gdy u samców 4 dni). Proces lizy erytrocytów, uwolnienie merozoitów oraz zarażenie dootrzewnowe myszy wyizolowanymi pasożytami, również nie mają istotnego wpływu na dynamikę zarażenia.

Wśród przeprowadzonych różnych wariantów doświadczeń największe różnice w przebiegu zarażenia *B. microti* zaobserwowano u myszy BALB/c po zarażeniu *per os* w porównaniu z zarażeniem dootrzewnowym. Na szczególną uwagę zasługuje fakt, że ekstensywność zarażenia wyniosła 100% we wszystkich grupach zarażanych dootrzewnowo, natomiast 37% w grupie zarażanej *per os*. Innym ważnym elementem przebiegu takiego zarażenia jest dwuszczytowość inwazji. Pierwszy szczyt parazytemii przypada na 10 dpz, drugi na 22 dpz. Wiążą się z tym duże różnice w długości okresów prepatentnych pasożytów poszczególnych myszy (faza prepatentna waha się od 2 dpz do 17 dpz). Po zarażeniu *per os* myszy reagują wolniej, a maksimum zarażenia występuje dopiero około po 2 tygodniach od podania pasożyta.

W każdym z wariantów doświadczenia, u większości myszy, po fazie ostrej

następuje faza chroniczna, charakteryzująca się bardzo niskim poziomem parazytemii (0,001 – 0,1% zarazonych erytrocytów we krwi), która utrzymuje się przez długi czas. Obserwowano pasożyty we krwi nawet do 48 dpz.

*B. microti* pasożytuje głównie u dziko żyjących gryzoni, ale również może зараżać ludzi (POPOVSKY i wsp. 1988, PERSING i CONRAD 1995). Ważne jest dlatego rozpoznanie środowiskowych uwarunkowań, które mogą prowadzić do rozszerzania się rezerwuaru zoonotycznego *B. microti*, i tym samym zwiększenia prawdopodobieństwa zarażeń ludzi. Do niedawna uważano, że zarażanie się gryzoni przez *B. microti* jest możliwe tylko przy udziale wektora, jakim są kleszcze *I. ricinus*. Przeprowadzone przez MALAGONA i TAPIA (1994) doświadczenia wskazują po raz pierwszy na możliwość zarażenia gryzoni drogą pokarmową, mianowicie przez zjedanie mięśni lub krwi innego zarazonego gryzonia. Nasze doświadczenia potwierdzają możliwość zarażenia myszy *B. microti* drogą enteralną. Wyniki dotyczące ekstensywności zarażenia po podaniu pasożytów *per os* różnią się znacznie od rezultatów, które uzyskali MALAGON i TAPIA (1994). Autorzy ci doświadczalnie stwierdzili zaledwie 3,7% zarażenie zwierząt po podaniu krwi zarazonej *B. microti*. W naszych doświadczeniach ekstensywność zarażenia wynosiła 37%. Dziesięciokrotna różnica może wynikać bądź z różnic we wrażliwości użytych do doświadczeń myszy, na co wskazują m.in. wyniki własne, bądź ze szczepowych różnic w wirulentności pasożytów.

W populacjach dziko żyjących gryzoni obserwowano przypadki kanibalizmu (SOUTHWICK 1955), co może być – w stosunku do zarażenia przy udziale wektora – alternatywną drogą rozprzestrzeniania się *B. microti* w środowisku naturalnym. Hodowla *B. microti* w warunkach laboratoryjnych i pasażowanie pasożyta bez udziału kleszczy, poprzez zarażanie dootrzewnowe, istotnie zmieniają przebieg inwazji. Ulega on znacznemu ujednoczeniu – mimo dużych odchyień standardowych: można jednak odtworzyć pewien schemat przebiegu zarażenia u zwierząt laboratoryjnych. W środowisku naturalnym inwazja *B. microti* przebiega z bardzo różną dynamiką u poszczególnych osobników (RANDOLPH i NUTTALL 1994). Należy podkreślić, że zarażenie dootrzewnowe jest nietypowe, gdyż w środowisku naturalnym nigdy nie występuje. Badania laboratoryjne, w których bazuje się jedynie na pasażowaniu (podawaniu dootrzewnowo zarazonej krwi) bez udziału wektora, nie mogą obrazować przebiegu naturalnego zarażenia, gdyż uwzględniają jedynie oddziaływanie *B. microti* – gryzoń. Pominięte natomiast są dwie bardzo ważne grupy oddziaływań: *B. microti* – kleszcz i kleszcz – gryzoń. Kleszcz jest dla *B. microti* organizmem, w którym przebiega proces płciowy oraz merogonia i sporogonia, a także wektorem nie tylko przenoszącym pasożyta do kolejnego żywiciela, ale również przygotowującym nowego żywiciela do „przychylnego przyjęcia” pasożyta. Podczas żerowania kleszcza, wraz z jego śliną, zostają wprowadzane do skóry żywiciela antykoagulanty, prostaglandyny, immunosupresory, czynniki antyzapalne i substancje hamujące układ dopełniacza (FRIEDHOFF 1990).

Przypuszczalnie kleszcze pierwotnie wolne od *B. microti*, żerując na zarażonym kręgowcu, wykazują dużą zdolność przenoszenia pasożytów, jeśli by żywiciel nawet był w fazie chronicznej infekcji. Pośrednio wskazuje na to przykład z *Boophilus microplus*: 50% kleszczy tego gatunku było zdolnych przenieść zarażenie *B. bigemina* na kolejnego żywiciela, przy bardzo niskiej parazytemii (0,0001%) u ssaka, na którym żerowały te kleszcze (FRIEDHOFF 1990). Podstawą takiej skuteczności jest zdolność kleszczy do zagęszczania wysysanej krwi.

Na podstawie przeprowadzonych doświadczeń w prezentowanej pracy, a także danych literaturowych (YOUNG i MORZARIA 1986, RANDOLPH i NUTTALL 1994, PERSING i CONRAD 1995), można wyróżnić określone etapy infekcji wywołanej przez *B. microti*, które odnoszą się zarówno do zarażeń w laboratoriach jak i infekcji w środowisku naturalnym. W dynamice zarażenia charakterystyczne są przede wszystkim trzy fazy: prepatentna, ostra i chroniczna. Przejście z fazy ostrej do chronicznej wynika z odpowiedzi układu immunologicznego żywiciela. Prawdopodobnie istnienie fazy chronicznej wiąże się z atakowaniem przez pasożyty innych (poza erytrocytami) komórek – limfocytów (PERSING i CONRAD 1995).

Rozszerzanie się rezerwuaru zoonotycznego *B. microti* obecnie wyróżnioną drogą enteralną, przy nierzadko występującym w populacjach wolno żyjących gryzoni kanibalizmie, może spowodować znaczny wzrost zagrożenia u ludzi zarażeniem tym pasożytem, przy udziale wektora (*I. ricinus*).

#### LITERATURA

- COX F. E. G. 1993. Modern Parasitology. Blackwell Scientific Publications.
- FRIEDHOFF K. T. 1990. Interaction between parasite and tick vector. *Int. J. Parasitol.* 20: 525-535.
- HEALY G. R., SPIELMAN A., GLEASON N. N. 1976. Human babesiosis: reservoir of infection on Nantucket Island. *Science* 192: 479-480.
- HERWALDT B. L., SPRINGS F. E., ROBERTS P. P., EBERHARD M. L., CASE K., PERSING D. H., AGGER W. A. 1995. Babesiosis in Wisconsin: A potentially fatal disease. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.* 53: 146-151.
- MACHADO R. Z., VALADAO C. A. A., MELO W. R., ALESSI A. C. 1994. Isolation of *Babesia bigemina* and *Babesia bovis* merozoites by ammonium chloride lysis of infected erythrocytes. *Brazilian J. Med. Biol. Res.* 27: 2591-2598.
- MALAGON F., TAPIA J. L. 1994. Experimental transmission of *Babesia microti* infection by the oral route. *Parasitol. Res.* 80: 645-648.
- PERSING D. H., CONRAD P. A. 1995. Babesiosis: new insights from phylogenetic analysis. *Infect. Agents Dis.* 4: 182-195.
- POPOVSKY M. A., LINDBERG L. E., SYREK A. L., PAGE P. L. 1988. Prevalence of *Babesia microti* in a selected blood donor population. *Transfusion* 28: 59-61.
- RANDOLPH S. E., NUTTALL P. A. 1994. Nearly right or precisely wrong? Natural versus laboratory studies of vector-borne disease. *Parasit. Today* 10: 458-462.
- SIŃSKI E., KARBOWIAK G. 1996. The finding of *Babesia microti* in bank vole *Clethrionomys glareolus* in the district of Mazury Lakes (Poland). *Acta Parasitol.* 41: 50-51.

- SOUTHWICK C. H. 1955. Regulatory mechanism of house mouse populations: social behaviour affecting litter survival. *Ecology* 36: 627-634.
- YOUNG A. S., MORZARIA S. P. 1986. Biology of *Babesia*. *Parasit. Today* 2: 211-216.

*Otrzymano 25 VII 1996, zaakceptowano 7 IX 1996*