

Różnorodność pierwotniaków *Babesia* izolowanych od psów w aspekcie kliniki choroby

Łukasz Adaszek, Stanisław Winiarczyk

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

Pierwotniaki *Babesia* są wewnątrzerytrocytarnymi pasożytami, przenoszonymi przez kleszcze, zdolnymi zarażać wiele gatunków zwierząt oraz człowieka (1, 2, 3, 4, 5). Po raz pierwszy zostały one wykryte przez Victora Babesa, który pod koniec dziewiętnastego wieku w Rumunii wykazał obecność tych organizmów w krwinkach czerwonych u bydła z objawami hemoglobinurii. Później podobne pasożyty wykrył w erytrocytach owiec. Zostały one nazwane odpowiednio *Babesia bovis* i *Babesia ovis*, a cały rodzaj nazwano od nazwiska jego odkrywcy (1, 6).

Klasyfikacja piroplazm izolowanych od psów

Przyjmuje się, że babeszjoza jest najstarszą chorobą transmisyjną zwierząt notowaną w Europie. U psów rozpoznano ją po raz pierwszy we Włoszech w 1895 r. Dzisiaj nazwa „babeszjoza” często używana jest nieprawidłowo w odniesieniu do chorób wywołanych przez pierwotniaki z rodzajów *Babesia* oraz *Theileria*. Ponieważ oba rodzaje klasyfikowane są w rzędzie Piroplasmida, wydaje się, iż, zanim czynnik etiologiczny inwazji zostanie ostatecznie rozpoznany, bardziej słuszne jest posługiwanie się starą nazwą choroby – „piroplazmoza”. Nazwa piroplazmoza związana jest z morfologią pierwotniaków, które po podziałach komórki, zachodzących w obrębie erytrocytów, przyjmują kształt gruszkowaty (pear shaped). Od innych chorób pierwotniaczych o podobnym przebiegu babeszjozę i tejleriozę odróżnia to, że oba pasożyty trawią całkowicie hemoglobinę (wyjątkiem są gatunki *T. velifera*, *T. separata* i *T. buffeli*), skutkiem czego nie powodują zmiany zabarwienia zarażonych komórek, jak ma to miejsce w przypadku inwazji przedstawicielami rodzajów *Plasmodium* i *Haemoproteus* (7, 8).

Cechą różnicującą pierwotniaki *Babesia* od *Theileria* jest nieco odmienne zachowanie się obu pasożytów w organizmie żywiciela. Pierwszy z nich od razu po wnikięciu do organizmu zwierząt lub człowieka atakuje krwinki czerwone, natomiast sporozycy *Theileria* w pierwszym etapie inwazji wnikają do limfocytów lub

makrofagów, gdzie przechodzą schizogonię. Dopiero merozoity wnikają do erytrocytów, w których ulegają dalszym podziałom. Wykazanie schizogonii poza erytrocytami jest więc cechą, na podstawie której można odróżnić przedstawicieli *Babesia* od *Theileria* (7, 8). Zarówno *Babesia*, jak i *Theileria* wykazują podobieństwo strukturalne oraz filogenetyczne z przedstawicielami gatunków *Plasmodium*, wywołującymi malarię (9). W cyklu życiowym wszystkich tych pasożytów wykazać można obecność stadium sporozoitów, merozoitów oraz trofozoitów (6).

Babeszjoza wywołana przez różne gatunki *Babesia* jest chorobą notowaną na całym świecie. Początkowo identyfikacja pasożytów odbywała się na podstawie mikroskopowej oceny rozmazów krwi pobranej od chorych zwierząt. Morfologia komórki pierwotniaków była podstawą, aby piroplazmozy izolowane od psów zakwalifikować do jednej z dwóch grup: dużych *Babesia* (2,5–5,0 µm), określanych mianem *Babesia canis*, oraz małych *Babesia* (1,0–2,5 µm), nazywanych *Babesia gibsoni* (10).

Zastosowanie metod biologii molekularnej pozwoliło wykazać, iż rodzaj *Babesia* nie jest tak jednolity. Analiza genów 18S RNA, Bc28, 5,8S, hsp70 czy cytochromu B wykazała, że w rzeczywistości czynnikiem etiologicznym babeszjozy psów są liczne gatunki *Babesia*. Na tej podstawie w obrębie małych piroplazm wykazano następujące gatunki: *Babesia conradae*, *B. microti-like*, określaną także jako *Theileria annae* czy „izolat hiszpański”, oraz *Theileria* spp. Z kolei w obrębie dużych form piroplazm rozróżnia się trzy gatunki, początkowo uznawane za podgatunki *Babesia canis* – *B. rossii*, *B. canis* i *B. vogeli* oraz stosunkowo niedawno wykryte u psów w USA nie nazwane jeszcze duże *Babesia*. Wszystkie one charakteryzują się identyczną morfologią komórki, jednak ich geograficzny zasięg występowania, struktura genetyczna i zjadliwość są różne. Pierwotniaki te przenoszone są także przez różne gatunki kleszczy (11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19).

Nie jest to ostateczna klasyfikacja tych pierwotniaków. W obrębie poszczególnych gatunków wykazać można szczepy, różniące się niekiedy zjadliwością. Badania własne

Diversity of *Babesia* isolates in the aspects of clinical disease in dogs

Adaszek Ł., Winiarczyk S., Department of Epizootiology and Clinic of Infectious Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, University of Life Sciences in Lublin

The purpose of this article was to show important aspects of clinical forms of canine babesiosis that seems to be associated with diversity of isolated protozoan strains. Canine babesiosis, an emerging disease, is caused by intraerythrocytic protozoa of the genus *Babesia* which are transmitted by ticks. The pathophysiology of canine babesiosis has been extensively studied but many questions still remain unanswered, especially regarding the diversity of disease manifestations in different countries and geographical regions. Continued investigations on similarities and differences in the host-parasite interplay in canine babesiosis should lead to better understanding of the disease process. This in turn, could contribute to better prediction of the disease outcome and the development of new treatment modalities

Keyword: *Babesia* spp, protozoa, dogs, tick-borne disease.

pozwoliły wykazać w obrębie polskich szczepów *Babesia canis* dwie grupy określone mianem 18S RNA-A i 18S RNA-B, różniące się strukturą fragmentu genu 18S RNA (20, 21). U psów zarażonych tymi piroplazmami obserwowano różnice (istotne statystycznie) w nasileniu małopłytkowości, w zależności od tego, który ze wspomnianych szczepów był przyczyną choroby. Ponadto u chorych osobników wykazano korelację pomiędzy nasileniem trombocytopenii a wzrostem temperatury ciała, wzrostem częstości tętna oraz zmianą zabarwienia moczu (22). To, że różne szczepy tego samego gatunku pasożyta mogą cechować się różną zjadliwością, wykazano już w przypadku babeszjozy bydła wywołanej przez *B. bovis*. Niektóre szczepy tego pasożyta cechowała mniejsza zjadliwość niż szczepy matczyne. Obserwacje te posłużyły do przygotowania atenuowanej szczepionki przeciwko babeszjozie bydła, w przypadku której proces atenuacji pierwotniaka odbywał się poprzez kolejne jego pasaża na cielętach pozbawionych śledziony. Należy zaznaczyć, że różnice w zjadliwości bardzo często idą w parze z różnicami w budowie antygenowej pasożytów, co może tłumaczyć niepowodzenie programu uodporniania bydła przeciwko piroplazmozie prowadzonego w Australii w latach 1985–1990 (23, 24).

Także wyniki badań nad skutecznością szczepień u psów potwierdzają tę tezę. Psy immunizowane antygenem uzyskanym z supernatantu z hodowli *in vitro*

szczepu *Babesia canis* A (SPA) były chronione, po doświadczalnym zarażeniu, przed rozwojem choroby powodowanej homologicznym szczepem pasożytów, ale niechronione, gdy zarażano je szczepami heterologicznymi piroplazm (25). Wskazuje to na istnienie w obrębie *B. canis* różnorodności antygenowej. Mechanizmami na poziomie komórkowym, zaangażowanymi w powstawanie takich różnic, mogą być rekombinacje materiału genetycznego pierwotniaków podczas ich rozwoju płciowego w organizmach kleszczy.

Na koniec rozważań nad klasyfikacją pierwotniaków *Babesia* izolowanych od psów należy zwrócić uwagę na fakt, iż w pewnych obszarach geograficznych zwierzęta te mogą ulec zarażeniu gatunkami *Babesia/Theileria*, które nie są ich naturalnymi patogenami, jak *T. equi* czy *B. caballi*. Tego rodzaju inwazje mogą tłumaczyć pewne trudności terapeutyczne, obserwowane niekiedy u psów z babeszjozą, przy stosowaniu standardowych dawek imidokarbu (26).

Patogeneza

Babeszjozę psów charakteryzuje bardzo różnorodny przebieg uwarunkowany szczepem pasożyta wywołującym chorobę, wiekiem zwierzęcia, jego statusem immunologicznym, rasą, pochodzeniem, a także współistniejącymi chorobami. Badania własne prowadzone nad czynnikami predysponującymi do wystąpienia choroby u psów w Polsce wykazały, iż inwazje częściej notuje się u psów rasowych, w wieku poniżej roku, u osobników, które w przeszłości przechorowały babeszjozę oraz u których nie stosowano profilaktyki przeciw ektopasożytom (27).

Najogólniej można przyjąć, iż choroba występuje w dwóch postaciach: niepowikłanej i powikłanej. Niepowikłana babeszjoza objawia się niedokrwistością, z kolei drugą postacią inwazji cechuje upośledzenie funkcji wielu narządów. Niedokrwistość hemolityczna oraz zespół uogólnionej reakcji zapalnej (systemic inflammatory response syndrome – SIRS) są głównymi zaburzeniami prowadzącymi do zespołu niewydolności wielonarządowej (multiple organ dysfunction syndrome – MODS; 2,28).

W rozwój niedokrwistości hemolitycznej zaangażowanych jest wiele mechanizmów prowadzących do hemolizy zarówno wewnątrz-, jak i zewnątrznaczyniowej. Rozpad erytrocytów może być powodowany mechanicznym uszkodzeniem przez replikujące pasożyty, a także ich uszkodzeniem przez przeciwciała, układ dopełniacza i czynniki utleniające (29). Nieprawidłowość ta może być następstwem stresu oksydacyjnego oraz wzmożonej peroksydacji lipidów błon komórkowych.

Ostatni z wymienionych mechanizmów przyczynia się do uszkodzenia struktury błon komórkowych erytrocytów, utraty ich ciągłości oraz zwiększonej przepuszczalności dla jonów. Wzmożona peroksydacja przyczynia się do akumulacji jonów oksydacyjnych w krwinkach czerwonych i ich lizy. Biomarkerem peroksydacji lipidów jest aldehyd malonowy, którego koncentracja rośnie istotnie w przebiegu babeszjozy u psów (30). Sama peroksydacja lipidów, a także zmiany struktury białek oraz kwasów nukleinowych w obrębie komórek mogą być także następstwem stresu oksydacyjnego (2).

Istotną konsekwencją niedokrwistości jest rozwój hipoksji. Innymi czynnikami prowadzącymi do jej wystąpienia w przebiegu babeszjozy są: wstrząs hipotensyjny, zastój krwi w naczyniach, nasilona endogenna produkcja tlenu węgla, a także obniżona zdolność hemoglobiny do oddawania tlenu (2, 31). Narządami najbardziej wrażliwymi na niedobór tlenu są mózg, nerki oraz mięśnie. Przyjmuje się, że w przebiegu babeszjozy u psów niedotlenienie odgrywa znacznie większą rolę w uszkodzeniu nerek niż hemoglobinuria. Głównymi zmianami histopatologicznymi obserwowanymi w nerkach zwierząt naturalnie zarażonych *B. canis* były: zwyrodnienie wodniczkowe, martwica oraz odklejenie komórek nabłonka w kanalikach krętych I rzędu. Interesujące jest, że w zasadzie nie stwierdza się żadnych zmian w obrębie kłębuszków nerkowych. Także fakt, że w komórkach nabłonka kanalików nie stwierdza się złogów hemoglobiny może przemawiać za tym, iż uszkodzenie nerek jest następstwem hipoksji (32).

Niedotlenienie tkanek, wstrząs, niewydolność wielonarządowa oraz stosunkowo wysoki współczynnik śmiertelności są charakterystyczne dla inwazji *B. rossii*. Pasożyt ten może wywoływać chorobę o przebiegu ostrym lub nawet nadoстрыm. Obserwuje się wówczas wzmożoną hemolizę, niewydolność nerek oraz zaburzenia równowagi kwasowo-zasadowej. Uszkodzenie śródbłonek naczyń pod wpływem wolnych rodników tlenowych przyczynia się do zwiększonej przepuszczalności naczyń i rozwoju obrzęków pochodzenia pozasercowego. Przebieg zarażeń pozostałymi gatunkami dużych *Babesia* jest łagodny (w przypadku *B. vogeli*) lub średnio ciężki (*B. canis*; 33).

Dużą rolę w kontrolowaniu choroby u psów pełni śledziona. U osobników po splenektomii, zarażonych pasożytami obserwowano nagły rozwój parazytemii oraz szybkie wystąpienie ciężkich objawów klinicznych inwazji. Przyjmuje się, że usunięcie śledziony jest czynnikiem zwiększającym ryzyko wystąpienia śmiertelnej babeszjozy u ludzi i zwierząt (5, 34, 35).

Obraz kliniczny babeszjozy u psów w zależności od czynnika etiologicznego

Babesia canis

Zarażenia na tle tych pierwotniaków mogą przyjmować postać łagodną do ciężkiej. Parazytemia w ich przebiegu wcale nie musi być wysoka i nie zawsze koreluje z klinicznym przebiegiem choroby (36, 37). Także niedokrwistość w przebiegu babeszjozy wywołanej tym gatunkiem pasożyta nie jest proporcjonalna do nasilenia parazytemii. Na ogół liczba uszkodzonych erytrocytów jest wyższa niż stopień parazytemii, co sugeruje, iż w przebiegu inwazji dochodzi do niszczenia zarówno erytrocytów opadniętych pasożytami, jak i zdrowych. Badania doświadczalne prowadzone na psach wykazały, iż niska parazytemia nie gwarantuje łagodnego przebiegu choroby, natomiast parazytemia przekraczająca 1% jest prognostycznie złym wskaźnikiem (19).

Głównymi objawami ostrej babeszjozy są gorączka, apatia i odwodnienie. Często pojawia się hemoglobinuria oraz żółtaczka. Niekiedy choroba rozpoczyna się od objawów biegunki i wymiotów, a w ostatnim czasie coraz częściej obserwuje się (zwłaszcza w okresie jesiennym) osłabienie mięśni, zwłaszcza tylnych części ciała (2, 22, 38). U większości psów zarażonych *B. canis* badaniem hematologicznym stwierdzić można silnego stopnia małopłytkowość, łagodną lub średniego stopnia normocytarną, normobarwliwą niedokrwistość regeneratywną oraz neutropenię (22, 39). Badaniami biochemicznymi można wykazać podwyższoną aktywność enzymów wątrobowych, wzrost stężenia mocznika i kreatyniny. Przeprowadzane ostatnio badania własne wykazały, iż najczęściej obserwowanymi zaburzeniami elektrolitowymi u psów z inwazją na tle *B. canis* są w kolejności: hipochloremia, hipokaliemia i hiponatremia (40). Choroba najczęściej przebiega w okresie wiosenno-jesiennym, przy czym przypadki jesienne charakteryzuje cięższy przebieg aniżeli postać wiosenną.

Babesia vogeli

Babesia vogeli jest czynnikiem etiologicznym łagodnej babeszjozy psów, często o przebiegu subklinicznym. Pełnoobjawowa choroba na tle tego patogenu notowana była u psów z usuniętą śledzioną, a także u bardzo młodych osobników oraz u starych zwierząt z immunosupresją. U psów z prawidłowo funkcjonującym układem odpornościowym inwazje na tle tego pasożyta przebiegają z objawami regeneratywnej niedokrwistości hemolitycznej, której, poza objawami ogólnymi (gorączka, brak apetytu, apatia) oraz niekiedy łagodnej żółtaczki, nie towarzyszą inne symptomy chorobowe.

Wyniki badań hematologicznych oraz biochemicznych wykonywanych u psów z inwazją na tle tego pasożyta przypominają obserwowane w przebiegu piroplazmozy na tle *B. canis* (6, 15, 41).

Babesia rossi

Spośród wszystkich gatunków *Babesia* patogennych dla psów pasożyty *Babesia rossi* cechuje największa zjadliwość. Endemicznym miejscem ich występowania jest Afryka, przy czym zdarza się, że choroba zostaje zawleczona do Europy. Dotychczas w Polsce nie notowano przypadków tej inwazji u psów. Aktywność *B. rossi* nasila się w miesiącach letnich (42). Choroba może przebiegać w postaci łagodnej – obserwuje się wówczas tylko objawy niedokrwistości, a rokowanie jest dobre, lub w postaci powikłanej, w przebiegu której rozwija się niewydolność wielonarządowa, a rokowanie jest niepomyślne (42, 43). Przypadki niepowikłanej babeszjozy reagują szybko na podjęte leczenie przyczynowe (niekiedy konieczne jest wykonanie dodatkowo transfuzji krwi). Zwierzęta z powikłaną babeszjozą wymagają na ogół intensywnego leczenia, a współczynnik śmiertelności w przebiegu tej postaci choroby wynosi około 15% (42). Upadki powodowane są uszkodzeniem mózgu, zespołem ostrej niewydolności oddechowej (acute respiratory distress syndrome – ARDS) lub niewydolnością nerek (44). Głównymi objawami obserwowanymi u psów z powikłaną postacią inwazji są: niedokrwistość, żółtaczka, obniżone ciśnienie krwi, duszność, wymioty, biegunka, objawy zapalenia trzustki, bóle mięśniowe, rozpad włókien mięśni prądkowanych, wodobrzusze, obrzęk płuc oraz objawy nerwowe (6). Przypuszcza się, że czynnikiem odpowiedzialnym za zjadliwość *B. rossi* jest nie stwierdzana u innych dużych *Babesia* (*B. canis*, *B. vogeli*) polimorficzna fosfoproteina ujawniająca się na powierzchni zarażonych pasożytami erytrocytów, określona

mianem erytrocytarnego antygeny błonowego-1 (BrEMA1 – *Babesia rossi* erythrocyte membrane antigen; 45).

Pozostałe nienazwane duże postacie Babesia

W Stanach Zjednoczonych wykryto kolejne niesklasyfikowane jeszcze duże gatunki *Babesia* patogenne dla psów. Następnym inwazji jest rozwój łagodnej niedokrwistości regeneratywnej oraz małopłytkowości, którym towarzyszą gorączka, apatia i brak apetytu. Pierwszy przypadek zarażenia psa tymi patogenami opisano u osobnika z chłoniakiem poddawanego chemioterapii (46). Dotychczas tego rodzaju inwazji potwierdzono u 7 psów w USA (u wszystkich zwierząt notowano zaburzenia w funkcjonowaniu układu immunologicznego). Wykryte w ich organizmie pierwotniaki wrażliwe na imidokarb wykazywały 93,9% podobieństwo sekwencji genu 18S RNA z *Babesia bigemina* (6).

Babesia gibsoni

Pierwotniaki *Babesia gibsoni* są najważniejszym przedstawicielem małych *Babesia*. Mimo iż przyjmuje się, że występują one na całym świecie, w Polsce dotychczas nie notowano ich obecności. U psów powodują rozwój choroby o przebiegu przewlekłym lub subklinicznym, objawiającej się spadkiem masy ciała, osłabieniem oraz niedokrwistością, którym niekiedy towarzyszy żółtaczka oraz powiększenie śledziony. Badaniami laboratoryjnymi we krwi chorych osobników wykazać można rozwój regeneratywnej niedokrwistości hemolitycznej, małopłytkowości oraz bilirubinemii (6, 47).

Babesia conradae

Zasięg występowania *B. conradae* obejmuje obszar Stanów Zjednoczonych. Początkowo pasożyty te uznawane były za *B. gibsoni*,

jednak wywołana nimi choroba ma cięższy przebieg i często kończy się upadkami zarażonych zwierząt. Objawy kliniczne inwazji przypominają te obserwowane w babeszjozie powodowanej *B. gibsoni*, jednak są one bardziej nasilone, a niedokrwistość i parazytemia mocniej wyrażone (6, 48).

Babesia microti-like (T. annae)

Inwazje na tle tego patogenu opisywane są od niedawna. Pierwsze ich przypadki wykryto u psów w Hiszpanii. Okres występowania choroby przypada głównie na miesiące jesienne i zimowe. Podobnie jak w innych babeszjozach u psów, głównym objawem obserwowanym u chorych zwierząt jest niedokrwistość regeneratywna, której towarzyszą osłabienie, gorączka, przyspieszenie tętna, oddechów, zmiana zabarwienia moczu. Wydaje się, że częstym powikłaniem inwazji jest rozwój azotemii (49, 50).

Theileria spp.

U psów w Afryce Południowej wykazano obecność materiału genetycznego pierwotniaków blisko spokrewnionych z pasażerami *Theileria* izolowanymi od antylop szablrogich. Zarażone tymi pierwotniakami psy wykazywały objawy niedokrwistości hemolitycznej. Obserwowano również splenomegalię oraz rozwój trombocytopenii (51). Nie wiadomo, czy wykryte pierwotniaki *Theileria* można potraktować jako nowy gatunek pasożytów bezwzględnie chorobotwórczy dla psów, czy też w opisywanych przypadkach miano do czynienia z przypadkowymi inwazjami, podobnie jak miało to miejsce we Francji u psów zarażonych *T. equi* oraz *B. caballi* (26).

Wraz z opracowaniem nowych technik biologii molekularnej, pozwalających różnicować *Babesia*, liczba gatunków tych pasożytów patogennych dla psów zwiększyła się w istotny sposób.

Tabela 1. Podstawowe dane dotyczące pierwotniaków *Babesia/Theileria* izolowanych od psów

Gatunek	Zasięg występowania	Wektor	Rokowanie co do zejścia choroby	Leczenie
<i>Babesia canis</i>	Europa	<i>Dermacentor reticulatus</i>	dobrze	imidokarb, diminazen
<i>Babesia rossi</i>	Afryka Południowa, Nigeria, Sudan	<i>Haemaphysalis leachii</i>	dobrze do niepomyślnego	imidokarb, diminazen
<i>Babesia vogeli</i>	Afryka, Azja, Europa, Ameryka Płn., Ameryka Południowa, Australia	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	dobrze	imidokarb, diminazen
<i>Babesia</i> spp.	USA	?	dobrze	imidokarb, diminazen
<i>Babesia gibsoni</i>	Azja Południowa Ameryka Płn., Ameryka Południowa, Europa	<i>Haemaphysalis</i> spp. <i>Rhipicephalus</i> spp.	ostrożne	azytromycyna + atowakwon, klindamycyna
<i>Babesia conradae</i>	USA	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	ostrożne do niepomyślnego	imidokarb
<i>Babesia microti-like</i> (<i>Theileria annae</i>)	Hiszpania, Chorwacja, Ameryka Płn.	<i>Ixodes hexagonus</i>	ostrożne do niepomyślnego	imidokarb, diminazen
<i>Theileria</i> spp.	Afryka Południowa	?	?	imidokarb

W wielu przypadkach gatunki pierwotniaków, które są nie do odróżnienia pod względem ich morfologii, przenoszone są przez odmienne wektory i wywołują choroby o różnym przebiegu. Ocieplenie się klimatu, coraz częstsze podróże właścicieli z psami do krajów egzotycznych powodują, iż wzrasta zagrożenie babeszjozami, które do tej pory nie były notowane u psów w Polsce. Właściwe rozpoznanie czynnika etiologicznego choroby jest niezwykle istotne dla celów epidemiologicznych, a także dla rokowania co do zejścia choroby oraz do tego, by móc wdrożyć odpowiednią jej terapię (tab. 1).

Piśmiennictwo

- Adaszek Ł., Górna M., Milczak A., Ziętek A., Winiarczyk S.: Babeszjoza bydła. *Życie Wet.* 2010, **85**, 37-41.
- Adaszek Ł., Winiarczyk S.: Aktualny stan wiedzy a temat babeszjozy (piroplazmozy) psów. Cz. I. Istota choroby. *Magazyn Wet.* 2011, **20**, 742-746.
- Adaszek Ł., Winiarczyk S.: Aktualny stan wiedzy a temat babeszjozy (piroplazmozy) psów. Cz. II. Immunoprofilaktyka babeszjozy psów. *Magazyn Wet.* 2011, **20**, 262-265.
- Adaszek Ł., Górna M., Krzysiak M., Adaszek M., Garbal M., Winiarczyk S.: Identification of the piroplasm isolated from horses with clinical piroplasmosis in Poland. *Wiad. Parazytol.* 2011, **57**, 21-26.
- Boustani M.R., Gelfand J.A.: Babesiosis. *Clin. Infect. Dis.* 1996, **22**, 611-615.
- Solano-Gallego L., Baneth G.: Babesiosis in dogs and cats – expanding parasitological and clinical spectra. *Vet. Parasitol.* 2011, **181**, 48-60.
- Uilenberg G.: Babesia – a historical overview. *Vet. Parasitol.* 2006, **138**, 3-10.
- Adaszek Ł., Winiarczyk S., Górna M.: Od piroplazmozy do babeszjozy – problemy w klasyfikacji pierwotniaków z rodzaju *Babesia* u psów. *Wiad. Parazytol.* 2010, **56**, 111-115.
- Kuo C.H., Wares J.P., Kissinger J.C.: The Apicomplexan whole-genome phylogeny: an analysis of incongruence among gene trees. *Mol. Biol. Evol.* 2008, **25**, 2689-2698.
- Boozer A.L., Macintire D.K.: Canine babesiosis. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 2003, **33**, 885-904.
- Yamasaki M., Inokuma H., Sugimoto C., Shaw S.E., Aktas M., Yabsley M.J., Yamato O., Maeda Y.: Comparison and phylogenetic analysis of the heat shock protein 70 gene of *Babesia* parasites from dogs. *Vet. Parasitol.* 2007, **145**, 217-227.
- Zahler M., Rinder H., Schein E., Gothe R.: Detection of a new pathogenic *Babesia microti*-like species in dogs. *Vet. Parasitol.* 2000, **89**, 241-248.
- Zahler M., Schein E., Rinder H., Gothe R.: Characteristic genotypes discriminate between *Babesia canis* isolates of differing vector specificity and pathogenicity to dogs. *Parasitol. Res.* 1998, **84**, 544-548.
- Yeagley T.J., Reichard M.V., Hempstead J.E., Allen K.E., Parsons L.M., White M.A., Little S.E., Meinkeoth J.H.: Detection of *Babesia gibsoni* and the canine small *Babesia* 'Spanish isolate' in blood samples obtained from dogs confiscated from dog fighting operations. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 2009, **235**, 535-539.
- Carret C., Walas F., Carcy B., Grande N., Précigout É., Moubri K., Schettters T., Gorenflot A.: *Babesia canis canis*, *Babesia canis vogeli*, *Babesia canis rossi*: Differentiation of three subspecies by restriction fragment length polymorphism analysis on amplified small subunit ribosomal RNA genes. *J. Eukaryot. Microbiol.* 1999, **46**, 298-303.
- Kjemtrup A.M., Wainwright K., Miller M., Penzhorn B.L., Carreno R.A.: *Babesia conradae*, sp. nov., a small canine *Babesia* identified in California. *Vet. Parasitol.* 2006, **138**, 103-111.
- Criado A., Martinez J., Buling A., Barba J.C., Merino S., Jefferies R., Irwin P.J.: New data on serozoology and genetics of piroplasm based on sequences of small ribosomal subunit and cytochrome b genes. *Vet. Parasitol.* 2006, **142**, 238-247.
- Cacciò S.M., Antonovic B., Moretti A., Mangili V., Marinculic A., Baric R.R., Slemenda S.B., Pieniazek N.J.: Molecular characterisation of *Babesia canis canis* and *Babesia canis vogeli* from naturally infected European dogs. *Vet. Parasitol.* 2002, **106**, 285-292.
- Matjila P.T., Leisewitz A.L., Oosthuizen M.C., Jongejan F., Penzhorn B.L.: Detection of a *Theileria* species in dogs in South Africa. *Vet. Parasitol.* 2008, **157**, 34-40.
- Adaszek Ł., Winiarczyk S.: Molecular characterization of *Babesia canis canis* isolates from naturally infected dogs in Poland. *Vet. Parasitol.* 2008, **152**, 235-241.
- Adaszek Ł., Winiarczyk S.: Application of the SYBR Green real-time HRM PCR technique in the differentiation of the *Babesia canis canis* protozoa isolated in the areas of eastern Poland. *Parasitol. Res.* 2010, **106**, 1253-1256.
- Adaszek Ł., Winiarczyk S., Skrzypczak M.: The clinical course of babesiosis in 76 dogs infected with protozoa parasites *Babesia canis canis*. *Pol. J. Vet. Sci.* 2009, **12**, 81-87.
- De Waal D.T., Combrink M.P.: Live vaccines against bovine babesiosis. *Vet. Parasitol.* 2006, **138**, 88-96.
- Bock R.E.: Investigations of breakdowns in protection provided by living *Babesia bovis* vaccine. *Vet. Parasitol.* 1992, **43**, 45-56.
- Schettters T., Kleuskens J., Scholtes N., Bos H.J.: Strain variation limits protective activity of vaccines based. *Parasit. Immunol.* 1995, **17**, 215-218.
- Fritz D.: A PCR study of piroplasm in 166 dogs and 111 horses in France (March 2006 to March 2008). *Parasitol. Res.* 2010, **106**, 1339-1342.
- Adaszek Ł., Martinez A.C., Winiarczyk S.: The factors affecting the distribution of babesiosis in dogs in Poland. *Vet. Parasitol.* 2011, **181**, 160-165.
- Matijak V., Torti M., Schettters T.P.: Canine babesiosis in Europe: how many diseases. *Trends Parasitol.*, w druku
- Zygner W., Gójska –Zygner O.: Niedokrwiłość w przebiegu babeszjozy. *Życie Wet.* 2011, **86**, 788-792.
- Crnogaj, M.: Malondialdehyde levels in serum of dogs infected with *Babesia canis*. *Vet. Med.-Czech* 2010, **55**, 163-171.
- Ayoub A.L., Hackner S.G., Prittie J.: Clinical management of canine babesiosis. *J. Vet. Emerg. Crit. Care (San Antonio)*. 2010, **20**, 77-89.
- Máthé A., Dobos-Kovács M., Vörös K.: Histological and ultrastructural studies of renal lesions in *Babesia canis* infected dogs treated with imidocarb. *Acta Vet. Hung.* 2007, **55**, 511-523.
- Leisewitz A.L., Jacobson L.S., de Moraes H.S., Reyers F.: The mixed acid-base disturbances of severe canine babesiosis. *J. Vet. Intern. Med.* 2001, **15**, 445-452.
- Homer M.J., Aguilar-Delfin I., Telford S.R. 3rd, Krause P.J., Persing D.H.: Babesiosis. *Clin. Microbiol. Rev.* 2000, **13**, 451-469.
- Sikorski L.E., Birkenheuer A.J., Holowaychuk M.K., McCreary-Wheeler A.L., Davis J.M., Littman M.P.: Babesiosis caused by a large *Babesia* species in 7 immunocompromised dogs. *J. Vet. Intern. Med.* 2010, **24**, 127-131.
- Furlanello, T.: Clinicopathological findings in naturally occurring cases of babesiosis caused by large form *Babesia* from dogs of northeastern Italy. *Vet. Parasitol.* 2005, **134**, 77-85.
- Jacobson, L.S.: Changes in haematocrit after treatment of uncomplicated canine babesiosis: a comparison between diminazene and trypan blue, and an evaluation of the influence of parasitaemia. *J. S. Afr. Vet. Assoc.* 1996, **67**, 77-82.
- Adaszek Ł., Winiarczyk S.: Babeszjoza psów – wciąż aktualny problem. *Wiad. Parazytol.* 2008, **54**, 109-115.
- Zygner W., Gójska O., Rapacka G., Jaros D., Wedrychowicz H.: Hematological changes during the course of canine babesiosis caused by large *Babesia* in domestic dogs in Warsaw (Poland). *Vet. Parasitol.* 2007, **145**, 146-151.
- Adaszek Ł., Górna M., Winiarczyk S.: Electrolyte level and blood pH in dogs infected by the various 18 S RNA strains of *Babesia canis canis* on the early stage of babesiosis. *Berl. Munch. Tierarztl. Wochschr.* 2011 w druku
- Uilenberg G., Franssen F.F., Perié N.M., Spanjer A.A.: Three groups of *Babesia canis* distinguished and a proposal for nomenclature. *Vet. Q.* 1989, **11**, 33-40.
- Jacobson L.S.: The South African form of severe and complicated canine babesiosis: clinical advances 1994-2004. *Vet. Parasitol.* 2006, **138**, 126-139.
- Reyers F., Leisewitz A.L., Lobetti R.G., Milner R.J., Jacobson L.S., van Zyl M.: Canine babesiosis in South Africa: more than one disease. Does this serve as a model for falciparum malaria? *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 1998, **92**, 503-511.
- Welzl C., Leisewitz A.L., Jacobson L.S., Vaughan-Scott T., Myburgh E.: Systemic inflammatory response syndrome and multiple-organ damage/dysfunction in complicated canine babesiosis. *J. S. Afr. Vet. Assoc.* 2001, **72**, 158-162.
- Matjila P.T., Carcy B., Leisewitz A.L., Schettters T., Jongejan F., Gorenflot A., Penzhorn B.L.: Preliminary evaluation of the BrEMA1 gene as a tool for associating *Babesia* rossi genotypes and clinical manifestation of canine Babesiosis. *J. Clin. Microbiol.* 2009, **47**, 3586-3592.
- Birkenheuer A.J., Neel J., Ruslander D., Levy M.G., Breitschwerdt E.B.: Detection and molecular characterization of a novel large *Babesia* species in a dog. *Vet. Parasitol.* 2004, **124**, 151-160.
- Birkenheuer A.J., Correa M.T., Levy M.G., Breitschwerdt E.B.: Geographic distribution of babesiosis among dogs in the United States and association with dog bites: 150 cases (2000-2003). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 2005, **227**, 942-947.
- Kjemtrup A.M., Conrad P.A.: A review of the small canine piroplasm from California: *Babesia conradae* in the literature. *Vet. Parasitol.* 2006, **138**, 112-117.
- García A.T.: Piroplasma infection in dogs in northern Spain. *Vet. Parasitol.* 2006, **138**, 97-102.
- Camacho A.T., Guitian E.J., Pallas E., Gestal J.J., Olmeda A.S., Goethert H.K., Telford S.R. 3rd, Spielman A.: Azotemia and mortality among *Babesia microti*-like infected dogs. *J. Vet. Intern. Med.* 2004, **18**, 141-146.
- Matjila P.T., Leisewitz A.L., Oosthuizen M.C., Jongejan F., Penzhorn B.L.: Detection of a *Theileria* species in dogs in South Africa. *Vet. Parasitol.* 2008, **157**, 34-40.

Dr Łukasz Adaszek, Klinika Chorób Zakaźnych, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, ul Głęboka 30, 20-612 Lublin, e-mail: ukaszek@wp.pl