

## Występowanie wybranych chorób odkleszczowych u koni z terenów wschodniej Polski

Łukasz Adaszek, Beata Dziegiel, Marcin Kalinowski, Marta Staniec, Stanisław Winiarczyk

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

W Polsce choroby odkleszczowe koni stanowią stosunkowo nowy problem. Ich pojawienie się może być związane ze zmianami, jakie zachodzą w klimacie, których następstwem jest ekspansja kleszczy – wektorów tych chorób – na tereny dotychczas przez nie niezajmowane (1, 2). Spośród licznych chorób odkleszczowych, stwierdzanych u koni na całym świecie, w naszym kraju na uwagę zasługują piroplazmoza (babeszjoza/teilerioza), anaplazmoza granulocytarna oraz borelioza. Na przestrzeni ostatnich czterech lat częstotliwość pojawiania się tych chorób u rodzimych zwierząt uległa istotnemu zwiększeniu. W wielu środowiskach istnieje pogląd, że są to egzotyczne jednostki chorobowe niespotykane w Polsce. Celem artykułu jest zwrócenie uwagi na fakt, że są one realnym problemem. Zaprezentowany zostanie krótki opis piroplazmozy, anaplazmozy granulocytarnej oraz boreliozy wraz z danymi epizootycznymi dotyczącymi częstotliwości ich występowania u koni pochodzących z terenów wschodniej Polski.

### Piroplazmoza koni

Piroplazmoza koni jest ciężką chorobą wywołaną przez pasożyty krwi *Theileria equi* (określane wcześniej jako *Babesia equi*) i *Babesia caballi* (3). Choroba ta występuje endemicznie w regionach tropikalnych i subtropikalnych, a jej wektorami są kleszcze z rodzajów: *Boophilus*, *Hyalomma*, *Dermacentor* i *Rhipicephalus*. *Babesia caballi* to pierwotniaki o kształcie łyż lub ameboidalnym, o wymiarach 2,5–5 µm. W erytrocytach występują najczęściej parami skierowanymi ku sobie węższym końcem. *Theileria equi* to bardzo małe kuliste pasożyty, o wymiarach do 2 µm, spotykane w erytrocytach oraz komórkach układu białokrwinkowego (4, 5).

Cechą różnicującą piroplazmy *Babesia* od *Theileria* jest nieco odmienne zachowanie się obu pasożytów w organizmie gospodarza. Pierwsze z nich od razu po wnikięciu do organizmu zwierząt lub człowieka atakują krwinki czerwone, natomiast sporozycy *Theileria* w początkowym

etapie inwazji wnikają do limfocytów lub makrofagów, gdzie przechodzą schizogonię i dopiero ich merozoity wnikają do erytrocytów, wewnątrz których ulegają dalszemu podziałom. Zatem cechą różnicującą piroplazmy z rodzaju *Theileria* i *Babesia* jest występowanie schizogonii w limfocytach lub erytrocytach (5, 6).

Objawy babeszjozy/teileriozy są różnorodne – u zarażonych koni może występować żółtaczka, osłabienie mięśni, hemoglobinuria i gorączka. *Babesia* oraz *Theileria* powodują destrukcję erytrocytów poprzez ich mechaniczne uszkodzenie, co klinicznie manifestuje się niedokrwistością. Jest ona również wynikiem indukowanej przez pierwotniaki humoralnej i komórkowej odpowiedzi immunologicznej w organizmie gospodarza, w wyniku czego następuje wzmożona fagocytoza, zarówno erytrocytów zawierających pasożyty, jak i wolnych od pierwotniaków. Niszczenie krwinek czerwonych nasilone jest w wyniku opsonizacji opadniętych pasożytami erytrocytów przeciwciałami IgG oraz destabilizacji błony komórkowej przez czynniki uwalniane przez pierwotniaki. Niedokrwistości towarzyszą zaburzenia krążenia, hipoksja, rozwój kwasicy metabolicznej oraz upośledzenie funkcji wielu narządów wewnętrznych, zwłaszcza wątroby i nerek, co może się objawiać żółtaczką oraz brunatnym zabarwieniem moczu (7). Przebieg choroby z reguły jest ostry, jednak może ona przebiegać także w formie podostrej i przewlekłej (4, 8).

Standardowa diagnostyka piroplazmozy na terenach jej enzootycznego występowania opiera się na danych z wywiadu (obecność kleszczy na koniach), objawach klinicznych (gorączka, niedokrwistość, żółtaczka, hemoglobinuria) oraz na mikroskopowej ocenie rozmazów krwi pobranej od chorych zwierząt (9, 10). Coraz częściej w rozpoznawaniu babeszjozy/teileriozy oraz w ocenie sytuacji epizootycznej, w tym w wykrywaniu zarażeń subklinicznych tymi pierwotniakami, wykorzystywane są metody biologii molekularnej, a przede wszystkim łańcuchowa reakcja polimerazy (PCR) i sekwencjonowanie produktów amplifikacji (7, 11, 12).

### The incidence of tick-borne diseases in horses from eastern Poland

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

The aim of this study was to perform molecular monitoring of piroplasmiasis, granulocytic anaplasmosis and borreliosis in clinically ill horses from eastern Poland. Out of 402 examined horses, *Theileria equi* genetic material was found in 37 (9.2%), and *Anaplasma phagocytophilum* in 9 individuals (2.24%). The genetic material of *Borrelia burgdorferi* was found in 11 out of 192 tested animals (5.73%). These results, in respect of the available literature, indicate that the problem of equine tick-borne diseases in Poland is not as significant as in other parts of Europe. However, due to climate changing, the number of cases of piroplasmiasis, anaplasmosis and Lyme disease in horses tend to increase in coming years.

**Keywords:** tick-borne diseases, horses, molecular monitoring, PCR.

### Anaplazmoza granulocytarna

Anaplazmoza granulocytarna jest zakaźną wielonarządową chorobą ludzi i zwierząt przebiegającą z trombocytopenią. Czynnikiem etiologicznym choroby są drobnoustroje zaliczane wcześniej do rodziny Rickettsiaceae, rodzaju *Ehrlichia*. Obecnie klasyfikuje się je w rzędzie Rickettsiales powstałym z połączenia rodzin Rickettsiaceae oraz Anaplasmataceae (13, 14). Gatunkiem riketsji najczęściej wywołującym chorobę u koni jest *Anaplasma phagocytophilum* (15, 16).

Anaplazmoza granulocytarna występuje na całym świecie, a obecność wywołujących ją drobnoustrojów wykazano we krwi: koni, bydła, owiec, kóz, kotów, psów, lisów, lam, jeleni i ludzi (17, 18, 19, 20, 21, 22, 23). Dane na temat występowania choroby u zwierząt w Polsce są bardzo fragmentaryczne. W dostępnym piśmiennictwie odnotowano przypadki anaplazmozy u psów (23, 24), kotów (25, 26) oraz koni (24, 27, 28), materiał genetyczny riketsji wykazano we krwi danieli niezdradzających objawów klinicznych choroby (29), natomiast swoiste przeciwciała przeciwko *A. phagocytophilum* stwierdzono u bydła, świń i psów (30, 31). Zanotowano także dwa przypadki zakażenia tymi drobnoustrojami u ludzi (32).

Do zakażenia koni dochodzi poprzez kontakt z kleszczami *Ixodes* spp. (20) oraz *Rhipicephalus sanguineus* (33), które są wektorami riketsji (34, 35). Objawy kliniczne anaplazmozy są nieswoiste. Początkowo

występuje apatia, osłabienie i wysoka gorączka. W ostrej anaplazmozie dochodzi do spadku masy ciała, krwawienia z błon śluzowych, powiększenia śledziony i węzłów chłonnych. Pojawiać się mogą także wymioty, biegunka, zapalenia stawów oraz objawy nerwowe w postaci drgawek i porażań (36). Badaniami hematologicznymi stwierdza się trombocytopenię oraz niedokrwistość, która może rozwinąć się w formie nieregeneratywnej, jako wynik hipoplazji szpiku kostnego lub przewlekłej postaci choroby (36, 37, 38, 39, 40), zaś badaniem moczu można wykazać białkomocz (41).

Na obszarach endemicznego występowania choroby jej podejrzenie stawia się na podstawie objawów klinicznych, natomiast pełne rozpoznanie można uzyskać w oparciu o wyniki badań laboratoryjnych (42, 43). Najprostszym testem wykazującym obecność riketsji w leukocytach zwierząt zakażonych jest barwienie rozmazów krwi metodą Giemsy lub Diff-Quick (44; **ryc. 1**). Niejednokrotnie wykazanie ciałek wtrętowych w leukocytach jest trudne, dlatego mikroskopowe badanie rozmazów krwi powinno być poparte wykazaniem materiału genetycznego drobnoustrojów metodą PCR (27, 42, 45, 46).

### Borelioza

Borelioza (choroba z Lyme) jest bakteryjną chorobą stwierdzaną u ludzi i zwierząt na półkuli północnej. Wywołują ją krętki *Borrelia burgdorferi*. Główną drogą szerzenia się zakażenia jest transmisja bakterii przez kleszcze (47). Zakażeniu ulegać mogą zarówno ludzie, jak i zwierzęta domowe oraz gospodarskie – konie i bydło (48, 49, 50, 51, 52, 53, 54). Borelioza

jest zoonozą, a obecność wywołujących ją drobnoustrojów stwierdzano m.in. w moczu zwierząt gospodarskich. Postuluje się możliwość przeniesienia zakażenia drogą pokarmową (47).

U koni, podobnie jak i u innych gatunków zwierząt, przebieg choroby z Lyme jest najczęściej bezobjawowy. W postaci klinicznej zakażenia stwierdza się kulawizny z obrzękami stawów lub bez, którym może towarzyszyć: gorączka (47, 52, 55, 56, 57), zapalenie błony naczyniowej oka, ronienia oraz trwanie masy ciała (58, 59, 60). Diagnostyka boreliozy u koni napotyka liczne trudności. Zwierzęta te, z uwagi na swą budowę anatomiczną oraz użytkowanie, predysponowane są do wystąpienia licznych zaburzeń ze strony układu mięśniowo-szkieletowego, objawiających się kulawizną (55). Pierwszym etapem zmierzającym do postawienia rozpoznania boreliozy jest wykluczenie innych jednostek chorobowych, które mogą dawać podobne objawy, jak choroba z Lyme. Kolejnym etapem postępowania jest przeprowadzenie badań serologicznych (ELISA, Western blot) lub molekularnych (PCR; 61), a także ocena skuteczności leczenia zakażenia za pomocą tetracyklin (62).

Doniesienia odnośnie do boreliozy u zwierząt w Polsce są stosunkowo nieliczne. Chorobę notowano u psów na wschodnich terenach naszego kraju (63, 64, 65, 66, 67). Obecność krętków wykazano także w organizmach kleszczy *Ixodes ricinus*, zebranych z tego obszaru (34, 35). Badania serologiczne prowadzone przez autorów w populacji koni w 12 województwach wskazywały na kontakt z krętkami ponad 25% przebadanych osobników. Najwyższy odsetek dodatnich seroreagentów

(35,85%) notowano w grupie wiekowej 3–8 lat (61).

### Dane epizootyczne

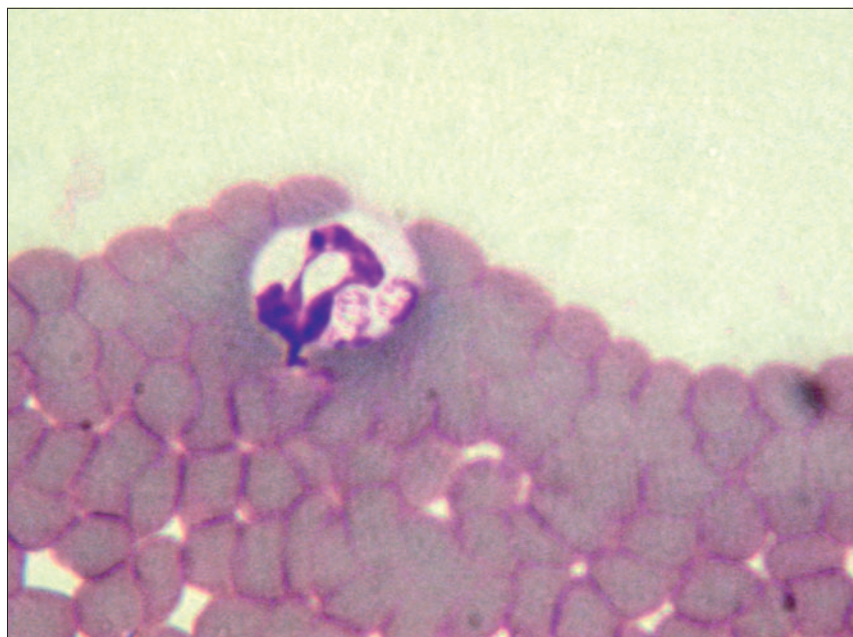
Na przestrzeni ostatnich 4 lat w Klinice Chorób Zakaźnych w Lublinie badaniom w kierunku wybranych chorób odkleszczowych poddano 402 konie. W 210 przypadkach (grupa 1) przeprowadzono diagnostykę molekularną w kierunku anaplazmozy granulocytarnej oraz piroplazmozy natomiast u 192 innych koni (grupa 2) wykonano badanie w kierunku anaplazmozy granulocytarnej, piroplazmozy oraz boreliozy. Wszystkie konie pochodziły z terenów wschodniej Polski (województwa: lubelskie, mazowieckie, podlaskie, podkarpackie). W przeszłości miały kontakt z kleszczami, po którym pojawiły się objawy nasuwające podejrzenie babeszjozy, anaplazmozy bądź boreliozy. U zwierząt z grupy 1 notowano apatię, anemię oraz w badaniu hematologicznym trombocytopenię, podczas gdy u koni zakwalifikowanych do grupy 2 apatii, gorączce, anemii i małopłytkowości towarzyszyły trudności w chodzie objawiające się kulawiznami lub sztywnym chodem oraz obrzękiem stawów kończyn.

Od wszystkich zwierząt użytych w badaniu pobierano krew do badań molekularnych w kierunku piroplazmozy i anaplazmozy. Dodatkowo od osobników zakwalifikowanych do grupy 2 pobierano płyn stawowy do badań molekularnych w kierunku boreliozy.

Badanie molekularne w kierunku piroplazmozy oraz anaplazmozy wykonywano według metodyki opisanej przez Adaszka i wsp. (28, 68), natomiast reakcję PCR dla *Borrelia* spp. wykonywano według metodyki opisanej przez Skotarczak (69).

W grupie pierwszej obecność materiału genetycznego piroplazm wykazano w 23 próbkach krwi, podczas gdy obecność DNA *Anaplasma* w 7. Produkty reakcji PCR poddano sekwencjonowaniu, a uzyskane sekwencje genu 18S RNA *Babesia/Theileria* spp. oraz genu 16S RNA *Anaplasma* spp. opracowywano komputerowo i porównywano z sekwencjami piroplazm oraz riketsji dostępnymi w banku genów GenBank. Na tej podstawie ustalono, że wszystkie szczepy pierwotniaków stwierdzone we krwi koni grupy 1 należały do gatunku *Theileria equi*, natomiast wszystkie szczepy riketsji zaklasyfikowano jako *Anaplasma phagocytophilum*. U żadnego ze zwierząt tej grupy nie stwierdzono mieszanych zakażeń i zarażeń.

W grupie drugiej obecność materiału genetycznego *Theileria equi* wykazano w organizmach 14 koni, *Anaplasma phagocytophilum* u 2 osobników, zaś *Borrelia burgdorferi* w płynie stawowym 11 koni.



**Ryc. 1.** Obecność moruli *Anaplasma phagocytophilum* w granulocycie obojętnochłonnym (barwienie metodą Giemsy)



W 7 przypadkach zanotowano infekcje mieszane na tle *Theileria/Borrelia*.

### Występowanie chorób odkleszczowych u koni ze wschodnich terenów Polski

W badaniach własnych przeprowadzono monitoring molekularny piroplazmozy, anaplazmozy granulocytarnej oraz boreliozy u koni pochodzących ze wschodnich rejonów Polski i zdradzających objawy kliniczne nasuwające podejrzenie wymienionych chorób odkleszczowych.

Ogółem spośród przebadanych 402 koni obecność materiału genetycznego *Theileria equi* stwierdzono u 37 osobników (9,2%), zaś *Anaplasma phagocytophilum* u 9 (2,24%). Materiał genetyczny *Borrelia burgdorferi* wykazano u 11 spośród 192 przebadanych w tym kierunku zwierząt (5,73%).

Porównując częstotliwość występowania badanych chorób u koni polskich oraz pochodzących z innych rejonów Europy, można pokusić się o stwierdzenie, iż nasz kraj nie jest obszarem, na którym ryzyko ich wystąpienia jest wysokie. Badania własne prowadzone na populacji koniowatych w Hiszpanii, gdzie piroplazmoza jest chorobą występującą powszechnie, wykazały obecność materiału genetycznego *T. equi* aż u 20% zwierząt niezdradzających żadnych objawów klinicznych, co świadczy o stałym utrzymywaniu się babeszjozy/teileriozy koni na tym terenie (70). Potwierdzeniem tego są wyniki badań serologicznych, które wykazały obecność swoistych dla pierwotniaków przeciwciał w ponad 58% stadnin koni zlokalizowanych na obszarze południowej Hiszpanii (71). Nieco mniejszy odsetek koni posiadających przeciwciała dla piroplazm (34,6%) notowano w Turcji, w rejonie basenu Morza Czarnego (72). Natomiast stosunkowo wysoką seroprevalencję notowano wśród koni w stadninach zlokalizowanych na Węgrzech, gdzie obecność przeciwciał swoistych dla pierwotniaków wykazano u zwierząt pochodzących z 17 spośród przebadanych 27 gospodarstw (67,9%; 73).

W północnej części Włoch odsetek koni posiadających swoiste przeciwciała dla *T. equi* oraz *B. caballi* wyniósł 8,5%. We krwi 33% dodatnich seroreagentów metodą PCR wykazano obecność materiału genetycznego piroplazm, co również jest potwierdzeniem znacznej częstotliwości występowania zarażeń pierwotniaczych na tym terenie (74).

Spółród trzech chorób objętych w badaniach własnych monitoringiem, anaplazmoza granulocytarna diagnozowana była najrzadziej, bo tylko u 9 koni. Potwierdza to fakt, że rejon centralnej i wschodniej Europy nie są miejscem endemicznego występowania choroby, której przypadki

notuje się tu raczej sporadycznie. Podobne obserwacje w Czechach poczynili Jahn i wsp. (75), którzy w latach 2002–2008 zdiagnozowali zaledwie 12 przypadków anaplazmozy granulocytarnej u koni oraz postawili podejrzenie choroby u kolejnych pięciu.

Również we Francji częstotliwość kontaktu z riketsjami jest niższa niż np. z piroplazmami. Jak wynika z badań Leblond i wsp. (76), odsetek koni, w których badaniami serologicznymi wykazano swoiste dla *A. phagocytophilum* przeciwciała wyniósł 11,3%, podczas gdy odsetek koni z przeciwciałami przeciwko *T. equi* 64,4%, a dla *B. caballi* 19,7%.

W dostępnym piśmiennictwie brak danych dotyczących monitoringu boreliozy u koni w Europie prowadzonego metodami biologii molekularnej. Łańcuchowa reakcja polimerazy i ewentualne sekwencjonowanie produktów amplifikacji wykorzystywane były w diagnostyce pojedynczych przypadków choroby z Lyme i identyfikacji jej czynnika etiologicznego (77, 78, 79). Natomiast stopień niebezpieczeństwa występowania boreliozy u koni na danym terenie oceniany jest najczęściej na podstawie wyników przesiewowych badań serologicznych. We Włoszech odsetek zdrowych koni wykazujących przeciwciała swoiste dla krętków wynosi 24,3 (80), w Danii 29 (81), natomiast w Turcji zaledwie 6 (82). Monitoring serologiczny prowadzony w populacji koni w Polsce wykazał obecność swoistych przeciwciał dla *B. burgdorferi* sensu lato u 25,6% badanych osobników (61). Zaznaczyć należy, że cytowane badania prowadzone były za pomocą różnych testów serologicznych, w których nie wykorzystywano wystandaryzowanych antygenów (były to pełne komórki lub wyizolowane białka bakterii), co niewątpliwie nie pozostało bez wpływu na uzyskane wyniki.

W badaniach własnych w 7 przypadkach notowano mieszane zakażenia na tle *Theileria/Borrelia*. Jednoczesne stwierdzenie dwóch patogenów w organizmie konia nie jest niczym zaskakującym. Zarówno borelioza, jak i piroplazmoza mogą być przenoszone przez te same gatunki kleszczy *Dermacentor* oraz *Rhipicephalus* (83, 84, 85), dlatego możliwość wystąpienia zakażeń mieszanych powinna być zawsze brana pod uwagę przy podejrzeniu chorób odkleszczowych. Właściwe rozpoznanie wszystkich czynników chorobotwórczych jest też kluczem do sukcesu terapeutycznego. Należy pamiętać, że w przypadku niepełnej diagnostyki leczenia może okazać się nieskuteczne.

Jak wynika z przedstawionych danych, problem chorób odkleszczowych u koni w Polsce narasta. Chociaż nie jest on tak duży, jak w innych częściach Europy, należy

się liczyć z faktem, iż w związku ze zmieniającymi się warunkami klimatycznymi przypadków piroplazmozy, anaplazmozy granulocytarnej oraz boreliozy z roku na rok będzie przybywać.

### Piśmiennictwo

1. Sréter T., Széll Z., Varga I.: Spatial distribution of *Dermacentor reticulatus* and *Ixodes ricinus* in Hungary: evidence for change? *Vet. Parasitol.* 2005, **128**, 347–351.
2. Dautel H., Dippel C., Oehme R., Hartelt K., Schettler E.: Evidence for an increased geographical distribution of *Dermacentor reticulatus* in Germany and detection of *Rickettsia* sp RpA4. *Int. J. Med. Microbiol.* 2006, **296**, 149–156.
3. Mehlhorn H., Schein E.: Redescription of *Babesia equi* Laveran, 1901 as *Theileria equi*. *Parasitol. Res.* 1998, **84**, 467–475.
4. Gundlach L.J., Sadtzikowski A.B., Studzińska M.B.: Inwazje pierwotniaków u koni. *Ann. UMCS sec. DD.* 2006, **61**, 31–44.
5. Uilenberg G.: *Babesia* – a historical overview. *Vet. Parasitol.* 2006, **138**, 3–10.
6. Adaszek Ł., Winiarczyk S., Górna M.: Od piroplazmozy do babeszjozy – problemy w klasyfikacji pierwotniaków z rodzaju *Babesia*. *Wiad. Parazytol.* 2010, **56**, 111–115.
7. Adaszek Ł., Winiarczyk S.: Przypadek babeszjozy konia. *Med. Weter.* 2008, **64**, 1317–1320.
8. Rampersad J., Cesar E., Campbell M.D., Samlal M., Ammons D.: A field evaluation of PCR for the routine detection of *Babesia equi* in horses. *Vet. Parasitol.* 2003, **114**, 81–87.
9. Battsetseg B., Lucero S., Xuan X., Claveria F.G., Inoue N., Alhassan A., Kanno T., Igarashi I., Nagasawa H., Mikami T., Fujisaki K.: Detection of natural infection of *Boophilus microplus* with *Babesia equi* and *Babesia caballi* in Brazilian horses using nested polymerase chain reaction. *Vet. Parasitol.* 2002, **107**, 351–357.
10. Rashid A., Mubarak A., Hussain A.: Babesiosis in equines in Pakistan: a clinical report. *Vet. Ital.* 2009, **45**, 391–395.
11. Criado A., Martinez J., Buling A., Barba J.C., Merino S., Jefferies R., Irwin P.J.: New data on epizootiology and genetics of piroplasmids based on sequences of small ribosomal subunit and cytochrome b genes. *Vet. Parasitol.* 2006, **142**, 238–247.
12. Karamon J., Sroka J., Cencek T., Zdybel J.: Piroplazmoza koni. *Życie Wet.* 2010, **86**, 977–980.
13. Dumler J.S., Barbet A.F., Bekker C.P., Dasch G.A., Palmer G.H., Ray S.C., Rikihisa Y., Rurangirwa F.R.: Reorganization of genera in the families Rickettsiaceae and Anaplasmataceae in the order Rickettsiales: unification of some species of Ehrlichia with Anaplasma, Cowdria with Ehrlichia and Ehrlichia with Neorickettsia, descriptions of six new species combinations and designation of Ehrlichia equi and "HGE agent" as subjective synonyms of Ehrlichia phagocytophila. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2001, **51**, 2145–2165.
14. Dumler J.S., Asanovich K.M., Bakken J.S., Richter P., Kimsey R., Madigan J.E.: Serologic cross-reactions among Ehrlichia equi, Ehrlichia phagocytophila and human granulocytic Ehrlichia. *J. Clin. Microbiol.* 1995, **33**, 1098–1103.
15. Madigan J.E., Pusterla N.: Ehrlichial diseases. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.* 2000, **16**, 487–499.
16. Björnsdóttir A., Bagert B., Massung R.F., Gusa A., Eliasson I.: Isolation and characterization of two European strains of Ehrlichia phagocytophila of equine origin. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 2002, **9**, 341–343.
17. Barlough J. E., Madigan J. E., Turoff D. R., Clover J. R., Shelly S. M., Dumler J. S.: An Ehrlichia strain from a llama (*Lama glama*) and llama-associated ticks (*Ixodes pacificus*). *J. Clin. Microbiol.* 1997, **35**, 1005–1007.
18. Björnsdóttir A., Svendenius L., Owens J. H., Massung R. F.: Feline granulocytic ehrlichiosis – a report of a new clinical entity and characterization of the infectious agent. *J. Small Anim. Pract.* 1999, **40**, 20–24.
19. Pusterla N., Chang C.C., Chomel B. B., Chae J. S., Foley J. E., DeRock E., Kramer H., Lutz V.L., Madigan J.E.: Serologic and molecular evidence of Ehrlichia sp. in coyotes in California. *J. Wildl. Dis.* 2000, **36**, 494–499.
20. Pusterla N., Huder J., Feige K., Lutz H.: Identification of granulocytic Ehrlichia strain isolated from a horse in Switzerland and comparison with other rickettsiae. *J. Clin. Microbiol.* 1998, **36**, 2035–2037.
21. Pusterla N., Huder J.B., Leutenegger M.C., Braun, U., Madigan, J.E., Lutz, H.: Quantitative real-time PCR for

- detection of members of the Ehrlichia phagocytophila genogroup in host animals and Ixodes ricinus ticks. *J. Clin. Microbiol.* 1999, **37**, 1329-1331.
22. Weber R., Pusterla N., Loy M., Leutenegger C.M., Schar G., Baumann D., Wolfensberger C., Lutz H. E.: Serologic and clinical evidence for endemic occurrences of human granulocytic ehrlichiosis in north-eastern Switzerland. *Schweiz. Med. Wochenschr.* 2000, **130**, 1462-1470.
  23. Skotarczak B., Adamska M., Supron M.: Blood DNA analysis for Ehrlichia (Anaplasma) phagocytophila and Babesia spp. of dogs from northern Poland. *Ac. Vet. Brno. Zycie Wet.* 2008, **83**, 827-831.
  24. Łukaszewska J., Adaszek Ł., Winiarczyk S.: Obraz krwi w przebiegu anaplazmozy granulocytarnej u psów i koni. *Życie Wet.* 2008, **83**, 827-831.
  25. Adaszek Ł., Policht K., Górna M., Kutrzuba J., Winiarczyk S.: Pierwszy w Polsce przypadek anaplazmozy (erlichiozy) granulocytarnej u kota. *Życie Wet.* 2011, **86**, 132-135.
  26. Adaszek Ł., Górna M., Skrzypczak M., Buczek K., Balicki I., Winiarczyk S.: Three clinical cases of Anaplasma phagocytophilum infection in cats in Poland. *J. Feline Med. Surg.* 2012 w druku.
  27. Adaszek Ł., Winiarczyk S., Łukaszewska J.: A first case of ehrlichiosis in a horse in Poland. *Dtsch. Tierarztl. Wchschr.* 2009, **116**, 330-334.
  28. Adaszek Ł., Winiarczyk S.: Identification of Anaplasma spp. Rickettsia isolated from horses from clinical disease cases in Poland. *Zoonoses Public Health.* 2011, **58**, 514-518.
  29. Adaszek Ł., Klimiuk P., Skrzypczak M., Górna M., Ziętek J., Winiarczyk S.: The identification of Anaplasma spp. isolated from fallow deer (Dama dama) on a free-range farm in eastern Poland. *Pol. J. Vet. Sci.* 2012, **15**, 393-394.
  30. Winiarczyk S., Adaszek Ł., Štefančíková A., Pet'ko B., Cislakova L., Puchalski A.: Serological investigations for borreliosis and ehrlichiosis in pig and cattle populations in the Lublin voivodship. *Med. Weter.* 2007, **63**, 561-565.
  31. Adaszek Ł., Winiarczyk S.: Epizootical situation of dogs ehrlichiosis in area of Lubelskie voivodship. *Ann. UMCS sec. DD.* 2007, **62**, 65-71.
  32. Tylewska-Wierzbanowska S., Chmielewski T., Kondrusik M., Hermanowska-Szpakowicz T., Sulek K.: First cases of acute human granulocytic ehrlichiosis in Poland. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2001, **20**, 196-198.
  33. Inokuma H., Raoult D., Brouqui P.: Detection of Ehrlichia platys DNA in brown dog tick (Rhipicephalus sanguineus) in Okinawa island, Japan. *J. Clin. Microbiol.* 2000, **38**, 4219-4221.
  34. Cisak E., Chmielewska-Badora J., Zwoliński J., Wójcik-Fatała A., Polak J., Dutkiewicz J.: Risk of tick-borne bacterial diseases among workers of Roztocze National Park (south-western Poland). *Ann. Agric. Environ. Med.* 2005, **12**, 127-132.
  35. Zygnier W., Jaros S., Wędrychowicz H.: Prevalence of Babesia canis, Borrelia afzelii, and Anaplasma phagocytophilum infection in hard ticks removed from dogs in Warsaw (central Poland). *Vet. Parasitol.* 2008, **153**, 139-142.
  36. Reubel G., Kimsley R., Barlough J., Madigan J.: Experimental transmission of Ehrlichia equi to horses through naturally infected ticks (Ixodes pacificus) from northern California. *J. Clin. Microbiol.* 1998, **36**, 2131-2134.
  37. Goodman R., Hawkins E., Olby N., Grindem C., Hegarty B., Breitschwerdt E.: Molecular identification of Ehrlichia ewingii infection in dogs: 15 cases (1997-2001). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 2003, **222**, 1102-1107.
  38. Lotric-Furlan S., Avsic-Zupanc T., Petrovec M., Nicholson W.L., Sumner J.W., Childs J.E., Strle E.: Clinical and serological follow-up of patients with human granulocytic ehrlichiosis in Slovenia. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 2001, **8**, 899-903.
  39. Madigan J.E., Barlough J.E., Dumler J.S., Schankman N.S., DeRock E.: Equine granulocytic ehrlichiosis in Connecticut caused by an agent resembling the human granulocytotropic ehrlichia. *J. Clin. Microbiol.* 1996, **34**, 434-435.
  40. Madigan J., Gribble D.: Equine ehrlichiosis in northern California: 49 cases (1968-1981). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1987, **15**, 445-448.
  41. Lepidi H., Bunnell J.E., Martin M.E., Madigan J.E., Stuenkel S., Dumler J.S.: Comparative pathology and immunohistology associated with clinical illness after Ehrlichia phagocytophila-group infections. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2000, **62**, 29-37.
  42. Amusatgui I., Sainz A., Tesouro M.A.: Serological evaluation of Anaplasma phagocytophilum infection in livestock in northwestern Spain. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2006, **1078**, 487-490.
  43. Alberti A., Sparagano O.A.: Molecular diagnosis of granulocytic anaplasmosis and infectious cyclic thrombocytopenia by PCR-RFLP. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2006, **1081**, 371-378.
  44. Sells D.M., Hildebrandt P.K., Lewis G.E., Nyindo M.B., Ristic M.: Ultrastructural observations on Ehrlichia equi organisms in equine granulocytes. *Infect. Immun.* 1976, **13**, 273.
  45. Adaszek Ł., Łukaszewska J., Górna M., Garbal M., Winiarczyk S.: Anaplazmoza granulocytarnej koni. *Wet. w praktyce.* 2010, **3**, 84-87.
  46. Mghirbi Y., Yaich H., Ghorbel A., Bouattour A.: Anaplasma phagocytophilum in horses and ticks in Tunisia. *Parasit Vectors.* 2012, **5**, 180.
  47. Post J.E.: Lyme disease in large animals. *N. J. Med.* 1990, **87**, 575-577.
  48. Hovmark A., Åsbrink E., Schwan O., Hederstedt B., Christensen D.: Antibodies to Borrelia spirochetes in sera from Swedish cattle and sheep. *Ac. Vet. Scand.* 1986, **27**, 479-485.
  49. Eng T.R., Wilson M.L., Spielman A., Lastovica C.C.: Greater risk of Borrelia burgdorferi infection in dogs than in people. *J. Infect. Dis.* 1988, **158**, 1410-411.
  50. Isogai E., Isogai H., Masuzawa T., Yanagihara Y., Sato N., Hayash S., Maki T., Moci M.: Serological survey for Lyme disease in sika deer (Cervus nippon yesoensis) by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Microbiol. Immunol.* 1991, **35**, 695-703.
  51. Isogai H., Isogai E., Masuzawa T., Yanagihara Y., Matsubara M., Shimanuki M., Seta T., Fukai K., Kurosawa N., Enokidani M., Nakamura T., Tajima M., Takahashi K., Fujii N.: Seroepidemiological survey for antibody to Borrelia burgdorferi in cows. *Microbiol. Immunol.* 1992, **36**, 1023-1030.
  52. Cohen D., Heck F.C., Heim B.: Seroprevalence of antibodies to Borrelia burgdorferi in a population of horses in central Texas. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1992, **201**, 1030-1034.
  53. Burgess E.C., Wachal M.D., Cleven T.D.: Borrelia burgdorferi infection in dairy cows, rodents and birds from four Wisconsin dairy farms. *Vet. Microbiol.* 1993, **35**, 61-77.
  54. Trávníček M., Štefančíková A., Nadzamová D., Stanko M., Cisláková I., Peško B., Mardzinová S.: Serological evidence of IgG antibodies to Borrelia burgdorferi in game animals and small mammals in Eastern Slovakia. *Rev. Sci. Tech. Off Int. Epiz.* 2003, **22**, 1035-1041.
  55. Madigan J.E.: Lyme disease (Lyme borreliosis) in horses. *Equine Pract.* 1993, **9**, 429-434.
  56. Magnarelli L.A., Anderson J.F., Shaw E., Post J.E., Palka F.C.: Borreliosis in equids in northeastern United States. *Am. J. Vet. Res.* 1988, **49**, 359-362.
  57. Post J.E., Shaw E.E., Wright S.: Suspected borreliosis in cattle. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1986, **539**, 488.
  58. Burgess E.C., Gillette D., Pickett J.P.: Arthritis and panuveitis as manifestations of Borrelia burgdorferi infection in a Wisconsin pony. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1986, **189**, 1340-1342.
  59. Burgess E.C., Gendron-Fitzpatrick A., Wright W.O.: Arthritis and systemic disease caused by Borrelia burgdorferi infection in a cow. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1987, **191**, 1468-1470.
  60. Parker J.L., White K.K.: Lyme borreliosis in cattle and horses: a review of the literature. *Cornell Vet.* 1992, **82**, 253-274.
  61. Štefančíková A., Adaszek Ł., Peško B., Winiarczyk S., Duďniak V.: Serological and immunochemical evidence of Borrelia burgdorferi sensu lato in horses and cattle from Poland and diagnostic problems of Lyme borreliosis. *Ann. Agric. Environ. Med.* 2008, **15**, 37-43.
  62. Adaszek Ł., Kotowicz W., Górna M., Kutrzuba J., Winiarczyk S.: Przypadki boreliozy u koni. *Życie Wet.* 2011, **86**, 53-56.
  63. Adaszek Ł., Winiarczyk S., Kutrzuba J., Puchalski A., Dębiak P.: Borelioza psów na terenie województwa lubelskiego. *Życie Wet.* 2008, **83**, 311-314.
  64. Adaszek Ł., Winiarczyk S., Puchalski A.: The serological investigations towards borreliosis in populations of dogs in Lubelskie voivodship. *Ann. UMCS sec. DD.* 2008, **63**, 1-7.
  65. Adaszek Ł., Winiarczyk S., Puchalski A., Garbal M., Górna M.: The diagnose of Borrelia afzelii infections in dogs. *Ann. UMCS sec. DD.* 2009, **64**, 15-21.
  66. Adaszek Ł., Kalinowski M., Kutrzuba J., Ziętek J., Winiarczyk S.: Trudności w diagnostyce boreliozy psów. *Życie Wet.* 2010, **85**, 414-418.
  67. Adaszek Ł., Winiarczyk S., Puchalski A., Skrzypczak M.: First cases of dog borreliosis in eastern Poland. *Vet. Med. Zoot.* 2010, **50**, 102-104.
  68. Adaszek Ł., Górna M., Krzysiak M., Adaszek M., Garbal M., Winiarczyk S.: Identification of the piroplasmis isolated from horses with clinical piroplasmosis in Poland. *Wiad. Parazytol.* 2011, **57**, 21-26.
  69. Skotarczak B.: Isolation of Borrelia burgdorferi sensu lato in ticks Ixodes ricinus by polymerase chain reaction (PCR). *Wiad. Parazytol.* 2000, **46**, 93-99.
  70. Adaszek Ł., García-Bocanegra I., Arenas-Montes A., Carbonero A., Arenas A., Winiarczyk S.: Identification of piroplasmis isolated from asymptomatic equine species from southern Spain. *Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr.* 2012, **125**, 509-512.
  71. García-Bocanegra I., Arenas-Montes A., Hernández E., Adaszek Ł., Carbonero A., Almería S., Jaén-Téllez J.A., Gutiérrez-Palomino P., Arenas A.: Seroprevalence and risk factors associated with Babesia caballi and Theileria equi infection in equids. *Vet. J.* 2012 w druku.
  72. Acici M., Umur S., Güvenc T., Arslan H.H., Kurt M.: Seroprevalence of equine babesiosis in the Black Sea region of Turkey. *Parasitol. Int.* 2008, **57**, 198-200.
  73. Farkas R., Tánzos B., Gyurkovszky M., Földvári G., Solyósi N., Edelhofer R., Hornok S.: Serological and molecular detection of Theileria equi infection in horses in Hungary. *Vet. Parasitol.* 2012 w druku.
  74. Grandi G., Molinari G., Tittarelli M., Sasseria D., Kramer L.H.: Prevalence of Theileria equi and Babesia caballi infection in horses from northern Italy. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2011, **11**, 955-956.
  75. Jahn P., Zeman P., Bezdekova B., Praskova I.: Equine granulocytic anaplasmosis in the Czech Republic. *Vet. Rec.* 2010, **166**, 646-649.
  76. Leblond A., Pradier S., Pitel P.H., Fortier G., Boireau P., Chadoeuf J., Sabatier P.: An epidemiological survey of equine anaplasmosis (Anaplasma phagocytophilum) in southern France. *Rev. Sci. Tech.* 2005, **24**, 899-908.
  77. Hulínska D., Votýpka J., Plch J., Vleck E., Valesová M., Bojar M., Hulínský V., Smetana K.: Molecular and microscopic evidence of Ehrlichia spp. and Borrelia burgdorferi sensu lato in patients, animals and ticks in the Czech Republic. *New Microbiol.* 2002, **25**, 437-448.
  78. James F.M., Engiles J.B., Beech J.: Meningitis, cranial neuritis, and radiculoneuritis associated with Borrelia burgdorferi infection in a horse. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 2010, **237**, 1180-1185.
  79. Sears K.P., Divers T.J., Neff R.T., Miller W.H. Jr, McDonough S.P.: A case of Borrelia-associated cutaneous pseudolymphoma in a horse. *Vet. Dermatol.* 2012, **23**, 153-156.
  80. Ebani V.V., Bertelloni F., Pinzauti P., Cerri D.: Seroprevalence of Leptospira spp. and Borrelia burgdorferi sensu lato in Italian horses. *Ann. Agric. Environ. Med.* 2012, **19**, 237-240.
  81. Hansen M.G., Christoffersen M., Thuesen L.R., Petersen M.R., Bojesen A.M.: Seroprevalence of Borrelia burgdorferi sensu lato and Anaplasma phagocytophilum in Danish horses. *Ac. Vet. Scand.* 2010, **52**, 3.
  82. Bhide M., Yilmaz Z., Golcu E., Torun S., Mikula I.: Seroprevalence of anti-Borrelia burgdorferi antibodies in dogs and horses in Turkey. *Ann. Agric. Environ. Med.* 2008, **15**, 85-90.
  83. Baptista S., Quaresma A., Aires T., Kurtenbach K., Santos-Reis M., Nicholson M., Collares-Pereira M.: Lyme borreliosis spirochetes in questing ticks from mainland Portugal. *Int. J. Med. Microbiol.* 2004, **293**, 109-116.
  84. Nijhof A.M., Bodaan C., Postigo M., Nieuwenhuijs H., Opsteegh M., Franssen L., Jebbink E., Jongejan E.: Ticks and associated pathogens collected from domestic animals in the Netherlands. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2007, **7**, 585-595.
  85. Kerber C.E., Labruna M.B., Ferreira F., De Waal D.T., Knowles D.P., Gennari S.M.: Prevalence of equine Piroplasmosis and its association with tick infestation in the State of São Paulo, Brazil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* 2009, **18**, 1-8.

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