

# Babeszjoza — nowe wyzwanie w transfuzjologii?

## Babesiosis — a new challenge in transfusion medicine?

Joanna Szymczak, Adrian Syta, Katarzyna Tołkacz, Małgorzata Bednarska,  
 Maria Doligalska

Zakład Parazytologii, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski

### Streszczenie

Zarażenie pierwotniakiem *Babesia microti* jest przyczyną babeszjozy — choroby człowieka przenoszonej przez kleszcze. Od niedawna choroba ta pojawia się poza obszarami endemicznymi, gdzie jedną z przyczyn jej rozprzestrzeniania się są transfuzje krwi i przeszczepy narządów w warunkach terapeutycznej immunosupresji. W takich okolicznościach utajona choroba rozwija się w ostrą, zagrażającą życiu postać. Niestety obecnie dostępne leki stosowane przeciw pierwotniakom malarii nie są skuteczne przeciw piroplazmom. Zapewne wynika to z różnych strategii rozwoju tych pasożytów w erytrocycie. W celu ustalenia nowych terapii bada się leki, które hamują podziały pierwotniaków lub uszkodzają ich kwasy nukleinowe. Aby obniżyć ryzyko przenoszenia pasożytów z rodzaju *Babesia* z krwią, opracowano technologie inaktywacji pasożytów, zmniejszające ich żywotność i zakaźność. Choroba z postaci ostrej przechodzi w przewlekłą, podlegającą nawrotowi, dlatego też istnieje potrzeba zidentyfikowania mechanizmu, który jest odpowiedzialny za wznowienie babeszjozy po immunoterapii, w której limfocyty z funkcjami regulacyjnymi odgrywają kluczową rolę.

**Słowa kluczowe:** *Babesia microti*, transfuzja krwi, wznowienie zarażenia, immunosupresja

*J. Transf. Med.* 2017; 10: 90–98

### Abstract

*Babesiosis is a tick-transmitted human blood disease caused by protozoan parasite Babesia microti. Recently, an increasing incidence of babesiosis has been observed outside endemic areas. The source of a growing number of human infections are blood transfusions and organ transplantations in the condition of therapeutic immunosuppression. Under such circumstances, a latent babesiosis may develop into acute blood-stage disease accompanied by severe complications and often fatal outcome. Unfortunately, currently available antimalarial drugs are not effective against piroplasms. This may be due to different developmental strategies used by both parasites inside infected erythrocytes. To establish new therapies, drugs that inhibit protozoa divisions or damage nucleic acids are searched. To prevent Babesia transmission through blood transfusion, parasite-inactivation technologies, which weaken protozoa viability and reduce its infectivity, are used to purify blood. Additionally, there is a need to identify the mechanism that is responsible for babesiosis relapse upon immunotherapy, in which lymphocytes with regulatory functions play a key role.*

**Key words:** *Babesia microti*, blood transfusion, infection relapse, immunosuppression

*J. Transf. Med.* 2017; 10: 90–98

**Adres do korespondencji:** prof. dr hab. Maria Doligalska, Zakład Parazytologii, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski, ul. Miecznikowa 1, 02–096 Warszawa, tel.: 22 55 41 115, e-mail: m.doligalska@biol.uw.edu.pl

## Babeszjoza odkleszczowa

*Babesia microti* to pierwotniak z grupy piroplazm małych, który jest chorobotwórczy dla człowieka. W taksonomii jest zaliczany do typu Apicomplexa (Sporowców), gromady *Piroplasmea*. Gatunek jest kosmopolityczny i zwykle jest stwierdzany sporadycznie, ale częściej na obszarach endemicznych w zależności od obszaru geograficznego [1]. W środowisku naturalnym rezerwuar zoonotyczny stanowią gryznie oraz zwierzęta dziko żyjące i domowe [2]. Zasięg geograficzny babeszjozy jest skorelowany z występowaniem żywiciela ostatecznego — wektora, którym są kleszcze właściwe (*Ixodidae*). Transmisja piroplazm z udziałem wektora jest najczęściej rozpoznawana. Rzadziej odnotowuje się przypadki babeszjozy wrodzonej oraz po transfuzji krwi i po podaniu produktów krwiopochodnych lub po przeszczepieniu narządu od zarażonego, bezobjawowego dawcy [3]. Babeszjoza stanowi zagrożenie szczególnie dla pacjentów z wrodzonymi i nabytymi niedoborami odporności oraz dla osób asplenicznych [4]. W tej grupie pacjentów, mimo podjętego leczenia, ostra niedokrwistość hemolityczna, niewydolność nerek i wątroby może prowadzić do zgonu [5, 6].

Sytuacja epidemiologiczna babeszjozy na świecie jest zróżnicowana. Liczba opisywanych przypadków zachorowań na babeszjozę stale rośnie [3, 7–10]. Najwięcej przypadków odnotowuje się na obszarze Stanów Zjednoczonych oraz Europy. W samym stanie Nowy York w latach 1968–1993 stwierdzono ponad 450 przypadków babeszjozy [11–13]. W całych Stanach Zjednoczonych w latach 2011–2014 zarejestrowano 5542 nowych zachorowań na babeszjozę, również na terenach pierwotnie uznawanych za niezagrażone tą chorobą [14, 15], głównie w okresie od maja do października, czyli w okresie wzmożonej aktywności kleszczy [16]. W związku z rosnącą zachorowalnością na babeszjozę od 2011 roku wprowadzono obowiązek zgłaszania każdego podejrzanego przypadku u człowieka. Na terenach występowania malarii babeszjoza jest rzadko notowana, jednak wyniki badań przeprowadzonych w Chinach wskazują, że występuje znacznie częściej niż do niedawna sądzono. W latach 2011–2012 wykryto 8 przypadków zarażenia *B. microti* oraz dwa przypadki koinwazji: *B. microti*/*Plasmodium falciparum* czy *B. microti*/*Plasmodium vivax* [17].

W Europie nie stwierdzono dotychczas gwałtownego wzrostu liczby zachorowań na babeszjozę. Na Starym Kontynencie czynnikiem etiologicznym babeszjozy jest najczęściej *B. divergens* [5].

W piśmiennictwie można znaleźć opisy około 50 przypadków potwierdzonej babeszjozy, które wystąpiły w krajach europejskich, głównie wśród pacjentów po splenektomii lub u osób z obniżoną odpornością [16–19]. Do 2003 roku w Europie opisano 31 przypadków (w tym 9 śmiertelnych) babeszjozy spowodowanej przez *B. divergens* u osób asplenicznych, większość w okresie między majem a sierpniem [20]. Większość przypadków europejskich odnotowano we Francji [21], na Wyspach Brytyjskich [22], a także w Niemczech [23], Hiszpanii, Szwecji, Finlandii, Szwajcarii, Belgii, Polsce, byłej Jugosławii i innych krajach w okresie od maja do września [5, 24]. Około 50% przypadków babeszjozy zarejestrowanych na terenie Europy zakończyło się zgonem pacjenta [25]. Wydaje się, że skala problemu jest zdecydowanie większa, a choroba nie jest diagnozowana we wszystkich przypadkach.

Kleszcz pospolity *Ixodes ricinus* jest wektorem trzech patogennych dla człowieka gatunków *Babesia*: *B. divergens*, *B. microti* i *B. venatorum* [26]. W naszym kraju choroba ta nie występuje endemicznie, ale istnieją badania, które potwierdzają występowanie *B. microti* u kleszczy z gatunku *Ixodes ricinus* na terenie całej Polski. Prewalencja, czyli częstość zarażenia kleszczy, jest zazwyczaj niska i wynosi 1–12% [27–30]. Najliczniejsze skupiska zarażonych kleszczy zanotowano na Wyżynie Lubelskiej [31] oraz na Górnym Śląsku, gdzie prewalencja *B. microti* wyniosła nawet 50,87% [32]. W Polsce opisano dotychczas jeden przypadek objawowej babeszjozy *B. microti* zawleczonej z Brazylii [33] oraz bezobjawowe zarażenie *B. microti*, wykryte podczas diagnozowania innych chorób odkleszczowych [34]. Badania molekularne przeprowadzone wśród leśników na terenach endemicznych wykazały prewalencję *B. microti* od 3,4 do 23,1% [35, 36].

## Babeszjoza potransfuzyjna

Stan wiedzy na temat babeszjozy szerzącej się drogą pozawektorową, przez krew i preparaty krwiopochodne jest nadal niewystarczający. Zdolność piroplazm do przeżycia w erytrocytach poza organizmem żywiciela, *in vitro*, jest bardzo duża. W badaniach przeprowadzonych w próbkach zawierających antykoagulant (EDTA) wykazano, że pierwotniaki *B. microti* przeżywały co najmniej przez 21 dni w temperaturze 4°C [37, 38]. *Babesia* pozostaje żywotna także w preparatach krwi, które były poddane procesowi kriokonserwacji i napromieniowania [39].

W warunkach doświadczalnych podanie tylko 30 zarażonych krwinek wywołało objawy zarażenia u 40% zdrowych chomików, a dawka 10-krotnie większa spowodowała 100% zarażenie zwierząt [6]. Dla pacjentów z obniżoną aktywnością układu odpornościowego jeszcze mniejsza liczba zarażonych erytrocytów może wywołać babeszjozę [40]. U takich osób obserwowano wyjątkowo ciężką postać choroby, oporną na standardową chemioterapię, zwykle kończącą się śmiercią [20]. Liczba przypadków potransfuzyjnej babeszjozy nieustannie się zwiększa [41]. W latach 1979–2009 opisano 159 przypadków potransfuzyjnej babeszjozy; większość z nich miała miejsce w latach 2000–2009 [3]. W latach 2005–2008 w Stanach Zjednoczonych zarejestrowano 12 przypadków babeszjozy transfuzyjnej zakończonych zgonem [6, 42]. Dwóch pacjentów zachorowało na babeszjozę po przeszczepieniu nerki (Stany Zjednoczone) [43]. Do 2015 roku w samych Stanach Zjednoczonych opisano ponad 160 przypadków potransfuzyjnej babeszjozy [44, 45]. Seroprewalencja wśród badanych dawców krwi w Stanach Zjednoczonych wynosiła 1,1–4,3% [42, 46–49]. Wraz z rosnącą liczbą przypadków wzrasta zainteresowanie babeszjozą również w Europie. Seroprewalencja wśród dawców krwi na terenie Niemiec wyniosła 3,6–8% [50, 51]. Podobne badania przeprowadzone w Szwajcarii wykazały seroprewalencję *B. microti* u dawców krwi na poziomie 1,5% [52]. Stosunkowo niewielka liczba badań przeprowadzona w Europie dostarcza jednak dane o rodzimych zarażeniach *B. microti*. Należy przypuszczać, że w przyszłości może dojść do rozszerzenia się zasięgu babeszjozy, co będzie stanowić zagrożenie dla zdrowia publicznego [53]. U osób, u których rozwinęła się babeszjoza po transfuzji, najczęściej pojawia się jej ciężka postać, gdyż ich układ odpornościowy jest osłabiony dodatkowo przyjmowanymi lekami bądź chorobami towarzyszącymi. Z tego względu osoby po przebytej babeszjozie są dożywno dyskwalifikowane jako dawcy krwi [54].

### Biologia zarażenia *Babesia microti*

Kleszcze zarażają człowieka formą sporozoiotu, natomiast merozoity są wprowadzane do krwi podczas transfuzji krwi pobranej od nosiciela [55]. W układzie pokarmowym kleszcza pierwotniak odbywa rozwój płciowy, w wyniku którego pojawiają się sporozoioty. Podczas żerowania kleszcza formy te wraz z wydzieliną gruczołów ślinowych przedostają się do skóry człowieka. Sporozoioty wnikają aktyw-

nie do komórek żywiciela za pomocą kompleksu apikalnego, zorganizowanego zespołu organelli położonych na przednim biegunie komórki. W erytrocytach pierwotniak osiąga postać troficzną, a następnie dzieli się dwukrotnie. W wyniku tych podziałów powstają gruszkowkształtne merozoity o wymiarach 1,0–2,5  $\mu\text{m}$  [5], ułożone według wzoru krzyża maltańskiego. Uwolnienie pasożytów następuje po rozpadzie błony komórkowej erytrocytu. Merozoity potomne wnikają głównie do dojrzałych erytrocytów [56]. W czasie zarażenia wraz ze wzrostem odsetka zarażonych erytrocytów zwiększa się stężenie antygenów pasożyta. Stopniowo jest wzbudzana odpowiedź obronna, redukująca poziom zarażenia, które przechodzi stopniowo z fazy ostrej w fazę schyłkową, a następnie fazę przewlekłą charakteryzującą się niskim poziomem zarażenia, poniżej 1% zarażonych erytrocytów [57]. Pasożyt pozostaje poza krążeniem, zasiedlając na przykład komórki wątroby i śledziony, płuc i innych narządów [58].

Transfuzje krwi i przeszczepy narządów oraz terapeutyczna immunosupresja stosowana w leczeniu różnych chorób coraz częściej przyczyniają się do szerzenia się babeszjozy z pominięciem płciowej fazy cyklu zachodzącej w jelicie kleszcza [3]. Lokalizacja pasożyta w erytrocycie znacznie ułatwia jego transmisję tą drogą [6, 40, 55]. U osób zdrowych choroba ma najczęściej przebieg bezobjawowy. Ciężką postać kliniczną o gwałtownym przebiegu i przypadki śmiertelne obserwuje się u osób należących do grupy podwyższonego ryzyka z niedoborami odporności, osób starszych lub przyjmujących leki immunosupresyjne. U pacjentów, którzy przeszli zabieg usunięcia śledziony, zarażenie *B. microti* może być bezpośrednią przyczyną zgonu [59]. Objawy kliniczne babeszjozy występują zazwyczaj między 1. a 6. tygodniem od zarażenia. Początkowo choroba objawia się ogólnym złym samopoczuciem i zmęczeniem. Następnie pojawiają się objawy grypopodobne: wysoka gorączka, wzmożona potliwość, wymioty, bóle głowy i mięśni, utrata masy ciała, dreszcze. W miarę nasilania się objawów może dojść do powiększenia śledziony i wątroby oraz niedokrwistości hemolitycznej [16]. Niecharakterystyczne i grypopodobne objawy utrudniają zdiagnozowanie choroby [60, 61]. Najpoważniejszym powikłaniem jest rozsiane wykrzepianie wewnątrznaczyniowe [62]. Badania krwi często wskazują na zwiększoną aktywność aminotransferaz, wzrost stężenia wolnej bilirubiny, dehydrogenazy mleczanowej, a także leukopenię, małopłytkowość i niedokrwistość normocytarną [2].

Pacjenci są leczeni lekami przeciwpierwotniaczymi i przeciwbakteryjnymi. W ciężkich przypadkach przeprowadza się transfuzję wymienną krwi w celu zmniejszenia parazytemii i wymiany zarażonych erytrocytów na zdrowe [63]. Pacjenci z babeszjozą wymagają także przetaczania krwi z powodu niedokrwistości hemolitycznej w fazie ostrej zarażenia, gdy pękają zarażone erytrocyty. Babeszjoza nierzadko przechodzi w postać utajoną [6, 64]. Leczenie wieloskładnikowe nie zawsze jest skuteczne, a w przypadku ciąży czy alergii — kontrowersyjne. Stosowane związki wywołują objawy niepożądane, a wielu pacjentów wymaga ponownego leczenia. Z powodu rozwijającej się lekooporności pasożyta jest ono nieskuteczne [39]. Zarażenie przechodzące w fazę przewlekłą i utajoną po wprowadzeniu immunosupresji ulega wznowieniu i jest przyczyną szybko postępującej wyniszczającej choroby [65, 66].

Transfuzja krwi od dawców z niezdiagnozowaną babeszjozą jest szczególnie niebezpieczna dla pacjentów — biorców z niedoborami odporności/upośledzonym układem odpornościowym. Z punktu widzenia krwiodawstwa istnienie bezobjawowego i utajonego zarażenia stanowi zagrożenie dla zdrowia chorych leczonych krwią. Stanowi to istotny problem epidemiologiczny na obszarach endemicznych.

### Mechanizm działania leków

Pierwotniak w erytrocycie jest poddany wysokiej ekspozycji na tlen. W takich warunkach pasożyt jest narażony na toksyczny wpływ reaktywnych form tlenu. Wolne rodniki mogą uszkadzać lipidy błon komórkowych, kwasy nukleinowe i białka [67]. Pierwotniak wykształcił silne mechanizmy antyoksydacyjne, które ochraniają powstające formy podziałowe — merozoity [68].

W erytrocycie *B. microti* odżywia się białkami cytosolu i nie wytrąca hemozoiny odkładanej przez zarodźce malarii w postaci neutralnych chemicznie, wykrywalnych reszt hemu, ubocznego produktu trawienia hemoglobiny [69–71]. Dzięki temu trofozoity są ochraniające przed wolnymi rodnikami powstającymi w obecności jonów żelaza w reakcji Fentona czy Haber Weissa [72]. Hemozoina nie może być zatem wykorzystana jako docelowy związek generujący wolne rodniki, jak ma to miejsce w przypadku artemizyny podawanej przeciw *P. falciparum* [73]. Z tego powodu wykrycie i leczenie babeszjozy stanowi niełatwe wyzwanie dla badaczy. Sugeruje się, że każdy związek, który powoduje intensywny wzrost stężenia reaktywnych

form tlenu, może być rozpatrywany jako potencjalny lek [74, 75] przeciw babeszjozie.

Wiele leków stosowanych przeciw *B. microti* to związki przeciwmalaryczne, które ze względu na niską swoistość w stosunku do szlaków metabolicznych pierwotniaka nie są tak skuteczne jak w malarii [2, 76]. Dlatego dotychczasowe terapie często zawodzą. Stosuje się takie leki, jak: klindamycyna i chinina [77] lub zamiennie atowakwon i azytromycyna [78]. Antybiotyki hamują syntezę izoprenów w apikoplaście — organellum, które występuje także u innych Apicomplexa [79]. Leki hamują rozwój form troficznych, powodując wzrost pH w organellach komórki lub wbudowując się w strukturę DNA pasożyta [80]. W następstwie dochodzi do zahamowania transkrypcji RNA i zablokowania syntezy białek pasożyta. Hamowany jest transport elektronów w mitochondriach, obniża się synteza kwasów nukleinowych i nukleotydu adeninowego — związku przenoszącego energię — kwasu adenozyno- 5'-trójfosforowego, ATP pasożyta. Uważa się, że z powodu lokalizacji pasożyta bezpośrednio w cytosolu, a nie w wakuoli — parazytoforusie, mechanizmy neutralizujące pierwotniaka mogą być znacznie silniejsze lub oparte na innych szlakach metabolicznych niż u zarodźca malarii.

Na terenach endemicznych leczenie babeszjozy wymaga wysokiej skuteczności, między innymi z powodu możliwości wywołania lekooporności pasożyta [39]. Aby zapobiec temu zjawisku, prowadzi się badania nad potencjalnym zastosowaniem leków wykorzystywanych w terapii innych chorób. Opracowywane i syntetyzowane są różne pochodne działające jak inhibitory dwusiarczkowej reduktazy zależnej od fosforanu dinukleotydu nikotynoamidoadeninowego (NADPH) oraz cyktery wolnorodnikowe zaburzające równowagę oksydo-redukcyjną pasożyta. Mogłyby to być leki zawierające krótkie analogi chlorochiny — toksycznej dla zarodźców malarii — powiązane z inhibitorami reduktaz glutationu. Wśród wielu rozwiązań zaproponowano syntezę substratów lub inhibitorów katalitycznych opartych na fotoreaktywnych inhibitorach reduktaz glutationu (GR) i reduktaz tioredoksyny (TrxR) pasożytów wewnątrzkrwinkowych [81]. Prowadzi się także badania nad nowymi pochodnymi 1,4-naftochinonów o małej masie, należącymi do serii 3-benzylmenadionu. Związki te o aktywności oksydo-redukcyjnej wykazują silne działanie przeciwmalaryczne względem wrażliwych na chlorochinę szczepów *P. falciparum*, potwierdzone w testach *in vitro* oraz na mysich modelach malarii [82, 83].



## Inaktywacja pierwotniaka w krwi i jej składnikach pobranych od krwiodawcy

Dotychczas nie opracowano szczepionki przeciw *B. microti*, a metody mające na celu eliminację lub dezaktywację pierwotniaków z preparatów krwiopochodnych są stosowane od niedawna. Problem inaktywacji czynników chorobotwórczych zasiedlających erytrocyty jest szczególnie złożony. W przypadku konieczności zachowania żywych komórek krwi dawcy stosuje się metody osłabiające żywotność czynników chorobotwórczych. Wśród wdrażanych, których skuteczność oceniono przeciw *B. microti*, są platformy technologiczne, takie jak INTERCEPT™ (Cerus Cooperation, Concord, CA, USA) czy Mirasol<sup>R</sup> (Terumo BCT, Lakewood, CO, USA). INTERCEPT jest oparta na podawaniu psoralenu. Związek ten penetruje poprzez błony komórki i po naświetleniu promieniami UV silnie sieciuje kwasy nukleinowe w jądrze komórkowym pierwotniaka, hamując tym samym transkrypcję, replikację oraz procesy naprawcze [84].

Technologia Mirasol<sup>R</sup> polega na podaniu witaminy B2. Ryboflawina spełnia funkcję nośnika elektronów i pośredniczy w utlenieniu kwasów nukleinowych i białek. Uszkodzenia wywołane przez ryboflawinę są nieodwracalne, gdyż hamują replikację i mechanizmy naprawcze DNA/RNA [84, 85]. W warunkach laboratoryjnych podczas aferezy polegającej na oddzieleniu płytek krwi i plazmy u chomików zastosowano technologię odkażającą [*Mirasol pathogen inactivation technology* (PRT; CaridianBCT)] i zaobserwowano obniżenia żywotności *B. microti* w preparacie. W metodzie tej wykorzystano fotodynamiczne właściwości ryboflawiny po naświetleniu próby światłem ultrafioletowym. Krew poddana procesowi inaktywacji nie była zakaźna dla chomików i nie stwierdzono w niej zarażonych erytrocytów [86]. Obie technologie okazały się skuteczne przeciw różnym czynnikom chorobotwórczym przenoszonym z krwią, łącznie z gatunkami *Babesia*, ale nie są dostępne komercyjnie [55].

## Badania nad prewencją immunologiczną

Z powodu wzrastającej lekooporności pasożytów i ukrytego przebiegu choroby zarażenie *B. microti* wymaga zaawansowanych metod leczenia, także wspomaganych immunologicznie. W celu opracowania nowych leków konieczne są badania nad ultrastrukturą i mechanizmem wnikania sporozoitów/merozoitów do erytrocytu, podziału merozoitów w erytrocycie, ich uwalniania z ery-

trocytów oraz „ucieczki immunologicznej”, dzięki której formy pozaerytocytarne przeżywają i pozostają niewrażliwe na aktywność lityczną układu dopełniacza [87–89].

Wysoka sprawność układu odpornościowego wydaje się kluczowa dla zwalczenia inwazji. Oprócz pacjentów z immunosupresją także osoby starsze po 60. roku życia są szczególnie narażone na aktywną postać babeszjozy [5]. Wraz z wiekiem u pacjenta obniża się zdolność rozpoznawania obcych antygenów, specyficzność działania przeciwciał czy cytotoksyczność przeciwnowotworowa; częściej też dochodzi do rozwoju chorób autoimmunizacyjnych. Takie choroby wymagają leczenia immunosupresyjnego. Są to warunki immunologiczne, które mogą ułatwić czynnikom chorobotwórczym namnażanie się w organizmie. W wielu badaniach nad regulacją odpowiedzi immunologicznej podczas babeszjozy [57, 90] wskazuje się na konieczność podjęcia jednoczesnej immunoterapii wzmacniającej odpowiedź limfocytów T pomocniczych typu 1 (Th1) lub osłabiania reakcji regulatorowych. Te ostatnie zidentyfikowano u pacjentów leczonych rytuksymabem, u których obserwowano wznowę ostrej fazy babeszjozy [65, 91].

Babeszjoza jest szczególnie groźna u pacjentów z obniżoną odpornością, nie tylko z powodu podeszłego wieku, ale także z powodu pierwotnych chorób. Wydaje się, że transfuzja krwi w takich przypadkach powinna być poprzedzona oceną efektywności układu odpornościowego i wzmocnieniem jego aktywności u biorcy. Wyjaśnienia wymagają mechanizmy, odpowiedzialne za utrzymanie fazy przewlekłej zarażenia. Kluczowe jest także rozpoznanie przyczyn wznowy ostrej fazy babeszjozy w przypadku pacjentów pozornie wyleczonych. Wyniki takich badań mogą być pomocne w opracowaniu odpowiedniego postępowania prewencyjnego i terapeutycznego [65].

W warunkach laboratoryjnych u myszy różnych szczepów można prześledzić zróżnicowany przebieg zarażenia, modelowy dla reakcji obserwowanych u pacjentów. U myszy rozwija się bardzo szybko przejściowa wysoka parazytemia (faza ostra), poprzedzająca fazę przewlekłą z niewykrywalnym w rozmazie krwi pasożytem już po 4 tygodniach. Jest to dogodny model do badania mechanizmów wznowy ostrej fazy babeszjozy w przypadku dysfunkcji układu odpornościowego, na przykład po wybiórczej deplecji limfocytów T i/lub B. Myszy, u których występuje zmniejszona liczebność limfocytów T CD4<sup>+</sup>, są bardziej wrażliwe na zarażenie niż myszy z fizjologicznym poziomem tych komórek [92]. Stosując przeciwcia-

ła monoklonalne przeciw receptorom/antygenom różnicowania komórkowego (CD), w tym przeciw antygenowi limfocytów B — CD20, glikozylowanej fosfoproteinie obecnej w linii dojrzewających limfocytów B [93], można badać mechanizm wznowy babeszjozy u pacjentów leczonych przeciwciałem monoklonalnym anty-CD20, rytuksymabem [65, 94]. Natomiast zastosowanie przeciwciał monoklonalnych przeciw receptorowi CD4<sup>+</sup> limfocytów T pozwala oznaczyć funkcję innych populacji limfocytów, w tym limfocytów B. Z kolei wsparcie tak zmodyfikowanego środowiska immunologicznego działaniem cytokin, takich jak: IL-10 i TGF- $\beta$ , pozwala wyjaśnić znaczenie mechanizmów regulatorowych po wznowie ostrej fazy zarażenia [90, 95]. Zbadania wymaga także mechanizm „ucieczki” pasożyta przed odpowiedzią immunologiczną, gdyż dynamiczna zmiana antygenów pasożyta warunkuje produkcję obronnych przeciwciał [96]. W przypadku osłabienia funkcji układu immunologicznego u pacjentów konieczne jest oznaczenie aktywności limfocytów T i B regulatorowych. Jest to także bardzo istotne dla wyjaśnienia większej wrażliwości starszych pacjentów na zarażenie tym pasożytem [97].

*B. microti* ze względu na utajoną postać u osób immunokompetentnych może stanowić istotne zagrożenie epidemiologiczne. Szerzenie się tego czynnika chorobotwórczego może być przyspieszone bezpośrednio przez człowieka, po nieświadomym wprowadzeniu do transfuzji preparatów skażonych pasożytem. Dlatego tak istotne będzie opracowanie metod z jednej strony diagnozujących zarażenie u pozornie zdrowych dawców, a z drugiej łatwych do przeprowadzenia zabiegów redukcji biologicznych czynników chorobotwórczych w składnikach krwi przeznaczonej do przetoczeń.

Praca powstała w ramach badań statutowych Wydziału Biologii UW BST Nr 176 200 i DSM 86-112-636.

## Piśmiennictwo

1. Papparini A, Senanayake SN, Ryan UM, et al. Molecular confirmation of the first autochthonous case of human babesiosis in Australia using a novel primer set for the beta-tubulin gene. *Exp Parasitol.* 2014; 141: 93–97, doi: [10.1016/j.exppara.2014.03.004](https://doi.org/10.1016/j.exppara.2014.03.004), indexed in Pubmed: [24675416](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24675416/).
2. Hunfeld KP, Hildebrandt A, Gray JS. Babesiosis: recent insights into an ancient disease. *Int J Parasitol.* 2008; 38(11): 1219–1237, doi: [10.1016/j.ijpara.2008.03.001](https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2008.03.001), indexed in Pubmed: [18440005](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18440005/).
3. Herwaldt BL, Linden JV, Bosserman E, et al. Transfusion-associated babesiosis in the United States: a description of cases. *Ann Intern Med.* 2011; 155(8): 509–519, doi: [10.7326/0003-4819-155-8-201110180-00362](https://doi.org/10.7326/0003-4819-155-8-201110180-00362), indexed in Pubmed: [21893613](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21893613/).
4. C R. Szczepiorkowski, Z. M. and Dunbar, N. Babesia parasitemia rebound after red blood cell exchange. *J Clin Apheresis.* ; 2016, doi: [10.1002/jca.21492](https://doi.org/10.1002/jca.21492).
5. Homer MJ, Aguilar-Delfin I, Telford SR, et al. Babesiosis. *Clinical Microbiology Reviews.* 2000; 13(3): 451–469, doi: [10.1128/cmr.13.3.451-469.2000](https://doi.org/10.1128/cmr.13.3.451-469.2000).
6. Leiby DA. Transfusion-associated babesiosis: shouldn't we be ticked off? *Ann Intern Med.* 2011; 155(8): 556–557, doi: [10.7326/0003-4819-155-8-201110180-00363](https://doi.org/10.7326/0003-4819-155-8-201110180-00363), indexed in Pubmed: [21893616](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21893616/).
7. Herwaldt BL, McGovern PC, Gerwel MP, et al. Endemic babesiosis in another eastern state: New Jersey. *Emerg Infect Dis.* 2003; 9(2): 184–188, doi: [10.3201/eid0902.020271](https://doi.org/10.3201/eid0902.020271), indexed in Pubmed: [12603988](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12603988/).
8. Holman MS, Caporale DA, Goldberg J, et al. Anaplasma phagocytophilum, Babesia microti, and Borrelia burgdorferi in Ixodes scapularis, southern coastal Maine. *Emerg Infect Dis.* 2004; 10(4): 744–746, doi: [10.3201/eid1004.030566](https://doi.org/10.3201/eid1004.030566), indexed in Pubmed: [15200875](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15200875/).
9. Joseph JT, Roy SS, Shams N, et al. Babesiosis in Lower Hudson Valley, New York, USA. *Emerg Infect Dis.* 2011; 17(5): 843–847, doi: [10.3201/eid1705.101334](https://doi.org/10.3201/eid1705.101334), indexed in Pubmed: [21529393](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21529393/).
10. Weld ED, Eimer KM, Saharia K, et al. Transfusion medicine illustrated. The expanding range and severity of babesiosis. *Transfusion.* 2010; 50(2): 290–291, doi: [10.1111/j.1537-2995.2009.02563.x](https://doi.org/10.1111/j.1537-2995.2009.02563.x), indexed in Pubmed: [20233358](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20233358/).
11. Meldrum SC, Birkhead GS, White DJ, et al. Human babesiosis in New York State: an epidemiological description of 136 cases. *Clin Infect Dis.* 1992; 15(6): 1019–1023, indexed in Pubmed: [1457632](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1457632/).
12. White DJ, Talarico J, Chang HG, et al. Human babesiosis in New York State: Review of 139 hospitalized cases and analysis of prognostic factors. *Arch Intern Med.* 1998; 158(19): 2149–2154, indexed in Pubmed: [9801183](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9801183/).
13. Poisnel E, Ebbo M, Berda-Haddad Y, et al. Babesia microti: an unusual travel-related disease. *BMC Infect Dis.* 2013; 13: 99, doi: [10.1186/1471-2334-13-99](https://doi.org/10.1186/1471-2334-13-99), indexed in Pubmed: [23432953](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23432953/).
14. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Babesiosis surveillance - 18 States, 2011. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2012; 61(27): 505–509, indexed in Pubmed: [22785341](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22785341/).
15. CDC. National Notifiable Diseases Surveillance System. Available at [http://www.cdc.gov/osels/ph\\_surveillance/nndss/nndsshis.htm](http://www.cdc.gov/osels/ph_surveillance/nndss/nndsshis.htm). Accessed June. ; 27: 2017.
16. Vannier E, Krause PJ. Human babesiosis. *N Engl J Med.* 2012; 366(25): 2397–2407, doi: [10.1056/NEJMra1202018](https://doi.org/10.1056/NEJMra1202018), indexed in Pubmed: [22716978](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22716978/).
17. Gray J, Zintl A, Hildebrandt A, et al. Zoonotic babesiosis: overview of the disease and novel aspects of pathogen identity. *Ticks Tick Borne Dis.* 2010; 1(1): 3–10, doi: [10.1016/j.ttbdis.2009.11.003](https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2009.11.003), indexed in Pubmed: [21771506](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21771506/).
18. Haapasalo K, Suomalainen P, Sukura A, et al. Fatal babesiosis in man, Finland, 2004. *Emerg Infect Dis.* 2010; 16(7): 1116–1118, doi: [10.3201/eid1607.091905](https://doi.org/10.3201/eid1607.091905), indexed in Pubmed: [20587183](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20587183/).
19. Martinot M, Zadeh MM, Hansmann Y, et al. Babesiosis in immunocompetent patients, Europe. *Emerg Infect Dis.* 2011; 17(1): 114–116, doi: [10.3201/eid1701.100737](https://doi.org/10.3201/eid1701.100737), indexed in Pubmed: [21192869](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21192869/).
20. Zintl A, Mulcahy G, Skerrett HE, et al. Babesia divergens, a bovine blood parasite of veterinary and zoonotic importance. *Clin Microbiol Rev.* 2003; 16(4): 622–636, indexed in Pubmed: [14557289](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14557289/).
21. Walter G, Weber GA. study on the transmission (transstadial, transovarial) of Babesia microti, strain „Hannover i, ” in its tick

- vector, *Ixodes ricinus*. Tropenmedical Parasitology. ; 1981(32): 228–230.
22. Gelfand JA, Callahan MV. Babesiosis: An Update on Epidemiology and Treatment. *Curr Infect Dis Rep.* 2003; 5(1): 53–58, indexed in Pubmed: [12525291](#).
  23. Hildebrandt A, Hunfeld KP, Baier M, et al. First confirmed autochthonous case of human *Babesia microti* infection in Europe. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2007; 26(8): 595–601, doi: [10.1007/s10096-007-0333-1](#), indexed in Pubmed: [17587072](#).
  24. Casati S, Sager H, Gern L, et al. Presence of potentially pathogenic *Babesia* sp. for human in *Ixodes ricinus* in Switzerland. *Ann Agric Environ Med.* 2006; 13(1): 65–70, indexed in Pubmed: [16841874](#).
  25. Gray JS. *Babesia* sp.: emerging intracellular parasites in Europe. *Pol J Microbiol.* 2004; 53 Suppl: 55–60, indexed in Pubmed: [15787198](#).
  26. Gray J, von Stedingk LV, Gürtelschmid M, et al. Transmission studies of *Babesia microti* in *Ixodes ricinus* ticks and gerbils. *J Clin Microbiol.* 2002; 40(4): 1259–1263, indexed in Pubmed: [11923342](#).
  27. Katargina O, Geller J, Vasilenko V, et al. Detection and characterization of *Babesia* species in *Ixodes* ticks in Estonia. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2011;11(7):923–8.View ArticlePubMedGoogle Scholar.
  28. Siński E, Bajer A, Welc R, et al. *Babesia microti*: prevalence in wild rodents and *Ixodes ricinus* ticks from the Mazury Lakes District of North-Eastern Poland. *Int J Med Microbiol.* 2006; 296 Suppl 40: 137–143, doi: [10.1016/j.ijmm.2006.01.015](#), indexed in Pubmed: [16524774](#).
  29. Welc-Fałęciak R, Bajer A, Paziewska-Harris A, et al. Diversity of *Babesia* in *Ixodes ricinus* ticks in Poland. *Adv Med Sci.* 2012; 57(2): 364–369, doi: [10.2478/v10039-012-0023-9](#), indexed in Pubmed: [22968337](#).
  30. Wójcik-Fatla A, Zając V, Sawczyn A, et al. Prevalence of *Babesia microti* in *Ixodes ricinus* ticks from Lublin region (eastern Poland). *Ann Agric Environ Med.* 2006; 13(2): 319–322, indexed in Pubmed: [17196008](#).
  31. Skotarczak B, Cichońska A. Isolation and amplification by polymerase chain reaction DNA of *Babesia microti* and *Babesia divergens* in ticks in Poland. *Ann Agric Environ Med.* 2001; 8(2): 187–189, indexed in Pubmed: [11748876](#).
  32. Asman M, Solarz K, Cuber P, et al. Detection of protozoans *Babesia microti* and *Toxoplasma gondii* and their co-existence in ticks (Acari: Ixodida) collected in Tarnogórski district (Upper Silesia, Poland). *Ann Agric Environ Med.* 2015; 22(1): 80–83, doi: [10.5604/12321966.1141373](#), indexed in Pubmed: [25780833](#).
  33. Humiczewska M, Kuźna-Grygiel W. [A case of imported human babesiosis in Poland]. *Wiad Parazytol.* 1997; 43(2): 227–229, indexed in Pubmed: [9424944](#).
  34. Moniuszko A, Dunaj J, Święcicka I, et al. Co-infections with *Borrelia* species, *Anaplasma phagocytophilum* and *Babesia* spp. in patients with tick-borne encephalitis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2014; 33(10): 1835–1841, doi: [10.1007/s10096-014-2134-7](#), indexed in Pubmed: [24848130](#).
  35. Welc-Fałęciak R, Pawełczyk A, Radkowski M, et al. First report of two asymptomatic cases of human infection with *Babesia microti* (Franca, 1910) in Poland. *Ann Agric Environ Med.* 2015; 22(1): 51–54, doi: [10.5604/12321966.1141394](#), indexed in Pubmed: [25780828](#).
  36. Żukiewicz-Sobczak W, Zwoliński J, Chmielewska-Badora J, et al. Prevalence of antibodies against selected zoonotic agents in forestry workers from eastern and southern Poland. *Ann Agric Environ Med.* 2014; 21(4): 767–770, doi: [10.5604/12321966.1129930](#), indexed in Pubmed: [25528917](#).
  37. Eberhard ML, Walker EM, Steurer FJ. Survival and infectivity of *Babesia* in blood maintained at 25 C and 2–4 C. *J Parasitol.* 1995; 81(5): 790–792, indexed in Pubmed: [7472878](#).
  38. Cursino-Santos JR, Alhassan A, Singh M, et al. *Babesia*: impact of cold storage on the survival and the viability of parasites in blood bags. *Transfusion.* 2014; 54(3): 585–591, doi: [10.1111/trf.12357](#), indexed in Pubmed: [23888882](#).
  39. Wormser GP, Prasad A, Neuhaus E, et al. Emergence of resistance to azithromycin-atovaquone in immunocompromised patients with *Babesia microti* infection. *Clin Infect Dis.* 2010; 50(3): 381–386, doi: [10.1086/649859](#), indexed in Pubmed: [20047477](#).
  40. Gubernot DM, Nakhasi HL, Mied PA, et al. Transfusion-transmitted babesiosis in the United States: summary of a workshop. *Transfusion.* 2009; 49(12): 2759–2771, doi: [10.1111/j.1537-2995.2009.02429.x](#), indexed in Pubmed: [19821952](#).
  41. Leiby DA. Babesiosis and blood transfusion: flying under the radar. *Vox Sang.* 2006; 90(3): 157–165, doi: [10.1111/j.1423-0410.2006.00740.x](#), indexed in Pubmed: [16507014](#).
  42. Johnson ST, Cable RG, Tonnetti L, et al. Seroprevalence of *Babesia microti* in blood donors from *Babesia*-endemic areas of the northeastern United States: 2000 through 2007. *Transfusion.* 2009; 49(12): 2574–2582, doi: [10.1111/j.1537-2995.2009.02430.x](#), indexed in Pubmed: [19821951](#).
  43. Brennan MB, Herwaldt BL, Kazmierczak JJ, et al. Transmission of *Babesia microti* Parasites by Solid Organ Transplantation. *Emerg Infect Dis.* 2016; 22(11), doi: [10.3201/eid2211.151028](#), indexed in Pubmed: [27767010](#).
  44. Goodell AJ, Bloch EM, Krause PJ, et al. Costs, consequences, and cost-effectiveness of strategies for *Babesia microti* donor screening of the US blood supply. *Transfusion.* 2014; 54(9): 2245–2257, doi: [10.1111/trf.12805](#), indexed in Pubmed: [25109338](#).
  45. Gorenflot A, Moubri K, Precigout E, et al. Human babesiosis. *Ann Trop Med Parasitol.* 1998; 92(4): 489–501, indexed in Pubmed: [9683900](#).
  46. Leiby DA, Chung APS, Cable RG, et al. Relationship between tick bites and the seroprevalence of *Babesia microti* and *Anaplasma phagocytophilum* (previously *Ehrlichia* sp.) in blood donors. *Transfusion.* 2002; 42(12): 1585–1591, indexed in Pubmed: [12473139](#).
  47. Linden JV, Wong SJ, Chu FK, et al. Transfusion-associated transmission of babesiosis in New York State. *Transfusion.* 2000; 40(3): 285–289, indexed in Pubmed: [10738027](#).
  48. Popovsky MA, Lindberg LE, Syrek AL, et al. Prevalence of *Babesia* antibody in a selected blood donor population. *Transfusion.* 1988; 28(1): 59–61, indexed in Pubmed: [3341068](#).
  49. Tonnetti L, Thorp AM, Deisting B, et al. *Babesia microti* seroprevalence in Minnesota blood donors. *Transfusion.* 2013; 53(8): 1698–1705, doi: [10.1111/j.1537-2995.2012.03948.x](#), indexed in Pubmed: [23145838](#).
  50. Hunfeld KP, Allwinn R, Peters S, et al. Serologic evidence for tick-borne pathogens other than *Borrelia burgdorferi* (TOBB) in Lyme borreliosis patients from midwestern Germany. *Wien Klin Wochenschr.* 1998; 110(24): 901–908, indexed in Pubmed: [10048174](#).
  51. Hunfeld KP, Lambert A, Kampen H, et al. Seroprevalence of *Babesia* infections in humans exposed to ticks in midwestern Germany. *J Clin Microbiol.* 2002; 40(7): 2431–2436, indexed in Pubmed: [12089258](#).

52. Foppa IM, Krause PJ, Spielman A, et al. Entomologic and serologic evidence of zoonotic transmission of *Babesia microti*, eastern Switzerland. *Emerg Infect Dis.* 2002; 8(7): 722–726, doi: [10.3201/eid0807.010459](https://doi.org/10.3201/eid0807.010459), indexed in Pubmed: [12095442](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12095442/).
53. Hunfeld KP, Brade V. Zoonotic *Babesia*: possibly emerging pathogens to be considered for tick-infested humans in Central Europe. *Int J Med Microbiol.* 2004; 293 Suppl 37: 93–103, indexed in Pubmed: [15146990](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15146990/).
54. Łętowska M. (red.). *Medyczne zasady pobierania krwi, oddzielania jej składników i wydawania, obowiązujące w jednostkach organizacyjnych publicznej służby krwi.* Instytut Hematologii i Transfuzjologii, Warszawa 2010.
55. Lobo CA, Cursino-Santos JR, Alhassan A, et al. *Babesia*: an emerging infectious threat in transfusion medicine. *PLoS Pathog.* 2013; 9(7): e1003387, doi: [10.1371/journal.ppat.1003387](https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003387), indexed in Pubmed: [23853577](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23853577/).
56. Borggraefe I, Yuan J, Telford SR, et al. *Babesia microti* primarily invades mature erythrocytes in mice. *Infect Immun.* 2006; 74(6): 3204–3212, doi: [10.1128/IAI.01560-05](https://doi.org/10.1128/IAI.01560-05), indexed in Pubmed: [16714547](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16714547/).
57. Hemmer RM, Ferrick DA, Conrad PA. Role of T cells and cytokines in fatal and resolving experimental babesiosis: protection in TNFRp55<sup>-/-</sup> mice infected with the human *Babesia WA1* parasite. *J Parasitol.* 2000; 86(4): 736–742, doi: [10.1645/0022-3395\(2000\)086\[0736:ROTCAC\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1645/0022-3395(2000)086[0736:ROTCAC]2.0.CO;2), indexed in Pubmed: [10958449](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10958449/).
58. Okla H, Jasik KP, Słodki J, et al. Hepatic tissue changes in rats due to chronic invasion of *Babesia microti*. *Folia Biol (Krakow).* 2014; 62(4): 353–359, indexed in Pubmed: [25916163](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25916163/).
59. Fang DC, McCullough J. Transfusion-Transmitted *Babesia microti*. *Transfus Med Rev.* 2016; 30(3): 132–138, doi: [10.1016/j.tmr.2016.04.002](https://doi.org/10.1016/j.tmr.2016.04.002), indexed in Pubmed: [27260107](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27260107/).
60. Vannier E, Gewurz BE, Krause PJ. Human babesiosis. *Infect Dis Clin North Am.* 2008; 22(3): 469–88, viii, doi: [10.1016/j.idc.2008.03.010](https://doi.org/10.1016/j.idc.2008.03.010), indexed in Pubmed: [18755385](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18755385/).
61. Usatii N, Khachatryan A, Stratidis J. Spontaneous splenic rupture due to *Babesia microti* infection: Case report and review of the literature. *IDCases.* 2014; 1(4): 63–65, doi: [10.1016/j.idcr.2014.08.002](https://doi.org/10.1016/j.idcr.2014.08.002), indexed in Pubmed: [26839774](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26839774/).
62. Kuwayama DP, Briones RJ. Spontaneous splenic rupture caused by *Babesia microti* infection. *Clin Infect Dis.* 2008; 46(9): e92–e95, doi: [10.1086/587175](https://doi.org/10.1086/587175), indexed in Pubmed: [18419430](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18419430/).
63. Guru PK, O Horo JC, Lehrke HD, et al. Exchange transfusion for babesiosis when, how, and how long? *Indian J Crit Care Med.* 2016; 20(11): 674–676, doi: [10.4103/0972-5229.194017](https://doi.org/10.4103/0972-5229.194017), indexed in Pubmed: [27994385](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27994385/).
64. Krause PJ, McKay K, Gadbow J, et al. Tick-Borne Infection Study Group. Increasing health burden of human babesiosis in endemic sites. *Am J Trop Med Hyg.* 2003; 68(4): 431–436, indexed in Pubmed: [12875292](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12875292/).
65. Krause PJ, Gewurz BE, Hill D, et al. Persistent and relapsing babesiosis in immunocompromised patients. *Clin Infect Dis.* 2008; 46(3): 370–376, doi: [10.1086/525852](https://doi.org/10.1086/525852), indexed in Pubmed: [18181735](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18181735/).
66. Vyas JM, Telford SR, Robbins GK. Treatment of refractory *Babesia microti* infection with atovaquone-proguanil in an HIV-infected patient: case report. *Clin Infect Dis.* 2007; 45(12): 1588–1590, doi: [10.1086/523731](https://doi.org/10.1086/523731), indexed in Pubmed: [18190320](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18190320/).
67. Robinson MW, Hutchinson AT, Dalton JP, et al. Peroxiredoxin: a central player in immune modulation. *Parasite Immunol.* 2010; 32(5): 305–313, doi: [10.1111/j.1365-3024.2010.01201.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-3024.2010.01201.x), indexed in Pubmed: [20500659](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20500659/).
68. Müller S, Liebau E, Walter RD, et al. Thiol-based redox metabolism of protozoan parasites. *Trends Parasitol.* 2003; 19(7): 320–328, indexed in Pubmed: [12855383](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12855383/).
69. Park H, Hong SH, Kim K, et al. Characterizations of individual mouse red blood cells parasitized by *Babesia microti* using 3-D holographic microscopy. *Sci Rep.* 2015; 5: 10827.
70. Rudzinska MA. Ultrastructure of intraerythrocytic *Babesia microti* with emphasis on the feeding mechanism. *J Protozool.* 1976; 23(2): 224–233, indexed in Pubmed: [933078](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/933078/).
71. Kapishnikov S, Weiner A, Shimoni E, et al. Oriented nucleation of hemozoin at the digestive vacuole membrane in *Plasmodium falciparum*. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2012; 109(28): 11188–11193, doi: [10.1073/pnas.1118120109](https://doi.org/10.1073/pnas.1118120109), indexed in Pubmed: [22745164](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22745164/).
72. Massimine KM, McIntosh MT, Doan LT, et al. Eosin B as a novel antimalarial agent for drug-resistant *Plasmodium falciparum*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2006; 50(9): 3132–3141, doi: [10.1128/AAC.00621-06](https://doi.org/10.1128/AAC.00621-06), indexed in Pubmed: [16940112](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16940112/).
73. Cui L, Su Xz. Discovery, mechanisms of action and combination therapy of artemisinin. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2009; 7(8): 999–1013, doi: [10.1586/eri.09.68](https://doi.org/10.1586/eri.09.68), indexed in Pubmed: [19803708](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19803708/).
74. Olafson KN, Ketchum MA, Rimer JD, et al. Mechanisms of hemozoin crystallization and inhibition by the antimalarial drug chloroquine. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2015; 112(16): 4946–4951, doi: [10.1073/pnas.1501023112](https://doi.org/10.1073/pnas.1501023112), indexed in Pubmed: [25831526](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25831526/).
75. Ehrhardt K, Davioud-Charvet E, Ke H, et al. The antimalarial activities of methylene blue and the 1,4-naphthoquinone 3-[4-(trifluoromethyl)benzyl]-menadione are not due to inhibition of the mitochondrial electron transport chain. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013; 57(5): 2114–2120, doi: [10.1128/AAC.02248-12](https://doi.org/10.1128/AAC.02248-12), indexed in Pubmed: [23439633](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23439633/).
76. Wormser GP, Dattwyler RJ, Shapiro ED, et al. The clinical assessment, treatment, and prevention of Lyme disease, human granulocytic anaplasmosis, and babesiosis: clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis.* 2006; 43(9): 1089–1134, doi: [10.1086/508667](https://doi.org/10.1086/508667), indexed in Pubmed: [17029130](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17029130/).
77. Wittner M, Rowin KS, Tanowitz HB, et al. Successful chemotherapy of transfusion babesiosis. *Ann Intern Med.* 1982; 96(5): 601–604, indexed in Pubmed: [7200341](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7200341/).
78. Krause PJ, Lepore T, Sikand VK, et al. Atovaquone and azithromycin for the treatment of babesiosis. *N Engl J Med.* 2000; 343(20): 1454–1458, doi: [10.1056/NEJM200011163432004](https://doi.org/10.1056/NEJM200011163432004), indexed in Pubmed: [11078770](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11078770/).
79. Pradel G, Schlitzer M. Antibiotics in malaria therapy and their effect on the parasite apicoplast. *Curr Mol Med.* 2010; 10(3): 335–349, indexed in Pubmed: [20331433](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20331433/).
80. Andrews NW, Webster P. Phagolysosomal escape by intracellular pathogens. *Parasitol Today.* 1991; 7(12): 335–340, indexed in Pubmed: [15463408](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15463408/).
81. Wittner M, Lederman J, Tanowitz HB, et al. Atovaquone in the treatment of *Babesia microti* infections in hamsters. *Am J Trop Med Hyg.* 1996; 55(2): 219–222, indexed in Pubmed: [8780464](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8780464/).
82. Hughes LM, Lanteri CA, O'Neil MT, et al. Design of anti-parasitic and anti-fungal hydroxy-naphthoquinones that are less susceptible to drug resistance. *Mol Biochem Parasitol.* 2011; 177(1): 12–19, doi: [10.1016/j.molbiopara.2011.01.002](https://doi.org/10.1016/j.molbiopara.2011.01.002), indexed in Pubmed: [21251932](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21251932/).
83. de Souza NB, de Andrade IM, Carneiro PF, et al. Blood shizonticidal activities of phenazines and naphthoquinoidal compounds against *Plasmodium falciparum* in vitro and in mice malaria studies. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2014; 109(5): 546–552, indexed in Pubmed: [25099332](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25099332/).



84. Schlenke P. Pathogen inactivation technologies for cellular blood components: an update. *Transfus Med Hemother*. 2014; 41(4): 309–325, doi: [10.1159/000365646](https://doi.org/10.1159/000365646), indexed in Pubmed: [25254027](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25254027/).
85. Grellier P, Benach J, Labaied M, et al. Photochemical inactivation with amotosalen and long-wavelength ultraviolet light of Plasmodium and Babesia in platelet and plasma components. *Transfusion*. 2008; 48(8): 1676–1684, doi: [10.1111/j.1537-2995.2007.01762.x](https://doi.org/10.1111/j.1537-2995.2007.01762.x), indexed in Pubmed: [18503613](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18503613/).
86. Tonnetti L, Proctor MC, Reddy HL, et al. Evaluation of the Mirasol pathogen [corrected] reduction technology system against Babesia microti in apheresis platelets and plasma. *Transfusion*. 2010; 50(5): 1019–1027, doi: [10.1111/j.1537-2995.2009.02538.x](https://doi.org/10.1111/j.1537-2995.2009.02538.x), indexed in Pubmed: [20030791](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20030791/).
87. Rosenberg YJ, Evans CB. Resistance of mice suppressed for IgM production to Babesia microti infection. *Nature*. 1979; 281(5729): 302–304, indexed in Pubmed: [317837](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/317837/).
88. Parrodi F, Jacobson RH, Wright IG, et al. The effect of immune serum and complement on the in vitro phagocytosis of Babesia rodhaini. *Parasite Immunol*. 1991; 13(5): 457–471, indexed in Pubmed: [1956695](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1956695/).
89. Chapman WE, Ward PA. Babesia rodhaini: requirement of complement for penetration of human erythrocytes. *Science*. 1977; 196(4285): 67–70, indexed in Pubmed: [841340](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/841340/).
90. Jeong YI, Hong SH, Cho SH, et al. Induction of IL-10-producing CD1dhighCD5+ regulatory B cells following Babesia microti-infection. *PLoS One*. 2012; 7(10): e46553, doi: [10.1371/journal.pone.0046553](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0046553), indexed in Pubmed: [23071588](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23071588/).
91. Raffalli J, Wormser GP. Persistence of babesiosis for >2 years in a patient on rituximab for rheumatoid arthritis. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2016; 85(2): 231–232, doi: [10.1016/j.diagmicrobio.2016.02.016](https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2016.02.016), indexed in Pubmed: [27036977](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27036977/).
92. Igarashi I, Waki S, Ito M, et al. Role of CD4+ T cells in the control of primary infection with Babesia microti in mice. *J Protozool Res*. 1994; 4: 164–171.
93. Hardy R. Chapter 7: B Lymphocyte Development and Biology. W: Paul WE. (red.) *Fundamental Immunology*. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia. ; 2008: 237–269.
94. Vallerskog T, Gunnarsson I, Widhe M, et al. Treatment with rituximab affects both the cellular and the humoral arm of the immune system in patients with SLE. *Clin Immunol*. 2007; 122(1): 62–74, doi: [10.1016/j.clim.2006.08.016](https://doi.org/10.1016/j.clim.2006.08.016), indexed in Pubmed: [17046329](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17046329/).
95. Bouaziz JD, Yanaba K, Tedder TF. Regulatory B cells as inhibitors of immune responses and inflammation. *Immunol Rev*. 2008; 224: 201–214, doi: [10.1111/j.1600-065X.2008.00661.x](https://doi.org/10.1111/j.1600-065X.2008.00661.x), indexed in Pubmed: [18759928](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18759928/).
96. Silva JC, Cornillot E, McCracken C, et al. Genome-wide diversity and gene expression profiling of Babesia microti isolates identify polymorphic genes that mediate host-pathogen interactions. *Sci Rep*. 2016; 6: 35284, doi: [10.1038/srep35284](https://doi.org/10.1038/srep35284), indexed in Pubmed: [27752055](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27752055/).
97. Castle SC. Clinical relevance of age-related immune dysfunction. *Clin Infect Dis*. 2000; 31(2): 578–585, doi: [10.1086/313947](https://doi.org/10.1086/313947), indexed in Pubmed: [10987724](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10987724/).