

Anna Grochowska, Sławomir Pancewicz, Piotr Czupryna, Justyna Dunaj,  
Karol Borawski, Monika Groth, Anna Moniuszko-Malinowska

## PATHOGENS CARRIED BY *IXODES RICINUS* AND *DERMACENTOR RETICULATUS* TICKS, INCLUDING COINFECTIONS

### PATOGENY PRZENOSZONE PRZEZ KLESZCZE Z GATUNKÓW *IXODES RICINUS* I *DERMACENTOR RETICULATUS* Z UWZGLĘDNIENIEM KOINFEKCJI

Medical University of Białystok, Department of Infectious Diseases and Neuroinfections  
Uniwersytet Medyczny w Białymstoku, Klinika Chorób Zakaźnych i Neuroinfekcji

#### ABSTRACT

Ticks and tick-borne pathogens are becoming an emerging threat to the health of both humans and animals. The number of cases of tick-borne diseases, especially Lyme disease, is constantly growing. Over the last several years, coinfections, which could be explained as presence of two or more pathogens in one organism are being observed with growing interest. Their occurrence may lead to severe or unusual symptoms, prolonged disease duration, diagnostic and therapeutic difficulties. Research on this subject concerns mainly ticks of the species *Ixodes ricinus*, however, literature data suggest that also the species *Dermacentor reticulatus* plays an important role as a vector of tick-borne pathogens.

**Keywords:** coinfection, tick-borne disease, common tick, ornate dog tick

#### STRESZCZENIE

Kleszcze i przenoszone przez nie patogeny stanowią coraz większy problem dla zdrowia ludzi i zwierząt. Liczba przypadków zachorowań na choroby odkleszczowe, w szczególności boreliozę, stale rośnie. W ciągu ostatnich kilkunastu lat z coraz większą uwagą obserwowane jest zjawisko koinfekcji, czyli bytowania w jednym organizmie dwóch lub więcej patogenów. Jest to istotne zagadnienie kliniczne, ponieważ jeśli pacjent ulegnie takiemu zakażeniu, może dojść do wystąpienia nasilonych lub nietypowych objawów, przedłużonego czasu trwania choroby czy trudności diagnostycznych i terapeutycznych. Badania kleszczy na ten temat dotyczą głównie tych z gatunku *Ixodes ricinus*, jednak dane z piśmiennictwa sugerują, że również gatunek *Dermacentor reticulatus* odgrywa istotną rolę jako wektor patogenów odkleszczowych.

**Słowa kluczowe:** koinfekcja, choroby odkleszczowe, kleszcz pospolity, kleszcz łkowy

#### INTRODUCTION

Diseases carried by ticks are an emerging problem for the health of humans, domestic animals and farm animals (1,2). The rise in the incidence of tick-borne diseases observed over the past decades has been attributed to many factors, of which climate change is the most important. High summer temperatures and short, not too cold winters result in prolonged tick activity and, consequently, an increased number of infected individuals (3). The appearance of ticks in cities resulting from rapidly progressing urbanization is also becoming an increasingly

#### WSTĘP

Choroby przenoszone przez kleszcze stanowią rosnący problem dla zdrowia ludzi, zwierząt domowych i hodowlanych na całym świecie (1,2). Obserwowany w ciągu ostatnich kilkunastu lat wzrost zachorowalności na choroby odkleszczowe przypisuje się wielu czynnikom, z czego najważniejsze są zmiany klimatyczne. Wysokie temperatury latem i krótkie, niezbyt mroźne zimy powodują wydłużenie okresu aktywności kleszczy, a co za tym idzie – zwiększoną liczbę zakaźnych osobników (3). Coraz częstszym zjawiskiem jest również pojawianie się kleszczy w miastach, wynika-

frequent phenomenon. As a result of this process, natural areas are transformed into cities, parks and recreational areas, forcing the animal species inhabited there to leave their habitat or adapt to new conditions. According to statistics, over 50% of the world's population lives in urban areas (2).

Ticks (order: *Ixodida*) are divided based on anatomy into hard (suborder: *Ixodina*) and soft ticks (suborder: *Argasina*) (4). Currently, about 19 species of ticks can be found in Poland, of which *Ixodes ricinus* (common tick) and *Dermacentor reticulatus* (ornate dog tick) are the most widespread (3).

*I. ricinus* can act as a vector for multiple pathogens. The most frequently detected are *Borrelia* spp., *Babesia* spp., *Rickettsia* spp. and *Anaplasma* spp. – depending on developmental stage, climate and the time of obtaining biological material, occurring in 4.94-25.7%; 0.7-12.3%; 3.7-10.2% and 1-4.94% of tested ticks, respectively (1,5-9).

A species less known in terms of the risk of infection with pathogens it transmits is *D. reticulatus*, known for feeding mainly on animals. In ticks belonging to this species, the presence of *Borrelia*, *Anaplasma*, *Rickettsia* and *Babesia* was detected in 1.6-2.7%; 1.1%; 0.09-43.8% and 2.5-4.18% of individuals, respectively (8, 10, 11).

The aim of the study is to present the issue of coinfections among *I. ricinus* and *D. reticulatus* ticks.

## COINFECTIONS

The occurrence of multiple pathogens in one organism: mixed infections (involving species of the same genus) and coinfections (involving species of different genera) is observed with increasing frequency (12,13). Infection caused by multiple pathogens may result in severe and unusual symptoms, prolonged duration of the disease and lack of response to treatment (11). Most coinfections involve two or three pathogens, in particular, *Borrelia burgdorferi* sensu lato (s.l.), *Anaplasma phagocytophilum* and *Babesia* spp. (15).

One of the most known coinfections of ticks and humans is the coinfection between *Borrelia burgdorferi* s.l. and *A. phagocytophilum* (16). Nyarko et al. (17) state that the coinfection of *A. phagocytophilum* causes an increased penetration of *B. burgdorferi* s.l. to human internal organs, contributing to a more severe clinical course of Lyme disease.

In the study of coinfections carried out by J. Dunaj et al. (18), 118 patients who underwent hospitalization after a tick bite, were tested. They showed nonspecific symptoms such as headache, fever, muscle pain, etc. In 5.1% of patients, the following coinfections were found: *Borrelia burgdorferi* s.l. with *A. phagocytophilum* and

jące z gwałtownie postępującej urbanizacji. W wyniku tego procesu obszary naturalne przeobrażane są w miasta, parki i tereny rekreacyjne, zmuszając zamieszkałe tam dotychczas gatunki zwierząt do opuszczenia swojego siedliska lub do zaadoptowania się do nowych warunków. Według statystyk ponad 50% światowej populacji ludzi zamieszkuje tereny miejskie (2).

Kleszcze (rząd: *Ixodida*) dzieli się w zależności od budowy na kleszcze twarde (podrząd: *Ixodina*) i miękkie (podrząd: *Argasina*) (4). W Polsce występuje 19 gatunków kleszczy, najbardziej rozpowszechnione są *Ixodes ricinus* (kleszcz pospolity) oraz *Dermacentor reticulatus* (kleszcz łąkowy) (3).

*I. ricinus* jest potencjalnym wektorem licznych drobnoustrojów. Najczęściej obserwowane są *Borrelia* spp., *Babesia* spp., *Rickettsia* spp. oraz *Anaplasma* spp. – zależnie od formy rozwojowej, klimatu oraz momentu pozyskania materiału biologicznego występujące w 4,94-25,7%; 0,7-12,3%; 3,7-10,2% oraz 1-4,94% badanych kleszczy (1,5-9).

Gatunkiem mniej poznanym pod kątem ryzyka infekcji przenoszonymi przez niego patogenami jest żerujący głównie na zwierzętach *D. reticulatus* – w kleszczach należących do tego gatunku wykryto obecność drobnoustrojów z rodzajów *Borrelia*, *Anaplasma*, *Rickettsia* oraz *Babesia* u odpowiednio 1,6-2,7%; 1,1%; 0,09-43,8% oraz 2,5-4,18% osobników (8,10,11).

Celem pracy jest przybliżenie zagadnienia koinfekcji wśród kleszczy z gatunków *Ixodes ricinus* i *Dermacentor reticulatus*.

## KOINFEKCJE

Problemem cieszącym się rosnącym zainteresowaniem są koinfekcje, czyli zakażenie jednego organizmu kilkoma patogenami należącymi do różnych rodzajów oraz infekcje mieszane oznaczające zakażenie jednego osobnika patogenami należącymi do jednego rodzaju (12,13). Zakażenie wieloma drobnoustrojami może powodować nasilone i nietypowe objawy, przedłużenie trwania choroby i brak odpowiedzi na leczenie (11). Większość koinfekcji dotyczy dwóch lub trzech patogenów, w szczególności *Borrelia burgdorferi* sensu lato, *Anaplasma phagocytophilum* i *Babesia* spp. (15).

Za jedną z najlepiej poznanych koinfekcji kleszczy i ludzi uważa się współzakażenie *B. burgdorferi* s.l. i *A. phagocytophilum* (16). Nyarko i wsp. (17) stwierdzają, że koinfekcja *A. phagocytophilum* powoduje zwiększoną penetrację *B. burgdorferi* s.l. do ludzkich narządów wewnętrznych, przyczyniając się do cięższego przebiegu klinicznego boreliozy.

W badaniach dotyczących koinfekcji przeprowadzonych przez J. Dunaj i wsp. (18), grupę badanych stanowiło 118 pacjentów poddanych hospitalizacji po pokłuciu przez kleszcza. Wykazywali oni niespecy-

*B. burgdorferi* s.l. with *Babesia* spp., which could be the reason for an unusual clinical course.

Johnson et al. (19) conducted a survey of 5357 patients suffering from Lyme disease. The study revealed that 53.3% of patients suffered from coinfection with another tick-borne pathogen. In 32.3% of them, the presence of *Babesia* spp. antibodies was detected, in 28.3% - *Bartonella* spp., 14.5% - *Ehrlichia* spp., 4.8% - *Anaplasma* spp., 5.6% - *Rickettsia* spp. and 0.8% - *Francisella tularensis*.

The occurrence of coinfection in ticks is dependent on many factors, including their geographical distribution, as well as existing endemic infections among ticks and their hosts (14). In order to better understand the mechanism of coinfection, studies are conducted on animal models (mice). This enables researchers to control the infection time, the number of introduced pathogens, as well as the genotype of both the host and the infectious agent (20). Such studies have been carried out on the coinfections of *B. burgdorferi* and *Babesia microti*. Results confirm that patients suffering from *B. burgdorferi* and *B. microti* coinfection show milder symptoms of babesiosis than those infected only with *B. microti* (15,20).

A different result was obtained by Krause et al. (21), who observed a more severe clinical course in the whole group of patients (n=26) with *B. burgdorferi* and *B. microti* coinfection. However, Knapp et al. (22) note that literature data on this type of coinfection are contradictory. Authors suggest that the problem occurs due to difficulties in obtaining a sufficiently large study group. They also indicate that in animal model studies, the difference in the immune response to coinfections among the mice and humans should be taken into consideration.

### Coinfections among *Ixodes ricinus* ticks

In Switzerland, Lommano et al. (13) examined 1476 *I. ricinus* ticks. Mixed infections were detected in 2.1% of ticks, with the most frequent being *Borrelia* and *Borrelia valaisiana*. Coinfections with pathogens of various genera were identified in 4.7% of examined individuals. These were mainly *Borrelia afzelii* and *Rickettsia helvetica* (0.9%) and *B. afzelii* and *Candidatus Neoehrlichia mikurensis* (0.8%). Authors explain that the detected pathogens share common hosts: *B. garinii* and *B. valaisiana* - birds, *B. afzelii*, *R. helvetica* and *Ca. Neoehrlichia mikurensis* - rodents. The study also showed a higher rate of coinfection among adult ticks (11%) than in nymphs (4.6%) (Table I).

A different result was obtained in Germany by May et al. (23), who collected 1400 ticks and detected more coinfections in nymphs (26.5%) than adults (19.1%). The presence of mixed infections with *Borrelia*

ficzne objawy, takie jak ból głowy, gorączka, ból mięśni i inne. U 5,1% z nich stwierdzono koinfekcje: *B. burgdorferi* s.l. i *A. phagocytophilum* oraz *B. burgdorferi* s.l. i *Babesia* spp., co mogło stanowić przyczynę nietypowego przebiegu klinicznego.

Johnson i wsp. (19) przeprowadzili badania ankietowe z udziałem 5 357 pacjentów chorujących na boreliozę. Wykazano, że u 53,3% chorych wykazano współzakażenie innym patogenem odkleszczowym. U 32,3% z nich wykryto obecność przeciwciał *Babesia* spp., u 28,3% - *Bartonella* spp., 14,5% - *Ehrlichia* spp., 4,8% - *Anaplasma* spp., 5,6% - *Rickettsia* spp. oraz 0,8% - *Francisella tularensis*.

Wystąpienie koinfekcji u kleszczy zależne jest od wielu czynników, między innymi ich rozmieszczenia geograficznego, a także istniejących endemicznych zakażeń wśród kleszczy i ich żywicieli (14). Aby dokładniej zrozumieć mechanizm działania koinfekcji, prowadzone są badania na modelach zwierzęcych (myszach). Umożliwia to kontrolę czasu infekcji, ilość wprowadzonych patogenów, a także genotyp zarówno myszy, jak i czynnika zakaźnego (20). Takie badania przeprowadzono między innymi odnośnie współwystępowania *B. burgdorferi* i *Babesia microti*. Potwierdzają one, że pacjenci z koinfekcją *B. burgdorferi* i *B. microti* wykazują łagodniejsze objawy babeszjozy niż ci zakażeni tylko *B. microti* (15,20).

Odmienne wyniki zostały uzyskane przez zespół Krause i wsp. (21), którzy zaobserwowali cięższy przebieg kliniczny w całej badanej grupie pacjentów (n=26) z koinfekcją *B. burgdorferi* i *B. microti*. Knapp i wsp. (22) zauważają jednak, że dane literaturowe na temat tego rodzaju koinfekcji są sprzeczne. W przypadku badań przypadków klinicznych autorzy sugerują, że problem wynika z trudności w uzyskaniu odpowiednio dużej grupy badanej. Wskazują również, że w badaniach na modelach zwierzęcych należy wziąć pod uwagę fakt, że odpowiedź immunologiczna myszy na koinfekcję może być inna niż u ludzi.

### Koinfekcje wśród kleszczy z gatunku *Ixodes ricinus*

Lommano i wsp. (13) w Szwajcarii przebadali 1476 kleszczy *I. ricinus*. Mieszane infekcje wykryto u 2.1% kleszczy i były to najczęściej *Borrelia garinii* i *Borrelia valaisiana*. Koinfekcje patogenami różnych rodzajów zidentyfikowano u 4.7% przebadanych osobników. Były to głównie *Borrelia afzelii* i *Rickettsia helvetica* (0.9%) oraz *B. afzelii* i *Candidatus Neoehrlichia mikurensis* (0.8%). Autorzy tłumaczą wyniki tym, że wykryte patogeny mają wspólnych żywicieli: *B. garinii* i *B. valaisiana* – ptaki, a *B. afzelii*, *R. helvetica* i *Ca. Neoehrlichia mikurensis* – gryzonie. W badaniu tym wykazano również większy odsetek występowania koinfekcji wśród kleszczy dorosłych (11%) niż u nimf (4.6%) (Tab. I).

Tabela I. Przykłady koinfekcji wśród kleszczy z gatunku *Ixodes ricinus*.Table I. Examples of coinfections among *Ixodes ricinus* ticks.

Type of coinfection	%	Reference
<i>R. helvetica</i> + <i>A. phagocytophilum</i>	4.8%	(1)
<i>Borrelia</i> spp. + <i>Babesia</i> spp.	3.6%	(5)
<i>B. burgdorferi</i> s.l. + <i>Ca. Neoehrlichia mikurensis</i>	2.3%	(6)
<i>C. burnetii</i> + <i>Borrelia</i> spp.	0.7%	(7)
<i>B. burgdorferi</i> s.l. + <i>A. phagocytophilum</i>	0.93%	(9)
<i>B. microti</i> + <i>A. phagocytophilum</i>	1.05%	
<i>B. afzelii</i> + <i>R. helvetica</i>	0.9%	(13)
<i>B. afzelii</i> + <i>Ca. Neoehrlichia mikurensis</i>	0.8%	
<i>B. burgdorferi</i> s.l. + <i>Rickettsia</i> spp.	22.9%	(23)
<i>B. burgdorferi</i> s.l. + <i>A. phagocytophilum</i>	1.7%	
<i>R. helvetica</i> + <i>A. phagocytophilum</i>	1.0%	(24)
<i>Borrelia</i> spp. + <i>Anaplasma</i> spp.	5.75%	(25)
<i>B. burgdorferi</i> s.l. + <i>A. phagocytophilum</i>	14.0%	(26)
<i>A. ovis</i> + <i>C. burnetii</i>	11.1%	(27)
<i>Borrelia</i> spp. + <i>Rickettsia</i> spp.	4.3%	(28)
<i>B. garinii</i> + <i>B. afzelii</i>	4.3%	(29)

pathogens was confirmed in 2.6% individuals. Double infections were observed in 2.3% ticks, triple infections – in 0.3%. *B. afzelii*, *B. garinii*, *Borrelia spielmanii*, *B. burgdorferi* sensu stricto (s.s.), *B. valaisiana*, *Borrelia bisettii* and *Borrelia lusitaniae* were identified in various combinations. Coinfections mainly concerned *B. burgdorferi* s.l. and *Rickettsia* spp. (22.9%). The coinfection of *B. burgdorferi* s.l. and *A. phagocytophilum* (1.7%) was also detected (Table I).

Research regarding *I. ricinus* ticks collected from urban and suburban areas conducted by *Welc-Falęciak* et al. (1) showed *R. helvetica* and *A. phagocytophilum* coinfection in 4.8% of tested individuals (Table I). Authors note that both cases of coinfection were detected in ticks collected in urban areas, which could suggest a higher risk of infection in such terrain. However, they note that such a hypothesis must be supported by further studies due to the small number of detected coinfections. *Rickettsia* spp. and *A. phagocytophilum* coinfection was also detected in 1.0% of ticks collected from Hanover, Germany (24) (Table I).

In another study from Germany, *Franke* et al. (5) tested 137 ticks collected from the environment or from birds and rodents. The presence of coinfection was found in 10.9% individuals, and the most common one was between *Borrelia* spp. and *Babesia* spp. (3.6%). The highest percentage of coinfection was found in ticks collected from birds (16.1%) (Table I). Authors indicate that birds are not only a significant reservoir of tick-borne pathogens, but they can also transmit ticks over long distances, increasing the chances of infection with various pathogens.

Odmieny wynik uzyskali na terenie Niemiec *May* i wsp. (23), którzy zgromadzili 1400 kleszczy i wykryli koinfekcje u większej liczby nimf (26,5%) niż u osobników dorosłych (19,1%). Obecność infekcji mieszanych patogenami z rodzaju *Borrelia* potwierdzono u 2,6% osobników. Infekcje podwójne wykazano u 2,3% kleszczy, a potrójne u 0,3%. W różnych kombinacjach wykryto *B. afzelii*, *B. garinii*, *Borrelia spielmanii*, *Borrelia burgdorferi* s.s., *B. valaisiana*, *Borrelia bisettii* i *Borrelia lusitaniae*. Koinfekcje dotyczyły głównie *B. burgdorferi* s.l. oraz *Rickettsia* spp. (22,9%). Ustalono również współzakażenie *B. burgdorferi* s.l. i *A. phagocytophilum* (1,7%) (Tab. I).

Badania *I. ricinus* zebranych z terenów miejskich i nieurbanizowanych autorstwa *Welc-Falęciak* i wsp. (1), wykazały koinfekcję *R. helvetica* i *A. phagocytophilum* na poziomie 4.8% (Tab. I). Autorzy zauważają, że oba przypadki koinfekcji zostały wykryte u kleszczy zebranych na terenie miejskim, co mogłoby sugerować większe ryzyko zakażenia w obszarach zurbanizowanych. Zwracają jednak uwagę, że taka hipoteza musi być poparta kolejnymi badaniami, ze względu na małą liczbę wykrytych współzakażeń. Koinfekcja *Rickettsia* spp. i *A. phagocytophilum* została również zidentyfikowana u 1.0% kleszczy zebranych z terenu miasta Hanover w Niemczech (24) (Tab. I).

W Niemczech, *Franke* i wsp. (5) przebadali 137 kleszczy zebranych ze środowiska oraz żerujących na ptakach i gryzoniach. Obecność koinfekcji wykazano u 10.9% osobników, a najczęstsze były *Borrelia* spp. i *Babesia* spp. (3.6%). Największy odsetek koinfekcji wykryto u kleszczy żerujących na ptakach (16.1%) (Tab. I). Autorzy wskazują, że ptaki stanowią nie tyl-

In France, *Reis et al.* (25) examined 227 ticks, of which 16.3% showed the presence of more than one pathogen. The most frequently observed coinfection in this study was between *Borrelia* spp. and *Anaplasma* spp. (5.75%) (Table I). *Reis et al.* believe that coinfections in *I. ricinus* ticks are very common due to the diversity of their hosts.

Coinfection of *B. burgdorferi* and *A. phagocytophilum* was also observed by *Roczeń-Karczmarz et al.* (26) in 14% of *I. ricinus* ticks collected in south-eastern Poland (Table I).

However, *Wójcik-Fatla et al.* (9) detected the same type of coinfection only in 0.93% of examined ticks. In addition, 1.05% of ticks were coinfecting with *A. phagocytophilum* and *B. microti*, resulting in a total coinfection rate of 2.16% (Table I). Authors note that various results obtained in diverse countries may result from differences in methodology, the number of tested ticks or the area of the collection.

Results obtained by *Glatz et al.* (6) revealed coinfections between *B. burgdorferi* s.l. and *Ca. Neoehrlichia mikurensis* in 2.3% of tested *I. ricinus* (Table I). These were the first studies that showed the presence of *Ca. Neoehrlichia mikurensis* in Austria.

In Serbia, *Tomanovic et al.* (27) examined 27 *I. ricinus* ticks and showed coinfections in 33% of them. Various pathogens from the genus *Anaplasma* spp., *Coxiella* spp., *Borrelia* spp. and *Rickettsia* spp. have been detected. Coinfection between *Borrelia* spp. and *Rickettsia* spp. was identified in 4.3% of *I. ricinus* ticks examined by *Milhano et al.* (28) in Portugal (Table I).

Coinfections with *Coxiella burnetii* were detected in research conducted in Germany. Interestingly, the presence of second and third pathogen was identified in 52.6% of infected ticks (1.9%). *Borrelia* spirochaetes were involved in 87.5% of double infections. One tick was simultaneously infected with *C. burnetii* and *B. microti*. Triple infection was identified in two nymphs and it was *C. burnetii*, *R. helvetica* and *B. burgdorferi* and *C. burnetii*, *B. burgdorferi* and *B. garinii*. Such diversity of detected coinfections may suggest interactions of transmissions cycles not only for *C. burnetii* and *B. burgdorferi*, but also *Babesia* spp. and *Rickettsia* spp. (7).

In Romania, *Raileanu et al.* (29) collected and examined 534 individuals. Coinfections with at least two pathogens were observed at 64.5% rate among all infected ticks. 50.6% of them were mixed infections, most often *B. garinii* and *B. afzelii* (4.3%) (Table I). It is known that these pathogens differ in the reservoir (*B. afzelii* - rodents, *B. garinii* - birds). *Raileanu et al.* explain that such coinfection may occur when immature ticks feed on different animals or when the host was previously infected with both

ko istotny rezerwuar patogenów odkleszczowych, ale również mogą przenosić kleszcze na dalekie dystanse, zwiększając szanse na zakażenie różnymi patogenami.

We Francji, *Reis i wsp.* (25) przebadali 227 kleszczy spośród których 16,3% wykazało obecność więcej niż jednego patogenu. Najczęściej stwierdzonym współzakażeniem w tym badaniu była *Borrelia* spp. i *Anaplasma* spp. (5,75%) (Tab. I). *Reis i wsp.* uważają, że koinfekcje u kleszczy *I. ricinus* jest bardzo powszechne ze względu na różnorodność ich żywicieli.

Koinfekcję *B. burgdorferi* i *A. phagocytophilum* zaobserwował również zespół badawczy *Roczeń-Karczmarz i wsp.* (26), który wykazał współzakażenie tymi dwoma patogenami u 14% osobników *I. ricinus* zebranych na terenie południowo-wschodniej Polski (Tab. I).

Natomiast *Wójcik-Fatla i wsp.* (9) ten sam rodzaj koinfekcji wykryli jedynie u 0,93% przebadanych kleszczy. Ponadto u 1,05% kleszczy obecne były *A. phagocytophilum* i *B. microti*, dając w sumie całkowity odsetek koinfekcji na poziomie 2,16% (Tab. I). Autorzy zauważają, że odmiennosc wyników uzyskanych w różnych państwach może wynikać z różnic w metodologii, liczbie badanych kleszczy, czy terenu zbioru.

Wyniki zespołu badawczego prowadzonego przez *Glatz i wsp.* (6) pokazały koinfekcje pomiędzy *B. burgdorferi* s.l. oraz *Ca. Neoehrlichia mikurensis* na poziomie 2,3% (Tab. I). Jednocześnie były to pierwsze badania, które wykazały obecność *Ca. Neoehrlichia mikurensis* w Austrii.

W Serbii, *Tomanovic i wsp.* (27) przebadali 27 kleszczy *I. ricinus* i wykazali koinfekcje w 33% z nich. Wykryto w różnych kombinacjach patogeny z rodzaju *Anaplasma* spp., *Coxiella* spp., *Borrelia* spp. i *Rickettsia* spp. Koinfekcja *Borrelia* spp. i *Rickettsia* spp. została zidentyfikowana u 4,3% kleszczy *I. ricinus* zbędanych przez *Milhano i wsp.* (28) w Portugalii (Tab. I).

Koinfekcje z udziałem *Coxiella burnetii* wykryto w badaniach przeprowadzonych w Niemczech. Co ciekawe, obecność drugiego i trzeciego patogenu stwierdzono u 52,6% kleszczy zakażonych (1.9%). W 87,5% koinfekcji podwójnych brały udział krętki z *Borrelia*. Jeden kleszcz zakażony był jednocześnie *C. burnetii* i *B. microti*. Koinfekcję potrójną zidentyfikowano u dwóch nimf i były to *C. burnetii*, *R. helvetica* i *B. burgdorferi* oraz *C. burnetii*, *B. burgdorferi* i *B. garinii*. Tak duża różnorodność wykrytych koinfekcji może sugerować interakcje transmisji nie tylko *C. burnetii* i *B. burgdorferi*, ale również *Babesia* spp. i *Rickettsia* spp. (7).

W Rumunii, zespół *Raileanu i wsp.* (29) zebrał i zbadał 534 osobniki. Zaobserwowano odsetek koinfekcji minimum dwoma patogenami na poziomie 64,5% wśród wszystkich zainfekowanych kleszczy.

pathogens. A triple mixed infection with *Borrelia* spp. spirochaetes was also identified in 7 specimens. Coinfections were observed in 20 ticks and the most common ones were *Borrelia* spp. and *Rickettsia* spp., as well as *Borrelia* spp. and *Ca. Neoehrlichia mikurensis*. Coinfections of *Borrelia* spp. with *Bartonella* spp. and *Borrelia* spp. with *Anaplasma* spp. have also been identified (Table I).

#### Coinfections among *Dermacentor reticulatus* ticks

In their study conducted in 2017, Zajac et al. (11) collected 634 ticks from the genus *D. reticulatus* from eastern Poland. Among these samples, 54 (8.5%) showed the presence of two pathogens. The most frequent coinfections (4.26%) concerned *Rickettsia raoultii* and Tick-Borne Encephalitis Virus (TBEV). Moreover, coinfections of TBEV and *A. phagocytophilum* (0.32%), *B. burgdorferi* s.l. (0.16%) and *Toxoplasma gondii* (0.47%) were also detected. *R. raoultii* was identified in combinations with *A. phagocytophilum* (0.63%), *B. burgdorferi* s.l. (1.10%) and *Babesia* spp. (0.47%) (Tab. II).

Different coinfection rate of TBEV and *R. raoultii* (0.23%) was detected in studies conducted by Mierzejewska et al. (10). Additionally, researchers identified the *R. raoultii* and *Babesia canis* coinfection in 2.05% of ticks (Table II). Interestingly, comparing geographic distribution of infected ticks, all coinfection cases were detected among individuals collected on the eastern side of Vistula.

*R. raoultii* and *B. canis* (5.3%) coinfection was also detected in studies on *D. reticulatus* ticks collected from dogs in Romania (30). However, it should be remembered that in case of research on ticks collected from animals, detected pathogens may come from both the previous developmental stages and the blood of the current host.

50,6% z nich stanowiło infekcje mieszane, najczęściej *B. garinii* i *B. afzelii* (4.3%) (Tab. I). Wiadomo, że patogeny te różnią się rezerwuarem (*B. afzelii* – gryzoni, *B. garinii* – ptaki). Raileanu i wsp. tłumaczą, że taka koinfekcja może zaistnieć w sytuacji, kiedy niedojrzałe kleszcze żerują na różnych zwierzętach lub kiedy żywiciel został wcześniej zakażony obydwoma patogenami. Zidentyfikowano również potrójną infekcję mieszaną krętkami *Borrelia* ssp. u 7 osobników. Koinfekcje zaobserwowano u 20 kleszczy i najczęściej była *Borrelia* spp. i *Rickettsia* spp. (7/20), a także *Borrelia* spp. i *Ca. Neoehrlichia mikurensis* (7/20). Zidentyfikowano również współzakażenie *Borrelia* spp. i *Bartonella* spp. (5/20) oraz *Borrelia* spp. i *Anaplasma* spp. (1/20) (Tab. I).

#### Koinfekcje wśród kleszczy z gatunku *Dermacentor reticulatus*

W swoich badaniach przeprowadzonych w 2017 roku Zajac i wsp. (11) zgromadzili z terenów wschodniej Polski 634 kleszcze z gatunku *D. reticulatus*. Wśród tych próbek, w 54 (8,5%) wykazano obecność dwóch patogenów. Najczęstsze koinfekcje (4,26%) dotyczyły *R. raoultii* i wirusa kleszczowego zapalenia mózgu (Tick-Borne Encephalitis Virus – TBEV). Wykryto również współzakażenie TBEV i *A. phagocytophilum* (0,32%), *B. burgdorferi* s.l. (0,16%), i *Toxoplasma gondii* (0,47%). *R. raoultii* została zidentyfikowana w kombinacji z *A. phagocytophilum* (0,63%), *B. burgdorferi* s.l. (1,10%) i *Babesia* spp. (0,47%) (Tab. II).

Odmienny odsetek koinfekcji TBEV i *R. raoultii* (0,23%) został wykryty w badaniach kleszczy *D. reticulatus* przez Mierzejewska i wsp. (10). Badacze zidentyfikowali również koinfekcję *R. raoultii* i *B. canis* u 2,05% kleszczy (Tabela II). Co ciekawe, porównując geograficzne rozmieszczenie zakażonych kleszczy, wszystkie przypadki koinfekcji zostały wykryte

Table II. Examples of coinfections among *Dermacentor reticulatus* ticks

Tabela II. Przykłady koinfekcji wśród kleszczy z gatunku *Dermacentor reticulatus*

Type of coinfection	%	Reference
<i>Borrelia</i> spp. + <i>Rickettsia</i> spp.	1.3%	(8)
TBEV + <i>R. raoultii</i>	0.23%	(10)
<i>R. raoultii</i> + <i>B. canis</i>	2.05%	
TBEV + <i>R. raoultii</i>	4.26%	(11)
TBEV + <i>A. phagocytophilum</i>	0.32%	
TBEV + <i>B. burgdorferi</i> s.l.	0.16%	
<i>R. raoultii</i> + <i>B. burgdorferi</i> s.l.	1.10%	
<i>R. raoultii</i> + <i>A. phagocytophilum</i>	0.63%	
<i>R. raoultii</i> + <i>Babesia</i> spp.	0.47%	
<i>B. burgdorferi</i> s.l. + <i>A. phagocytophilum</i>	12.24%	(26)
<i>Francisella</i> spp. + <i>B. canis</i>	17.0%	(27)
<i>Francisella</i> spp. + <i>C. burnetii</i>	1.9%	
<i>R. raoultii</i> + <i>B. canis</i>	5.3%	(30)

Among 53 *D. reticulatus* ticks examined by Tomanovic et al. (27), coinfections were detected in 18.9% of them. Most of them concerned *Francisella* spp. and *B. canis* (17.0%), in one case it was *Francisella* spp. and *C. burnetii* (Table II). According to the authors, such results may indicate that the presence of *Francisella* spp. may facilitate the spread of *B. canis*, but this requires further research.

Research on *D. reticulatus* conducted by Reye et al. (8) showed presence of *Borrelia* spp. and *Rickettsia* spp. coinfection at 1.3% rate (Tab. II). The authors note that diversity of detected pathogens was significantly lower among *D. reticulatus* ticks, comparing to simultaneously studied *I. ricinus*. As they suggest, it could mean that *D. reticulatus* is a less competent vector. Zajac et al. (11) indicate that it could be related to the development cycle of *D. reticulatus*. Short period of activity of nymphs and the ability of adults to survive without a host for up to 3-4 years significantly limit the capability of this species of ticks as a vector.

In another study, conducted in south-eastern Poland, 237 ticks of the genus *D. reticulatus* were collected by Roczeń-Karczmarz et al. (26). In 12.24% of individuals the coinfection of *B. burgdorferi* and *A. phagocytophilum* was identified (Tab. II). As the authors note, so far there have been few literature reports on *D. reticulatus* as the vector of *A. phagocytophilum*. However, in this study, both the percentage of single and double infections were comparable in ticks of the genus *I. ricinus* and *D. reticulatus*, which could result from the fact that ticks were collected from urban areas, where the hosts live in higher density.

As noted by Zajac et al. (11), the phenomenon of coinfection was best studied in ticks of the genus *Ixodes*, although it has been proven that *Dermacentor* is also a vector of many pathogens. The number of research and literature data on this topic is still scarce.

#### SUMMARY

Collected literature data show that coinfections among both *Ixodes* and *Dermacentor* ticks are clinically significant. Coinfection with two or more tick-borne pathogens may result in the appearance of severe and unusual symptoms, prolonged duration of the disease and ineffectiveness of pharmacotherapy. It is worth noting, that there is inconsistency in literature data presented in individual publications, which may result from different geographical distribution and various spectra of the analyzed microorganisms. Diverse coinfection rates in the tested individuals may be caused by differences in sensitivity of the methods used in the study or the number of tested subjects.

The phenomenon of coinfections requires further research and should be routinely taken into account in the diagnosis and treatment of tick-borne diseases.

wśród osobników zebranych po wschodniej stronie Wisły. Koinfekcję *R. raoultii* i *Babesia canis* (5,3%) wykryto również w badaniach kleszczy *D. reticulatus* zebranych z psów na terenie Rumunii (30). Należy jednak pamiętać, że w przypadku badań kleszczy zebranych ze zwierząt, wykrywane patogeny mogą pochodzić zarówno z poprzednich stadiów rozwojowych, jak i z krwi aktualnego żywiciela.

Wśród 53 kleszczy *D. reticulatus* zbadanych przez Tomanovic i wsp. (27) koinfekcje wykryto u 18,9% z nich. Większość z nich dotyczyła *Francisella* spp. i *Babesia canis* (17,0%), w jednym przypadku była to *Francisella* spp. i *C. burnetii* (Tab. II). Według autorów takie wyniki mogą oznaczać, że obecność *Francisella* spp. może ułatwiać rozprzestrzenianie *B. canis*, jednak wymaga to dalszych badań.

Badania *D. reticulatus* autorstwa Reye i wsp. (8) wykazały obecność koinfekcji *Borrelia* spp. i *Rickettsia* spp. na poziomie 1,3% (Tab. II). Autorzy zwracają uwagę, że różnorodność wykrytych przez nich patogenów jest znacząco niższa wśród kleszczy *D. reticulatus*, w porównaniu do jednocześnie badanych *I. ricinus*. Sugerują, że może to oznaczać, iż *D. reticulatus* jest mniej kompetentnym wektorem. Zajac i wsp. (11) wskazują, że może to mieć związek z cyklem rozwojowym *D. reticulatus*. Krótki okres aktywności nimf oraz zdolność przetrwania osobników dorosłych bez żywiciela nawet 3-4 lata, w istotny sposób ograniczają możliwości tego gatunku kleszczy jako wektora.

W badaniach przeprowadzonych w południowo-wschodniej Polsce przez Roczeń-Karczmarz i wsp. (26) zebrano 237 kleszczy z gatunku *D. reticulatus*. U 12,24% osobników zidentyfikowano koinfekcję *B. burgdorferi* i *A. phagocytophilum* (Tab. II). Jak zauważają autorzy, jak do tej pory pojawiło się niewiele doniesień literaturowych na temat *D. reticulatus* jako wektora *A. phagocytophilum*. Jednak w tym badaniu zarówno odsetek pojedynczych, jak i podwójnych infekcji był porównywalny u kleszczy z gatunków *I. ricinus* i *D. reticulatus*, co może wynikać z faktu, że kleszcze zostały zebrane z terenów miejskich, gdzie żywiele występują w większym zagęszczeniu.

Jak zaznaczają Zajac i wsp. (11), zjawisko koinfekcji zostało najlepiej przebadane w przypadku kleszczy z rodzaju *Ixodes*, mimo że udowodniono, iż *Dermacentor* również jest wektorem wielu patogenów. Liczba badań i danych literaturowych na ten temat jest jak do tej pory niewielka.

#### PODSUMOWANIE

Zebrane dane z piśmiennictwa wskazują na istotność kliniczną występowania koinfekcji w obrębie rodzajów *Ixodes* oraz *Dermacentor*. Współzakażenie pacjentów dwoma lub więcej drobnoustrojami może

## REFERENCES

1. Welc-Falęciak R, Kowalec M, Karbowski G, i in. Rickettsiaceae and Anaplasmataceae infections in *Ixodes ricinus* ticks from urban and natural forested areas of Poland. *Parasit Vectors* 2014;7.
2. Rizzoli A, Silaghi C, Obiegala A, i in. *Ixodes ricinus* and its transmitted pathogens in urban and peri-urban areas in Europe: new hazards and relevance for public health. *Front Public Heal* 2014;2:1–26.
3. Kmiecik W, Ciszewski M, Szewczyk EM. Tick-borne diseases in Poland: Prevalence and difficulties in diagnostics. *Med Pr* 2016;67:73–87.
4. Nowak-Chmura M. Fauna kleszczy (Ixodida) Europy Środkowej. Wyd 1. Kraków: Wydawnictwo Naukowe UP; 2013: 23-26.
5. Franke J, Fritsch J, Tomaso H, i in. Coexistence of pathogens in host-seeking and feeding ticks within a single natural habitat in central Germany. *Appl Environ Microbiol* 2010;76:6829–36.
6. Glatz M, Müllegger RR, Maurer F, i in. Detection of *Candidatus Neorhlichia mikurensis*, *Borrelia burgdorferi* sensu lato genospecies and *Anaplasma phagocytophilum* in a tick population from Austria. *Ticks Tick Borne Dis* 2014;5:139–44.
7. Hildebrandt A, Straube E, Neubauer H, i in. *Coxiella burnetii* and coinfections in *Ixodes ricinus* ticks in Central Germany. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2011;11(8):1205-7.
8. Reye AL, Stegny V, Mishaeva NP, i in. Prevalence of tick-borne pathogens in *Ixodes ricinus* and *Dermacentor reticulatus* ticks from different geographical locations in Belarus. *PLoS One* 2013;8:14–6.
9. Wójcik-Fatla A, Szymańska J, Wdowiak L, i in. Coincidence of three pathogens (*Borrelia burgdorferi* sensu lato, *Anaplasma phagocytophilum* and *Babesia microti*) in *Ixodes ricinus* ticks in the Lublin macroregion. *Ann Agric Environ Med* 2009;16:151–8.
10. Mierzejewska EJ, Pawełczyk A, Radkowski M, i in. Pathogens vectored by the tick, *Dermacentor reticulatus*, in endemic regions and zones of expansion in Poland. *Parasites and Vectors* 2015;8.
11. Zajac V, Wójcik-Fatla A, Sawczyn A, i in. Prevalence of infections and co-infections with 6 pathogens in *Dermacentor reticulatus* ticks collected in eastern Poland. *Ann Agric Environ Med* 2017;24:26–32.
12. Wójcik-Fatla A, Zajac V, Sawczyn A, i in. Infections and mixed infections with the selected species of *Borrelia burgdorferi* sensu lato complex in *Ixodes ricinus* ticks collected in eastern Poland: a significant increase in the course of 5 years. *Exp Appl Acarol* 2016;68:197–212.
13. Lommano E, Bertaiola L, Dupasquier C, i in. Infections and coinfections of questing *Ixodes ricinus* ticks by emerging zoonotic pathogens in Western Switzerland. *Appl Environ Microbiol* 2012;78:4606–12.
14. Diaz JH. Tickborne coinfections in the United States. *J La State Med Soc* 2016;168.
15. Diuk-Wasser MA, Vannier E, Krause PJ. Coinfection by *Ixodes* tick-borne pathogens: ecological, epidemiological, and clinical consequences. *Trends Parasitol* 2016;32:30–42.
16. Cabezas-Cruz A, Vayssier-Taussat M, Greub G. Tick-borne pathogen detection: what's new? *Microbes Infect* 2018;20:441–4.
17. Nyarko E, Grab DJ, Dumler JS. *Anaplasma phagocytophilum*-infected neutrophils enhance transmigration of *Borrelia burgdorferi* across the human blood brain barrier in vitro. *Int J Parasitol* 2006;36:601–5.
18. Dunaj J, Moniuszko-Malinowska A, Święcicka I, i in. Tick-borne infections and co-infections in patients with non-specific symptoms in Poland: tick-borne infections and co-infections. *Adv Med Sci* 2018;63:167–72.
19. Johnson L, Wilcox S, Mankoff J, i in. Severity of chronic Lyme disease compared to other chronic conditions: a quality of life survey. *PeerJ* 2014;2:e322.
20. Bhanot P, Parveen N. Investigating disease severity in an animal model of concurrent babesiosis and Lyme disease. *Int J Parasitol* 2018.
21. Krause PJ, Telford SR 3rd, Spielman A, i in. Concurrent Lyme disease and babesiosis. Evidence for increased severity and duration of illness. *JAMA* 1996;275:1657–60.
22. Knapp KL, Rice NA. Human coinfection with *Borrelia burgdorferi* and *Babesia microti* in the United States. *J Parasitol Res* 2015;2015.
23. May K, Jordan D, Fingerle V, i in. *Borrelia burgdorferi* sensu lato and co-infections with *Anaplasma phagocytophilum* and *Rickettsia* spp. powodować występowanie nasilonych i nietypowych objawów, przedłużenie czasu choroby oraz nieskuteczność farmakoterapii. Warte zauważenia jest nie-spójność danych przedstawionych w poszczególnych publikacjach, której powodem może być odmienne rozmieszczenie geograficzne oraz różne spektra analizowanych drobnoustrojów. Zmienne odsetki koinfekcji w badanych osobnikach mogą być spowodowane stosowaniem metod o różnej czułości oraz odmienną liczbą zbadanych osobników. Zjawisko koinfekcji wymaga dalszych badań oraz powinno być rutynowo brane pod uwagę w diagnostyce i leczeniu chorób odkleszczowych.



- in *Ixodes ricinus* in Hamburg, Germany. *Med Vet Entomol* 2015;29:425–9.
24. Tappe J, Strube C. *Anaplasma phagocytophilum* and *Rickettsia* spp. infections in hard ticks (*Ixodes ricinus*) in the city of Hanover (Germany): revisited. *Ticks Tick Borne Dis*. 2013;4, 432–438.
25. Reis C, Cote M, Paul REL, i in. Questing ticks in suburban forest are infected by at least six tick-borne pathogens. *Vector-Borne Zoonotic Dis* 2011;11:907–16.
26. Roczeń-Karczmarz M, Dudko P, Demkowska-Kutrzepa M, i in. Comparison of the occurrence of tick-borne diseases in ticks collected from vegetation and animals in the same area. *Med Weter* 2018;74(8):484-488.
27. Tomanovic S, Chochlakakis D, Radulovic Z, i in. Analysis of pathogen co-occurrence in host-seeking adult hard ticks from Serbia. *Exp Appl Acarol* 2013;59:367–76.
28. Milhano N, Carvalho IL, Alves AS, i in. Coinfections of *Rickettsia slovaca* and *Rickettsia helvetica* with *Borrelia lusitaniae* in ticks collected in a Safari Park, Portugal. *Ticks Tick Borne Dis* 2010;1:172–7.
29. Raileanu C, Moutailler S, Pavel I, i in. *Borrelia* diversity and co-infection with other tick borne pathogens in ticks. *Front Cell Infect Microbiol* 2017;7:1–12.
30. Ionita M, Silaghi C, Mitrea IL, i in. Molecular detection of *Rickettsia conorii* and other zoonotic spotted fever group rickettsiae in ticks, Romania. *Ticks Tick Borne Dis* 2016;7:150–3.

Received: 17.07.2020 r.

Otrzymano:17.07.2020 r.

Accepted for publication: 30.10.2020 r.

Zaakceptowano do publikacji: 30.10.2020 r.

**Address for correspondence:**

**Adres do korespondencji:**

Anna Grochowska

Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

Klinika Chorób Zakaźnych i Neuroinfekcji

e-mail.matosek.ania@gmail.com

tel.509-973 619