

Adam Kaczmarek^{1,2}, Aleksandra Matras², Agata Stasiak², Tomasz Chmielewski²,
Marta Stanek³, Ruslan Salamatin^{1,4}

ASYMPTOMATIC CARRIER OF *BABESIA* SPP. AMONG BLOOD DONORS – EPIDEMIOLOGICAL SITUATION IN POLAND

BEZOBJAWOWE ZARAŻENIE *BABESIA* SPP. WŚRÓD DAWCÓW KRWI – SYTUACJA EPIDEMIOLOGICZNA W POLSCE

¹Department of Microbiology and Parasitology, Faculty of Medicine. Collegium Medicum, Cardinal Stefan Wyszyński University in Warsaw, Warsaw, Poland

Zakład Mikrobiologii i Parazytologii, Wydział Medyczny. Collegium Medicum, Uniwersytet Kardynała Stefana Wyszyńskiego w Warszawie

²Department of Parasitology and Vector-Borne Diseases, National Institute of Public Health, National Institute of Hygiene – National Research Institute, Warsaw, Poland

Zakład Parazytologii i Chorób Przenoszonych Przez Wektory, Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego PZH – Państwowy Instytut Badawczy

³Regional Blood Donation and Blood Treatment Center in Wrocław, Wrocław, Poland
Regionalne Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa we Wrocławiu

⁴Department of General Biology and Parasitology, Medical University of Warsaw, Warsaw, Poland
Zakład Biologii Ogólnej i Parazytologii, Warszawski Uniwersytet Medyczny

ABSTRACT

INTRODUCTION. Babesiosis is caused by one of several *Babesia* species. In Europe, *B. divergens* predominates in humans, while in North America it is *B. microti*. *Babesia* spp. infection in donors with a disease-free course of infection can be a major problem in blood recipients. A recipient with impaired immune system functions is at risk of full-blown development of the disease. In Poland and in most countries of the world, blood donors are not routinely tested for *Babesia* spp. infection. In our previous study, we detected *Babesia venatorum* DNA in blood donors, which was the reason for expanding the study to include more test subjects.

OBJECTIVE. The aim of this study was an attempt at estimating the prevalence of asymptomatic infection with *Babesia* spp. among blood donors from the Regional Centres for Blood Donation and Blood Treatment in Warsaw and Wrocław.

MATERIALS AND METHODS. The material for the study was whole blood from regular blood donors from two Regional Centre for Blood Donation and Blood Treatment in Warsaw and Wrocław. Whole blood samples from 1,067 blood donors collected in June–July 2022 were analyzed. Blood collected directly from the donor during the blood donation procedure. All persons qualified by a doctor as a donor were selected for the study, regardless of age and sex. All subjects were informed in detail about the purpose of the study and gave their written consent. Isolation was made by using the Chelex 100 chelating resin, followed by the studying of the genetic material using the qPCR reaction. The results were analysed based on the amplification curve.

RESULTS. The protozoan *Babesia* spp. was not detected in the blood samples.

CONCLUSIONS. The risk of blood-borne babesiosis is extremely low in Poland.

Keywords: *Babesia* spp., blood donors, transfusion transmitted babesiosis, TTB

STRESZCZENIE

WSTĘP. Babeszjoza wywoływana jest przez jeden z kilku gatunków *Babesia*. W Europie u ludzi dominuje głównie *B. divergens*, natomiast w Ameryce Północnej jest to *B. microti*. Zakażenie *Babesia* spp. u dawców, u których przebieg zakażenia jest bezobjawowy – może stanowić duży problem u biorców krwi. Biorca z upośle-

dzonymi funkcjami układu odpornościowego jest narażony na pełnoobjawowy rozwój tej choroby. W Polsce oraz w większości krajów świata dawcy krwi nie są rutynowo badani w kierunku zarażenia przez *Babesia* spp. W naszych poprzednich badaniach wykryliśmy DNA *Babesia venatorum* we krwi dawcy krwi, co stanowiło powód rozszerzenia badań o większą ilość badanych osób.

CEL PRACY. Celem pracy była próba oszacowania częstości występowania bezobjawowego zarażenia przez *Babesia* spp. wśród dawców krwi z Regionalnych Centrów Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa w Warszawie i we Wrocławiu.

MATERIAŁ I METODY. Materiał do badań stanowiła krew pełna pochodząca od regularnych krwiodawców z dwóch Regionalnych Centrów Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa w Warszawie i Wrocławiu. Analizie poddano próbki krwi pełnej od 1067 dawców krwi pobranych w czerwcu–lipcu 2022 r. Krew pobrana bezpośrednio od dawcy podczas procedury donacji krwi. Do badania wybierano wszystkie osoby zakwalifikowane przez lekarza jako dawca bez względu na wiek oraz płeć. Wszystkie badane osoby zostały szczegółowo poinformowane o celu badania i wyraziły na nie pisemną zgodę. Do badań wykorzystano metodę izolacji z użyciem żywicy chelatującej Chelex 100, a następnie przeprowadzono badanie materiału genetycznego za pomocą reakcji qPCR. Wyniki analizowano na podstawie krzywej amplifikacji.

WYNIKI. W badanych próbkach krwi nie wykryto DNA *Babesia* spp.

WNIOSKI. Ryzyko transmisji babeszjozy na drodze transfuzji krwi w Polsce jest niskie.

Słowa kluczowe: *Babesia* spp., blood donors, transfusion transmitted babesiosis, TTB

INTRODUCTION

Babesiosis in humans is caused by several out of approximately a hundred known species in the genus *Babesia*. In North America, the most common species affecting humans is *Babesia microti*, which is less common in Europe. Another species of the genus – *B. divergens* – is found more frequently in humans in Europe (1). Babesiosis is known to be caused not only through tick-borne transmission – the infection can also occur via a non-vector route during blood transfusion – TTB (transfusion transmitted babesiosis) and through the placenta (2).

In vitro studies have shown that *B. microti* survives for at least 21 days in erythrocytes with anticoagulant (EDTA) stored at 4°C. It was experimentally found that a small number of infected erythrocytes is needed to infect another host by transfusion of red blood cell concentrate. In an experiment on hamsters, when given 30 infected erythrocytes, 40% of the animals became infected. When the dose of infected cells was increased tenfold, 100% of the test animals became infected (3). Blood transfusion from donors who have not been diagnosed with babesiosis can be particularly dangerous for recipients with impaired immune system functions. This poses a major problem from the point of view of blood donation, particularly relevant in areas endemic for babesiosis (4).

In the United States of America, the estimated prevalence of asymptomatic infections is 20% among adults. Although infection in humans can be asymptomatic, cases of severe course with multi-organ failure are known. The symptomatic disease in patients without immune system dysfunction is manifested by fever, chills, flu-like symptoms, excessive perspiration, malaise, general fatigue and headaches. Much less

WSTĘP

Babeszjoza u ludzi wywoływana jest przez kilka, z około stu znanych, gatunków z rodzaju *Babesia*. W Ameryce Północnej najczęściej występującym gatunkiem u ludzi jest *Babesia microti*, która w Europie u ludzi występuje rzadziej. Częściej u ludzi w Europie odnotowuje się inny gatunek z tego rodzaju – *B. divergens* (1). Wiadomo, że babeszjoza może być wywołana nie tylko po przeniesieniu pierwotniaka podczas żerowania kleszcza, do zarażenia może dojść również drogą pozawektorową podczas transfuzji krwi – TTB (*ang.* Transfusion transmitted babesiosis) oraz przez łożysko (2).

W badaniach *in vitro* wykazano, że *B. microti* przeżywa co najmniej 21 dni w erytrocytach z dodatkiem antykoagulantu (EDTA) przechowywanych w temperaturze 4°C. Na drodze eksperymentu wykazano, że niewielka ilość zarażonych erytrocytów jest potrzebna, aby zarazić kolejnego żywiciela na drodze transfuzji koncentratu krwinek czerwonych. W eksperymencie na chomikach podanie im 30 zarażonych erytrocytów powodowało zarażenie 40% zwierząt. Przy dziesięciokrotnym zwiększeniu dawki zakażonych komórek zarażeniu ulegało 100% badanych zwierząt (3). Transfuzja krwi od dawców, u których nie zdiagnozowano babeszjozy może być szczególnie niebezpieczna dla biorcy z upośledzonymi funkcjami układu odpornościowego. Stanowi to duży problem z punktu widzenia krwiodawstwa szczególnie istotny na obszarach endemicznego występowania babeszjozy (4).

Szacuje się, że w Stanach Zjednoczonych Ameryki częstość bezobjawowych zarażeń wynosi 20% wśród dorosłych. Mimo, że zarażenie u ludzi może przebiegać bezobjawowo, znane są przypadki ciężkiego przebiegu z niewydolnością wielonarządową. Objawowy

common are cough, joint pain, sore throat, abdominal pain, nausea, emotional instability and depressive states. Hepatosplenomegaly, jaundice, retinopathy, redness of the throat may also occur. Very rarely, there is a rash and erythema indicating concurrent infection with bacteria from the genus *Borrelia* (5).

In the United States of America, 256 cases of transfusion of *Babesia* spp. infected blood components were reported, resulting in 165 recipients becoming infected. Importantly, 19% of infected blood recipients died from complications of babesiosis (6). Similar studies have also been conducted in Canada and China.

In Poland, as in most countries around the world, blood donors are not tested for *Babesia* spp. infection, which means there is certain likelihood of therapeutic use of blood and blood products from asymptomatic carriers of this pathogen. In Poland, there are several legal acts indicating the use of a procedure when babesiosis is detected in a blood donor. They include the Announcement of the Minister of Health dated 30 March 2021, which lists *B. microti* as an agent subject to notification in case it is detected in the donor or the recipient is found to be infected through blood transfusion (7). This act does not mention other species of the genus *Babesia*.

Because we detected DNA of *Babesia* sp. „venatorum” in a sample taken from a blood donor (material from 2018, 200 samples were tested) (8), a decision was made to test a larger group of blood donors.

OBJECTIVE

The aim of this study was an attempt at estimating the prevalence of asymptomatic infection with *Babesia* spp. among blood donors from the Regional Centres for Blood Donation and Blood Treatment in Warsaw and Wrocław and assessing the risk of using infected blood in blood donations.

MATERIAL AND METHODS

The study material consisted of whole blood collected on an anticoagulant (EDTA) from 1,067 regular blood donors from the two Regional Centres for Blood Donation and Blood Treatment. The study included all persons qualified by a physician as a donor, regardless of age and sex. All the study subjects were informed in detail of the aim of the study and expressed their written consent.

The Bio-Rad Chelex 100 chelating resin was used for DNA isolation. Chelex 100 is a resin featuring a high affinity for multivalent metal ions. During DNA isolation, it binds and removes ions to prevent DNA damage and reduces DNA polymerase inhibitors.

przebieg u pacjentów bez dysfunkcji układu odpornościowego manifestuje się wystąpieniem gorączki, dreszczy, objawów grypopodobnych, potów, złego samopoczucia, ogólnego zmęczenia i bólów głowy. Znacznie rzadziej pojawia się kaszel, bóle stawów, bóle gardła, bóle brzucha, nudności, chwiejność emocjonalna i stany depresyjne. Może również wystąpić hepatosplenomegalia, żółtaczka, retinopatia, zaczerwienienie gardła. Bardzo rzadko występuje wysypka i rumień wskazujący na równoczesne zakażenie przez bakterie z rodzaju *Borrelia* (5).

W Stanach Zjednoczonych Ameryki odnotowano 256 przypadków przetoczenia zarażonych przez *Babesia* spp. składników krwi, na skutek czego 165 biorców uległo zarażeniu. Niezwykle ważnym jest fakt, że 19% zarażonych biorców krwi zmarło na skutek powikłań babeszjozy (6). Podobne badania prowadzone były również w Kanadzie i Chinach.

W Polsce tak jak w większości krajów na świecie dawcy krwi nie są badani w kierunku zarażenia przez *Babesia* spp. Istnieje zatem pewne prawdopodobieństwo wykorzystania w terapii preparatów krwi i krwiopochodnych pochodzących od bezobjawowych nosicieli tego patogenu. W Polsce obowiązuje kilka aktów prawnych, wskazujących na zastosowanie procedury w przypadku wykrycia babeszjozy u dawcy krwi. Jednym z nich jest Obwieszczenie Ministra Zdrowia z dnia 30 marca 2021 roku, w którym wymienia *B. microti*, jako czynnik podlegający zgłoszeniu w przypadku wykrycia go u dawcy lub stwierdzenia zakażenia biorcy na drodze transfuzji krwi (7). Akt ten nie wspomina o innych gatunkach z rodzaju *Babesia*.

W związku z wykryciem przez nas DNA *Babesia* spp. „venatorum” w próbce pochodzącej od dawcy krwi (materiał z 2018 roku, zbadano 200 próbek) (8), postanowiliśmy zbadać większą grupę dawców krwi.

CEL PRACY

Celem pracy była próba oszacowania częstości występowania bezobjawowego zarażenia przez *Babesia* sp. wśród dawców krwi z Regionalnych Centrów Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa w Warszawie i we Wrocławiu oraz ocena ryzyka wykorzystania zarażonej krwi w krwiolecznictwie

MATERIAŁ I METODY

Materiał do badań stanowiła krew pełna pobrana na antykoagulant (EDTA), pochodząca od 1067 regularnych dawców krwi z dwóch Regionalnych Centrów Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa. Do badania wybierano wszystkie osoby zakwalifikowane przez lekarza jako dawca bez względu na wiek oraz płeć. Wszystkie

The isolation procedure was carried out as follows. To a sterile Eppendorf tube (1.5 mL), 200 μ L of a 20% suspension of Chelex 100 in sterile distilled water, 20 μ L of proteinase K and 10 μ L of tested blood were added. The mixture was incubated at 56°C for 2.5 h, then at 96°C for 15 minutes; after incubation, the sample was intensively vortexed and then centrifuged for 10 minutes at a relative centrifugal force of 12,000 \times g. The isolated material was stored at a refrigerator temperature for further analysis. A fragment of the small subunit rRNA gene was amplified by qPCR according to the method developed by Rożej-Bielicka et al. (9). Each reaction was performed in duplicate. Sterile water was used as a negative control, while DNA samples of *B. microti* (an isolate derived from the blood of an infected person), *B. divergens* (an isolate derived from a tick) and *B. venatorum* (an isolate derived from an infected person) constituted positive control. The confidence interval for the fraction of infected samples was calculated based on the Wilson method (10) according to the formula:

$$CI_w = \frac{m + \frac{t^2}{2}}{n + t^2} \pm t \frac{\sqrt{\frac{m(n-m)}{n} + \frac{t^2}{4}}}{n + t^2}$$

where n – the number of samples tested, m – the number of positive samples, t – the parameter depending on the confidence level (for a confidence level of 95%, the parameter is 1.96).

A favourable opinion of the Bioethics Committee of the National Institute of Public Health PZH – National Research Institute, reference 4/2022, dated 1 June 2022, was given for conducting the study with the participation of blood donors.

RESULTS

Babesia spp. DNA was not detected in any of the 1,067 samples tested (confidence interval 0-0.0037). Based on the calculated confidence interval, we can therefore conclude that, in the donor population studied, the percentage of infected persons does not exceed 0.37% (95% confidence level).

DISCUSSION

Currently, there is a significant increase in the worldwide incidence of tick-borne diseases in humans and animals. Climate change and increased human and animal migration play a key role in this phenomenon. Changes in the environment, whereby increasingly more areas of urban greenery are left without human intervention to protect soil and water

badane osoby zostały szczegółowo poinformowane o celu badania i wyraziły na nie pisemną zgodę.

Do izolacji DNA wykorzystano żywicę chelatującą Chelex 100 firmy Bio-Rad. Chelex 100 jest żywicą o wysokim powinowactwie do jonów metali wielowartościowych. Podczas izolacji DNA wiąże i usuwa jony zapobiegając uszkodzeniom DNA i redukuje inhibitory polimerazy DNA.

Procedura izolacji została przeprowadzona w następujący sposób. Do jałowej próbki typu eppendorf (1,5 ml) dodano 200 μ l 20% zawiesiny żywicy Chelex 100 w jałowej wodzie destylowanej, 20 μ l proteiny K i 10 μ l krwi badanej. Mieszaninę inkubowano w temperaturze 56°C przez 2,5 h, następnie w 96°C przez 15 minut; po inkubacji próbę intensywnie worteksowano i następnie wirowano 10 minut przy względnej sile odśrodkowej 12000 \times g. Wyizolowany materiał przechowywano w temperaturze lodówki do dalszej analizy. Metodą qPCR amplifikowano fragment genu małej podjednostki rRNA według metodyki Rożej-Bielickiej i wsp. (9). Każda reakcja została wykonana w dwóch powtórzeniach. Jako kontrolę ujemną wykorzystano jałową wodę, natomiast kontrolę dodatnią stanowiły próbki DNA *B. microti* (izolat pochodzący z krwi zarażonego człowieka), *B. divergens* (izolat pochodzący z kleszcza) i *B. venatorum* (izolat pochodzący od zarażonego człowieka). Przedział ufności dla frakcji zarażonych próbek obliczono zgodnie z metodą Wilsona (10), wg wzoru:

$$CI_w = \frac{m + \frac{t^2}{2}}{n + t^2} \pm t \frac{\sqrt{\frac{m(n-m)}{n} + \frac{t^2}{4}}}{n + t^2}$$

gdzie n – liczba zbadanych próbek, m – liczba dodatnich próbek, t – parametr zależny od poziomu ufności (dla poziomu równego 95% wynosi on 1,96).

Na przeprowadzenie badań z udziałem krwiodawców została wydana pozytywna opinia Komisji Bioetycznej przy Narodowym Instytucie Zdrowia Publicznego PZH – Państwowym Instytucie Badawczym o numerze 4/2022 z dnia 1.06.2022.

WYNIKI

W żadnej z badanych 1067 próbek nie wykryto DNA *Babesia* spp. (przedział ufności 0-0,0037). Na podstawie obliczonego przedziału ufności możemy zatem stwierdzić, że w badanej populacji dawców odsetek zarażonych nie przekracza 0,37% (poziom ufności 95%).

resources, favour an increase in the population of ticks and their host animals (such as small rodents). Diseases transmitted by these arachnids include Lyme disease, anaplasmosis, tick-borne encephalitis (TBE), but also babesiosis, which, in our part of the world, is associated with a canine disease.

Most donor testing data comes from the United States of America, Canada and China. Between 2012 and 2018, the American Red Cross conducted screening in the states of Massachusetts, Connecticut, Minnesota and Wisconsin. In their study, the authors performed serological and molecular tests of more than 500,000 blood donations, resulting in 1,299 donors found to be infected. Also, the same authors observed that no cases of babesiosis transmitted by blood transfusion were found during their study (11).

Canada may also be at risk of more frequent cases of babesiosis in donors, as the range of the *Ixodes scapularis* tick is gradually expanding into eastern and central Canada. In 2013, the first endemic and out-of-hospital case of infection by *B. microti* was discovered in central Manitoba, Canada (12). In 2013, nearly 14,000 blood donors in regions of Canada adjacent to *Babesia* spp. endemic areas in the US were also tested for antibodies to *B. microti*. No positive cases were detected. In another 2018 study in Canada, more than 50,000 blood donors were tested for *B. microti* by means of PCR. One positive sample was detected.

In Europe, on the other hand, only about 40 human cases of babesiosis have been reported so far, mainly in France, Ireland and the UK. Cases of the disease have also been confirmed in Portugal, Sweden, Switzerland, Spain and Croatia (13).

The first human case of babesiosis in Poland was described by Welc-Falęciak et al. in an immunocompetent forester found to be infected with *B. microti* (14). In 2022, we detected *Babesia* DNA in blood donor material for the first time in Poland. Based on the sequence of the 18S rRNA gene fragment, we identified *Babesia* sp. "venatorum" (GenBank Accession Number: ON796483) (8). This is extremely essential information from the point of view of the safety of blood treatment and the epidemiology of rare zoonotic diseases.

The lack of positive results in this study is likely due to the actual lack of infected individuals in the study group, indicating an actual low prevalence rate. The method of DNA isolation using the Chelex 100 resin is characterized by high efficiency; in addition to forensic medicine, this method is used in the detection of trace genetic material of various pathogens (15). Nevertheless, we cannot exclude false-negative results due to the limitations of the method.

According to data provided by Statistics Poland in 2017, there were almost 613 thousand blood donors,

DYSKUSJA

Obecnie, na świecie obserwuje się znaczny wzrost zachorowań ludzi i zwierząt na choroby odkleszczowe. Istotnym czynnikiem są tu zmiany klimatu oraz wzmożone migracje ludzi i zwierząt. Zmiany otoczenia polegające na pozostawianiu coraz większych obszarów zieleni miejskich bez ingerencji ludzkiej w celu ochrony gleby i zasobów wód, sprzyjają wzrostowi populacji kleszczy oraz zwierząt (np. drobnych gryzoni), będących ich żywicielami. Do chorób przenoszonych przez pajęczaki zaliczamy między innymi boreliozę, anaplazmozę, odkleszczowe wirusowe zapalenie opon mózgowych (KZM), ale również kojarzącą się w naszej części świata z chorobą psów – babeszjozę.

Najwięcej danych dotyczących badań dawców pochodzi ze Stanów Zjednoczonych Ameryki, Kanady oraz Chin. W latach 2012-2018 Amerykański Czerwony Krzyż wykonał badania przesiewowe w stanach Massachusetts, Connecticut, Minnesota i Wisconsin. W swoich badaniach autorzy przeprowadzali badania serologiczne i molekularne ponad 500 tysięcy donacji krwi, w wyniku czego 1299 dawców uznano za zarażonych. Ci sami autorzy odnotowali, że w czasie prowadzonych przez nich badań nie stwierdzono przypadków babeszjozy przeniesionej na drodze transfuzji krwi (11).

Również Kanada może być narażona na częstsze przypadki babeszjozy u dawców, ponieważ zasięg występowania kleszcza *Ixodes scapularis* rozszerza się stopniowo w kierunku wschodniej i centralnej Kanady. W 2013 roku odkryto pierwszy endemiczny i poza szpitalny przypadek zarażenia przez *B. microti* w centralnie położonej Manitobie w Kanadzie (12). W 2013 przetestowano również na obecność przeciwciał przeciwko *B. microti* blisko 14 tysięcy dawców krwi w regionach Kanady, znajdujących się w sąsiedztwie obszarów endemicznego występowania *Babesia* spp. w USA. Nie wykryto pozytywnych przypadków. W kolejnym badaniu w roku 2018 w Kanadzie przetestowano ponad 50 tysięcy dawców krwi na obecność *B. microti* za pomocą metody PCR. Wykryto jedną próbkę dodatnią.

Z kolei w Europie dotychczas odnotowano jedynie około 40 przypadków babeszjozy u ludzi, głównie we Francji, Irlandii oraz Wielkiej Brytanii. Potwierdzono również przypadki choroby w Portugalii, Szwecji, Szwajcarii, Hiszpanii i Chorwacji (13).

Pierwszym w Polsce przypadkiem babeszjozy u człowieka opisała Welc-Falęciak i wsp. u immunokompetentnego leśniczego stwierdzono zarażenie *B. microti* (14). W 2022 r. po raz pierwszy w Polsce wykryliśmy DNA *Babesia* w materiale pochodzącym od dawcy krwi. Na podstawie sekwencji fragmentu genu 18S rRNA zidentyfikowaliśmy wtedy *Babesia* sp. „vena-

more than 1.3 million donations were made, which were used to produce almost 1.2 million preparations of red blood cell concentrate (16). The fact that the first case was detected in a donor will probably spark interest in the topic of babesiosis in blood donation. In her 2010 paper, Welc-Fałęciak came to the conclusion that the lack of reported cases may be caused not by the actual lack of cases, but by low medical awareness and lack of proper diagnostic tools (17). We share this assumption. Despite the passage of time, we still do not have procedures in place in Poland to routinely test blood donors.

To date, no studies have been conducted in Poland to estimate the incidence of *Babesia* spp. infections in humans. Only studies have been conducted on selected occupational groups in contact with ticks that can transmit *Babesia*. In serological studies of foresters, antibodies to anti-*B. microti* were detected in 9% (5/54) of subjects (18). Another study on foresters showed that 23% (50/216) of the subjects had antibodies to *B. microti* (19). In contrast, in a study conducted on a group of young people from the northeastern regions of Poland (endemic region, 142 people), antibodies to *Babesia microti* were found in only 1.4% (2/142); no antibodies were then found in the control group (Central Poland region, 60 people) (20).

Our preliminary study confirms the need to expand molecular and serological diagnostics to rule out the presence of *Babesia* spp. in blood donors.

REFERENCES

- Homer MJ, Aguilar-Delfin I, Telford SR, et al. Babesiosis. *Clin Microbiol Rev* 2000; 13:451-69. <https://doi.org/10.1128/CMR.13.3.451-469.2000>
- Khangura RK, Williams N, Cooper S, et al. Babesiosis in pregnancy: an imitator of HELLP Syndrome. *AJP Rep* 2019;9(2):e147–52. doi: 10.1055/s-0039-1687873
- Leiby DA. Transfusion-transmitted *Babesia* spp.: Bull's-eye on *Babesia microti*. *Clin Microbiol Rev* 2011;24:14–28. <https://doi.org/10.1128/CMR.00022-10>
- Szymczak J, Syta A, Tołkacz K, et al. Babeszjoza – nowe wyzwanie w transfuzjologii? *J Transfus Med* 2017;10:90-8.
- Zimmer AJ, Simonsen KA. Babesiosis. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/n/statpearls/article-18082/>
- Fang DC, McCullough J. Transfusion-transmitted *Babesia microti*. *Transfus Med. Rev* 2016;30:132–8. <https://doi.org/10.1016/J.TMRV.2016.04.002>
- Rejestracja kandydata na dawcę krwi i dawcy krwi. W: Obwieszczenie Ministra Zdrowia z dnia 30 marca 2021 r. w sprawie wymagań dobrej praktyki pobierania krwi i jej składników, badania, preparatyki, przechowywania, wydawania i transportu dla jednostek organizacyjnych publicznej służby krwi. Dziennik Urzędowy Ministra Zdrowia 2021; poz. 28. [Internet] https://dziennikmz.mz.gov.pl/DUM_MZ/2021/28/akt.pdf

torum” (GenBank Accession Number: ON796483) (8). Jest to niezwykle ważna informacja z punktu widzenia bezpieczeństwa leczenia krwią oraz epidemiologii rzadkich chorób zoonotycznych.

Brak dodatknych wyników w tym badaniu jest prawdopodobnie spowodowany rzeczywistym brakiem zarażonych osób w badanej grupie, wskazującym na rzeczywisty niski wskaźnik rozpowszechnienia. Metoda izolacji DNA z wykorzystaniem żywicy Chelex 100 charakteryzuje się dużą wydajnością; oprócz medycyny sądowej, metoda ta jest wykorzystywana przy wykrywaniu śladowych ilości materiału genetycznego różnych patogenów (15). Niemniej nie możemy wykluczyć uzyskania wyników fałszywie ujemnych spowodowanych ograniczeniami metody.

Według danych podanych przez Główny Urząd Statystyczny w Polsce w 2017 roku było prawie 613 tysięcy dawców krwi, oddano ponad 1,3 mln donacji, z których wyprodukowano prawie 1,2 mln preparatów koncentratu krwinek czerwonych (16). Fakt wykrycia pierwszego przypadku u dawcy zapoczątkuje zapewne zainteresowanie tematem babeszjozy w krwiodawstwie. W swojej pracy z 2010 Welc-Fałęciak wysunęła wniosek, że brak zgłaszanych przypadków może wynikać nie z ich braku, a z niskiej świadomości medycznej i braku właściwych narzędzi diagnostycznych (17). Podzielamy to przypuszczenie. Pomimo upływu czasu w dalszym ciągu nie mamy w Polsce wdrożonych procedur do rutynowego testowania dawców krwi.

W Polsce dotychczas nie przeprowadzono badań pozwalających oszacować częstość zarażeń *Babesia* spp. u ludzi. Prowadzono tylko badania na wybranych grupach zawodowych mających kontakt z kleszczami, mogącymi przenosić *Babesia*. W badaniach serologicznych leśników wykryto przeciwciała anti-*B. microti* u 9% (5/54) badanych (18). W kolejnych badaniach na leśnikach wykazano, że 23% (50/216) badanych posiada przeciwciała przeciwko *B. microti* (19). Natomiast, w badaniach przeprowadzonych na grupie młodych osób z północno-wschodnich regionów Polski (rejon endemiczny, 142 osoby) przeciwciała przeciwko *Babesia microti* stwierdzono tylko u 1,4% (2/142); nie stwierdzono wtedy przeciwciał u osób z grupy kontrolnej (rejon Centralnej Polski, 60 osób) (20).

Nasze wstępne badania potwierdzają potrzebę rozszerzenia diagnostyki molekularnej i serologicznej w celu wykluczenia obecności *Babesia* spp. u dawców krwi.

praktyki pobierania krwi i jej składników, badania, preparatyki, przechowywania, wydawania i transportu dla jednostek organizacyjnych publicznej służby krwi. Dziennik Urzędowy Ministra Zdrowia 2021; poz. 28. [Internet] https://dziennikmz.mz.gov.pl/DUM_MZ/2021/28/akt.pdf

8. Kaczmarek A, Syta A, Matras A, et al. *Babesia* sp. 'venatorum' in Polish blood donor: the first recorded. *Ann Parasitol* 2022;68(Suppl.2):s202.
9. Rozej-Bielicka W, Masny A, Golab E. High-resolution melting PCR assay, applicable for diagnostics and screening studies, allowing detection and differentiation of several *Babesia* spp. infecting humans and animals. *Parasitol Res* 2017;116(10):2671-81. <https://doi.org/10.1007/s00436-017-5576-x>.
10. Brown LD, Cai T, Dasgupta A. Interval Estimation for a Binomial Proportion. *Statistical Science* 2001;16:101-33. <http://dx.doi.org/10.1214/ss/1009213286>
11. Tonnetti L, Townsend RL, Deisting BM, et al. The impact of *Babesia microti* blood donation screening. *Transfusion* 2019;59:593-600. <https://doi.org/10.1111/trf.15043>
12. Bullard JM, Ahsanuddin AN, Perry AM, et al. The first case of locally acquired tick-borne *Babesia microti* infection in Canada. *Can J Infect Dis Med Microbiol* 2014;25(6):e87-9. doi: 10.1155/2014/209521
13. Hildebrandt A, Zintl A, Montero E, et al. Human babesiosis in Europe. *Pathogens* 2021;10:1-29. <https://doi.org/10.3390/pathogens10091165>
14. Welc-Falęciak 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;22:51-4. <https://doi.org/10.5604/12321966.1141394>
15. Singh UA, Kumari M, Iyengar S. Method for improving the quality of genomic DNA obtained from minute quantities of tissue and blood samples using Chelex 100 resin. *Biol Proced Online*. 2018;20:12. doi: 10.1186/s12575-018-0077-6.
16. Krwiodawstwo w 2017 r. Główny Urząd Statystyczny, 2018. [Internet] https://stat.gov.pl/download/gfx/portalinformacyjny/pl/defaultaktualnosci/5513/18/1/1/krwiodawstwo_w_2017_r.pdf
17. Welc-Falęciak R, Hildebrandt A, Siński E. Co-infection with *Borrelia* species and other tick-borne pathogens in humans: two cases from Poland. *Ann Agric Environ Med* 2010;17(2):309-13.
18. Pancewicz S, Moniuszko A, Bieniarz E, et al. Anti-*Babesia microti* antibodies in foresters highly exposed to tick bites in Poland. *Scand J Infect Dis*. 2011;43(3):197-201. doi: 10.3109/00365548.2010.538930.
19. 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):767-70. doi:10.5604/12321966.1129930.
20. Walory J, Bukowska B, Grzesiowski P, et al. Występowanie przeciwciał przeciw *Anaplasma phagocytophilum*, *Babesia microti* i *Borelia burgdorferi* u dorosłych z północno-wschodnich rejonów Polski. *Pol Merkur Lekarski* 2005;19(114):754-7.

Received: 06.05.2023

Accepted to publication: 10.08.2023

Otrzymano: 06.05.2023 r.

Zaakceptowano do publikacji: 10.08.2023 r.

Address for correspondence:

Adres do korespondencji:

Adam Kaczmarek

Zakład Parazytologii i Chorób Przenoszonych Przez Wektory

Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego PZH

– Państwowy Instytut Badawczy

Ul. Chocimska 24,

00-791 Warszawa

E-mail: akaczmarek@pzh.gov.pl

Tel.: 535123483