

Katedra Epizootiologii i Klinika Chorób Zakaźnych  
Akademii Rolniczej w Lublinie, ul Głębocka 30, 20-612 Lublin  
e-mail: ukaszek@wp.pl

ŁUKASZ ADASZEK, STANISŁAW WINIARCZYK

### Sytuacja epizootyczna erlichiozy psów na terenie Lubelszczyzny

---

Epizootical situation of dogs ehrlichiosis in area of Lubelskie voivodship

**Streszczenie.** *Ehrlichia spp.* należą do drobnoustrojów wykazujących tropizm do komórek układu krwiotwórczego. Erlichioza jest chorobą transmisyjną występująca zarówno u ludzi, jak i zwierząt. Głównym wektorem choroby w Europie są kleszcze *Ixodes ricinus*, zaś ich rezerwuar stanowią dzikie i domowe zwierzęta. Objawy erlichiozy są niespecyficzne i najczęściej manifestują się apatią, gorączką, krwawieniami z błon śluzowych. Niekiedy mogą występować kulawizny oraz objawy nerwowe. W badaniu hematologicznym stwierdza się trombocytopenię.

Celem pracy była ocena sytuacji epizootycznej erlichiozy psów na terenie województwa lubelskiego. Materiał do badań serologicznych (ELISA) i molekularnych (PCR) w kierunku *Anaplasma phagocytophilum* stanowiła krew pobrana od 60 psów, które miały kontakt z kleszczami. W reakcji PCR użyto starterów EHR 521 i EHR 747, amplifikujących odcinek DNA genu 16 rRNA *Ehrlichia spp.* o długości 247 bp. W żadnym przypadku we krwi badanych psów techniką PCR nie wykazano materiału genetycznego riketsji. Testem ELISA stwierdzono przeciwciała anty-*Anaplasma phagocytophilum* w 16 spośród 60 badanych próbek surowic (26,66%). Ich obecność wskazuje na to, że osobniki użyte w pracy miały kontakt z riketsjami, niemniej jednak ujemne wyniki reakcji PCR pozwalają przypuszczać, że w momencie badania psy nie były zakażone *Ehrlichia*. Obecność przeciwciał dla *Anaplasma phagocytophilum* w surowicy ponad 26% psów pozwala także stwierdzić, że województwo lubelskie jest rejonem endemicznego występowania riketsji.

**Słowa kluczowe:** erlichioza, psy, choroby transmisyjne, PCR, ELISA

#### WSTĘP

Erlichioza jest zakaźną wielonarządową chorobą ludzi i zwierząt, przebiegającą z trombocytopenią. Czynnikiem etiologicznym choroby są drobnoustroje zaliczane wcześniej do rodziny *Rickettsiaceae*, rodzaju *Ehrlichia* [Winiarczyk i in. 2000]. Obecnie klasyfikuje się je w rzędzie *Rickettsiales*, powstałym z połączenia rodzin *Rickettsiaceae*

oraz *Anaplasmataceae* [Dumler i in. 2001]. Na podstawie analizy sekwencji genu 16S rRNA w obrębie rodzaju wyodrębniono 3 grupy: *Ehrlichia canis*, *Ehrlichia phagocytophila* (*Anaplasma phagocytophilum*), oraz *Ehrlichia sennetsu* [Dumler i in. 1995].

Obecność tych drobnoustrojów wykazano we krwi koni, bydła, owiec, kóz, kotów, lisów, lam, jeleni i ludzi [Bjoersdorf i in. 1996, Barlougk i in. 1997, Pusterla i in. 1999, 2000, Lotric-Furlan i in. 2001]. U psów po raz pierwszy erlichiozę opisano w Algierii w 1935 r. [Pyle 1980]. Obecnie notuje się ją na całym świecie [Meneses 1995, Baneth i in. 1996, Harrus i in. 1997, Egenvall i in. 1997, Leutenegger i in. 1999, Inokuma i in. 2001, Suto i in. 2001, Batamaz i in. 2001, Maurin i in. 2003, Shaw i in. 2003, Poitout i in. 2005, Lester i in. 2005]. Literatura na temat występowania erlichiozy u psów w Polsce jest uboga [Skotarczak i in. 2004], zanotowano w niej także dwa przypadki zakażenia tymi drobnoustrojami u ludzi [Tylewska-Wierzbanowska i in. 2001].

Najczęściej rozpoznawanymi gatunkami *Ehrlichia* u psów są *E. canis* – czynnik etiologiczny erlichiozy monocytarnej [Stockham i in. 1992, Kelly i in. 1994] oraz *A. phagocytophilum* i *E. ewingii*, wywołujące erlichiozę granulocytarną [Harrus i in. 1997, Maurin i in. 2003]. Istnieje niewiele doniesień na temat erlichiozy trombocytarnej u tego gatunku zwierząt, wywoływanej przez *E. platys* [Inokuma i in. 2000]

Do zakażenia psów dochodzi poprzez kontakt z kleszczami *Ixodes* spp. oraz *Rhipicephalus sanguineus* [Kelly i in. 1994], które są wektorami riketsji. Objawy kliniczne erlichiozy psów są nieswoiste. Początkowo występuje apatia, osłabienie i wysoka gorączka. W ostrej erlichiozie dochodzi do spadku masy ciała, krwawienia z błon śluzowych, powiększenia śledziony i węzłów chłonnych, a niekiedy także do śluzowo-ropnego wypływu z nosa [Harrus i in. 1997]. Pojawiać się mogą także wymioty, biegunka, zapalenia stawów oraz objawy nerwowe w postaci drgawek i porażań [Stockham i in. 1992, Goldman i in. 1998, Goldman i in. 2003].

Rozpoznawanie erlichiozy psów opiera się, podobnie jak i innych chorób zakaźnych, na wywiadzie epizootycznym, objawach klinicznych oraz badaniach laboratoryjnych. Najprostszym testem wykazującym obecność riketsji w organizmach zwierząt zakażonych jest barwienie rozmazów krwi metodą Giemzy lub też Diff-Quick [Harrus i in. 1997]. Ponieważ niejednokrotnie wykazanie ciałek wrętowych w leukocytach jest trudne, dlatego mikroskopowe badanie rozmazów krwi powinno być poparte badaniem serologicznym lub molekularnym [Lester i in. 2005]. Porównanie wad i zalet poszczególnych testów wskazuje na to, iż najpewniejsze rezultaty w laboratoryjnym postępowaniu diagnostycznym uzyskuje się właśnie poprzez zastosowanie kombinacji badań serologicznych i molekularnych, uzupełnionych mikroskopową oceną rozmazów krwi.

Celem badań była ocena sytuacji epizootycznej w zakresie występowania erlichiozy u psów na Lubelszczyźnie.

#### MATERIAŁ I METODY

Badania przeprowadzono na 60 psach, pacjentach Kliniki Chorób Zakaźnych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej AR w Lublinie. Była to grupa zwierząt złożona z 37 samców i 23 samic, w wieku od 3 miesięcy do 16 lat. Wszystkie zwierzęta miały w ostatnim czasie kontakt z kleszczami, a do kliniki zostały zgłoszone celem usunięcia z powłok ich ciała pajęczaków.

Od psów pobierano krew z żyły odpromieniowej do próbek z EDTA do badań molekularnych, zaś do badań serologicznych do próbek z przyspieszaczem wykrzepiania.

**Badanie molekularne.** Izolację DNA z pełnej krwi do reakcji PCR wykonywano zestawem Blood Mini (A&A Biotechnology). Reakcję PCR dla *Ehrlichia* spp. opracowano modyfikując reakcję opisaną przez Inokuma i in. [2001], z użyciem kontroli dodatniej i ujemnej, z zastosowaniem starterów: EHR 521 5'-TGT AGG CGG TTC GGT AAG TTA AAG-3', EHR 747 5' GCA CTC ATC GTT TAC AGC GTG-3', amplifikujących odcinek DNA o długości 247 par zasad konserwatywnej części genu 16S rRNA.

Każda reakcja składała się z 35 cykli, w których etap denaturacji przebiegał w 94°C przez 30 s, przyłączanie starterów odbywało się w temp. 56°C przez 30 s, a wydłużanie nici w temp. 72°C trwało 45 s. Wyniki reakcji PCR analizowano w procesie elektroforezy w 1% żelu agarozowym, w buforze TBE, przy napięciu 10 V/cm przez 50 min.

**Wykrywanie przeciwciał swoistych dla *Anaplasma phagocytophilum* metodą ELISA.** Test ELISA wykonywano w 96-dołkowych płytkach (Iwaki). Jako antygen użyto pełnych komórek *Anaplasma phagocytophilum* z krwi człowieka (National Reference Center for Borreliae of Max von Pettenkofer Institute of Ludwig Maximilian University Monachium).

Studzienki mikropłytok opłaszczano 100 µl roztworu antygeny w buforze węglanowym o pH 9,6 i inkubowano w temp. 4°C przez całą noc. Po inkubacji przemywano trzykrotnie buforem PBS (pH 7,2), zawierającym 0,05% Tween 20. Badane surowice rozcieńczano w stosunku 1:400 w roztworze PBS z dodatkiem 0,05% Tween 20 i 1% BSA, nanoszono w ilości 100 µl do dwóch sąsiednich studzienek, inkubowano w temp. 37°C przez 30 min i ponownie przemywano roztworem PBS z dodatkiem Tween 20. Następnie do studzienek dodawano 100 µl gammaglobuliny anti-IgG psa sprzężonej z peroksydazą (Sigma). Płytki inkubowano przez 30 min w temp. 37°C i przemywano je trzykrotnie roztworem PBS z dodatkiem Tween 20, po czym dodawano roztwór substratu (0,1 M bufor cytrynianowy pH 5,0 z 0,02% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) z OPD (orto-phenylenodiamine Sigma P 8287). Reakcję zatrzymywano po 15-minutowej inkubacji w temp. 37°C roztworem 5% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Absorbancję mierzono przy długości fali 492 nm. Punkt odcięcia (cut off) wynosił 0,5.

#### WYNIKI I DYSKUSJA

W żadnej z próbek krwi badanych za pomocą reakcji PCR z użyciem starterów EHR 521 i EHR 747 nie wykazano materiału genetycznego drobnoustrojów *Ehrlichia* spp.

Badanie 60 surowic psów testem ELISA w kierunku erlichiozy wykazało obecność przeciwciał anti-*Anaplasma phagocytophilum* w 16 próbkach, co stanowiło 26,66% analizowanych przypadków. Wyniki odczytu absorbancji przy długości fali 492 nm dla poszczególnych surowic przedstawia tabela 1.

Brak materiału genetycznego riketsji we krwi badanych psów wskazuje na to, że w przypadkach tych nie mieliśmy do czynienia z zakażeniami *Ehrlichia*, a wysokie miana przeciwciał skierowane przeciwko *Anaplasma phagocytophilum* u 16 spośród 60 badanych psów były następstwem wcześniejszego kontaktu zwierząt z zarazkiem, który występuje endemicznie na Lubelszczyźnie. Świadczą o tym badania Cisaka i in. [2005], którzy

Tabela 1. Wartości absorbancji próbek surowic psów poddanych badaniu testem ELISA w kierunku erlichiozy

Table 1. Absorbance of dogs sera samples examined by ELISA test against ehrlichiosis

Nr próbki Number of the sample	Absorbancja Absorbance	Nr próbki Number of the sample	Absorbancja Absorbance
001	0,53	031	1,5
002	1,21	032	1,61
003	0,23	033	0,17
004	1,18	034	0,26
005	0,26	035	0,09
006	0,91	036	0,18
007	0,39	037	0,23
008	0,42	038	0,56
009	0,39	039	0,61
010	0,08	040	0,23
011	0,14	041	0,25
012	0,3	042	0,42
013	0,42	043	0,3
014	0,17	044	0,37
015	2,06	045	0,20
016	0,24	046	0,51
017	0,14	047	0,09
018	0,32	048	0,79
019	0,2	049	0,70
020	0,1	050	1,06
021	0,51	051	0,67
022	0,2	052	0,16
023	0,4	053	0,27
024	0,52	054	0,31
025	0,17	055	0,17
026	0,4	056	0,20
027	0,34	057	0,36
028	0,26	058	0,35
029	0,12	059	0,43
030	0,11	060	1,02

materiał genetyczny *Anaplasma (Ehrlichia) phagocytophilum* wykazali w organizmach 6,1% spośród 115 przebadanych kleszczy z Roztoczańskiego Parku Narodowego.

Z badań przeprowadzonych przez Skotarczaka i in. [2004] na 192 psach z terenów północno-zachodniej Polski wynika, że erlichioza u tego gatunku zwierząt także i w tym regionie nie stanowi poważnego problemu. Izolując DNA z pełnej krwi, a następnie wykonując reakcję PCR z zastosowaniem pary tych samych starterów, których użyto w badaniach własnych, materiał genetyczny *E. phagocytophila* wykazano zaledwie w dwóch przypadkach, co stanowiło 1% przebadanej populacji zwierząt. Zaznaczyć należy, iż jeden z dwóch zakażonych riketsjami psów był klinicznie zdrowy, zaś drugi wykazywał objawy nasuwające podejrzenie boreliozy.

Sytuacja epizootyczna w tym zakresie w innych krajach jest odmienna. Stosunkowo duże niebezpieczeństwo choroby u psów występuje w Niemczech, o czym donoszą Jen-

sen i in. [2007]. Autorzy ci przebadali 111 psów w kierunku zakażeń *A. phagocytophilum*. Wśród nich 49 osobników zdradzało objawy kliniczne nasuwające podejrzenie erlichiozy, pozostałe zaś należały do grupy kontrolnej i nie wykazywały objawów chorobowych. Badanie serologiczne pośrednim odczynem immunofluorescencji wykazało obecność dodatnich seroreagentów na poziomie 44,9% w grupie psów chorych oraz 41,9% w grupie psów kontrolnych. Materiał genetyczny riketsji (PCR) stwierdzono w organizmach zaledwie 7 psów (6,3%), spośród których 6 należało do grupy badanej, natomiast 1 do grupy kontrolnej. Autorzy ci wskazują na małą przydatność reakcji PCR w diagnozowaniu zakażeń riketsjami oraz na fakt wykazania badaniem serologicznym stosunkowo wysokiego odsetka dodatnich seroreagentów w grupie zwierząt zdrowych, bez objawów klinicznych choroby. Dodatkowo wyniki u części zwierząt spowodowane są zakażeniem niepatogennymi szczepami lub niewielką dawką komórek *A. phagocytophilum* przy sprawnie funkcjonującym układzie odpornościowym. Różna jest też zjadliwość szczepów przy podobnej strukturze genetycznej.

Niewielkie zagrożenie chorobą występuje we Włoszech. Solano-Gallego i in. [2006], techniką real-time PCR przebadali 601 psów w kierunku zakażeń *E. canis* oraz 460 w kierunku zakażeń *A. phagocytophilum*. Odsetek psów, we krwi których wykazano materiał genetyczny *E. canis* wynosił odpowiednio dla poszczególnych rejonów geograficznych: 2,9% w północnych Włoszech, 8% w centralnych i 9,7% w południowych. W organizmie żadnego z badanych psów nie wykazano materiału genetycznego *A. phagocytophilum*.

Z krajów europejskich, w których zagrożenie erlichiozą jest duże trzeba wymienić Holandię. Z badań Schoulsa i in. [1999] wynika, że wektorem riketsji jest tu 45% kleszczy *Ixodes ricinus*, a w organizmach ponad połowy z nich wykazano materiał genetyczny *E. phagocytophila*. Liczne doniesienia o klinicznej postaci oraz znaczącym odsetku dodatnich dla *Ehrlichia* seroreagentów w populacjach psów pochodzą także z Izraela [Harris i in. 1997], Stanów Zjednoczonych [Stockham i in. 1992, Grieg i in. 1996, Goldman i in. 2003] oraz Szwecji [Engvall i in. 1996, Egenvall i in. 2000].

Mimo wydawałoby się niewielkiego zagrożenia erlichiozą u psów na terenie Lubelszczyzny, fakt występowania w populacji tego gatunku zwierząt znacznego odsetka dodatnich dla riketsji seroreagentów powinien skłonić lekarzy weterynarii do rozważenia w diagnostyce różnicowej chorób przenoszonych przez kleszcze infekcji wywołanych tymi drobnoustrojami.

#### PIŚMIENNICTWO

- Baneth G., Waner T., Koplak A., Weinstein S., Keysary A. 1996. Survey of *Ehrlichia canis* antibodies among dogs in Israel. *Vet. Rec.* 138, 257–259.
- Barlough J. E., Madigan J. E., Turoff D. R., Clover J. R., Shelly S. M., Dumler J. S. 1997. An *Ehrlichia* strain from a llama (*Lama glama*) and llama-associated ticks (*Ixodes pacificus*). *J. Clin. Microbiol.* 35, 1005–1007.
- Bjoersdorff A., Svendenius L., Owens J. H., Massung R. F. 1999. Feline granulocytic ehrlichiosis – a report of a new clinical entity and characterization of the infectious agent. *J. Small Anim. Prac.* 40, 20–24.

- Batmaz H., Nevo E., Waner T., Senturk S., Yilmaz Z., Harrus S. 2001. Seroprevalence of *Ehrlichia canis* antibodies among dogs in Turkey. *Vet. Rec.* 148, 656–666.
- Cisak E., Chmielewska-Badora J., Zwoliński J., Wójcik-Fatala A., Polak J., Dutkiewicz J. 2005. Risk of tick-borne bacterial diseases among workers of Roztocze National Park (south-western Poland). *Ann. Agricult. Environ. Med.* 12, 127–132.
- Dumler J.S., Asanovich K.M., Bakken J.S., Richter P., Kimsey R., Madigan J.E. 1995. Serologic cross-reactions among *Ehrlichia equi*, *Ehrlichia phagocytophila* and human granulocytic *Ehrlichia*. *J. Clin. Microbiol.* 33, 1098–1103.
- Dumler J. S., Barbet A.F., Bekker C.P., Dasch G.A., Palmer G. H., Ray S.C., Rikihisa Y., Rurangirwa F.R. 2001. Reorganization of genera in the families *Rickettsiaceae* and *Anaplasmataceae* in the order *Rickettsiales*: unification of some species of *Ehrlichia* with *Anaplasma*, *Cowdria* with *Ehrlichia* and *Ehrlichia* with *Neorickettsia*, descriptions of six new species combinations and designation of *Ehrlichia equi* and „HGE agent” as subjective synonyms of *Ehrlichia phagocytophila*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 51, 2145–2165
- Egenvall A., Lilliehook I., Bjoersdorff A., Olson Egenvall E., Karlstam E., Artursson K., Heldtander M., Gunnarsson A. 2000. Detection of granulocytic *Ehrlichia* species DNA by PCR in persistently infected dogs. *Vet. Rec.* 146, 186–190.
- Egenvall A., Hedhammer A.A., Bjoersdorff A.I. 1997. Clinical features and serology of 14 dogs affected by granulocytic ehrlichiosis in Sweden. *Vet. Rec.* 140, 222–226.
- Egenvall E.O., Pettersson B., Persson M., Artursson K., Johansson K-E. 1996. A 16S rRNA-based PCR assay for detection and identification of granulocytic *Ehrlichia* species in dogs, horses and cattle. *J. Clin. Microbiol.* 34, 2170–2174.
- Goldman E.E., Breitschwerdt E.B., Grindem C.B., Hegarty B.C., Walls J.J., Dumler J.S. 1998. Granulocytic ehrlichiosis in dogs from North Carolina and Virginia. *J. Vet. Int. Med.* 12, 61–70.
- Goodman R.A., Hawkins E.C., Olby N.J., Grindem C.B., Hegarty B., Breitschwerdt E.B. 2003. Molecular identification of *Ehrlichia ewingii* infection in dogs: 15 cases (1997–2001). *J. Am. Vet. Med. Ass.* 222, 1102–1107.
- Greig B., Asanovich K.M., Armstrong P.J., Dumler S.J. 1996. Geographic, clinical, serologic and molecular evidence of granulocytic ehrlichiosis in likely zoonotic disease in Minnesota and Wisconsin dogs. *J. Clin. Microbiol.* 34, 44–48.
- Inokuma H., Ohno K., Onishi T., Raoult D., Brouqui P. 2001. Detection of ehrlichial infection by PCR in dogs from Yamaguchi and Okinawa prefectures, Japan. *J. Vet. Med. Sci.* 63, 815–817.
- Inokuma H., Raoult D., Brouqui P. 2000. Detection of *Ehrlichia platys* DNA in brown dog tick (*Rhipicephalus sanguineus*) in Okinawa island, Japan. *Clin. Microbiol.* 38, 4219–4221.
- Harrus S., Kass P.H., Klement E., Waner T. 1997. Canine monocytic ehrlichiosis: a retrospective study of 100 cases and an epidemiological investigation of prognostic indicators for the disease. *Vet. Rec.* 141, 360–363.
- Jensen J., Simon D., Murua Escobar H., Soller J.T., Bullerdiek J., Beelitz P., Pfister K., Nolte I. 2007. *Anaplasma phagocytophilum* in dogs in Germany. *Zoonoses and Public Health* 54, 94–101.
- Kelly P.J., Carter S.D., Bobade P.A., Matthewman L.A., Bell S.C. 1994. Absence of antinuclear antibodies in dogs infected with *Ehrlichia canis*. *Vet. Rec.* 134, 382.
- Lester S.J., Breitschwerdt E.B., Collis C.D., Hegarty B.C. 2005. *Anaplasma phagocytophilum* infection (granulocytic anaplasmosis) in a dog from Vancouver Island. *Can. Vet. J.* 46, 825–827.
- Leutenegger C.M., Pusterla N., Mislin C.N., Weber R., Lutz H. 1999. Molecular evidence of coinfection of ticks with *Borrelia burgdorferi sensu lato* and the human granulocytic ehrlichiosis agent in Switzerland. *J. Clin. Microbiol.* 37, 3390–3391.

- Lotric-Furlan S., Avsic-Zupanc T., Petrovec M., Nicholson W. L., Sumner J. W., Childs J. E., Strle F. 2001. Clinical and serological follow-up of patients with human granulocytic ehrlichiosis in Slovenia. *Clinic. Diagn. Lab. Immunol.* 8, 899–903.
- Maurin M., Bakken J.S., Dumler S.J. 2003. Antibiotic susceptibilities of *Anaplasma (Ehrlichia) phagocytophilum* strains from various geographic areas in the United States. *Antimicrob. Agents Chemother.* 47, 413–415.
- Meneses A. 1995. First report of canine ehrlichiosis in Costa Rica. *Vet. Rec.* 137, 46–47.
- Pusterla N., Huder J.B., Leutenegger M.C., Braun U., Madigan J.E., Lutz H. 1999. Quantitative real-time PCR for detection of members of the *Ehrlichia phagocytophila* genogroup in host animals and *Ixodes ricinus* ticks. *J. Clin. Microbiol.* 37, 1329–1331.
- Pusterla N., Chang C. C., Chomel B. B., Chae J. S., Foley J. E., DeRock E., Kramer, H. Lutz V. L., Madigan J. E. 2000. Serologic and molecular evidence of *Ehrlichia* sp. in coyotes in California. *J. Wildlife Dis.* 36, 494–499.
- Poitout F.M., Shinozaki J.K., Stockwell P.J., Holland C.J., Shukla S.K. 2005. Genetic Variants of *Anaplasma phagocytophilum* infecting dogs in Western Washington State. *J. Clin. Microbiol.* 43, 796–801.
- Pyle R.L. 1980. Canine ehrlichiosis. *J. Am. Vet. Med. Ass.* 177, 1197–1199.
- Schouls L.M., Van de Pol I., Rijpkema S.G.T., Schot C.S. 1999. Detection and identification of *Ehrlichia*, *Borrelia burgdorferi sensu lato* and *Bartonella* species in Dutch *Ixodes ricinus* ticks. *J. Clin. Microbiol.* 37, 2215–2222.
- Shaw S.E., Lerga A.I., Williams S., Beugnet F., Birtles R.J., Day M.J., Kenny M.J. 2003. Review of exotic infectious diseases in small animals entering the United Kingdom from abroad diagnosed by PCR. *Vet. Rec.* 152, 176–177.
- Skotarczak B., Adamska M., Supron M. 2004. Blood DNA analysis for *Ehrlichia (Anaplasma) phagocytophila* and *Babesia spp.* of dogs from northern Poland. *Acta Vet. (Brno)*. 73, 347–351.
- Stockham S.L., Schmidt D.A., Cuertis K.S., Schauf B.G., Tyler J.W., Simpson S.T. 1992. Evaluation of granulocytic ehrlichiosis in dogs of Missouri including serologic status to *Ehrlichia canis*, *Ehrlichia equi* and *Borrelia burgdorferi*. *Am. J. Vet. Res.* 53, 63–68.
- Suto Y., Suto A., Inokuma H., Obayashi H., Hayashi T. 2001. First confirmed canine case of *Ehrlichia canis* infection in Japan. *Vet. Rec.* 148, 809–811.
- Solano-Gallego L., Trotta M., Razia L., Furlanello T., Caldin M. 2006. Molecular survey of *Ehrlichia canis* and *Anaplasma phagocytophilum* from blood of dogs in Italy. *Ann. NY Acad. Sci.* 1078, 515–518.
- Tylewska-Wierzbanska S., Chmielewski T., Kondrusik M., Hermanowska-Szapkowicz T., Sułek K. 2001. First cases of acute human granulocytic ehrlichiosis in Poland. *Europ. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 20, 196–198.
- Winiarczyk S., Grądziński Z., Wołoszyn S., Pejsak Z., Żmudziński J., Gundlach J., Sadzikowski A., Osek J. 2000. Choroby zakaźne zwierząt domowych z elementami zoonoz. Lublin.

**Summary.** *Ehrlichia spp.* is intracellular bacteria with tropism for hematopoietic cells. Ehrlichiosis is a tick-borne disease which occurs in animals as well as in human. The main vector of this disease in Europe is *Ixodes ricinus* and its reservoir – wild and domestic animals. The symptoms of ehrlichiosis: apathy, fever, bleeding of mucosal and thrombocytopenia, are not specific. Occasionally nervous symptoms and lameness may be observed.

The aim of this study was to estimate an epizootiological situation of dogs ehrlichiosis in area of Lubelskie voivodship. Blood samples for molecular and serological (ELISA) examinations for *Anaplasma phagocytophilum* were collected from 60 dogs which had a contact with ticks. In PCR reactions were used primers EHR 521 and EHR 747, which amplified a fragment of 16S rRNA gene with a length about 247 bp. In all cases the results of PCR were negative. ELISA test revealed anti-*Anaplasma phagocytophilum* antibodies in 16 out of 60 sera samples (26,66%). The presence of antibodies specific for rickettsiae indicates that examined animals had contact with this pathogen, but negative PCR results showed that at the time of examination dogs were not infected by *Ehrlichia*. The presence of anti-*Anaplasma phagocytophilum* antibodies in the sera of over 26% examined dogs indicates that Lubelskie voivodship is an area of endemic occurrence of rickettsiae.

**Key words:** *Ehrlichia*, dogs, tick-borne disease, PCR, ELISA