

Detekce *Borrelia miyamotoi* v klíšťatech *Ixodes ricinus* na jižní Moravě – riziko pro veřejné zdraví

Kejíková R.^{1,2}, Rudolf I.^{1,2}

¹Ústav biologie obratlovců AV ČR, v. v. i., Brno

²Ústav experimentální biologie, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita, Brno

SOUHRN

Borrelia miyamotoi patří mezi emergentní patogeny přenášené klíšťaty komplexu *Ixodes ricinus*. Jedná se o spirochetu způsobující onemocnění podobné návratné horečce s rozšířením v mírném pásmu severní polokoule. Předložená studie dokumentuje prevalenci *B. miyamotoi* v klíšťatech *Ixodes ricinus* ve 4 lokalitách Jihomoravského kraje. Spirocheta *B. miyamotoi* byla zaznamenána celkem v 10 vzorcích, ve všech 4 lokalitách a ve všech stádiích klíšťat *I. ricinus*. Výskyt *B. miyamotoi* v klíšťatech na území České republiky představuje potenciální riziko pro veřejné zdraví.

KLÍČOVÁ SLOVA

Borrelia – *Ixodes* – klíšťata – návratná horečka – vektor – prevalence

ABSTRACT

Kejíková R., Rudolf I.: Detection of *Borrelia miyamotoi* in *Ixodes ricinus* ticks in Southern Moravia – risk for public health

Borrelia miyamotoi is an emerging tick-borne pathogen. The vector is ticks of the *Ixodes ricinus* complex, causing relapsing fever-like disease and widespread in the temperate zone of the Northern Hemisphere. The present study documents the prevalence of *B. miyamotoi* in *Ixodes ricinus* ticks at four sites of the South Moravian Region. The spirochete *B. miyamotoi* was detected in a total of 10 samples from all four sites and all instars. The occurrence of *B. miyamotoi* in ticks in the Czech Republic poses a potential risk to public health.

KEYWORDS

Borrelia – *Ixodes* – ticks – relapsing fever – vector – prevalence

Epidemiol Mikrobiol Imunol, 2022;71(1):57–59

ÚVOD

Borrelia miyamotoi představuje relativně nově objevenou spirochetu ze skupiny borrelií způsobujících návratnou horečku. Poprvé byla detekována v Japonsku v roce 1995 v klíšťatech *Ixodes persulcatus* [1]. V současné době je považována za široce rozšířenou v oblasti mírného pásma severní polokoule, přičemž za hlavní vektor jsou považována klíšťata komplexu *Ixodes ricinus* [2]. Po dlouhou dobu nebylo tomuto agens věnováno mnoho pozornosti, v roce 2011 však byly popsány první případy onemocnění *B. miyamotoi* u člověka v Rusku [3]. V současnosti je dokumentováno několik stovek případů onemocnění způsobených *B. miyamotoi* v dalších zemích, především v USA, Japonsku, Číně, Nizozemí, Německu či Rakousku. Zaznamenány jsou i 4 závažné případy meningoencefalitidy u imunokompromitovaných pacientů. Onemocnění způsobené *B. miyamotoi* se projevuje jako nespecifické horečnaté onemocnění

doprovázené zimnicí, vyčerpaností, bolestí hlavy, svalů a kloubů a klinickými příznaky podobnými humánní granulocytární anaplasmóze způsobené *Anaplasma phagocytophilum*. Horečnaté stavy mohou doprovázet tzv. relapsy [2, 4].

V České republice byla *B. miyamotoi* poprvé detekována v klíšťatech *I. ricinus* ve Vranově nad Dyjí [5] a poté především v jižních Čechách, ve všech případech v nízké prevalenci v řádu jednotek procent, což je trend pro *B. miyamotoi* typický [6, 7]. Ačkoliv nebyl dosud v České republice zaznamenán případ onemocnění u člověka, výskyt *B. miyamotoi* v klíšťatech na našem území může představovat reálné riziko pro veřejné zdraví.

Cílem předkládané molekulární surveillance bylo stanovit prevalenci *B. miyamotoi* v klíšťatech *I. ricinus* ve čtyřech lokalitách Jihomoravského kraje a zhodnotit možné riziko nákazy člověka ve třech odlišných biotopech (sylvatický, urbánní a zemědělský).

MATERIÁL A METODY

Lokality sběru klíšťat

Klíšťata byla sbírána v lokalitách 'Valtice' (48°44'N, 16°45'E), 'Pohansko' (48°43'N 16°53'E) a 'Suchovské Mlýny' (48°53'N, 17°34'E) v letech 2013–2014 a v lokalitě 'Obora Rovná' (49°29'N, 16°37'E) v roce 2019. (obr. 1). Lokalita 'Valtice' se nachází v oblasti zámeckého parku a reprezentuje tak urbánní lokalitu, lokalita 'Pohansko' spolu s lokalitou 'Obora Rovná' pak představují lokalitu sylvatickou a lokalita 'Suchovské Mlýny' je zemědělsky využívanou krajinou (pastviny) – obrázek 1.



Obr. 1. Lokality sběru klíšťat v Jihomoravském kraji
(upraveno podle risy.cz)

Figure 1. Tick collection sites in the South Moravian Region
(adapted from risy.cz)

Sběr a determinace klíšťat

Sběr klíšťat probíhal vláčením bílé flanelové vlajky 1 x 1,5 m po porostu. Determinace jedinců proběhla podle typické morfologie [8], ve všech případech se jednalo o klíšťata *I. ricinus*. Klíšťata z lokalit 'Valtice', 'Pohansko' a 'Suchovské Mlýny' byla zpracována a vyšetřena individuálně. V případě lokality 'Obora Rovná'

byla klíšťata roztríděna převážně do směsi podle pohlaví a stadia (samci po 4–6 jedincích; larvy a nymfy po 8 jedincích a samice jednotlivě).

Izolace DNA a molekulární detekce *B. miyamotoi*

Homogenizace vzorků proběhla ve fosfátovém pufru (Oxoid, Velká Británie) s využitím homogenizátoru TissueLyzerII (Retch, Qiagen, Německo). Celková DNA byla izolována pomocí kitu QiAamp mini kit (Qiagen, Německo) podle instrukcí výrobce.

Pomocí konvenční PCR byl detekován úsek genu pro GIpQ (glycerol fosfodiester fosfodiesteráza), který představuje selektivní marker pro zjištění přítomnosti *B. miyamotoi* v klíšťatech rodu *Ixodes* [9]. Sekvence pozitivních vzorků proběhla Sangerovým sekvenováním a data byla zpracována softwarem Lasergene v.12 a následně proběhlo srovnání s podobnými sekvencemi *B. miyamotoi* pomocí algoritmu BLAST dostupného v rámci domény NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>).

VÝSLEDKY A DISKUSE

B. miyamotoi byla detekována pomocí konvenční PCR a potvrzena sekvenací celkem v 10 vzorcích (8 vzorků jednotlivých klíšťat a 2 směsi) z celkem 840 vyšetřených klíšťat. Pozitivní vzorky a prevalenci v jednotlivých lokalitách znázorňuje tabulka 1. V lokalitě 'Obora Rovná' byla *B. miyamotoi* detekována pouze ve směsi nymf a ve směsi larev. Statisticky významný rozdíl v prevalencích *B. miyamotoi* mezi jednotlivými lokalitami ani stadii klíšťat nebyl zaznamenán, což naznačuje, že *B. miyamotoi* se vyskytuje v odlišných typech biotopů v závislosti na přítomnosti klíštěcího vektora a volně žijících obratlovců (primární statistická data dostupná u autorů studie). Sekvenací pozitivních vzorků bylo získáno 10 zcela shodných sekvencí úseku genu pro GIpQ o délce 723 bp. Příložením sekvencí v databázi BLAST (BLASTn) prokázalo takřka 100% shodu (rozdíl 1 nt) naší sekvence s dalšími dostupnými sekvencemi v rámci České republiky (přístupové kódy GenBank: CP046389 a CP046388) [10] a Nizozemí (přístupové kódy GenBank: CP044783 a CP044625).

Tabulka 1. Prevalence *B. miyamotoi* v jednotlivých lokalitách

Table 1. Prevalence of *B. miyamotoi* by study site

Lokalita	F	M	N	L
Pohansko	1/11	0/9	5/209/2.39*	0/0
Suchovské Mlýny	0/32	0/32	1/119/0,84	0/0
Valtice	0/47	1/59	0/124	0/0
Celkem	1/90/1.11	1/100/1.00	6/452/1.33	0/0
Obora Rovná	0/12	0/18	1/134/0.75	1/34/2.94

*počet pozitivních vzorků/počet vyšetřených klíšťat/MIR (%)

*no. of positive ticks/no. of ticks tested/MIR (%)

Vysvětlivky: F = samice; M = samci; N = nymfy; L = larvy; MIR = minimální prevalence

Explanations: F = female; M = male; N = nymph; L = larva; MIR = minimum prevalence

V předložené studii byla detekována *B. miyamotoi* ve všech 4 studovaných lokalitách v Jihomoravském kraji. Detekce *B. miyamotoi* ve směsi larev v lokalitě 'Obora Rovná' je potvrzením schopnosti jejího transovariálního přenosu, který se zdá být zásadním faktorem pro dlouhodobé udržení spirochety v ohniscích nákazy [11]. Zjištěná prevalence je v souladu s prevalencemi dokumentovanými v České republice [6] či v jiných zemích Evropy, tj. nízká v řádu jednotek procent [2].

Vzhledem k výskytu *B. miyamotoi* na území České republiky je nutno zvažovat riziko nákazy touto spirochetou pro člověka. Ačkoliv v České republice dosud žádný případ nákazy zaznamenán nebyl, je nutno klást důraz na zvyšování povědomí o tomto onemocnění mezi lékaři. Onemocnění je totiž považováno za vysoce poddiagnostikované, a to nejen z důvodu zkřížených reakcí s *B. burgdorferi* s. l. v sérologických testech, ale také kvůli podobnosti klinických příznaků s lidskou granulocytární anaplasmózou. Navíc nejsou běžně dostupné komerční diagnostické sady pro přímou i nepřímou laboratorní diagnostiku *B. miyamotoi*. Některé případy také mohou uniknout pozornosti z důvodu empiricky nasazené antibiotické léčby. Zvýšenou pozornost toto onemocnění zasluhuje i z důvodu možného závažného průběhu (meningoencefalitida) u imunokompromitovaných pacientů [2].

Důraz by měl být kladen i na prevenci a ochranu člověka před klíšťaty, především pak včasné odstranění přisátých klíšťat, neboť u *B. miyamotoi* bylo zaznamenáno riziko přenosu již v prvních 24 hodinách po přisátí klíštěte [12].

LITERATURA

1. Fukunaga M, Takanashi Y, Tsuruta Y, et al. Genetic and phenotypic analysis of *Borrelia miyamotoi* sp. nov., isolated from the ixodid tick *Ixodes persulcatus*, the vector for Lyme disease in Japan. *Int J Syst Bacteriol*, 1995;45:804–810.
2. Cutler S, Vayssier-Taussat M, Estrada-Peña A, et al. A new *Borrelia* on the block: *Borrelia miyamotoi* – a human health risk? *Euro Surveill*, 2019;24.
3. Platonov AE, Karan LS, Kolyasnikova NM, et al. Humans infected with relapsing fever spirochete *Borrelia miyamotoi*, Russia. *Emerg Infect Dis*, 2011;17:1816–1823.
4. Tobudic S, Burgmann H, Stanek G, et al. Human *Borrelia miyamotoi* Infection, Austria. *Emerg Infect Dis*, 2020;26:2201–2204.
5. Richter D, Debski A, Hubalek Z, et al. Absence of Lyme disease spirochetes in larval *Ixodes ricinus* ticks. *Vector-Borne Zoonotic Dis*, 2011;12:21–27.
6. Honig V, Carolan HE, Vavruskova Z, et al. Broad-range survey of vector-borne pathogens and tick host identification of *Ixodes ricinus* from Southern Czech Republic. *FEMS Microbiol Ecol*, 2017;93:1–13.
7. Crowder ChD, Carolan HE, Rounds MA, et al. Prevalence of *Borrelia miyamotoi* in *Ixodes* ticks in Europe and the United States. *Emerg Infect Dis*, 2014;20:1678–1682.
8. Rosický B, Černý V, Daniel M, et al. *Roztoči a klíšťata škodící zdraví člověka*. Praha: Academia; 1979. s. 37–50.
9. Szekeres S, Coipan EC, Rigo K, et al. Eco-epidemiology of *Borrelia miyamotoi* and Lyme borreliosis spirochetes in a popular hunting and recreational forest area in Hungary. *Parasit Vectors*, 2015;8:309.
10. Janeček J, Nováková M, Oppelt J, et al. Complete chromosomal sequences of two *Borrelia miyamotoi* samples obtained from *Ixodes ricinus* eggs in Czechia. *Microbiol Resour Announc*, 2020;9:e01504–19.
11. Rollend L, Fish D, Childs JE. Transovarial transmission of *Borrelia* spirochetes by *Ixodes scapularis*: a summary of the literature and recent observations. *Ticks Tick-Borne Dis*, 2013;4:46–51.
12. Breuner NE, Dolan MC, Replogle AJ, et al. Transmission of *Borrelia miyamotoi* sensu lato relapsing fever group spirochetes in relation to duration of attachment by *Ixodes scapularis* nymphs. *Ticks Tick-Borne Dis*, 2017;8:677–681.

Poděkování

Práce byla finančně podpořena v rámci projektu Agentury pro zdravotnický výzkum Ministerstva zdravotnictví České republiky (reg. číslo projektu NU21-05-00143).

Do redakce došlo dne 11. 2. 2021.

Adresa pro korespondenci:

doc. RNDr. Ivo Rudolf, Ph.D.

Ústav biologie obratlovců AV ČR, v.v.i.

Klášteří 212

691 42 Valtice

e-mail: rudolf@ivb.cz