

Detekce *Babesia* spp. v klíšťatech, v krvi psů a jelenů v České republice

Lukavská A.¹, Kybicová K.¹, Míchalová P.¹, Navrátil J.¹, Lamka J.², Schánilec P.³

¹Národní referenční laboratoř pro lymeskou borreliózu, Centrum epidemiologie a mikrobiologie, Státní zdravotní ústav, Praha

²Farmaceutická fakulta Univerzity Karlovy, Hradec Králové

³Klinika chorob psů a koček, Veterinární univerzita Brno

SOUHRN

Cíl: Zjistit výskyt potenciálně patogenních druhů babesii pro člověka v klíšťatech a v krvi psů a jelenů ve vybraných regionech České republiky. Prevalenci *Babesia* spp. v klíšťatech porovnat s výskytem jiných patogenů přenášených klíšťaty jako *Borrelia* spp., *Anaplasma* spp., *Rickettsia* spp.

Materiál a metody: Vzorky klíšťat byly jednotlivě homogenizovány, ze vzorků klíšťat a krve živočichů provedena izolace DNA. Detekce *Babesia* spp. byla stanovena metodou PCR 18S rRNA genu a sekvenační analýzou PCR produktů určeny jednotlivé druhy babesii.

Výsledky: V letech 2014–2016 byla analyzována klíšťata a krev psů a jelenů na různých místech České republiky. Ze souboru 675 klíšťat *Ixodes ricinus* dosahovala pozitivita na přítomnost *Babesia* spp. hodnot od 0,0 do 3,3 %. Sekvenační analýzou byly v klíšťatech identifikovány druhy *Babesia venatorum*, *Babesia microti* (patogenní druhy pro člověka) a druh *Babesia capreoli*. Prevalence *Babesia* spp. v klíšťatech byla v porovnání s výskytem jiných patogenů jako *Borrelia burgdorferi* s. l. (29,3 %), *Anaplasma phagocytophilum* (4,9 %) nižší a srovnatelná s *Rickettsia* spp. (1,6 %). U třetiny pozitivních klíšťat na babesie byla zjištěna koinfekce s *Borrelia burgdorferi* s. l. (*B. venatorum* – *Borrelia garinii*, *Borrelia afzelii* a *B. microti* – *B. afzelii*). Ze 109 vzorků krve psů bylo 3,7 % pozitivních na *Babesia* spp. s výskytem druhů *Babesia gibsoni* a *Babesia vulpes*. Z 50 vzorků krve jelenů z přírodního ekosystému dosahovala pozitivita 4,0 %. Identifikován byl druh *Babesia divergens*, nejvíce patogenní druh *Babesia* spp. pro člověka. Z 80 vzorků krve jelenů chovaných na farmách bylo pozitivních 5,0 % s výskytem druhu *Babesia odocoilei*.

Nukleotidové sekvence babesii způsobujících humánní babesiózu byly zaslány do genové banky a přijaty pod čísla ON892053 (*B. venatorum*), ON892061 (*B. microti*), ON892067 (*B. divergens*).

Závěr: Metodou PCR 18S rRNA genu a sekvenací amplikonů byly na území České republiky detekovány tři druhy babesii patogenních pro člověka: *B. divergens*, *B. venatorum*, *B. microti*. Výskyt těchto druhů babesii znamená potenciální riziko onemocnění babesiózou, zejména pro asplenické a imunokompromitované pacienty. Zjištěné koinfekce s *Borrelia burgdorferi* s. l. mohou být příčinou komplikovaného průběhu onemocnění.

KLÍČOVÁ SLOVA

Babesia spp. – *Borrelia burgdorferi* s. l. – *Anaplasma* spp. – *Rickettsia* spp. – koinfekce – PCR – sekvenace – klíště – pes – jelen – Česká republika

ABSTRACT

Lukavská A., Kybicová K., Míchalová P., Navrátil J., Lamka J., Schánilec P.: Detection of *Babesia* spp. in ticks and in blood of dogs and red deer in the Czech Republic

Aim: To determine the occurrence of species of *Babesia* potentially pathogenic for humans in ticks and in the blood of dogs and deer in selected regions of the Czech Republic. To compare the prevalence of *Babesia* spp. in ticks with that of other tick-borne pathogens, such as *Borrelia* spp., *Anaplasma* spp., and *Rickettsia* spp.

Material and Methods: Tick samples were individually homogenized. DNA was isolated from tick samples and animal blood. The detection of *Babesia* spp. was based on PCR of the 18S rRNA gene, and the identification to the species level was done by sequencing analysis of the PCR products.

Results: In 2014–2016, ticks and blood of dogs and deer collected in various areas of the Czech Republic were analyzed. In a set of 675 *Ixodes ricinus* ticks, the positivity rate for *Babesia* spp. varied from 0.0 to 3.3 %. The species *Babesia venatorum*, *Babesia microti* (both pathogenic for humans), and *Babesia capreoli* were identified in ticks by sequencing analysis. The prevalence of *Babesia* spp. in ticks compared to that of other pathogens such as *Borrelia burgdorferi* s. l. (29.3 %) or *Anaplasma phagocytophilum* (4.9 %) was lower and comparable to that of *Rickettsia* spp. (1.6 %). Co-infection with *Borrelia burgdorferi* s. l. (*B. venatorum* – *Borrelia garinii*, *Borrelia afzelii*, and *B. microti* – *B. afzelii*) was found in a third of *Babesia* spp. positive ticks. Out of 109 dog blood samples, 3.7 % were positive for *Babesia* spp., specifically *Babesia gibsoni* and *Babesia vulpes*. Of 50 blood samples of wild deer from the natural ecosystem, the positivity rate reached 4.0 %. The species *Babesia divergens*, a major human pathogen, was identified. Out of 80 blood samples from farmed deer, 5.0 % were positive for the species *Babesia odocoilei*. Nucleotide sequences of the agents causing human babesiosis were deposited in the gene bank under accession numbers ON892053 (*B. venatorum*), ON892061 (*B. microti*), and ON892067 (*B. divergens*).

Conclusions: Using PCR of the 18S rRNA gene and amplicon sequencing, three species of *Babesia* causing human babesiosis were detected in the Czech Republic: *B. divergens*, *B. venatorum*, and *B. microti*. *Babesia* spp. pathogenic for humans pose a potential risk especially in asplenic and immunocompromised patients. The detected co-infections with *Borrelia* spp. can be the cause of a complicated course of the disease.

KEYWORDS

Babesia spp. – *Borrelia burgdorferi* s. l. – *Anaplasma* spp. – *Rickettsia* spp. – PCR – co-infection – sequence analysis – tick – dog – deer – Czech Republic

Epidemiol Mikrobiol Imunol, 2024; 73(3): 124–130
<https://doi.org/10.61568/emi/11-6352/20240726/138063>

ÚVOD

Klíšťata jsou vektory řady patogenů a jejich monitorování je významné v rámci epidemiologického sledování. Ve střední Evropě představují největší zdravotní riziko klíšťata *Ixodes ricinus*, která vedle nejznámějších patogenů, virů klíšťové encefalitidy a bakterií borrelií, mohou přenášet i tzv. minoritní patogeny, jako *Anaplasma phagocytophilum*, *Rickettsia* spp. a *Babesia* spp. [1, 2]. Více než 100 druhů babesii infikuje řadu domácích a divokých zvířat jako skot, koně, ovce, psy, jeleny, srnce, malé savce aj., ale jen několik druhů infikuje člověka [3]. Jednotlivé druhy se liší ve své virulenci a mohou být příčinou onemocnění (babesioza) lidí a zvířat [4]. U psů je babesioza častá a potenciálně životu nebezpečná infekce [5]. U hovězího dobytka může způsobit fatální hemolytickou anémii stáda, zvláště při souběžné infekci jinými patogeny jako anaplasmou a mycoplasmou [6]. Od roku 1957 bylo v Evropě uveřejněno 56 autochtonních případů lidské babesiozy, které byly způsobeny třemi druhy babesii: *Babesia divergens*, *Babesia venatorum*, *Babesia microti* [7]. Většina pacientů byla asplenická, imunosupresivní nebo s jinými komorbitami. Přestože je hlavním přenašečem infekce klíště, byly zaznamenány i případy přenosu patogenu transfuzí kontaminované krve a krevních produktů [8]. V endemických oblastech USA (severovýchod a severní část Středozápadu) byl zjištěn i kongenitální přenos z matky na dítě [9].

MATERIÁL A METODY

Sběr klíšťat a odběr krve živočichů

V letech 2014 a 2015 bylo provedeno monitorování promořenosti klíšťat *I. ricinus* vybranými patogeny ve čtyřech pražských parcích (Klánovický les, Kunratický les, Satalická obora, Prokopské údolí). Byly zvoleny lokality, které slouží k relaxaci a výletům, kde tráví občané svůj volný čas. Sběr klíšťat byl proveden vlnováním od března do června a v září (období sezonní aktivity klíšťat *I. ricinus* ve střední Evropě). Klíšťata byla individuálně rozdělena do zkumavek a uchována při $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ do začátku testování.

V roce 2015 byla odebrána krev 109 psů, kteří byli sledováni na Klinice chorob psů a koček, Veterinární univerzity Brno. Vzorky krve s EDTA byly po odběru zamrazeny na $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Ve spolupráci s Farmaceutickou fakultou Univerzity Karlovy Hradec Králové bylo během let 2014–2016 odebráno 50 vzorků krve jelenů volně žijících v Krkonošském národním parku a 80 vzorků krve jelenů chovaných na farmách a v oborách na různých místech Čech (Středočeský kraj, Královéhradecký kraj, Pardubický kraj, kraj Vysočina, Moravskoslezský kraj, Zlínský kraj). Odběry krve jelenů byly uskutečňovány při individuálních imobilizacích jelenů. Vzorky krve s EDTA byly uchovány při $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Homogenizace klíšťat a DNA izolace ze vzorků klíšťat a krve

Každý vzorek klíštěte byl mechanicky rozrušen sterilním skalpelem nebo nůžkami v mikrozkumavce ve 180 μl pufru ATL. Na izolaci DNA ze vzorků byl použit kit QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen, Germany) a extrakce provedena dle návodu výrobce.

Detekce *Babesia* spp. metodou PCR

Reakce PCR byla prováděna podle protokolu Casati [10]. Pro amplifikaci 18S rRNA genu *Babesia* spp. byly použity primery BJ1 (5'-GTC TTG TAA TTG GAA TGA TGG-3') a BN2 (5'-TAG TTT ATG GTT AGG ACT ACG-3'), délka amplifikovaného úseku 411–452 pb. Celkový objem reakční směsi byl 25 μl , s 5 μl extrahované DNA jako templátu, 0,5 μM každého primeru, 0,625 jednotek Taq DNA polymeráze v Taq PCR Mixu (Qiagen, Germany). Reakce byla prováděna na přístroji DNA Engine Thermal Cycler (Bio Rad applied Biosystems, USA). Jednokroková PCR reakce sestávala z počáteční denaturace (3 min při $94\text{ }^{\circ}\text{C}$), 35 cyklů amplifikace (denaturace 1 min při $94\text{ }^{\circ}\text{C}$, annealing 1 min při $55\text{ }^{\circ}\text{C}$, elongace 2 min při $72\text{ }^{\circ}\text{C}$) a závěrečného kroku 5 min při $72\text{ }^{\circ}\text{C}$. Produkty byly po přidání barvy GelRed stain (Biotum Inc., USA) elektroforeticky separovány v 1,2% agarozovém gelu a vizualizovány použitím standardního UV transiluminátoru.

Pozitivní kontroly byly poskytnuty pracovníky Parazitologického ústavu Slovenské akademie věd.

Sekvenční analýza PCR produktů

PCR produkty (411–452 bp) byly přečištěny použitím kitu High Pure PCR Product Purification Kit (Roche Diagnostics, US.). Vhodná koncentrace na sekvenaci 5–10 ng/100 pb (DNA koncentrace PCR produktů) byla zjištěna měřením na přístroji Nanodrop (1000 Spectrophotometer, Thermo Fisher Scientific, USA). Sekvence byla prováděna na sekvenčním analyzátoru 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, USA) v sekvenční laboratoři Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy. K vyhledávání a porovnávání sekvencí v databázích byl použit FASTA format and BLAST program National Center for Biotechnology Information (Bethesda, MD, USA).

VÝSLEDKY**Výskyt *Babesia* spp. v klíštětech z pražských parků, porovnání s ostatními patogeny**

Největší pozitivita klíšťat na přítomnost babesii byla zjištěna v Klánovickém lese (3,3 %). Pozitivní klíšťata byla ve stadiu nymf, a vyskytoval se pouze druh *B. venatorum*. U jednoho klíštěte byla zjištěna koinfekce s borrelií (*B. afzelii*). V Kunratickém lese byla promořenost 2,1 %, 5 nymf, 2 samci, 1 samice. Na této lokalitě se vyskytovalo nejbohatší druhové zastoupení babesii (*B. venatorum*, *B. capreoli*, *B. microti*). U tří nymf a jednoho samce byla zjištěna koinfekce s borreliemi, dvakrát *B. microti* – *B. afzelii*, dvakrát *B. venatorum* – *B. garinii*. Pestrá promořenost souvisí s hojným zastoupením rezervoárových živočichů od malých savců až po velké kopytníky. Vyskytuje se zde srnčí zvěř, mufloni, ptáci a v nivě potoka také hlodavci (hrabošik podzemní). V Prokopském údolí byla pozitivita 1,3 %, pozitivní byl 1 samec (*B. capreoli*). V Satalické oboře babesie v klíštětech prokázány nebyly. Rozdíly v počtu infikovaných klíšťat na jednotlivých lokalitách jsou dány charakterem biotopu a přítomností rezervoárových živočichů. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 1.

Výskyt babesii v klíštětech byl porovnán s výskytem ostatních patogenů. Nejvíce zastoupeny byly *Borrelia burgdorferi* s. l. (30 %), výskyt ostatních patogenů byl podstatně menší a pohyboval se v jednotkách procent. Prevalence *Anaplasma phagocytophilum* 4,9 %, *Babesia* spp. 1,8 %, *Rickettsia* spp. 1,6 %. Vyskytovaly se i koin-

fekce, nejčastěji se jednalo o kombinace s borrelií způsobující lymeskou borreliózu. Borrelie s anaplasmou se vyskytovala u 1,5 % klíšťat, borrelie s rickettsií u 0,9 %, borrelie s babesii 0,7 % a anaplasma s rickettsií byla prokázána u 0,4 % klíšťat (nepublikované údaje).

Identita *Babesia microti* a *Babesia venatorum*

Z potenciálně patogenních druhů babesii pro člověka byly sekvenční analýzou PCR produktů zjištěny druhy *B. venatorum* a *B. microti*. Pořadí bazí amplifikovaných úseků 411–452 bp bylo porovnáno s úseky genů v izolátech pacientů s babesiózou a klíšťat (publikované údaje). Sekvence genů byly staženy z databáze genové banky a porovnána variabilita fragmentů 18S rRNA genu.

Babesia microti

Amplifikovaný fragment o velikosti 451 pb (Acc. No. ON892061) z izolátu klíštěte z Kunratického lesa v lokalitě Glóbus ukázal 100% identitu s 18S rRNA genu prokázaným v izolátu krve pacientky s humánní babesiózou (Acc. No. EF 413181) a v izolátech z klíšťat v kantonu Curych (Acc. No. AY 648882, AY 648883) [11, 10].

Druh *B. microti* vyskytující se v Americe je více virulentní než druh *B. microti* vyskytující se v Evropě a je příčinou importovaných nálezů z USA do Evropy. Porovnáním s úseky genu *B. microti* izolovaném z klíštěte na severovýchodě USA byla identita 99,6 %, odchylka se vyskytovala v 1 páru bazí a v 1 inserci/absenci baze (Acc. No. AY144694).

Babesia venatorum

Tato babesie se vyskytovala v klíštětech nejhojněji, v Klánovickém lese byla dominantní. Onemocnění způsobené tímto druhem se v klinických projevech velmi podobá příznakům vyvolaným *B. divergens*, ale není tak infekční, průběh onemocnění má mírnější průběh, úmrtí zaznamenáno nebylo. Vykazuje jen 98,2% homologii s *B. divergens* nalezenou u nemocných s babesiózou.

Porovnání úseků genů 414–418 bp z izolátů klíšťat Klánovického lesa vykazovalo 100% identitu s 18S rRNA genu, prokázaným v izolátu krve pacientky s humánní babesiózou (Acc. No. AY046575) [12]. Jednalo se o první případ humánní babesiózy v Německu v roce 2005.

Tabulka 1. Pozitivita klíšťat *Babesia* spp. ve vybraných pražských parcích a jejich druhové zastoupení (2014–2015)**Table 1.** Positivity of ticks by *Babesia* spp. in selected Prague parks and detection of genus (2014–2015)

Lokalita	Počet testovaných klíšťat	Pozitivita klíšťat (%)	<i>Babesia</i> spp.
Satalická obora	70	0/70 (0,0 %)	–
Klánovický les	152	5/152 (3,3 %)	5× <i>B. venatorum</i>
Kunratický les	377	8/377 (2,1 %)	5× <i>B. venatorum</i> 2× <i>B. microti</i> 1× <i>B. capreoli</i>
Prokopské údolí	76	1/76 (1,3 %)	1× <i>B. capreoli</i>

Tabulka 2. Pozitivita krve psů *Babesia* spp. a jejich druhové zastoupení (2015)**Table 2.** Positivity of *Babesia* spp. in dogs blood samples and detection of genus (2015)

Celkový počet vzorků	Počet pozitivních vzorků	Infekční poměr (% pozitivity)	<i>Babesia</i> spp.
109	4	3,7 %	3× <i>B. gibsoni</i> 1× <i>B. vulpes</i>

Tabulka 3. Pozitivita krve jelenů *Babesia* spp. a jejich druhové zastoupení (2014–2016)**Table 3.** Positivity of *Babesia* spp. in red deer blood samples and detection of genus (2014–2016)

	Celkový počet vzorků	Počet pozitivních vzorků	Infekční poměr (% pozitivity)	<i>Babesia</i> spp.
Jelení (v přírodě)	50	2	4,0 %	2× <i>B. divergens</i>
Jelení (v oborách, farmách)	80	4	5,0 %	4× <i>B. odocoilei</i>

100% identita byla také nalezena v izolátech z klíšťat z kantonů Ticino a Neuchatel ve Švýcarsku (Acc. No. AY648877, AY648878, AY648881) [10].

Výskyt *Babesia* spp. v krvi psů

Z celkového počtu 109 vzorků krve psů bylo 3,7 % pozitivních na *Babesia* spp. Ve třech případech byla prokázána *Babesia gibsoni* a v jednom případě *Babesia vulpes* (pes pocházející ze Srbska). Hodnota pozitivity a druhové zastoupení jsou uvedeny v tabulce 2.

Oba dva druhy babesí (*Babesia gibsoni*, *Babesia vulpes*) zjištěné v krvi psů jsou patogenní pro psy, u člověka zaznamenány nebyly. Údaje prevalence (3,7 %) a druhová zastoupení jsou obdobná údajům v jiných zemích. Na Slovensku byla zjištěna promořenost 3,6 %, převážně zastoupena druhem *Babesia canis canis* [13], ve Velké Británii 2,4 % s druhovým zastoupením *Babesia gibsoni* [14]. *B. gibsoni* nebyla v Evropě dlouho známa, převážně se vyskytuje v oblastech Asie, Severní Ameriky, Austrálie, avšak několik případů infekce způsobené tímto druhem se potvrdilo v Evropě včetně České republiky [5, 15, 16, 17]. Výskyt *B. gibsoni* mimo endemické oblasti je přisuzován globálnímu oteplování a následnou změnou v rozšíření jednotlivých druhů klíšťat [18]. Vliv má i narůstající migrace psů (cestování, soutěže). Určení správného druhu babesie při onemocnění babesiózou má zásadní význam pro léčbu, neboť dosud používaná tradiční anti-babesiální terapie proti *B. canis* je neefektivní při onemocnění způsobené *B. gibsoni* [19].

Výskyt *Babesia* spp. v krvi jelenů

Z celkového počtu 130 vzorků bylo 50 vzorků krve jelenů žijících ve volné přírodě Krkonošského národního parku a 80 vzorků krve jelenů chovaných na farmách nebo v oborách (Středočeský kraj, Královéhradecký kraj, Pardubický kraj, kraj Vysočina, Moravskoslezský kraj, Zlínský kraj).

U jelenů z přírodního ekosystému dosahovala promořenost babesími 4,0 % a ze zjištěných druhů byla zjištěna *B. divergens*, u jelenů chovaných v oboře či na farmě byla pozitivita 5,0 % s druhovým zastoupením *B. odocoilei*. Hodnoty pozitivity krve jelenů a druhová zastoupení babesí uvádí tabulka 3.

V krvi jelenů volně žijících v Krkonošském národním parku dosahovala promořenost 4 % a byla zjištěna přítomnost *Babesia divergens*. Obdobné hodnoty prevalence a druhové zastoupení bylo zjištěno i v jiných evropských zemích [1, 20]. Studie provedená v západní části Rakouska prokázala ve 196 vzorcích krve jelenů pozitivitu 5,1 % na *B. divergens* [1]. Z oblasti severní a východní části Tyrolska bylo více než 2,1 % lidí, kteří darovali krev, séropozitivních (IgG) na *B. divergens* [21].

Patogenita druhu *B. odocoilei* zjištěná v krvi jelenů chovaných na farmách nebyla prokázána.

Identita *B. divergens*

B. divergens je nejběžnější a nejvíce patogenní druh pro člověka. Amplifikovaný fragment o velikosti 413 bp z izolátu krve jelena ukázal 100% identitu s 18S rRNA referenčního genu (Acc. No. U16370).

100% identita byla zjištěna u dvou vzorků pacientů s humánní babesiózou ve Španělsku. První byl izolován z krve starší pacientky s intaktní slezinou, která onemocnění podlehl, ve druhém případě se jednalo o případ závažného průběhu onemocnění u imunokompromitovaného muže (Acc. No. MG944238, KF533077) [22, 23].

Shodnost byla také zjištěna v izolátu krve 74leté pacientky s intaktní slezinou v severozápadní části Ruska. Po závažném průběhu s multisystémovým selháním pacientka onemocnění podlehl (Acc. No. MK510929) [24].

100% shoda byla také nalezena v izolátech z klíšťat sajících na skotu v kantonu Ticino ve Švýcarsku (Acc. No. AY 648876, AY 648875) [10].

DISKUSE

Hodnoty prevalence a výskyt jednotlivých druhů babesií byly obdobné jako výsledky jiných prací z České republiky (ČR) a ostatních evropských zemích. První testování klíšťat na přítomnost babesií v ČR provedli pracovníci Ústavu biologie obratlovců Akademie věd ČR na jižní Moravě. Rudolf et al. publikoval v roce 2005 článek o výskytu *B. microti* s prevalencí 1,5 % a v roce 2015 Venclíková et al. uveřejnila článek o přítomnosti *B. venatorum* a *B. capreoli*. V klíšťatech městských parků byl index pozitivity 0,4 % a v přírodním lesním ekosystému 1,5 % [25, 26]. V Polsku promořenost klíšťat dosahovala 1,6 % (*B. venatorum*, *B. canis canis*), ve Švýcarsku 0,7–1,7 % (*B. venatorum*, *B. microti*, *B. divergens*) [10, 27]. V Německu proběhla studie testování klíšťat v rekreačních oblastech s hodnotami promořenosti 4,1–6,1 % (*B. venatorum*, *B. capreoli*, *B. microti*, *B. divergens*) [2].

Za účelem vyhodnocení rizika nemocí přenášených klíšťaty byly v řadě zemí provedeny studie promořenosti klíšťat více patogeny včetně minoritních. Prevalence převážně duálně infikovaných klíšťat je největší v endemických oblastech severní části USA a Evropy, kde se většina koinfekcí vyskytuje u pacientů s diagnostikovanou lymeskou borreliózou [28].

V letech 2007–2008 proběhla v Nizozemí studie detekce patogenů (metodami PCR) v klíšťatech sajících na lidech a v krvi dobrovolníků po přísátí klíštěte a s erythema migrans. V klíšťatech byla zjištěna prevalence borreliemi ze skupiny *Borrelia burgdorferi* s. l. (způsobující lymeskou borreliózu) 29,0 %, *Neoehrlichia mikurensis* 5,4 %, *Anaplasma/Ehrlichia* spp. 2,5 %, *Babesia* spp. 3,5 % a *Borrelia miyamotoi* (způsobující návratnou horečku) 2,3 %. V případech koinfekcí se ve většině případů jednalo o kombinaci borrelií s jiným patogenem – borrelie s anaplasmou/ehrlíchií 3,2 %, borrelie s babesií 1,0 %, borrelie ze skupiny sensu lato s *B. miyamotoi* způsobující návratnou horečku 0,3 %. Přítomnost patogenů v krvi byla zjištěna u 2,4 % dobrovolníků z celkového počtu 626 vzorků [29].

Studie patogenů v klíšťatech sajících na lidech provedená v Belgii v roce 2017 ukázala na podobné hodnoty infekčnosti klíšťat sledovanými patogeny. Koinfekce byla nalezena u 3,9 % zkoumaných klíšťat, nejběžněji se vyskytující kombinace *B. burgdorferi* s. l. a *Neoehrlichia mikurensis* [30].

Prevalencí patogenů v klíšťatech se zabývá řadu let Národní referenční laboratoř pro lymeskou borreliózu SZÚ v Praze. Studie z roku 2007, která zjišťovala infekčnost klíšťat na různých místech ČR uvádí promořenost borreliemi ze skupiny *Borrelia burgdorferi* s. l. 17,3 % a *Anaplasma phagocytophilum* 4,4 %. Nejvyšší výskyt anaplasmové infekce v klíšťatech byl v městských parcích v jarních měsících (9,6 %), v podzimních (2,2 %) [31]. Monitorování lokalit v pražských parcích provádě-

děné v posledních letech odhalilo promořenost klíšťat *Borrelia burgdorferi* s. l. 28,0 %, *Anaplasma phagocytophilum* 4,3 %. Nejvyšší hodnota infekčnosti klíšťat borreliemi byla zjištěna v roce 2015, kdy v Prokopském údolí bylo infikováno 60,5 % klíšťat [32].

Koinfikující patogeny mohou změnit účinnost přenosu, způsobit kooperativní nebo kompetitivní interakce patogenů a změnit závažnost onemocnění mezi hostiteli. Modelové pokusy na myších ukazují, že vysoká parazitémie *B. microti* způsobuje nízkou hladinu hemoglobinu u infikovaných myší, která je rovněž pozorována u pacientů s babesiózou. Podobně jako u lidí zvyšuje koinfekce *B. microti* u myší závažnost symptomů podobných lymeské borrelióze. Koinfikované myši *B. burgdorferi* s. l. vykazují nižší parazitémii *B. microti* ve srovnání s myši infikovanými samotnou *B. microti*. To může odrážet zmírnění symptomů babesiózy u některých lidských koinfekcí. Tato zjištění naznačují, že koinfekce *Borrelia burgdorferi* s *B. microti* zmírňuje růst parazitů babesie, zatímco její přítomnost zhoršuje u myší symptomy podobné lymeské borrelióze [33, 34].

Boyer et al. z Institutu bakteriologie Federace translační medicíny Univerzity ve Štrasburku shrnul ve svém článku dosavadní znalosti o koinfekcích mezi *B. burgdorferi* s. l. a jinými patogeny přenášených klíšťaty. Z dosud publikovaných údajů vyplývá, že u většiny koinfikovaných pacientů proběhlo onemocnění s klinickými příznaky způsobené jedním patogenem (vlastní jednomu patogenu), proti druhému patogenu byla prokázána séropozitivita. Současný průběh infekcí (klinický průběh dvou aktivních nemocí) způsobený dvěma patogeny byl vzácný. K nejběžněji hlášeným případům koinfekcí patří klíšťová encefalitida a neuroborrelióza. Rovněž výskyt vysoké horečky u pacientů s erythema migrans může naznačovat souběžnou infekci dalším patogenem přeneseným klíštětem, nejčastěji *Anaplasma phagocytophilum*. Z dosud známých údajů vyplývá, že koinfekce se nejčastěji projevuje ve dvou případech:

- pacienti s klinickými příznaky lymeské borreliózy a s erythema migrans doprovázené vysokou horečkou byli koinfikováni *A. phagocytophilum*, virem klíšťové encefalitidy, *Babesia* spp., *Rickettsia* spp., *B. miyamotoi* a
- pacienti s neurologickými symptomy virem klíšťové encefalitidy nebo Powassan virem [35].

ZÁVĚR

Molekulárními metodami byly na území ČR v klíšťatech a krvi vybraných živočichů detekovány tři patogenní druhy babesií pro člověka. V klíšťatech pražských parků byly zjištěny druhy *B. microti* a *B. venatorum*, v krvi jelenů žijících ve volné přírodě Krkonošského národního parku *B. divergens*. V krvi jelenů chovaných na farmách nebo oborách a v krvi psů patogenní druhy pro člověka zjištěny nebyly. Sekvence PCR amplifiko-

vaných úseků 411–452 bp ukázala 100% podobnost s 18S rRNA geny babesíí, které byly zjištěny v izolátech pacientů s babesiózou a v izolátech klíšťat z evropského regionu (publikované údaje). Ačkoli se humánní babesióza vyskytuje v Evropě sporadicky, riziková je pro asplenické a imunokompromitované pacienty. V ČR byl dosud zaznamenán případ importované nákazy z USA [36] a přenos nákazy krevní transfuzí připomínající Reiterův syndrom [37].

Zprávy Evropského střediska pro prevenci a kontrolu nemocí uvádí, že dosud bylo v Evropě uveřejněno 39 klinicky závažných případů lidské babesiózy přisuzované *B. divergens*, *B. venatorum* a *B. microti*.

Infekce způsobené minoritními patogeny (anaplasmozá, babesióza, riketsióza) jsou méně běžné a v některých případech opomíjené. Zjištěné koinfekce s borelií mohou být příčinou komplikovaného průběhu onemocnění. Pravděpodobnost nákazy více patogeny se doporučuje zvážit při léčbě pacientů s lymeskou boreliózou, u kterých se výrazně projevují příznaky podobné chřipce (zvláště mimo chřipková období), vykazují nevysvětlitelnou splenomegalii, anemii, trombocytopenii nebo selhání odpovědi na antimikrobiální terapii zaměřenou proti *B. burgdorferi* s.l. [33, 34]. V případě neurologických příznaků zvážit koinfekci s virem klíšťové encefalitidy [35]. Jak často tyto infekce způsobují symptomy onemocnění nebo do jaké míry ovlivňují koinfekce průběh lymeské boreliózy, potřebuje další šetření.

LITERATURA

- Cézanne R, Mrowietz N, Eigner B, et al. Molecular analysis of *Anaplasma phagocytophilum* and *Babesia divergens* in red deer (*Cervus elaphus*) in Western Austria. *Molecular and Cellular Probes*, 2017;31:55–58.
- Silaghi C, Woll D, Hamel D, et al. *Babesia* spp. and *Anaplasma phagocytophilum* in questing ticks, ticks parasitizing rodents and the parasitized rodents-Analyzing the host-pathogen-vector interface in metropolitan area. *Parasit Vectors*, 2012;5:191.
- Zimmer AJ, Simonsen KA. Babesiosis. NCBI Bookshelf. A service of the National Library of Medicine, National Institutes of Health, StatPearls Publishing 2021.
- Yabsley MJ, Shock BC. Natural history of Zoonotic *Babesia*: Role of wildlife reservoirs. *International Journal for Parasitology. Parasites and Wildlife*, 2013;2:18–31.
- Vichová B, Horská M, Blaňarová L, et al. First molecular identification of *Babesia gibsoni* in dogs from Slovakia, central Europe. *Ticks and Tick-borne Diseases*, 2016;7(1):54–59.
- Hofmann-Lehmann R, Meli ML, Dreher UM, et al. Concurrent Infections with Vector-Borne Pathogens Associated with Fatal Hemolytic Anemia in a Cattle Herd in Switzerland. *Journal of Clinical Microbiology*, 2004;42:8.
- Hildebrandt A, Zintl A, Montero E, et al. Human Babesiosis in Europe. *Pathogens*, 2021;10,1165:1–29.
- Krause PJ. Human babesiosis. *Int J Parasitol*, 2019;49(2):165–174.
- Iyer S, Goodman K. Congenital babesiosis from maternal exposure: a case report. *The Journal of Emergency Medicine*, 2019;56:39–41.
- Casati S, Sager H, Gern L, et al. Presence of potentially pathogenic *Babesia* sp. for human in *Ixodes ricinus* in Switzerland. *Ann Agric Environ Med*, 2006;13:65–70.
- Hildebrandt A, Hunfeld KP, Baier M, et al. First confirmed autochthonous case of human *Babesia microti* infection in Europe. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2007;26:595–601.
- Häselbarth K, Tenter AM, Brade V, et al. First case of human babesiosis in Germany – Clinical presentation and molecular characterisation of the pathogen. *Int J Med Microbiol*, 2007;297:197–204.
- Vichová B, Miterpáková M, Iglódyová A. Molecular detection of co-infections with *Anaplasma phagocytophilum* and/or *Babesia canis canis* in *Dirofilaria*-positive dogs from Slovakia. *Vet Parasitol*, 2014;16;203(1–2):167–172.
- Smith FD, Ellse L, Wall R. Prevalence of *Babesia* and *Anaplasma* in ticks infesting dogs in Great Britain. *Veterinary Parasitology*, 2013;198:18–23.
- Beck R, Vojta L, Mrljak V, et al. Diversity of *Babesia* and *Theileria* species in symptomatic and asymptomatic dogs in Croatia. *Int J Parasitol*, 2009;39:843–848.
- Hamel D, Silaghi C, Lescai D, Pfister K. Epidemiological aspects on vector-borne infections in stray and pet dogs from Romania and Hungary with focus on *Babesia* spp. *Parasitol Res*, 2012;110:1537–1545.
- Hartelt K, Rieker T, Oehme RM, et al. First evidence of *Babesia gibsoni* (Asian genotype) in dogs in Western Europe. *Vector Borne Zoonotic Dis*, 2007;7(2):163–166.
- Medlock JM, Hansford KM, Bormane A, et al. Driving forces for changes in geographical distribution of *Ixodes ricinus* ticks in Europe. *Parasites & Vectors*, 2013;6:1.
- Mosqueda J, Olvera-Ramirez A, Aguilar-Tipacamú G, Canto GJ. Current advances in detection and treatment of babesiosis. *Curr Med Chem*, 2012;19(10):1504–1518.
- Zintl A, Finnerty E, Murphy TM, et al. Babesias of red deer (*Cervus elaphus*) in Ireland. *Veterinary Research*, 2011;42:7.
- Sonnleitner ST, Baumgartner R, Edelhofer R, et al. Are *Babesia* a risk factor for blood products in an alpine area? *Parasites & Vectors*, 2014;7:037.
- Asensi V, González LM, Fernández-Suárez J, et al. A fatal case of *Babesia divergens* infection in Northwestern Spain. *Ticks and Tick-borne Diseases*, 2018;9:730–734.
- Gonzalez LM, Rojo S, Gonzalez-Camacho F, et al. Severe babesiosis in immunocompetent man, Spain, 2011. *Emerg Infect Dis*, 2014;20(4):724–726.
- Kukina IV, Zelya OP, Guzeeva (tm), et al. Severe babesiosis caused by *Babesia divergens* in a host with intact spleen. *Ticks and Tick-borne Diseases*, 2019;10:101262.
- Rudolf I, Golovchenko M, Šikutová S, et al. *Babesia microti* (Piroplasmida: Babesiidae) in nymphal *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae) in the Czech Republic. *Folia Parasitologica*, 2005;52:274–276.
- Venclíková K, Mendel J, Betasova L, et al. First evidence of *Babesia venatorum* and *Babesia capreoli* in questing *Ixodes ricinus* ticks in the Czech republic. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 2015;22:212–214.
- Cieniuch S, Stańczak J, Ruczał A. The first Detection of *Babesia* EU1 and *Babesia canis canis* in *Ixodes ricinus* ticks (Acari, Ixodidae) collected in urban and rural areas in northern Poland. *Polish Journal of Microbiology*, 2009;58:231–236.
- Swanson SJ, Neitzel D, Reed KD, et al. Coinfections Acquired from *Ixodes* Ticks. *Clinical microbiology reviews*, 2006;19(4):708–727.
- Jahfari S, Hoffhuis A, Fonville M, et al. Molecular Detection of Tick-Borne Pathogens in Humans with Tick Bites and Erythema Migrans, in the Netherlands. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 2016;1–15. doi:10.1371.
- Lernout T, De Regge N, Tersago K, et al. Prevalence of pathogens in ticks collected from humans through citizen science in Belgium. *Parasites Vectors*, 2019; 12:550:1–11.
- Kybicová K, Bašťová K, Malý M. Detection of *Borrelia burgdorferi* sensu lato and *Anaplasma phagocytophilum* in questing ticks *Ixodes ricinus* from the Czech Republic. *Ticks and Tick-borne Diseases*, 2017;8(4):483–487.
- Richtrova E, Michalová P, Lukavská A, et al. *Borrelia burgdorferi* sensu lato infection in *Ixodes ricinus* ticks in urban green areas in Prague. *Ticks and Tick-borne Diseases*, 2022;13:1–6.
- Bhanot P, Parveen N. Investigating disease severity in an animal model of concurrent babesiosis and Lyme disease. *International Journal for Parasitology*, 2019;49:145–151.
- Diuk-Wasser MA, Vannier E, Krause PJ. Coinfection by the tick-borne pathogens *Babesia microti* and *Borrelia burgdorferi*: ecological, epidemiological and clinical consequences. *Trends Parasitol*, 2016;32(1):30–42.

PŮVODNÍ PRÁCE

35. Boyer PH, Lenormand C, Jaulhac B, et al. Human Co-Infections between *Borrelia burgdorferi* s.l. and Other Ixodes-Borne Microorganisms: A Systematic Review. *Pathogens*, 2022;11,282:1–12.
 36. Nohýnková E, Kubek J, Měšťánková O, et al. Příklad infekce *Babesia microti* importované do České republiky z USA. *Časopis lékařů českých*, 2003;6:377–381.
 37. Strizova Z, Havlova K, Patek O, et al. The first human case of babesiosis mimicking Reiter's syndrome. *Folia Parasitologica*, 2020;67:031.
-

Do redakce došlo dne 11. 1. 2024.

Adresa pro korespondenci:

Mgr. Kateřina Kybicová, Ph.D.

Národní referenční laboratoř pro lymeskou boreliózu CEM

Státní zdravotní ústav

Šrobárova 49/48

100 00 Praha 10

e-mail: katerina.kybicova@szu.cz