

JESU LI *BORRELIA MIYAMOTOI* I *BORRELIA MAYONII* MOGUĆI PATOGENI U HRVATSKOJ?

NATAŠA CETINIĆ BALENT¹, RADOJKA MIKULIĆ¹ i OKTAVIJA ĐAKOVIĆ RODE^{1,2}

¹Klinika za infektivne bolesti „Dr. Fran Mihaljević“, Zavod za kliničku mikrobiologiju, Odjel za virusologiju, Zagreb i ²Sveučilište u Zagrebu, Stomatološki fakultet, Zagreb, Hrvatska

Borrelia miyamotoi pripada grupi borelija koje uzrokuju povratnu vrućicu, a prenosi se istim krpeljima (*Ixodidae*) kao i *Borrelia burgdorferi*, *Anaplasma phagocytophilum*, *Babesia* spp. te virus krpeljnog meningoencefalitisa. *B. miyamotoi* dokazana je u malih glodavaca u Hrvatskoj. U Europi bolest nije česta, a prezentira se vrućicom praćenom zimicom, znojenjem, glavoboljom, umorom, mialgijama i artralgijama. U imunokompromitiranih bolesnika bolest može biti teška s meningoencefalitisom. Infekcija *B. miyamotoi* dijagnosticira se molekularnim testovima nakon isključivanja drugih krpeljima prenosivih bolesti. Serološke studije rađene su testovima temeljenima na rekombinantnom *GlpQ* proteinu koji nisu komercijalno dostupni. Nakon detaljne kliničke i mikrobiološke evaluacije moguća infekcija *B. miyamotoi* u Hrvatskoj može se dijagnosticirati molekularnim metodama *in house*. *Borrelia mayonii* izolirana je samo u SAD-u iz krpelja *Ixodes scapularis* i u malog broja bolesnika. Nema dokaza za postojanje *B. mayonii* u Europi. Bolesnici s *B. mayonii* imali su akutnu febrilnu bolest s osipom i mogućim neurološkim simptomima. Dijagnoza infekcije *B. mayonii* postavljena je nalazom spirohetemije koja je dokazana kultivacijom i mikroskopiranjem preparata krvnog razmata te metodom PCR. Serološki testovi za detekciju *B. mayonii* nisu komercijalno dostupni. Preporuke za liječenje infekcije *B. miyamotoi* i *B. mayonii* temelje se na objavljenim kliničkim prikazima bolesnika te preporukama za liječenje lajmske borelioze. Nakon provedene terapije bolesnici su se oporavili bez komplikacija.

Ključne riječi: *Borrelia miyamotoi*, *Borrelia mayonii*, krpelji *Ixodes* spp., povratna vrućica, lajmska borelioza, Hrvatska

Adresa za dopisivanje: Nataša Cetinić Balent, dr. med.
Klinika za infektivne bolesti „Dr. Fran Mihaljević“
Zavod za kliničku mikrobiologiju
Odjel za virusologiju
Mirogojska 8
10 000 Zagreb, Hrvatska.
E-pošta: ncetinic@bfm.hr

UVOD

Klimatske promjene dovode do promjena u prirodi i utječu na raširenost prijenosnika infekcija. Porast prosječnih temperatura zraka zabilježen zadnjih godina dovodi do pomicanja visinske razine na kojoj se nalaze krpelji. Uočavaju se i promjene geografskih područja u kojima se bilježe pojedine vrste krpelja. Sve to nameće potrebu sustavnog praćenja vektora u svrhu predviđanja kretanja bolesti koje prenose i otkrivanja potencijalnih novih uzročnika bolesti. Lajmska borelioza dugo je poznata bolest u Hrvatskoj (1-3) i prevalencija ovisi o prisutnosti i brojnosti krpelja *Ixodes ricinus* (4,5). U najvećem broju bolesnika manifestira se kao eritema migrans, a značajno su rjeđe moguće ekstrakutane manifestacije kao što su neuroborelioza

s paralizom facijalnog živca ili limfocitnim meningitisom, radikulopatija, mioperikarditis i artritis velikih zglobova. Dijagnoza i liječenje lajmske borelioze klinički su dobro definirani (6,7).

Suvremene tehnološke mogućnosti molekularnih i genskih analiza primjenjuju se u istraživanjima i dijagnostici uzročnika bolesti. Pomažu u rasvjetljavanju nejasnih kliničkih entiteta, a omogućavaju i otkrića novih patogena. Tako je definiranje genoma borelija dovelo do utvrđivanja značajne razlike između borelija kompleksa *Borrelia burgdorferi* sensu lato koje uzrokuju lajmsku bolest (*Borrelia afzelii*, *B. garinii*, *B. burgdorferi* sensu stricto) i onih koje uzrokuju povratne vrućice (*B. recurrentis*, *B. duttonii*). Predloženo je stoga da se borelije kompleksa sensu lato preimenuju

u rod *Borrelia* (8). Promjena imena zasada nije prihvaćena, jer se smatra da bi mogla uzrokovati dodatnu nepotrebnu konfuziju u i tako kliničko-dijagnostički često kompleksnom problemu.

Krpelji iksodesi osim *B. burgdorferi* s. l. mogu prenositi i druge borelijske vrste kao što su *B. miyamotoi* i *B. mayonii* koje se zadnjih godina povezuju sa simptomima koji mogu nalikovati lajmskoj boreliozu. U ovom radu prikazujemo spoznaje o novootkrivenim potencijalno emergentnim borelijama. Posebno ćemo se osvrnuti na značenje u Hrvatskoj te na dostupne dijagnostičke postupke.

BORRELIA MIYAMOTOI

Borrelia miyamotoi filogenetski pripada grupi borelija kao što su *B. recurrentis*, *B. duttonii*, *B. theileri*, *B. ionestari*, *B. turcica*, *B. hermsii*, *B. turicatae*, *B. parkeri*, koje uzrokuju povratnu vrućicu. Bolest se manifestira simptomima poput gripe s jednom ili više epizoda bakterijemije i vrućice (9). U eksperimentalnom mišjem modelu dokazane su ponavljajuće epizode spirohetemije (10), pa se pretpostavlja da bi se *B. miyamotoi* mogla prenijeti transfuzijom krvi što je opisano kod infekcija *B. recurrentis* i *B. duttonii* (11). Za razliku od borelija koje uzrokuju povratnu vrućicu, a prenose ih meki krpelji i tjelesne uši, *B. miyamotoi* prenose tvrdi krpelji *Ixodidae*, koji su poznati prijenosnici uzročnika lajmske borelioze, anaplazmoze, babezioze te krpelnog meningoencefalitisa (12).

Kao nova vrsta *B. miyamotoi* izolirana je u Japanu 1995. godine iz krpelja *Ixodes persulcatus* i poljskog miša *Apodemus argenteus*. Nazvana je *B. miyamotoi* u čast japanskog entomologa Kenji Miyamoto koji je u Hokkaidu izolirao spirohete iz iksodesa (13).

Prisutnost *B. miyamotoi* u Hrvatskoj dokazali su Tadin i sur. na području Ivanić-Grada i istočne Slavonije (14). *B. miyamotoi* nađena je u 3,7 % (9/242) malih glodavaca. U tri miša roda *Apodemus* nađena je koinfekcija *B. miyamotoi* i *Leptospira* spp., a u jednog koinfekcija s *Babesia microti* (14). U krpelja na području Hrvatske *B. miyamotoi* nije dokazana u dosada objavljenim istraživanjima (4).

Općenito, borelije su obligatni paraziti koji ne mogu živjeti izvan živog domaćina i njihov opstanak ovisi o zoonotskom ciklusu koji uključuje glodavce kao glavne domaćine i krpelje kao glavne prijenosnike. U ženki krpelja *B. miyamotoi* može se prenijeti transovarijski na jaja i larve što se iznimno rijetko, u manje od 5 % krpelja, događa kod lajmske borelioze (12,15). *B. miyamotoi* vjerojatno koegzistira s drugim borelijama koje uzrokuju lajmsku boreliozu u umjerenom klimat-

skom pojasu Sjeverne Amerike, Europe i Azije. *B. miyamotoi* dokazana je u više vrsta tvrdih krpelja: *Ixodes scapularis* u području sjevernoistočne i sjeverne Amerike te Kanade (15,16), *Ixodes pacificus* u zapadnim područjima Amerike i Britanske Kolumbije, *Ixodes ricinus* u Europi te *Ixodes persulcatus* u područjima Rusije i Azije (9,17-19). U sjevernoj Aziji *B. miyamotoi* nađena je u krpelja *Ixodes ovatus* i *Ixodes pavlovskyi* (12), a u sjevernoistočnoj Kini u *Haemaphysalis concinna* (20).

Glavni prirodni rezervoari *B. miyamotoi* su mali i srednje veliki šumski glodavci. U Hrvatskoj nađena je u prugastom poljskom mišu (*Apodemus agrarius*), žuto-grlom šumskom mišu (*Apodemus flavicollis*) i šumskoj rovki (*Sorex araneus*) (14), a u sjevernoistočnoj Americi u vrsta bjelonogi miš (*Peromyscus leucopus*) (12); u malog poljskog miša (*Apodemus argenteus*) u Japanu (13); te u poljskom mišu (*Apodemus* spp.), voluharici (*Myodes glareolus*) i vjeverica u Europi (21,22). *B. miyamotoi* prisutna je u ptica vrste velika sjenica (*Parus major*) i zelendur (*Carduelis chloris*) (22).

Prevalencija *B. miyamotoi* u ispitivanih krpelja u SAD-u varirala je od 0 % do 15,4 %, u Češkoj od 0 % do 3,2 %, a najniža je nađena u Njemačkoj 1,8 % (18). U Rusiji prevalencija *B. miyamotoi* u krpelja *I. persulcatus* iznosila je 1 % do 16 % (9). Genotipizacijom sojeva *B. miyamotoi* iz krpelja *Ixodes* dokazana su tri genotipa: genotip 1 u izolatima iz Europe, genotip 2 na području SAD-a te genotip 3 u izolatima iz Japana (18-22). U Francuskoj *B. miyamotoi* iz krpelja *I. ricinus* (3 %) i voluharica *Myodes glareolus* (5,6 %) bila je istog genotipa kao u Nizozemskoj i ostalim dijelovima zapadne Europe (21).

Istraživanja seroprevalencije *B. miyamotoi* u SAD-u pokazala su prisutnost protutijela u 1 % zdrave populacije, 3,2 % bolesnika sa suspektom lajmskom boreliozom i u 21 % bolesnika s vrućicom u kasno proljeće i ljeto (23). Slični rezultati nađeni su u Nizozemskoj gdje je zabilježena seroprevalencija *B. miyamotoi* od 2 % među dobrovoljnim davateljima krvi, 10 % u šumskih radnika, 14,6 % u bolesnika sa sumnjom na anaplazmozu te 7,4 % s lajmskom boreliozom (24).

Prvi klinički slučajevi infekcije *B. miyamotoi* opisani su u Rusiji 2011. godine (9). Uslijedili su opisi bolesnika u SAD-u (23,25-29), Japanu (30), Kini (20) i Europi (31-33).

KLINIČKA SLIKA INFEKCIJE *B. MIYAMOTOI*

Od 2011. godine infekcija *B. miyamotoi* opisana je u više od 150 bolesnika. Bolest se većinom manifestirala

kao febrilno stanje nalik gripi s visokom temperaturom (38,0 – 39,5° C) praćenom zimicom, znojenjem, umorom, mučninom, umjerenom do teškom glavoboljom, gubitkom tjelesne težine, ukočenošću vrata te mialgijom i artralgijom. Simptomi su se pojavili 3 do 40 dana (medijan 10 - 14 dana) nakon ugriza krpelja. U manje od 10 % bolesnika opisani su bolovi u trbuhu, grlobolja, kašalj, limfadenopatija, poremećaj u hodu, neurokognitivni poremećaji, osip te 2 ili 3 epizode povratne vrućice. Oko 25 % pacijenata s težom kliničkom slikom zahtijevalo je hospitalizaciju. U krvnoj slici dominirali su neutropenija, trombocitopenija uz prisutnu proteinuriju i blaže povišene jetrene transaminaze. Klinički simptomi ovisili su o imunom statusu bolesnika te postojanju istovremene infekcije drugog uzročnika, najčešće lajmske boreliozе ili anaplazmoze (9,20,23,26-30,33).

Imunokompromitirani bolesnici pokazuju povećani rizik za zahvaćanje SŽS-a i razvoj neuroloških simptoma. Među prvim kliničkim prikazima opisani su bolesnici s non-Hodgkinovim (25) i B-staničnim limfomom (31) kod kojih su se razvili simptomi meningoencefalitisa. Oba bolesnika imala su u statusu kod prijama progresivni pad kognitivnih funkcija i nestabilan hod tijekom više mjeseci bez vrućice. Treći opisani slučaj infekcije SŽS-a bila je bolesnica s non-Hodgkinovim limfomom (32) koja se manifestirala glavoboljom praćenom vrtoglavicom i povraćanjem u trajanju od 5 dana. Navodila je dva ugriza krpelja jedan mjesec prije pojave simptoma. U svih su bolesnika u likvoru zabilježene limfocitna pleocitoza i povišena koncentracija proteina. Nakon provedene terapije bolesnici su se oporavili bez komplikacija.

DIJAGNOSTIKA INFEKCIJE *B. MIYAMOTOI*

Infekcija *B. miyamotoi* dolazi diferencijalno dijagnostički u obzir kod pacijenta s nejasnom akutnom febrilnom bolesti u doba aktivnosti krpelja. Najčešće prisutni simptomi poput vrućice, umora i glavobolje nisu patognomonični i pojavljuju se i kod drugih krpeljom prenosivih bolesti (anaplazmoza, lajmska bolest bez razvoja eritema, babezioza, KME) i kod akutnih virusnih infekcija, pa su za potvrdu kliničke dijagnoze potrebni specifični laboratorijski testovi. Prema učestalosti i vjerojatnosti infekcije *B. miyamotoi* potrebno je prvo isključiti najčešće uzročnike, a zatim pokušati dokazati rijetke patogene, budući da dijagnostika nije komercijalno dostupna.

Dijagnostika započinje mikroskopiranjem krvnog razmaza i uzimanjem uzoraka za PCR i serološku dijagnostiku (9,12). Ako u krvi ima $\geq 10^4$ /mL spiroheta, *B. miyamotoi* se može identificirati pretragom krvnog

razmaza obojanog po Giemsi ili Writthu. Kod sumnje na meningitis ili meningoencefalitis mikroskopira se sediment likvora. U gustoj kapi obojenoj akridin oranžom mogu se identificirati spirohete i pri manjoj bakterijemiji. Pokretne spirohete mogu se otkriti iz krvi mikroskopski u tamnom polju (12).

U rijetkim posebno opremljenim znanstvenim laboratorijima *B. miyamotoi* može se izolirati u staničnim kulturama ili inokulacijom u laboratorijske miševe (34,35).

Dosadašnji klinički slučajevi infekcije *B. miyamotoi* većinom su dokazani molekularnim metodama nakon isključenja drugih krpeljima prenosivih bolesti. Opisano je nekoliko PCR testova za detekciju *B. miyamotoi* iz pune krvi, plazme, likvora i tkiva koji koriste početnice specifične za 16S rRNK te za *flaB* i *glpQ* gene. U pacijenata s meningoencefalitisom *B. miyamotoi* dokazana je nalazom spiroheta u likvoru, pozitivnim nalazom PCR za 16S rRNK i *flagelin* gene te amplifikacijom i sekvencioniranjem *glpQ* i *p66* gena. U bolesnice u Njemačkoj sekvencioniranjem 16S rRNK i *flaB* gena te filogenetskom analizom šest gena (*clpA*, *clpX*, *pepX*, *pyrG*, *recG*, *rplB*) identificirana je *B. miyamotoi* europskog genotipa 1 (12,25,31,32).

B. miyamotoi se jako teško kultivira, a serološki testovi nisu komercijalno dostupni. Različite istraživačke skupine koristile su različite antigene za određivanje specifičnih protutijela. Najčešće se testovi temelje na rekombinantnom GlpQ proteinu ("glycerophosphodiester phosphodiesterase protein") (12,36). Kliničko značenje ovih testova je u tome što pacijenti s lajmskom boreliozom ne reagiraju križno s proteinima GlpQ, budući da *B. burgdorferi*, kao i vrste *Anaplasma*, *Babesia* i *Ehrlichia*, nemaju gen za protein GlpQ. Međutim, u 10 % seruma pacijenata s *B. miyamotoi* nađena su protutijela i na *B. burgdorferi*. Razlozi dvostrukog odgovora mogu biti prethodna infekcija *B. burgdorferi*, akutna koinfekcija s *B. burgdorferi*, lažno pozitivna reakcija testa i/ili križna reaktivnost protutijela izazvanih *B. miyamotoi* na jedan ili više antigena *B. burgdorferi*, budući da geni *B. miyamotoi* kodiraju homologe za mnoge proteine *B. burgdorferi*, uključujući proteine flagelin *FlaB* i *GroEL*, *P66* protein vanjske membrane i *BmpA* (*P39*) membranski protein (12,36). Kao potencijalni antigeni za testove identificirani su i promjenjivi glavni proteini „variable major proteins – VMPs“ (37).

LIJEČENJE INFEKCIJE *B. MIYAMOTOI*

Preporuke za liječenje infekcije *B. miyamotoi* temelje se na objavljenim pojedinačnim kliničkim prikazima bolesnika te preporukama za liječenje lajmske borelio-

ze. Doksiciklin je najčešće propisivani antibiotik u većine pacijenata s infekcijom *B. miyamotoi* (9,20,23,26-30,33). S obzirom da se diferencijalno dijagnostički ne može isključiti lajmska boreliozna ili anaplazmoza doksiciklin je dobar inicijalni izbor, jer djeluje na sve navedene uzročnike. Amoksiciklin i cefuroksim koriste se za liječenje djece, trudnica i dojilja kod kojih je davanje doksiciklina i drugih tetraciklina kontraindicirano. Pretpostavlja se da bi učinkoviti mogli biti i makrolidi (azitromicin), iako se, prema iskustvu s lajmskom boreliozom, prednost treba dati doksiciklinu i beta-laktamskim antibioticima. Kod bolesnika s meningoencefalitisom i hospitaliziranih bolesnika s težom kliničkom slikom preporuča se intravensko davanje ceftriaksona ili penicilina G u trajanju od 2 do 4 tjedna. Liječenje imunokompromitiranih bolesnika preporuča se provesti kontinuirano tijekom 28 dana (25,31,32). Rezultati studija o osjetljivosti na antibiotike mišjih, krpeljnih i kliničkih izolata *B. miyamotoi* pokazali su *in vitro* dobru osjetljivost *B. miyamotoi* na doksiciklin, ceftriakson i azitromicin, rezistenciju na amikacin te smanjenu osjetljivost na amoksicilin u odnosu na *B. burgdorferi s. l.* (38,39). Kao i kod lajmske borelioze, fluorokinoloni, aminoglikozidi i prva generacija cefalosporina smatraju se neučinkovitim za liječenje infekcije *B. miyamotoi* (12).

BORRELIA MAYONII

Uz ranije poznate uzročnike lajmske bolesti, borelije kompleksa *B. burgdorferi s. l.* (*B. afzelii*, *B. garinii*, *B. burgdorferi s.s.*) koji se opisuju često, ali i znatno rjeđe – *B. bavariensis*, *B. valaisiana*, *B. lusitanae*, *B. spilmannii*, kao mogući patogen otkrivena je *Borrelia mayonii*. *B. mayonii* dokazana je 2016. godine u Klinici Mayo u Minnesoti u šest bolesnika s kliničkom slikom lajmske borelioze (40-42).

U ljeto 2013. godine u dvoje djece s kliničkom slikom lajmske borelioze rutinskim testiranjem krvi metodom PCR dobiveni su netipični rezultati koji nisu odgovarali krivuljama ni za jednu *B. burgdorferi s. l.* Nakon tog otkrića provedeno je istraživanje 100 545 uzoraka (puna krv, sinovijska tekućina, likvor, uzorci tkiva) bolesnika sa simptomima lajmske borelioze sakupljenih u razdoblju od 2003. do 2014. godine. Neuobičajeni PCR nalaz nađen je u još četiri bolesnika (tri uzorka krvi i jedan uzorak sinovijske tekućine). Sekvencioniranjem 16S rRNK i dodatnom genskom analizom identificiran je novi genospecijes *B. burgdorferi s. l.* koji su istraživači nazvali *B. mayonii*. PCR nalaz karakterističan za *B. mayonii* nije zabilježen u uzorcima bolesnika iz ostalih država SAD-a u razdoblju od 2012. do 2014. godine ni u uzorcima bolesnika uzetih prije 2012. godine (40).

Borrelia mayonii izolirana je dosada samo u krpelja *I. scapularis* na području SAD-a u državama Minnesota, Wisconsin i Sjeverna Dakota (40,43). Prevalencija *B. mayonii* u krpelja *I. scapularis* sakupljenih tijekom 2013. i 2014. godine na dvije lokacije u Wisconsinu bila je oko 3 % (0,6 % - 4,9 %). U krpelja *I. scapularis* sakupljenih u razdoblju od 2004. do 2007. godine *B. mayonii* nije nađena (40). Istraživanja krpelja *I. ricinus* na području Europe nisu otkrila prisutnost *B. mayonii* (44).

Kao potencijalni rezervoari *B. mayonii* u Minnesoti navode se bjelonogi miš (*Peromyscus leucopus*) i američka crvena vjeverica (*Tamiasciurus hudsonicus*) (45).

KLINIČKA SLIKA INFEKCIJE *B. MAYONII*

Šest bolesnika s dokazanom infekcijom *B. mayonii* bili su stanovnici Minnesote, Sjeverne Dakote i Wisconsinu, prosječne dobi 36 godina (10 do 67 godina), četiri muškog spola. Pet bolesnika klinički se prezentiralo akutnom febrilnom bolesti s glavoboljom, mučninom i povraćanjem, simptomima koji nisu karakteristični za lajmsku boreliozu. Jedan bolesnik bio je afebrilan, a prezentirao se s unilateralnom boli i oteklinom lijevog koljena u trajanju od mjesec dana. Tri bolesnika imala su neurološke simptome (poremećaj govora, somnolencija, vizualni poremećaji). Kožne promjene nađene su u četiri bolesnika: dvoje je imalo difuzni makulozni osip lica, trupa i gornjih ekstremiteta, jedan lokaliziranu makulu na nozi, a jedan diseminirane kožne promjene slične *erythema migrans*. Dva bolesnika zahtijevala su hospitalizaciju. U laboratorijskim nalazima nađena je leukopenija, blaga trombocitopenija i povišene jetrene transaminaze. Svi su bolesnici registrirani u razdoblju od svibnja do srpnja. Dvoje je imalo epidemiološki podatak o ugrizu krpelja 13 do 30 dana od početka simptoma (40).

DIJAGNOSTIKA INFEKCIJE *B. MAYONII*

Uzorci krvi pet bolesnika uzeti su 1 - 4 dana od početka bolesti, dok je kod bolesnika s oteklinom koljena sinovijska tekućina uzeta 34 dana nakon početka bolesti. Rutinsko testiranje provedeno je PCR metodom za dokaz gena *oppA1* ("*plasminogen binding protein*"), koji je karakterističan za uzročnike lajmske borelioze i ne detektira borelije uzročnike povratne vrućice. U uzorcima krvi bolesnika srednja vrijednost kopija *oppA1* bila je 180 puta veća nego u uzorcima krvi bolesnika koji su bili pozitivni na *B. burgdorferi s. s.* *B. mayonii* identificirana je sekvencioniranjem 16S rRNK i daljnjom genskom analizom.

Dva uzorka krvi bila su dostupna za mikroskopiranje i kultivaciju. Borelije se općenito mogu uzgojiti u kompleksnim tekućim podlogama, a najčešće se upotrebljava modificirana podloga BSK (Barbour-Stoenner-Kelly). Zbog sporog umnožavanja *B. burgdorferi* s.l. kultivacija je vrlo zahtjevana i dugotrajna metoda koja traje više tjedana. Infekcija *B. mayonii* ima neočekivano visoku spirohetemiju kod akutnih bolesnika za razliku od uzročnika lajmske borelioze. Pokretne spirohete *B. mayonii* viđene su mikroskopski u jednom uzorku krvi, a iz oba uzroka uspješno su kultivirane nakon 16 dana inkubacije (40).

Serološki testovi za detekciju *B. mayonii* nisu komercijalno dostupni.

LIJEČENJE INFEKCIJE *B. MAYONII*

Prema smjernicama za liječenje lajmske borelioze, bolesnici s *B. mayonii* liječeni su doksiciklinom, a dvoje djece liječeno je ceftriaksonom i amoksicilinom. Liječenje je trajalo od 2 do 4 tjedna. Četiri bolesnika se u potpunosti oporavilo, jedan s ranije dijagnosticiranom anemijom navodio je simptome kroničnog umora, a bolesnik s artritisom imao je bol u koljenu još 6 mjeseci nakon provedene terapije (40).

ZAKLJUČAK

B. miyamotoi dokazana je u glodavaca u Hrvatskoj i premda još nije nađena u krpelja *Ixodes* spp. kao vektorima, moguća je u područjima gdje se pojavljuje lajmska boreliozna. Otkriveni *B. miyamotoi* kao uzročnika bolesti nije jednostavno, jer ne postoje komercijalni testovi. Premda nije rutinski dostupna, molekularna dijagnostika mogla bi se provesti uz prethodni dogovor s mikrobiološkim laboratorijem nakon što se dijagnosticiraju mogući značajno češći patogeni te evaluiraju klinički, anamnestički i epidemiološki podatci prema kojima se definira rizik za infekciju *B. miyamotoi* i to u prvom redu u imunokompromitiranih bolesnika s meningoencefalitisom. Prema opisanim kliničkim slučajevima liječenje infekcije *B. miyamotoi* jednako je kao za druge krpeljima prenosive bakterijske bolesti sa sličnim simptomima, a budući da se ne može isključiti ni mogućnost samoizlječenja, infekcija *B. miyamotoi* može proći neotkriveno i nedokazano.

Prema dosadašnjim istraživanjima *B. mayonii* nije dokazana u krpelja ni glodavaca u Europi, pa nije vjerojatni uzročnik bolesti u Hrvatskoj, a mogla bi se naći samo slučajno u osoba koje su boravile u endemskim područjima SAD-a.

L I T E R A T U R A

1. Đaković Rode O, Ružić-Sabljić E. Lyme boreliozna – diferencijalno dijagnostičke poteškoće u interpretaciji seroloških rezultata. *Infektol glasnik* 2002; 22: 45-9.
2. Maretić T. Erythema migrans. *Medicus* 2008; 17: 71-83.
3. Đaković Rode O. Lyme boreliozna – dijagnostika. *Pediatr Croat* 2011; 55 (Supl. 1): 57-66.
4. Beck R. Vektorima prenosive bakterijske i parazitarne zoonoze. U: Znanstveno stručni simpozij: Klasične bakterijske i parazitske zoonoze - što nas očekuje? 2015 Oct 22; Zagreb, Hrvatska, Zbornik radova 60-5.
5. Beck R, Habrun B, Bosnić S i sur. Identification of pathogens in *Ixodes ricinus* and *Dermacentor reticulatus* from public gardens in Zagreb, Croatia; 12th International Conference on Lyme Borreliosis and other tick-borne diseases, 2010 Sep 26-29; Ljubljana, Slovenia, Book of Abstracts 95.
6. Stupica D, Lusa L, Ružić-Sabljić E, Cerar T, Strle F. Treatment of erythema migrans with doxycycline for 10 days versus 15 days. *Clin Infect Dis* 2012; 55: 343-50.
7. Stanek G, Fingerle V, Hunfeld KP i sur. Lyme borreliosis: Clinical case definitions for diagnosis and management in Europe. *Clin Microbiol Infect* 2011; 17: 69-79.
8. Barbour AG, Adeolu M, Gupta RS. Division of the genus *Borrelia* into two genera (corresponding to Lyme disease and relapsing fever groups) reflects their genetic and phenotypic distinctiveness and will lead to a better understanding of these two groups of microbes (Margos et al. (2016) There is inadequate evidence to support the division of the genus *Borrelia*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* Doi: 10.1099/ijsem.0.001717) *Int J Syst Evol Microbiol* 2017; 67: 2058-67.
9. Platonov AE, Karan LS, Kolyasnikova NM i sur. Humans infected with relapsing fever spirochete *Borrelia miyamotoi*, Russia. *Emerg Infect Dis* 2011; 17: 1816-23.
10. Krause PJ, Hendrickson JE, Steeves TK, Fish D. Blood transfusion transmission of the tick-borne relapsing fever spirochete *Borrelia miyamotoi* in mice. *Transfusion* 2015; 55: 593-7.
11. Nadelman RB, Wormser GP, Sherer C. Blood transfusion associated relapsing fever. *Transfusion* 1990; 30: 380-1.
12. Krause PJ, Fish D, Narasimhan S, Barbour AG. *Borrelia miyamotoi* infection in nature and in humans. *Clin Microbiol Infect* 2015; 21: 631-39.
13. Fukunaga M, Takahashi Y, Tsuruta Y i sur. 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 System Bacteriol* 1995; 45: 804-10.
14. Tadin A, Tokarz R, Markotić A i sur. Molecular Survey of Zoonotic Agents in Rodents and Other Small Mammals in Croatia. *Am J Trop Med Hyg* 2016; 94: 466-73.
15. Scoles GA, Papero M, Beati L, Fish D. A relapsing fever group spirochete transmitted by *Ixodes scapularis* ticks. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2001; 1: 21-34.

16. Bunikis J, Tsao J, Garpmo U i sur. Typing of *Borrelia* relapsing fever group strains. *Emerg Infect Dis* 2004; 10: 1661-4.
17. Krause PJ, Narasimhan S, Wormser GP i sur. *Borrelia miyamotoi* sensu lato seroreactivity and seroprevalence in the Northeastern United States. *Emerg Infect Dis* 2014; 20: 1183-90.
18. Crowder CD, Carolan HE, Rounds MA i sur. Prevalence of *Borrelia miyamotoi* in *Ixodes* ticks in Europe and the United States. *Emerg Infect Dis* 2014; 20: 1678-82.
19. Ravagnan S, Tomassone L, Montarsi F i sur. First detection of *Borrelia miyamotoi* in *Ixodes ricinus* ticks from northern Italy. *Parasit Vectors* 2018; 11: 130.
20. Jiang B, Jia N, Jiang J i sur. *Borrelia miyamotoi* Infections in Humans and Ticks, Northeastern China. *Emerg Infect Dis* 2018; 24: 236-41.
21. Cosson JF, Michelet L, Chotte J i sur. Genetic characterization of the human relapsing fever spirochete *Borrelia miyamotoi* in vectors and animal reservoirs of Lyme disease spirochetes in France. *Parasit Vectors* 2014; 7: 233.
22. Wagemakers A, Jahfari S, de Wever B i sur. *Borrelia miyamotoi* in vectors and hosts in The Netherlands. *Ticks Tick Borne Dis* 2017; 8: 370-4.
23. Krause PJ, Narasimhan S, Wormser GP i sur. Human *Borrelia miyamotoi* infection in the United States. *New Engl J Med* 2013; 368: 291-3.
24. Jahfari S, Herremans T, Platonov AE i sur. High seroprevalence of *Borrelia miyamotoi* antibodies in forestry workers and individuals suspected of human granulocytic anaplasmosis in the Netherlands. *New Microbes New Infect* 2014; 2: 144-9.
25. Gugliotta JL, Goethert HK, Berardi VP, Telford SR 3rd. Meningoencephalitis from *Borrelia miyamotoi* in an immunocompromised patient. *New Engl J Med* 2013; 368: 240-5.
26. Chowdri HR, Gugliotta JL, Berardi VP i sur. *Borrelia miyamotoi* infection presenting as human granulocytic anaplasmosis: a case report. *Ann Intern Med* 2013; 159: 217.
27. Telford SR 3rd, Goethert HK, Molloy PJ i sur. *Borrelia miyamotoi* disease: neither Lyme disease nor relapsing fever. *Clin Lab Med* 2015; 35: 867-82.
28. Molloy PJ, Telford SR 3rd, Chowdri HR i sur. *Borrelia miyamotoi* disease in the Northeastern United States: a case series. *Ann Intern Med* 2015; 163: 91-8.
29. Jobe DA, Lovrich SD, Oldenburg DG, Kowalski TJ, Callister SM. *Borrelia miyamotoi* infection in patients from upper midwestern United States, 2014-2015. *Emerg Infect Dis* 2016; 22: 1471-3.
30. Sato K, Takano A, Konnai S i sur. Human infections with *Borrelia miyamotoi*, Japan. *Emerg Infect Dis* 2014; 20: 1391-3.
31. Hovius JW, de Wever B, Sohne M i sur. A case of meningoencephalitis by the relapsing fever spirochete *Borrelia miyamotoi* in Europe. *Lancet* 2013; 382: 658.
32. Boden K, Lobenstein S, Hermann B, Margos G, Fingerle V. *Borrelia miyamotoi*-Associated Neuroborreliosis in Immunocompromised Person. *Emerg Infect Dis* 2016; 22: 1617-20.
33. Hoornstra D, Koetsveld J, Sprong H, Platonov AE, Hovius JW. *Borrelia miyamotoi* Disease in an Immunocompetent Patient, Western Europe. *Emerg Infect Dis* 2018; 24: 1770-2.
34. Margos G, Stockmeier S, Hizo-Teufel C i sur. Long-term in vitro cultivation of *Borrelia miyamotoi*. *Ticks Tick Borne Dis* 2015; 6: 181-4.
35. Wagemakers A, Oei A, Fikrig MM, Miellel WR, Hovius JW. The relapsing fever spirochete *Borrelia miyamotoi* is cultivable in a modified Kelly-Pettenkofer medium, and is resistant to human complement. *Parasit Vectors* 2014; 7: 418.
36. Krause PJ, Carroll M, Fedorova N i sur. Human *Borrelia miyamotoi* infection in California: Serodiagnosis is complicated by multiple endemic *Borrelia* species. 2018; PLoS ONE 13(2): e0191725.
37. Wagemakers A, Koetsveld J, Narasimhan S i sur. Variable Major proteins as targets for specific antibodies against *Borrelia miyamotoi*. *J Immunol* 2016; 196: 4185-95.
38. Koetsveld J, Draga ROP, Wagemakers A i sur. *In Vitro* Susceptibility of the Relapsing-Fever Spirochete *Borrelia miyamotoi* to Antimicrobial Agents. *Antimicrob Agents Chemother* 2017; 61(9) e00535-17.
39. Koetsveld J, Manger A, Hoornstra D i sur. *In vitro* Antimicrobial Susceptibility of Clinical Isolates of *Borrelia miyamotoi*. *Antimicrob Agents Chemother* 2018; 62(7) e00419-18.
40. Pritt BS, Mead PS, Johnson DK i sur. Identification of a novel pathogenic *Borrelia* species causing Lyme borreliosis with unusually high spirochaetaemia: a descriptive study. *Lancet Infect Dis* 2016; 16: 556-64.
41. Auwaerter PG. What clinicians should know about the new Lyme species. *Medscape*, Mar 01, 2016.
42. Beasley D. U.S. researchers find new bacterial species that cause Lyme disease. *Medscape*, Feb 08, 2016.
43. Dolan MC, Breuner NE, Hojgaard A i sur. Transmission of the Lyme Disease Spirochete *Borrelia mayonii* in Relation to Duration of Attachment by Nymphal *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae). *J Med Entomol* 2017; 54: 1360-4.
44. Boyer PH, De Martino SJ, Hansmann Y i sur. No evidence of *Borrelia mayonii* in an endemic area for Lyme borreliosis in France. *Parasit Vectors* 2017; 10: 282.
45. Johnson TL, Graham CB, Hojgaard A i sur. Isolation of the Lyme Disease Spirochete *Borrelia mayonii* From Naturally Infected Rodents in Minnesota. *J Med Entomol* 2017; 54: 1088-92.

SUMMARY

ARE *BORRELIA MIYAMOTOI* AND *BORRELIA MAYONII* POSSIBLE PATHOGENS IN CROATIA?

N. CETINIĆ BALENT¹, R. MIKULIĆ¹ and O. ĐAKOVIĆ RODE^{1,2}

¹Dr. Fran Mihaljević University Hospital for Infectious Diseases, Department of Clinical Microbiology, Division of Medical Virology, Zagreb and ²University of Zagreb, School of Dental Medicine, Zagreb, Croatia

Borrelia (B.) miyamotoi belongs to the group of relapsing fever borrelia and is transmitted by the same ticks (*Ixodidae*) as *Borrelia burgdorferi*, *Anaplasma phagocytophilum*, *Babesia* species and tick-borne flaviviruses. *B. miyamotoi* was detected in small rodents in Croatia. In Europe, *B. miyamotoi* infections are not common, and mainly present as febrile illness with chills, sweats, headache, fatigue, myalgias and arthralgias. In immunocompromised patients, the disease may be severe with meningoencephalitis. *B. miyamotoi* diseases have been diagnosed with molecular methods after excluding other tick-borne diseases. Serological assays based on recombinant *B. miyamotoi* GlpQ protein used in published serological studies are not commercially available. After detailed clinical and microbiological evaluation, the possible *B. miyamotoi* infection in Croatia can be diagnosed with in-house methods. *Borrelia (B.) mayonii* has only been detected among few patients and *Ixodes scapularis* ticks in the United States so far. There is no evidence for *B. mayonii* in Europe. Patients with *B. mayonii* infection had febrile illness with rash and probable neurological symptoms. The diagnosis of *B. mayonii* infection was defined by detection of spirochetes in peripheral blood with culture isolation, microscopic smears, and polymerase chain reaction method. Serological tests for *B. mayonii* are not commercially available. Treatment recommendations for *B. miyamotoi* and *B. mayonii* infections are based on the published case reports and recommendations for treatment of Lyme disease. After antimicrobial treatment, all patients recovered without complications.

Key words: *Borrelia miyamotoi*, *Borrelia mayonii*, *Ixodes* spp. ticks, relapsing fever, Lyme borreliosis, Croatia