

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

Lukavská A.<sup>1</sup>, Kybicová K.<sup>1</sup>, Míchalová P.<sup>1</sup>, Navrátil J.<sup>1</sup>, Lamka J.<sup>2</sup>, Schánilec P.<sup>3</sup>

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

<sup>2</sup>Farmaceutická fakulta Univerzity Karlovy, Hradec Králové

<sup>3</sup>Klinika chorob psů a koček, Veterinární univerzita Brno

## SOUHRN

**Cíl:** Zjistit výskyt potenciálně patogenních druhů babesií 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 sekvenční analýzou PCR produktů určeny jednotlivé druhy babesií.

**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 %. Sekvenční 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 babesií 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 babesií patogenních pro člověka: *B. divergens*, *B. venatorum*, *B. microti*. Výskyt těchto druhů babesií 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  $\mu\text{l}$  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  $\mu\text{l}$ , s 5  $\mu\text{l}$  extrahované DNA jako templátu, 0,5  $\mu\text{M}$  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 klíšťatech z pražských parků, porovnání s ostatními patogeny**

Největší pozitivita klíšťat na přítomnost babesií 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 prevalence 2,1 %, 5 nymf, 2 samci, 1 samice. Na této lokalitě se vyskytovalo nejbohatší druhové zastoupení babesií (*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 prevalence 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 klíšťatech 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 babesií v klíšťatech 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 babesií 0,7 % a anaplasma s rickettsií byla prokázána u 0,4 % klíšťat (nepublikované údaje).

**Identita *Babesia microti* a *Babesia venatorum***

Z potenciálně patogenních druhů babesií 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 klíšťatech 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 přenášovaných 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 přenášovaných 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 (anaplasmóza, 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. Případ 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