

Opšti pregled /  
General Review

EKO-EPIDEMIOLOŠKO ISTRAŽIVANJE  
BORELIJA  
ECO-EPIDEMIOLOGY RESEARCH OF  
BORRELIA

Correspondence to:

Prof. dr Aleksandar Potkonjak  
Poljoprivredni fakultet Univerziteta u  
Novom Sadu, Departman za veterinarsku  
medicinu  
Trg Dositeja Obradovića 8  
21000 Novi Sad  
E-mail: ale@polj.uns.ac.rs

Aleksandar Potkonjak

Poljoprivredni fakultet Univerziteta u Novom Sadu,  
Departman za veterinarsku medicinu

Key words

Borrelia, Epidemiology, Ticks, Serbia

Ključne reči

Borrelia, Epidemiologija, Krpelji, Srbija

Sažetak

Od svih vektorski prenosivih infekcija, u Evropi se najčešće registruje lajm borelioza. *Borrelia burgdorferi* sensu lato kompleks predstavlja grupu različitih vrsta spiroheta prisutnih širom sveta. Ukupan broj vrsta nije konačan jer se još uvek opisuju genetski i antigenski novi izolati. Patogeni potencijal za čoveka je utvrđen kod sledećih vrsta borelija: *B. afzelii*, *B. bavariensis*, *B. bissettii*, *B. burgdorferi sensu stricto*, *B. garinii*, *B. kurtenbachii*, *B. lusitaniae*, *B. spielmanii* i *B. valaisiana*. Čovek je slučajni domaćin u ishrani krpelja i održavanju *B. burgdorferi* kao uzročnika ove prirodno žarišne zoonoze. Do uboda krpelja dolazi u prirodi, gde je u proces održavanja *B. burgdorferi* uključen veliki broj životinjskih vrsta – domaće i divlje životinje, mali glodari, reptili i ptice. Variabilnost ispoljenih kliničkih manifestacija lajm borelioze može da se objasni različitim etiologijom, odnosno vrstom borelije i posledica je genetske raznolikosti uzročnika. Rezultati dosadašnjih istraživanja ukazuju na različitu dominaciju vrsta borelija iz grupe lajm borelioze u *I. ricinus* krpeljima u odnosu na geografsko područje i vremenski period. Potrebna su dalja sistematska istraživanja prisustva borelija u vektorima i rezervoarima na našem geografskom području kako bi se razumela eko-epidemiologija novootkrivene zoonozne vrste iz grupe povratnih groznica *Borrelia miyamotoi*.

Poslednje dve decenije intenzivno se izvode epidemiološka, ekološka, klinička i eksperimentalna istraživanja u cilju boljeg razumevanja lajm borelioze, koja predstavlja multi-sistemske oboljenje ljudi i životinja izazvano spirohetom *Borrelia burgdorferi* sensu lato (Fritz i Kjemtrup 2003).

Od svih vektorski prenosivih infekcija, u Evropi se najčešće registruje lajm borelioza. Lindgren i Jaenson procenjuju da se godišnje u Evropi javi oko 85.000 novih slučajeva obolelih ljudi, dok taj broj u SAD iznosi između 16.000 i 20.000 po godini (Lindgren i Jaenson 2006).

Klinička slika lajm borelioze kod ljudi je polimorfna i karakteriše se simptomima sličnim gripoznom sindromu uz pojavu erythema migrans sa reumatološkim, kardiološkim i neurološkim komplikacijama (Fritz i Kjemtrup 2003, Stanek i sar. 2012). Čovek je slučajni domaćin u ishrani krpelja i održavanju *B. burgdorferi* kao uzročnika ove prirodno žarišne zoonoze. Do uboda krpelja dolazi u prirodi, gde je u proces održavanja *B. burgdorferi* uključen veliki broj životinjskih vrsta – domaće i divlje životinje, mali glodari, reptili i ptice (Mladenović i sar. 2010). Od lajm borelioze, osim ljudi, mogu da obole i psi, konji, goveda i ovce. Kod najvećeg broja životinja infekcija uzročnikom lajm bore-

lioze je asimptomatska (Bushmich 1994). U Evropi je najznačajniji vektor uzročnika lajmske bolesti krpelj *Ixodes ricinus* (Jensen 2000).

*Borrelia burgdorferi* sensu lato kompleks predstavlja grupu različitih vrsta spiroheta prisutnih širom sveta. Ukupan broj vrsta nije konačan jer se još uvek opisuju genetski i antigenski novi izolati. Smatra se da većina poznatih spiroheta iz *Borrelia burgdorferi* sensu lato kompleksa ima ograničenu geografsku distribuciju. Ukupno 11 različitih vrsta iz *Borrelia burgdorferi* sensu lato kompleksa je registrovano jedino na području Evroazije. To su sledeće vrste spiroheta: *B. afzelii*, *B. bavariensis*, *B. garinii*, *B. japonica*, *B. lusitaniae*, *B. sinica*, *B. spielmanii*, *B. tanukii*, *B. turdi*, *B. valaisiana* i *B. yangtze*. Drugih 5 različitih vrsta iz *Borrelia burgdorferi* sensu lato kompleksa, smatra se da su jedino prisutne na području SAD. To su sledeće vrste spiroheta: *B. americana*, *B. iersonii*, *B. californiensis*, *B. carolinensis* i *B. kurtenbachii*. Vrste *B. burgdorferi* sensu stricto, *B. bissettii* i *B. carolinensis* prisutne su u Evropi, Aziji i Americi.

Patogeni potencijal za čoveka je utvrđen kod sledećih vrsta borelija: *B. afzelii*, *B. bavariensis*, *B. bissettii*, *B.*

*burgdorferi sensu stricto*, *B. garinii*, *B. kurtenbachii*, *B. lusitaniae*, *B. spielmanii* i *B. valaisiana* (Rudenko i sar. 2011).

Istraživači ukazuju da varijabilnost ispoljenih kliničkih manifestacija lajm borelioze može da se objasni različitom etiologijom, odnosno vrstom borelije koja je uzročnik (Balmelli i Piffaretti 1995, Rudenko i sar. 2011, van Dam i sar. 1993). Različito kliničko ispoljavanje lajm borelioze je posledica genetske raznolikosti uzročnika. Tip i jačina ispoljenih simptoma, kao i tok infekcije su uslovljeni vrstom borelije koja je izazvala oboljenje iz *Borrelia burgdorferi sensu lato* kompleksa, kao i grupe *B. burgdorferi sensu stricto*. Zapaženo je da su izolati *B. burgdorferi sensu stricto* sa područja Severne Amerike više heterogeni, nego izolati sa područja Evrope. Smatra se i da postoji određen organotropizam uslovljen vrstom genospecijesa borelija. U Severnoj Americi, *B. burgdorferi sensu stricto* je odgovorna za pojavu lajmskog artritisa kod oko 60% inficiranih pacijenata, dok u Evropi ovu patologiju ima između 3 i 15% slučajeva obolelih ljudi, a kao dominantni uzročnici izoluju se *B. garinii* i *B. afzelii*. Serotipizacija izolata borelija sa područja Evrope je ukazala na značajnu povezanost neuroborelioze i vrste *B. garinii*. Tropizam prema koži pokazuje *B. afzelii* koja izaziva karakterističnu promenu erythema migrans. Ova vrsta takođe izaziva acrodermatitis chronica atrophicans koji je zabeležen kod 10% pacijenata u Evropi, dok se vrlo retko registruje u Americi. Strle i saradnici ukazuju na eventualno postojanje dva sindroma erythema migrans, koja se razlikuju epidemiološki, klinički i laboratorijski; i koji su izazvani različitim vrstama borelija kod pacijenata u Sloveniji i SAD. Oni su poredili izolate borelija iz uzoraka kože i ustanovili da je etiološki uzročnik kod

pacijenata u Sloveniji *B. afzelii*, dok je uzročnik kod pacijenata u SAD *B. burgdorferi sensu stricto* (Strle i sar. 1999).

Molekularna analiza lokalnih populacija izolata *B. burgdorferi* je ukazala na prisustvo klonalnih kompleksa. Do sada nije poznato kako prirodna selekcija, niska stopa rekombinacija i genetski drift usled različite geografske distribucije doprinose formiranju i održavanju ovih klonalnih kompleksa u prirodnoj populaciji bakterija.

Veruje se da su genetska heterogenost izolata borelija, različita geografska distribucija genotipova i različiti enzootski ciklusi vektor-rezervoar usko povezani. Ova genetska heterogenost *B. burgdorferi*, takođe, može da uslovi i ograničeno širenje pojedinih vrsta na nova geografska područja.

Razvoj metoda molekularne biologije i pojava novih ili do sada neprepoznatih vrsta borelija, kao etioloških agenasa lajm borelioze, dramatično menjaju razumevanje i prepoznavanje kliničkih simptoma i/ili znakova ovog oboljenja, te se upravo zato izvode brojna istraživanja molekularne karakterizacije lokalnih izolata borelija (Rudenko i sar. 2011).

Registrovane su mešane infekcije multiplim sojevima iz kompleksa *B. burgdorferi sensu lato* kod vektora, rezervoara i obolelih ljudi od lajm borelioze. Prevalencija ovih mešanih infekcija multiplim vrstama borelija kod krpelja je različita u odnosu na geografski region i kreće se do 40% (Wang i sar. 1999).

Rosa i saardnici navodi da je manipulacija genomom borelija zahtevna, ali da je značajno za otkrivanje identiteta i uloge različitih vrsta borelija kod vektora krpelja i rezervoara sisara radi razumevanja infektivnog ciklusa, kao i patogeneze lajm borelioze (Rosa i sar. 2005).

**Tabela 1.** Prikaz geografske distribucije vektora i rezervoara različitih vrsta borelija (Rudenko i sar. 2011)

Vrsta borelije	Vektori	Rezervoari	Geografska distribucija
<i>B. afzelii</i>	<i>I. ricinus</i> , <i>I. persulcatus</i>	Glodari	Azija, Evropa
<i>B. americana</i>	<i>I. pacificus</i> , <i>I. minor</i>	Ptice	Amerika
<i>B. iersonii</i>	<i>I. dentatus</i>	Zečevi	Amerika
<i>B. bavariensis</i>	<i>I. ricinus</i>	Glodari	Evropa
<i>B. bissettii</i>	<i>I. ricinus</i> , <i>I. scapularis</i> , <i>I. pacificus</i> , <i>I. minor</i>	Glodari	Evropa, Amerika
<i>B. burgdorferi sensu stricto</i>	<i>I. ricinus</i> , <i>I. scapularis</i> , <i>I. pacificus</i>	Glodari, ptice, gušteri, veliki sisari	Evropa, Amerika
<i>B. californiensis</i>	<i>I. pacificus</i> , <i>I. jellisonii</i> , <i>I. spinipalpis</i>	Pacovi, jeleni	Amerika
<i>B. carolinensis</i>	<i>I. minor</i>	Glodari, ptice	Amerika
<i>B. garinii</i>	<i>I. ricinus</i> , <i>I. persulcatus</i> , <i>I. hexagonus</i> , <i>I. nipponensis</i>	Ptice, gušteri, glodari	Azija, Evropa
<i>B. japonica</i>	<i>I. ovatus</i>	Glodari	Japan
<i>B. kurtenbachii</i>	<i>I. scapularis</i>	Glodari	Evropa, Amerika
<i>B. lusitaniae</i>	<i>I. ricinus</i>	Glodari, gušteri	Evropa, Severna Afrika
<i>B. sinica</i>	<i>I. ovatus</i>	Glodari	Kina
<i>B. tanukii</i>	<i>I. tanuki</i>	Nije poznato (možda psi i mačke)	Japan
<i>B. turdi</i>	<i>I. turdus</i>	Ptice	Japan
<i>B. spielmanii</i>	<i>I. ricinus</i>	Glodari	Evropa
<i>B. valaisiana</i>	<i>I. ricinus</i> , <i>I. granulatus</i>	Ptice, gušteri	Azija, Evropa
<i>B. yangtze</i>	<i>Haemaphysalis longicornis</i> , <i>I. granulatus</i>	Glodari	Kina
Genomospecies 2	<i>I. pacificus</i>	Nije poznato	Amerika

Osim toga, opis različitih vrsta borelija u krpeljima je otvorio potpuno novo polje istraživanja ekologije lajm borelioze. Posebno je značajno izučavanje veze između različitih vrsta borelija, krpelja kao vektora i kičmenjaka kao rezervoara na različitim geografskim lokalitetima (Rudenko i sar. 2011). Smatra se da geografska distribucija vektora i rezervoara ukazuje na rasprostranjenost lajm borelioze. U tabeli 1. je prikazana geografska distribucija vektora i rezervoara različitih vrsta borelija.

U prirodi *Borrelia burgdorferi* se održava i prenosi u ciklusu između krpelja kao kompetentnih vektora i kičmenjaka kao rezervoara (Anderson 1991, Burgdorferi sar. 1991, Hengge i sar. 2003). U ovom ciklusu uzročnik lajm borelioze se prilagodio na potpuno različite uslove života, različitom ekspresijom gena i posledičnim različitim proteinskim profilom (Carroll i sar. 1999, Schwan i Piesman 2000, Schwani sar. 1995). Dva osnovna faktora koja se razlikuju su temperatura i pH. U organizmu vektora krpelja, telesna temperatura zavisi od temperature u spoljašnjoj sredini, a pH vrednost srednjeg creva je bazna, dok se u organizmu sisara telesna temperatura kreće od 37° C do 39° C, a pH je neutralan (Balashov 1972, Ribeiro 1988).

Sprovedenim epidemiološko-ekološkim istraživanjima na području Severne Amerike i Evroazije ustanovljeno je da su brojni mali sisari i ptice rezervoari *B. burgdorferi* u prirodi, kao i da su uključeni u enzootski ciklus transmisije uzročnika (Piesman i Schwan, 2010). Na području Severne Amerike glavni rezervoar uzročnika lajm borelioze predstavlja miš *Peromyscus leucopus*, dok u Evropi glavne rezervoare predstavljaju različiti glodari i migratorne ptice (Radolf i sar. 2012). Gern i saradnici navode da je na području Evrope registrovano 9 različitih vrsta malih sisara, 7 različitih vrsta srednje velikih sisara i 16 različitih vrsta ptica koje su kompetentni rezervoari *B. burgdorferi*. Isti autori navode pretpostavku da kućni miš (*Mus musculus*) kao i neke druge vrste malih glodara mogu da budu kompetentni vektori *B. burgdorferi* u istočnoj Evropi i Rusiji (Gerni sar. 1998). Kao značajni rezervoari *B. burgdorferi* u Evropi navode se šumski miš (*Apodemus sylvaticus*) i šumska voluharica (*Clethrionomys glareolus*) (Anderson 1989, Gerni sar. 1998). Hanincová navodi da su u Evropi mali glodari, odnosno miševi i voluharice dominantni rezervoari za *B. afzelii* (Hanincová i sar. 2003a), dok su ptice dominantni rezervoari za *B. valaisiana* i *B. garinii* (Hanincová i sar. 2003b). Vrtni puh je rezervoar za *B. spielmanii* (Richter i sar. 2004), dok su gušteri rezervoari za *B. lusitaniae* (Dsouli i sar. 2006, Majláthová i sar. 2006).

Anderson navodi da prevalencija infekcije glodara uzročnikom lajm borelioze u Severnoj Americi iznosi preko 75% (Anderson 1989). Stajković i saradnici su prvi u našoj zemlji izolovali *B. burgdorferi* iz slezine miševa *Apodemus flavicollis* izlovljenih na području Košutnjaka i Lipovičke šume (Stajković i sar. 1993a).

Burgdorfer navodi da je transovarijalna transmisija *B. burgdorferi* moguća kod krpelja iz roda *Ixodes*, ali da je od manjeg značaja za održavanje infekcije u prirodi (Burgdorferi sar. 1990). Drugi autori navode da transovarijalna transmisija uzročnika *B. burgdorferi* nije moguća (Bergström i sar. 1991, Radolf i sar. 2012) i da se larve inficiraju nakon hematofagne ishrane na zaraženom domaćinu

koji predstavlja rezervor u prirodi. Uobičajeno su to različiti glodari, veverice i migratorne ptice. Nakon presvlačenja u nimfe, *B. burgdorferi* se prenosi transstadijalno. Ponovnom ishranom na sličnim domaćinima, odnosno rezervoarima koji nisu zaraženi, zatvara se enzootski ciklus transmisije uzročnika lajm borelioze. Adulti krpelja koji se hrane krvlju trećeg domaćina, poput jelena i krupnih divljih životinja, nisu od značaja za održavanje uzročnika u prirodi, jer ovi domaćini nisu kompetentni rezervoari za *B. burgdorferi*. Psi, domaće životinje i ljudi su slučajni, odnosno krajnji domaćini za *B. burgdorferi*.

Prisustvo uzročnika lajm borelioze je registrovano u različitim vrstama krpelja ali nije kod svih ovih vrsta krpelja dokazan vektorski potencijal. Četiri vrste krpelja iz roda *Ixodes* su kompetentni i najznačajniji vektori *B. burgdorferi* i to *I. pacificus* i *I. scapularis* na području Severne Amerike, odnosno *I. persulcatus* na području Azije i *I. ricinus* na području Evrope (Gray 1998, Kurtenbach i sar. 2006, Piesman i Schwan 2010).

Eksperimentalnim istraživanjima dokazano je da i drugi krpelji mogu da budu kompetentni vektori za *B. burgdorferi* poput *I. affinis*, *I. jellisoni*, *I. angustus*, *I. dentatus*, *I. hexagonus*, *I. minor*, *I. muris* i *I. spinipalpis* (Eisen i Lane 2002). Prisustvo uzročnika lajm borelioze je utvrđeno i kod drugih krpelja koji parazitiraju na sisarima poput *I. trianguliceps* (Gorelova i sar. 1996) i *I. neotomae* (Schwani sar. 1993) ali bez dokazanog vektorskog potencijala. Osim kod vrsta krpelja iz roda *Ixodes*, prisustvo *B. burgdorferi* je zabeleženo kod krpelja vrste *Dermacentor reticulatus* na području Nemačke (Kahl i sar. 1992).

Za održavanje *B. burgdorferi* u prirodi važnu ulogu imaju *I. dentatus* i *I. spinipalpis* (na području Amerike) i *I. hexagonus* (na području Evrope), odnosno vrste krpelja koje su uključene u zatvoreni enzootski ciklus (Gray 1998).

Uloga krpelja *I. uriae* koji parazitira na pticama do sada nije u potpunosti jasna. Poznato je da infestira ptice širom sveta, da može da prenosi određene vrste *B. burgdorferi* (Olsen i sar. 1993), kao i da ubada ljude, ali nije dokazana posledična pojava lajm borelioze (Gray 1998). Pored ovog krpelja koji infestira ptice, prisustvo *B. burgdorferi* takođe je zapaženo kod *I. lividus* (Movila i sar. 2008), *I. arboricola* (Špitalská i sar. 2011), *I. auritulus* (Morshed i sar. 2005) i *I. turdus* (Fukunaga i sar. 1996).

Za sedam vrsta krpelja (*Amblyomma americanum*, *Dermacentor iersoni*, *D. occidentalis*, *D. variabilis*, *I. cookie*, *I. holocyclus* i *I. ovatus*) dokazano je da nisu kompetentni vektori za transmisiju uzročnika *B. burgdorferi* sensu lato (Eisen i Lane 2002).

Pored krpelja kao hematofagnih artropoda, prisustvo uzročnika lajm borelioze je zabeleženo i u komarcima. Zakovska i saradnici navode da su iz komarca vrste *Culex pipiens* biotip *molestus*, izolovali i primenom PCR potvrdili prisustvo *B. burgdorferi* sensu lato. Ovaj izolat je primenom metode RFLP identifikovan kao *B. afzelii* (Zakovska i sar. 2006).

Saopšteni su brojni i različiti podaci, širom sveta, o zaraženost krpelja uzročnikom *B. burgdorferi*. Prema saopštenim podacima za našu zemlju trećina populacije krpelja *I. ricinus* je inficirana uzročnikom *B. burgdorferi*. Za područje grada Beograda i okoline Stajković i saradnici

navode prevalenciju infekcije krpelja *B. burgdorferi* od 27,0% do 31,7% (Stajkovic i sar. 1993b). Čekanac i saradnici navode sličnu prosečnu prevalenciju infekcije krpelja *B. burgdorferi* od 21,9% za područje Beograda (Cekanac i sar. 2010). Drndarević i sar. su primenom mikroskopskog pregleda u tamnom polju ustanovili 22% pozitivnih ženki krpelja vrste *I. ricinus* na prisustvo uzročnika lajm borelioze, od ukupno pregledane 263 jedinke, prikupljene na području Beograda i Osjeka (Drndarevic i sar. 1992). U istraživanju sprovedenom na 19 lokaliteta u centralnoj Srbiji, Milutinovića je ustanovila ukupnu prevalenciju infekcije *B. burgdorferi* kod krpelja vrste *I. ricinus* od 29% (Milutinović 2000). Primenom PCR metode, Milutinović i saradnici su dokazali prisustvo genoma uzročnika lajm borelioze kod 42,5% pregledanih krpelja, a primenom RFLP analize izolovanih borelija iz krpelja vrste *Ixodes ricinus* identifikovali pet vrsta borelija (*B. burgdorferi* sensu stricto, *B. afzelii*, *B. garinii*, *B. lusitaniae* i *B. valaisiana*), od kojih je najučestalija vrsta bila *B. lusitaniae* (Milutinović i sar. 2008a). U drugom istraživanju, objavljenom iste godine, Milutinović i saradnici su ustanovili zaraženost krpelja *I. ricinus* uzročnikom lajmske bolesti od 45,9% za adulte i 18,8% za nimfe, na području Bovanskog jezera, što su više vrednosti u odnosu na prosek u Evropi (Milutinovic i sar. 2008b). Potom su Radulović i saradnici primenom analize sekvence 16S rRNK u ukupnoj RNK ekstrahovanoj iz krpelja vrste *I. ricinus*, u našoj zemlji, takođe utvrdili prisustvo vrsta *B. lusitaniae* i *B. afzelii* (Radulović i sar. 2010). Tomanović i saradnici su ustanovili različite vrste borelija iz *B. burgdorferi* sensu lato kompleksa, primenom RFLP analize i restrikcioni enzima DraI i MseI, kod 140 od 287 pregledanih krpelja i to *B. burgdorferi* sensu stricto 39 (13,6%), *B. afzelii* 22 (7,7%), *B. garinii* 14 (4,9%), *B. lusitaniae* 54 (18,8%) i *B. valaisiana* 11 (3,8%) genospecijesa. Isti autori su ustanovili koinfekcije različitim vrstama borelija, kao i različitim uzročnicima infektivnih oboljenja (Tomanović i sar. 2010). Ristanović i saradnici su izvršili molekularnu karakterizaciju izolovanih sojeva borelija iz miševa *Apodemus flavicollis* izlovljenih na području Košutnjaka i Lipovičke šume (soj označen K1, izolacija 1992. godine) i krpelja *Ixodes ricinus* izlovljenih sa područja Avale (sojevi A1 i A2, izolacija 2002. godine) i područja Miljakovca (soj M1, izolacija 2002. godine). Primenom metode 5S-23S rDNA intergenic spacer specific PCR i restrikcioni enzima DraI i MseI soj K1-1 je okarakterisan kao *B. burgdorferi* sensu stricto, soj K1-2 kao *B. afzelii* (verovatno se radi o infekciji miša različitim

genospecijesima borelija i posledičnoj mešanoj kulturi), dok su izolati A1, A2 i M1 označeni kao *Borrelia burgdorferi* sensu stricto (Ristanovic i sar. 2007).

Rajković i saradnici navode prevalenciju infekcije krpelja *B. burgdorferi* od 29,2%, na području Vojvodine (Rajkovic i Jurisic 2005). U našim prethodnim istraživanjima u Vojvodini, registrovali smo srednju vrednost prevalencije infekcije krpelja uzročnikom lajm borelioze od 22,12%, a 3 izolovana soja borelija iz krpelja sa područja Vojvodine identifikovali smo kao *Borrelia afzelii* (veličina fragmenta 591 bp), dok smo jedan izolovani soj borelija okarakterisali kao *Borrelia burgdorferi* sensu stricto (veličina fragmenta 575 bp) (Savić i sar. 2010) primenom PCR metode sa genospecijes specifičnim prajmerima za genotipizaciju *Borrelia burgdorferi* koje su koristili Marconi i Garon, kao i Kuiper i saradnici (Kuiper i sar. 1994, Marconi i Garon 1992). Za vrstu *B. afzelii* odredili smo Mlal LRFPP profil (Potkonjak i sar. 2014).

Na području Vojvodine, 2014. godine pregledan je 71 krpelj vrste *I. ricinus* na prisustvo borelija primenom real-time PCR metode za *flaB* gen. Identifikacija vrste je potvrđena analizom sekvenci genoma nakon umnožavanja *ospA* gena za grupu lajm borelija (konvencionalni PCR) i *glpQ* gena za grupu borelija povratnih groznica (real-time PCR). Rezultati ukazuju da je 21,13% krpelja bilo pozitivno na borelije iz grupe lajm borelioze i to na *B. lusitaniae* (11,3%), *B. afzelii* (7%), *B. valaisiana* (1,4%) i *B. garinii* (1,4%). *Borrelia miyamotoi*, zoonozna vrsta borelija iz grupe povratnih groznica, je prvi put dokazana na području Republike Srbije kod jedne (1,4%) nimfe krpelja *I. ricinus*.

Ovi rezultati ukazuju na različitu dominaciju vrsta borelija u *I. ricinus* krpeljima u odnosu na geografsko područje i vremenski period. Potrebna su dalja sistematska istraživanja prisustva borelija u vektorima i rezervoarima na našem geografskom području kako bi se razumela eko-epidemiologija novootkrivene zoonozne vrste *Borrelia miyamotoi* (Potkonjak i sar. 2016).



### Abstract

Of all vector-borne diseases Lyme borreliosis is the most reported in Europe. *Borrelia burgdorferi* sensu lato complex represents a group of diverse species of spirochete present worldwide. The total number of species is not final because new genetic and antigenic strains are still being reported. Following species of borrelia have proven pathogenic potential for humans: *B. afzelii*, *B. bavariensis*, *B. bissettii*, *B. burgdorferi* sensu stricto, *B. garinii*, *B. kurtenbachii*, *B. lusitanae*, *B. spielmanii* and *B. valaisiana*. Humans are accidental hosts in ticks feeding and maintenance of *B. burgdorferi* as the causative agent of this natural-focal zoonoses. Tick bite occurs in nature, where in the process of maintenance of *B. burgdorferi* numerous species are included – domestic and wild animals, small rodents, reptiles and birds. Variability of the clinical manifestations of Lyme borreliosis can be explained by different etiology or by the species of borrelia and it is a consequence of genetic diversity. The results of previous researches show different dominance of borrelia species from the Lyme borrelia group in *I. ricinus* ticks in regard to the geographic area and the time period. In order to understand eco-epidemiology of a newly discovered species from the relapsing fever group – *B. miyamotoi*, further systemic researches on the presence of borrelia in vectors and reservoirs are needed in our geographic area.

### REFERENCES

- Anderson JF. 1989. Epizootiology of *Borrelia* in Ixodes tick vectors and reservoir hosts. *Review of Infectious Diseases* 11: S1451-S1459.
- Anderson JF. 1991. Epizootiology of Lyme borreliosis. *Scand J Infect Dis Suppl* 77: 23-34.
- Balashov YS. 1972. Bloodsucking ticks (Ixodoidea) - vectors of diseases of man and animals. *Miscellaneous Publications of the Entomological Society of America* 8: 161-376.
- Balmelli T, Piffaretti J-C. 1995. Association between different clinical manifestations of Lyme disease and different species of *Borrelia burgdorferi* sensu lato. *Research in microbiology* 146: 329-340.
- Bergström S, Barbour A, Garon C, Hindeross P, Saint Girons I, Schwan T. 1991. Genetics of *Borrelia burgdorferi*. *Scandinavian journal of infectious diseases. Supplementum* 77: 102.
- Burgdorfer W, Anderson J, Gern L, Lane R, Piesman J, Spielman A. 1990. Relationship of *Borrelia burgdorferi* to its arthropod vectors. *Scandinavian journal of infectious diseases. Supplementum* 77: 35-40.
- Burgdorfer W, Anderson JF, Gern L, Lane RS, Piesman J, Spielman A. 1991. Relationship of *Borrelia burgdorferi* to its arthropod vectors. *Scand J Infect Dis Suppl* 77: 35-40.
- Bushmich SL. 1994. Lyme borreliosis in domestic animals. *J Spiro Tick Dis* 1: 24-28.
- Carroll JA, Garon CF, Schwan TG. 1999. Effects of environmental pH on membrane proteins in *Borrelia burgdorferi*. *Infect Immun* 67: 3181-3187.
- Cekanac R, Pavlovic N, Gledovic Z, Grgurevic A, Stajkovic N, Lepsanovic Z, Ristanovic E. 2010. Prevalence of *Borrelia burgdorferi* in Ixodes ricinus ticks in Belgrade area. *Vector Borne Zoonotic Dis* 10: 447-452.
- Drndarevic D, Lako B, Stojanovic R, Stajkovic N, Obradovic M, Zivanovic B, Cekanac R, Derkovic V, Nanusevic N, Dmitrovic R. 1992. Ixodes ricinus dokazan vektor lajm borelioze i u Jugoslaviji. *Vojnosanitetski Pregl* 49: 8-11.
- Dsouli N, Younsi-Kabachii H, Postic D, Nouira S, Gern L, Bouattour A. 2006. Reservoir role of lizard *Psammmodromus algirus* in transmission cycle of *Borrelia burgdorferi* sensu lato (Spirochaetaceae) in Tunisia. *Journal of medical entomology* 43: 737-742.
- Eisen L, Lane RS. 2002. Vectors of *Borrelia burgdorferi* sensu lato. In: Gray JS, Kahl O, Lane RS, Stanek G, editors. *Lyme Borreliosis: Biology, Epidemiology and Control*, CAB International, Wallingford, UK, 91-115.
- Fritz CL, Kjemtrup AM. 2003. Lyme borreliosis. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 223: 1261-1270.
- Fukunaga M, Hamase A, Okada K, Inoue H, Tsuruta Y, Miyamoto K, Nakao M. 1996. Characterization of spirochetes isolated from ticks (*Ixodes tanuki*, *Ixodes turdus*, and *Ixodes columnae*) and comparison of the sequences with those of *Borrelia burgdorferi* sensu lato strains. *Applied and environmental microbiology* 62: 2338-2344.
- Gern L, Estrada-Pena A, Frandsen F, Gray JS, Jaenson TG, Jongejan F, Kahl O, Korenberg E, Mehl R, Nuttall PA. 1998. European reservoir hosts of *Borrelia burgdorferi* sensu lato. *Zentralbl Bakteriologie* 287: 196-204.
- Gorelova N, Korenberg E, Kovalevskii I, Postic D, Baranton G. 1996. The isolation of *Borrelia* from the tick *Ixodes trianguliceps* (Ixodidae) and the possible significance of this species in the epizootiology of ixodid tick-borne borrelioses. *Parazitologija* 30: 13.
- Gray J. 1998. Review The ecology of ticks transmitting Lyme borreliosis. *Experimental & applied acarology* 22: 249-258.
- Hanincova K, Schafer SM, Etti S, Sewell HS, Taragelova V, Ziak D, Labuda M, Kurtenbach K. 2003a. Association of *Borrelia afzelii* with rodents in Europe. *Parasitology* 126: 11-20.
- Hanincova K, Taragelova V, Koci J, Schafer SM, Hails R, Ullmann AJ, Piesman J, Labuda M, Kurtenbach K. 2003b. Association of *Borrelia garinii* and *B. valaisiana* with songbirds in Slovakia. *Appl Environ Microbiol* 69: 2825-2830.
- Hengge UR, Tannapfel A, Tying SK, Erbel R, Arendt G, Ruzicka T. 2003. Lyme borreliosis. *Lancet Infect Dis* 3: 489-500.
- Jensen P. 2000. Host seeking activity of *Ixodes ricinus* ticks based on daily consecutive flagging samples. *Experimental & applied acarology* 24: 695-708.
- Kahl O, Janetzki C, Gray JS, Stein J, Bauch RJ. 1992. Tick infection rates with *Borrelia Ixodes ricinus* versus *Haemaphysalis concinna* and *Dermacentor reticulatus* in two locations in eastern Germany. *Medical and Veterinary Entomology* 6: 363-366.
- Kuiper H, Van Dam A, Spanjaard L, De Jongh B, Widjojokusumo A, Ramselaar T, Cairo I, Vos K, Dankert J. 1994. Isolation of *Borrelia burgdorferi* from biopsy specimens taken from healthy-looking skin of patients with Lyme borreliosis. *Journal of clinical microbiology* 32: 715-720.

25. Kurtenbach K, Hanincová K, Tsao JI, Margos G, Fish D, Ogden NH. 2006. Fundamental processes in the evolutionary ecology of Lyme borreliosis. *Nature Reviews Microbiology* 4: 660-669.
26. Lindgren E, Jaenson T. 2006. Lyme borreliosis in Europe: influences of climate and climate change, epidemiology and adaptation measures. In: Menne B, Ebi KL, editors, *Climate Change and Adaptation Strategies for Human Health*. Darmstadt: WHO Regional Office for Europe, Steinkopff Verlag, Germany, 157-188.
27. Majláthová V, Majláth I, Derdákóvá M, Vichová B, Peťko B. 2006. *Borrelia lusitanae* and green lizards (*Lacerta viridis*), Karst Region, Slovakia. *Emerging infectious diseases* 12: 1895.
28. Marconi RT, Garon CF. 1992. Development of polymerase chain reaction primer sets for diagnosis of Lyme disease and for species-specific identification of Lyme disease isolates by 16S rRNA signature nucleotide analysis. *Journal of Clinical Microbiology* 30: 2830-2834.
29. Milutinović M, Masuzawa T, Tomanović S, Radulović Ž, Fukui T, Okamoto Y. 2008a. *Borrelia burgdorferi sensu lato*, *Anaplasma phagocytophilum*, *Francisella tularensis* and their co-infections in host-seeking *Ixodes ricinus* ticks collected in Serbia. *Experimental and Applied Acarology* 45: 171-183.
30. Milutinovic M, Radulovic Z, Tomanovic S. 2008b. Assessment of the risk of contracting Lyme disease in areas with significant human presence. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 60: 121-129.
31. Milutinović M. 2000. Diversity and ecology of the Ixodid ticks (Acari: Ixodidae) in central Serbia, Yugoslavia. *Archives of Biological Sciences* 52: 39-46.
32. Mladenović J, Čekanac R, Stajković N, Krstić M. 2010. Risk of Lyme disease development after a tick bite. *Vojnosanitetski pregled* 67: 369-374.
33. Morshed MG, Scott JD, Fernando K, Beati L, Mazerolle DF, Geddes G, Durden LA. 2005. Migratory songbirds disperse ticks across Canada, and first isolation of the Lyme disease spirochete, *Borrelia burgdorferi*, from the avian tick, *Ixodes auritulus*. *Journal of Parasitology* 91: 780-790.
34. Movila A, Gatewood A, Toderas I, Duca M, Papero M, Uspenskaia I, Conovalov J, Fish D. 2008. Prevalence of *Borrelia burgdorferi sensu lato* in *Ixodes ricinus* and *I. lividus* ticks collected from wild birds in the Republic of Moldova. *International Journal of Medical Microbiology* 298: 149-153.
35. Olsen B, Jaenson TG, Noppa L, Bunikis J, Bergstrom S. 1993. A Lyme borreliosis cycle in seabirds and *Ixodes uriae* ticks. *Nature* 362: 340-342.
36. Piesman J, Schwan T.G. , 2010. Ecology of borreliae and their arthropod vectors. In: Samuels DS, Radolf JD, editors, *Borrelia: Molecular Biology, Host Interaction and Pathogenesis*. Caister Academic Press, Norfolk, UK, 251-278
37. Radolf JD, Caimano MJ, Stevenson B, Hu LT. 2012. Of ticks, mice and men: understanding the dual-host lifestyle of Lyme disease spirochaetes. *Nature Reviews Microbiology* 10: 87-99.
38. Radulović Ž, Milutinović M, Tomanović S, Mulenga A. 2010. Detection of *Borrelia*-specific 16S rRNA sequence in total RNA extracted from *Ixodes ricinus* ticks. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 62: 862-867.
39. Rajkovic DV, Jurisic A. 2005. *Ixodes ricinus* as vector and reservoir of *Borrelia burgdorferi* in an urban environment. *Archives of Biological Sciences* 57: 253-254.
40. Ribeiro JM. 1988. The midgut hemolysin of *Ixodes dammini* (Acari: Ixodidae). *J Parasitol* 74: 532-537.
41. Richter D, Schlee DB, Allgower R, Matuschka FR. 2004. Relationships of a novel Lyme disease spirochete, *Borrelia spielmani* sp. nov., with its hosts in Central Europe. *Appl Environ Microbiol* 70: 6414-6419.
42. Ristanovic ES, Kitamura K, Masuzawa T, Milutinovic MJ, Cekanac RM, Stajkovic NT, Zivanovic DM. 2007. Molecular characterization of *Borrelia burgdorferi sensu lato* strains isolated in the area of Belgrade, Serbia. *Brazilian Journal of Microbiology* 38: 14-16.
43. Rosa PA, Tilly K, Stewart PE. 2005. The burgeoning molecular genetics of the Lyme disease spirochete. *Nature Reviews Microbiology* 3: 129-143.
44. Rudenko N, Golovchenko M, Grubhoffer L, Oliver JH. 2011. Updates on *Borrelia burgdorferi sensu lato* complex with respect to public health. *Ticks and tick-borne diseases* 2: 123-128.
45. Savić S, Vidić B, Lazić S, Lako B, Potkonjak A, Lepšanić Z. 2010. *Borrelia burgdorferi* in ticks and dogs in the province of Vojvodina, Serbia. *Parasite* 17: 357-361
46. Schwan TG, Piesman J, Golde WT, Dolan MC, Rosa PA. 1995. Induction of an outer surface protein on *Borrelia burgdorferi* during tick feeding. *Proc Natl Acad Sci U S A* 92: 2909-2913.
47. Schwan TG, Piesman J. 2000. Temporal changes in outer surface proteins A and C of the Lyme disease-associated spirochete, *Borrelia burgdorferi*, during the chain of infection in ticks and mice. *J Clin Microbiol* 38: 382-388.
48. Schwan TG, Schrupf ME, Karstens RH, Clover JR, Wong J, Daugherty M, Struthers M, Rosa P. 1993. Distribution and molecular analysis of Lyme disease spirochetes, *Borrelia burgdorferi*, isolated from ticks throughout California. *Journal of clinical microbiology* 31: 3096-3108.
49. Špitalská E, Literák I, Kocianová E, Taragel'ová V. 2011. The importance of *Ixodes arboricola* in transmission of *Rickettsia* spp., *Anaplasma phagocytophilum*, and *Borrelia burgdorferi sensu lato* in the Czech Republic, Central Europe. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* 11: 1235-1241.
50. Stajkovic N, Drndarevic D, Lako B, Dmitrovic R, Obradovic M, Djerkovic V, Cekanac R, Djordjevic D. 1993b. Vectors of *Borrelia burgdorferi*. *Glas Srp Akad Nauka Med* 43.
51. Stajkovic N, Obradovic M, Lako B, Drndarevic D, Dmitrovic R, Djerkovic V, Djordjevic D. 1993a. The first isolation of *Borrelia burgdorferi* in *Apodemus flavicollis* in Yugoslavia. *Glas Srp Akad Nauka Med* 43: 99-105.
52. Stanek G, Wormser GP, Gray J, Strle F. 2012. Lyme borreliosis. *The Lancet* 379: 461-473.
53. Strle F, Nadelman RB, Cimperman J, Nowakowski J, Picken RN, Schwartz I, Maraspin V, Aguero-Rosenfeld ME, Varde S, Lotric-Furlan S. 1999. Comparison of culture-confirmed erythema migrans caused by *Borrelia burgdorferi sensu stricto* in New York State and by *Borrelia afzelii* in Slovenia. *Annals of internal medicine* 130: 32-36.
54. Tomanović S, Radulović Ž, Masuzawa T, Milutinović M. 2010. Coexistence of emerging bacterial pathogens in *Ixodes ricinus* ticks in Serbia. *Parasite* 17: 211-217.
55. van Dam AP, Kuiper H, Vos K, Widjojokusumo A, de Jongh BM, Spanjaard L, Ramselaar AC, Kramer MD, Dankert J. 1993. Different genospecies of *Borrelia burgdorferi* are associated with distinct clinical manifestations of Lyme borreliosis. *Clinical Infectious Diseases* 17: 708-717.
56. Wang G, Van Dam AP, Schwartz I, Dankert J. 1999. Molecular typing of *Borrelia burgdorferi sensu lato*: taxonomic, epidemiological, and clinical implications. *Clinical microbiology reviews* 12: 633-653.
57. Zakovska A, Capkova L, Sery O, Halouzka J, Dendis M. 2006. Isolation of *Borrelia afzelii* from overwintering *Culex pipiens* biotype molestus mosquitoes. *Ann Agric Environ Med* 13: 345-348.
58. Potkonjak A, Kleinerman G, Gutiérrez R, Savić S, Vračar V, Nachum-Biala Y, Jurišić A, Rojas A, Petrović A, Ivanović I, Harrus S. 2016. Occurrence of *Borrelia burgdorferi sensu lato* in *Ixodes ricinus* ticks with first identification of *Borrelia miyamotoi* in Vojvodina, Serbia. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* 16(10):631-5.
59. Potkonjak A, Savić S, Ruzić-Sabljčić E, Vračar V, Lako B, Jurišić A, Petrović A, Rajković D. 2014. Molecular characterization of *Borrelia* strains isolated from ticks in Vojvodina. *Parasites & vectors* 7(1):P18.