



Klíšťata, nebezpeční přenašeči bakterií a virů, zaměřeno na původce onemocnění Lymeská borrelióza

Alena Žáková



Pro zajímavost

Odchyt klíšťat v r. 2016 v Brně a okolí

Rok 2016: celkem 690 klíšťat na lokalitě Ruda (přehrada), Pisárky, Říčky (Líšeň)

- Pisárky 2016 celkem 201 /1x 14 dnů (15.3.-21.11.)
- Říčky 2016 celkem 243/1x 14 dnů (26.3. – 26.10.)
- Přehrada, Ruda 2016 celkem 246/ 1x 14 dnů (15.3. – 27.10.)
- Celkem za r. 2016/ 690ks

Rok 2018:

- Pisárky 2x více klíšťat (přes 400)
- Přehrada, Ríšova studánka kolem 500

Rozdíl mezi dvěma lokalitami



Úvod

- Zvláštní skupina dočasných krevsajících parazitů, u nichž sání probíhá řádově hodiny, dny
- Významný vektor přenášející mikrobiální agens v našich podmínkách mírného pásu V ČR jsou významné *Dermacentor reticulatus*, *Haemaphysalis concinna* a *Ixodes ricinus*.
- Nedílnou součástí šíření patogenů představují jejich **rezervoáry** v podobě obratlovců, např. malých savců a ptáků, kteří mohou šířit patogen na vzdálenosti větší, než samotný vektor



Charakteristika přenosu nález členovci

- Zoonóza
- Přenos transmissivní

Interakce klíště – hostitel – patogen
patogen – klíště
patogen – hostitel
klíště – hostitel

Obecné schéma přenosu:

Donor (obratlovec A) ...vektor ... **recipient** (obratlovec B)



Microtus agrestis

<http://home2.planetinternet.be/rv047190/hoel/muisje.htm>



Samice *I. ricinus*

Katedra srovnávací fyziologie
živočichů a obecné zoologie



Apodemus sylvaticus

<http://www.consult-eco.ndirect.co.uk/lrc/specnews.htm>



Zařazení klíštěte *Ixodes ricinus* do systému

Kmen: členovci *Arthropoda*

Podkmen: klepítkatci *Chelicerata*

Třída: pavoukovci *Arachnida*

Řád: roztoči *Acarina*

Podřád: klíšťata *Ixodides*

Čeleď: klíšťatovití *Ixodidae*

Rod: klíště *Ixodes*

Druh: obecné *ricinus*

(Sedlák 2000)



I. ricinus, Pisárky, Brno



Larva



nymfa



sameček

samička



Vlastní tělo klíštěte *Idiosoma*

Obr. Samec klíštěte *Ixodes ricinus*

silně **sklerotizovaný** štít *scutum*-hard ticks.



Články bývají vyzbrojeny zubci, trny a ostny, které slouží klíštěti k přichycení k hostiteli.

Hallerův orgán se smyslovými i čípky je velmi důležitým čichovým orgánem pro vyhledávání hostitele.

CO₂, t, světlo a stín, chemické látky

Na břišní straně zadečku, po straně 4. páru nohou, je jeden pár dýchacích otvorů *stigmat*

- ***Idiosoma***
- 1: končetiny s drápký, 2: řitní otvor, anální rýha 3: štít, 4: pohlavní otvor, 5: lopatky

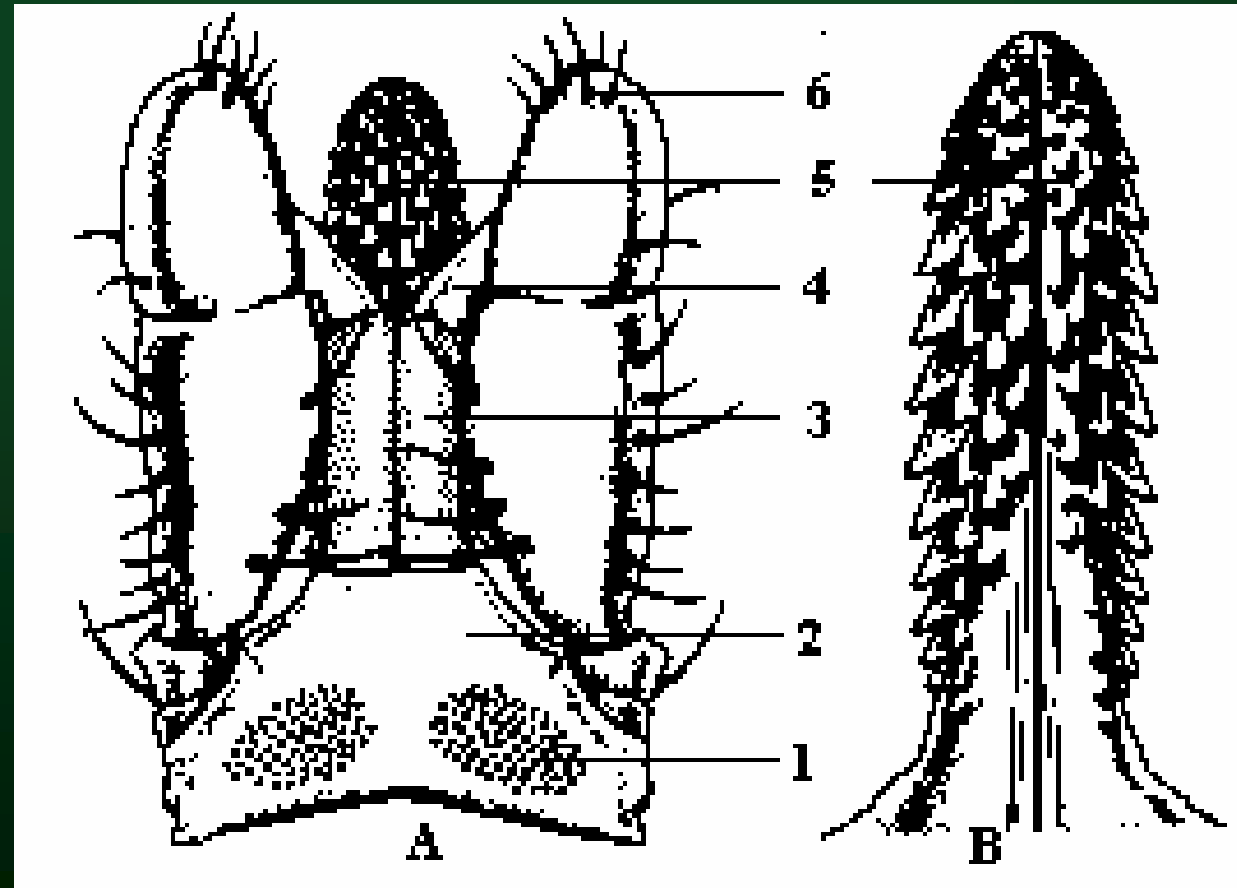


Hlavička Gnathosoma

Obr.: *Gnathosoma samice Ixodes ricinus*

A: Dorzální strana, B: Ventrální strana

1: smyslové plošky, 2: límec, 3: pouzdro chelicer, 4: chelicery, 5: chobotek 6: makadla



Slinné žlázy

- Hrají významnou **roli při přenosu patogenů**
- **Funkce:** absorpce vzdušné vlhkosti, vyloučení přebytečné tekutiny pro zachování konc. krve, vylučování proteinů a lipidů, kontrolované dopaminem:
 - a) sekrece prostaglandinu **PGE2** (z kys arachidonové – zvýš. Vazodilatace
 - b) Proteiny vázající se na IgG
 - c) Proteiny vázající se na **histamin** (proti svědění)
 - d) Proteiny způsobující inhibici funkce **C**
 - e) Proteiny proti shlukování **trombocytů**, antikoagulační atd



Klíště jako vektor

Rozšíření klíšťat komplexu
Ixodes, I. ricinus

- **Evropa** *I. ricinus*
- **Asie** *I. persulcatus, I. dammini*
- **S. Amerika** *I. ricinus, I. scapularis, I. pacificus*
- **Afrika** *I. ricinus*
- **Austrálie** možná *I. holocyclus*



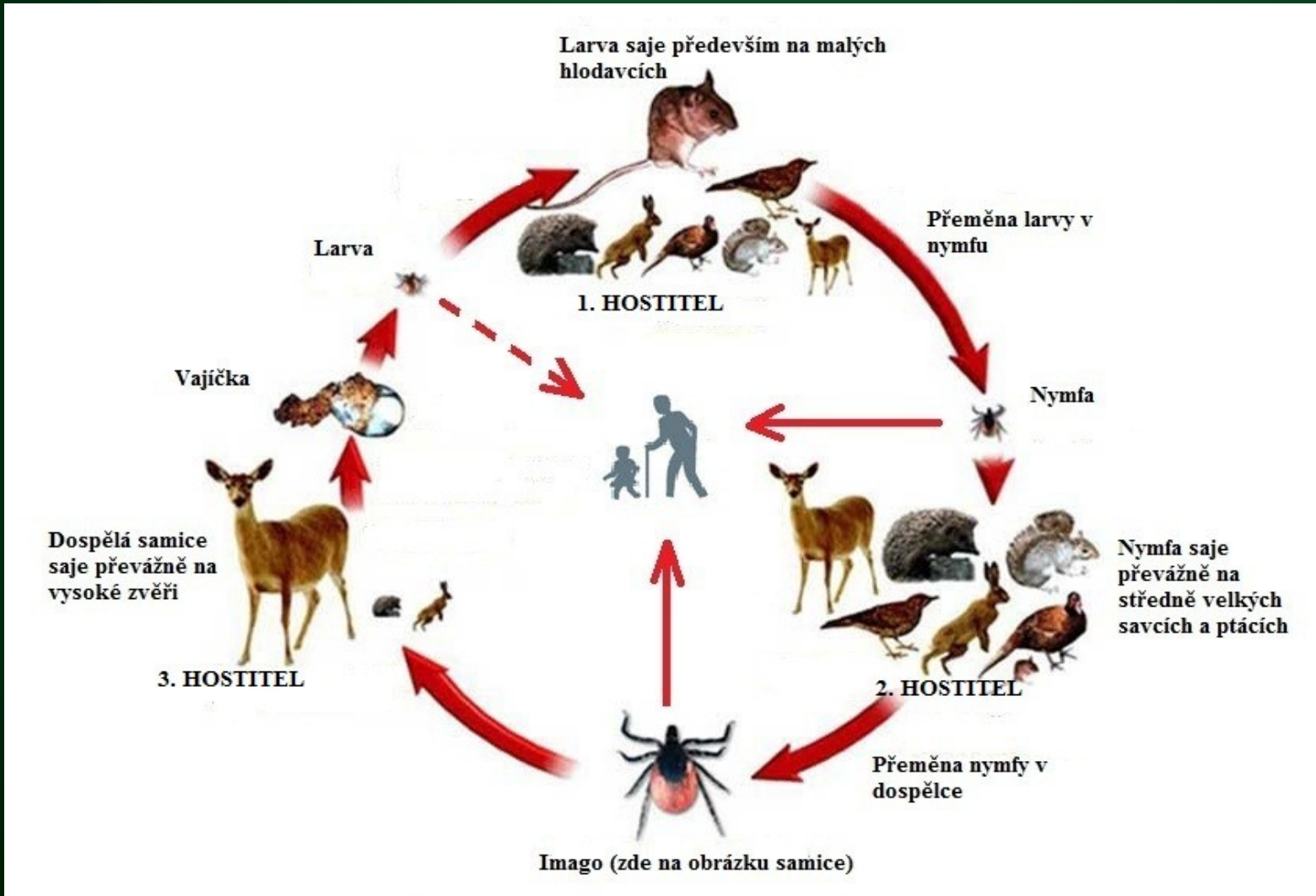
Rozšíření klíštěte:

- Nerovnoměrné, výskyt typicky mozaikovitý
- Rozhraní mezi lesními a lučními biotopy (lesní lemy, paseky, světliny)
- **Nepřítomnost:** sekundární smrkové lesy bez podrostu, rašeliniště, horské smrkové lesy a horské louky (Rosický, 1954).



Trojhostitelský vývojový cyklus *Ixodes ricinus*

Životní cyklus: **vajíčko - larva - nymfa – imago (1,5-3,5 let)**



Ohniskovost
Stěhování
do vyšších
Poloh
1240 m.n.,
1350 m.n.



Čeľad':klíšťatovití Ixodidae

Druhy klíšťat přenášející mikroorganismy na člověka, v ČR i na světě

Druh klíšťete	výskyt	Druh patogena-onemocnění
Ixodes ricinus (kl. ob.)	ČR, Evropa	Virus klíšťové encefalidity a skupiny Kemerovo, Borrelia b. s.l., Ehrlichia phagocytophila s.l., Coxiella burnetii, Rickettsia slovaca, R. helvetica, Francisella tularensis, Babesia microti
Haemaphysalis concinna (kl. lužní)	ČR, SR	v. klíšťové encefalidity, (v. CEE) Rickettsia sibirica, Francisella tularensis
H. punctata (kl. stepní)	Evropa, sev. Afrika, Př. Asie, jižní a jihov. SR	v. CEE, Bhandža a Tribeč
H. inermis (kl. lesostepní)	jižní, jihov. SR, jihovýchod Evropy	v. CEE, na člověku vzácně samice
Dermacentor marginatus (piják stepní)	jižní, jihových. SR, Eurasie	člověka napadá zřídka v. CEE, CCHF, Bhandža; Coxiella burnetii, Rickettsia sibirica, R. slovaca, R. conori, Fr. Tularensis
Dermacentor reticulatus (piják lužní)	ČR Dyje, Morava, Eurazie	Na člověka vzácně. Viry CEE, OHF, Rickettsia sibirica, R. conori, Francisella tularensis



Druh klíštěte	výskyt	Druh patogena-onemocnění
Dermacentor marginatus (piják stepní)	jižní, jihových. SR, Eurasie	člověka napadá zřídka v. CEE, CCHF, Bhandža; Coxiella burnetti, Rickettsia sibirica, R. slovaca, R. conori, Fr. Tularensis
Dermacentor reticulatus (piják lužní)	ČR Dyje, Morava, Eurazie	Na člověka vzácně. Viry CEE, OHF, Rickettsia sibirica, R. conori, Francisella tularensis
I. persulcatus, I.scapularis	Asie	Virus CEE, B. Burgdorferi s.l.



Nejčastější klíšťata



Ixodes hexagonus *Ixodes scapularis* USA *Dermacentor reticulatus*



Haemaphysalis concinna

<https://www.google.com>



Čeled': *Klíšťákovití Argasidae*

Životní cyklus: vajíčko-larva, N1-N3 (N5)-imago

- Ústní ústrojí u dospělců na spodní straně těla
- Hřbetní štít chybí, integument **měkký-soft ticks**
- Velký počet instarů nymf
- Noční, žijí ve škvírách stěn a podlahách lidských obydlí, v kurnících, holubnicích, v přírodě v norách savců, v hnízdech ptáků
- Sají krátkodobě (minutu až pár hodin)
- Vydrží hladovět i několik let
- Několik snůšek vajíček za život
- Patogeny přenáší kromě slinami i koxální tekutinou z koxálních žláz



Druhy klíšťáků přenášející choroby na člověka v ČR i na světě

Druh klíšťáka	výskyt	Druh patogena-onemocnění
Argas vulgaris (kl. ob.)	Zasahuje na Moravu, Slovensko, jižní Eurázie	Parazitem ptáků, může sát i na člověku. Coxiella burnetii
Rod Ornothodoros	Afrika, Eurázie, něktří i Americké kontinenty	Vektory endemických návratných horeček



Ornothodoros



Argas reflexus



Některé patogenní mikroorganismy přenášené klíšťaty

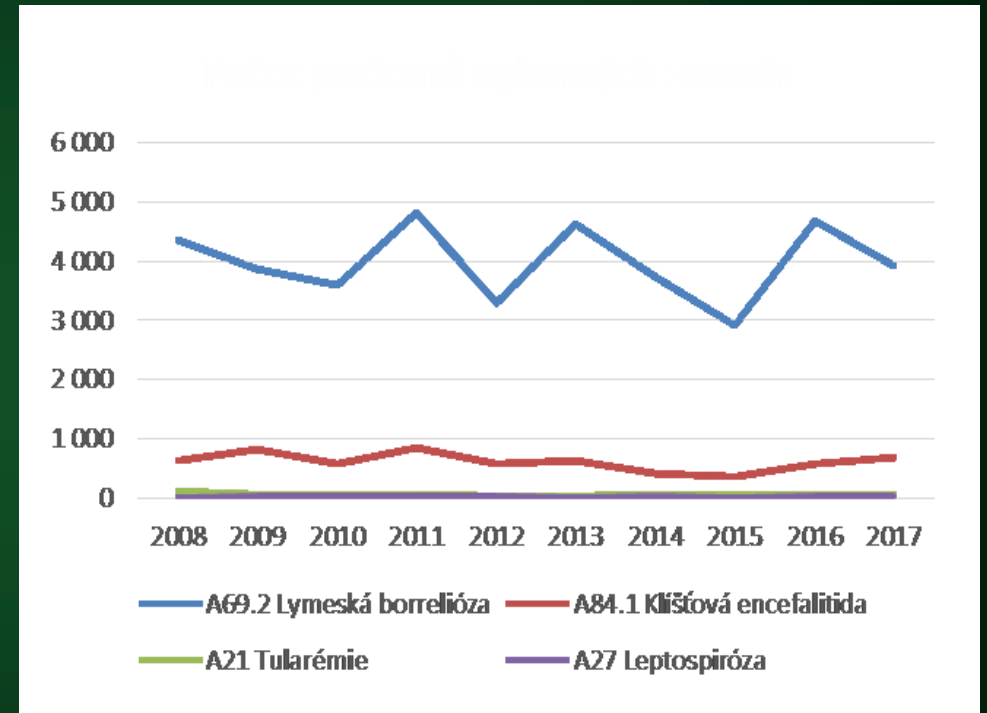
- **Klíšťová encefalitida** (flaviri skupny viru encefalitidy)
- **Anaplasmóza (HGE) Lidská granulocytární** (*Anaplasma phagocytophylum*)
- **Ehrlichioza (HME) Lidská monocytární** (*Ehrlichia chaffeensis*)
- **Q horečka** (*Coxiella burnetii*)
- **Riketsióza** (*Rickettsia slovaca*, *R. sibirica*)
- **Tularémie** (*Francisella tularensis*)
- **Lymeská borelióza** (*Borrelia burgdorferi s.l.*)
- **Bartonellóza** (*Bartonella henselae*)
- **Lidská babezióza** Prvoci (*Babesia microti*, *B. divergens*)



Počet pacientů některých zoonóz

2018 LB 4724, KE 712

Diagnóza	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017		
Lymeská borrelióza	4	350	386	335	974	834	3304	4646	3743	2913	4694	3939
Klíšťová encefalitida	631	816	589	861	573	625	410	355	565	687		
Tularémie	113	65	53	58	44	36	49	59	59	51		
Leptospiróza	17	32	41	31	22	7	37	17	18	21		



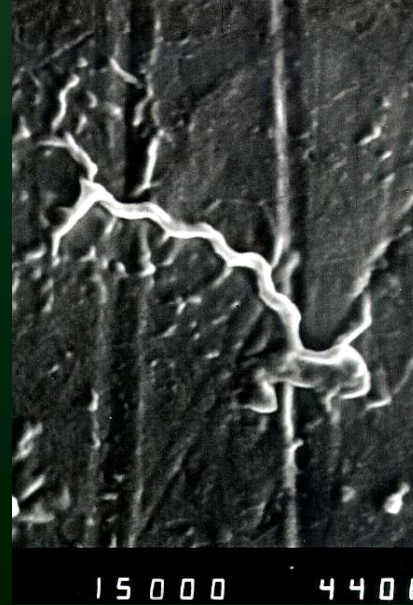
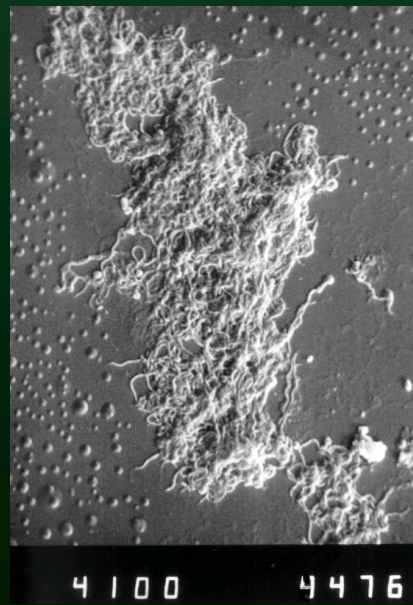
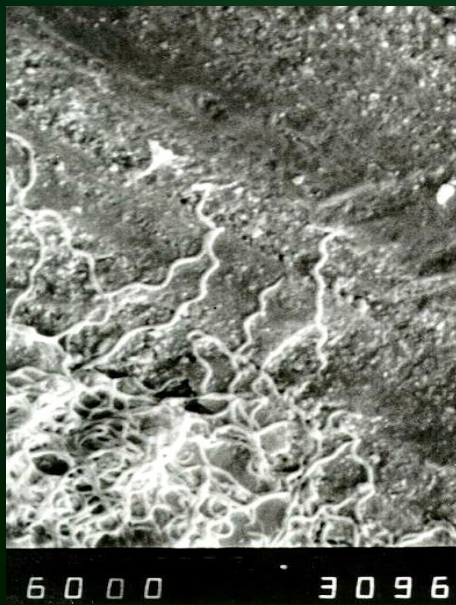
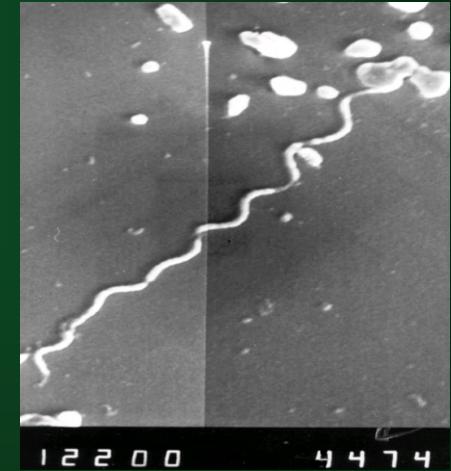
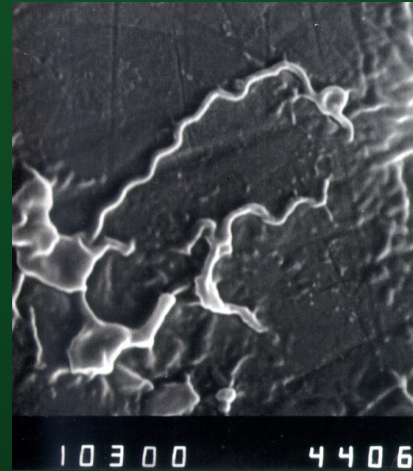
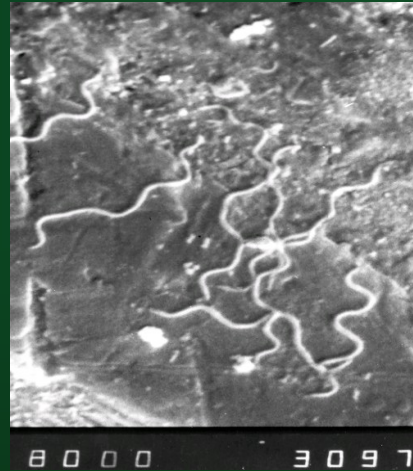
Lymeská borrelióza

- Vyvolává poruchy řady orgánů
- Výskyt v 50 státech celého světa
- V USA se uvádí 180.000 případů každým rokem
- V Evropě každoročně 50.000 případů
- V ČR každoročně kolem 3500 případů
- Podle WHO 2017 rozšiřující se epidemie globálních následků
- V USA každoročně 380.000 případů (6x více než HIV/AIDS)
- V ČR průměrně 4000



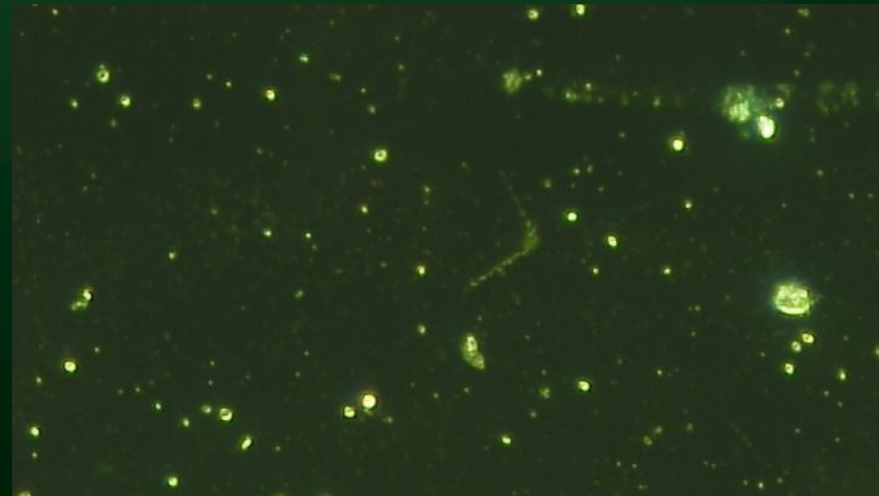
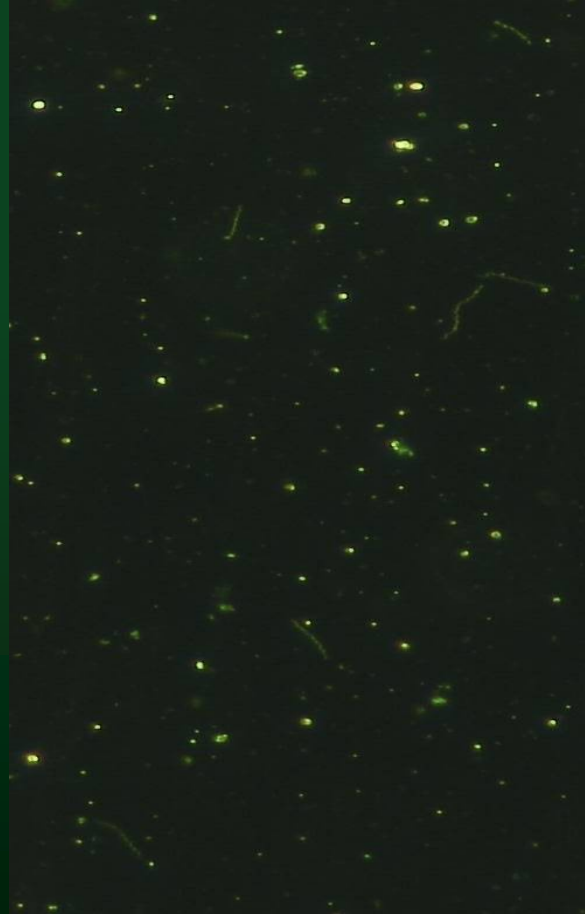
Fotky našich izolátů *B. afzelii*

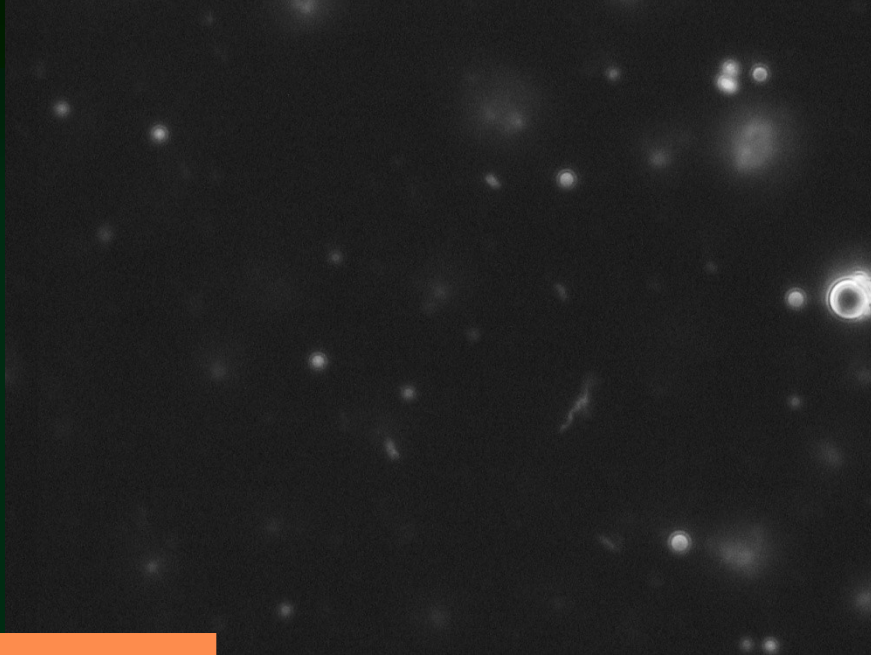
Ústav histologie a embryologie, LF, Brno, rastrovací el. mikroskop



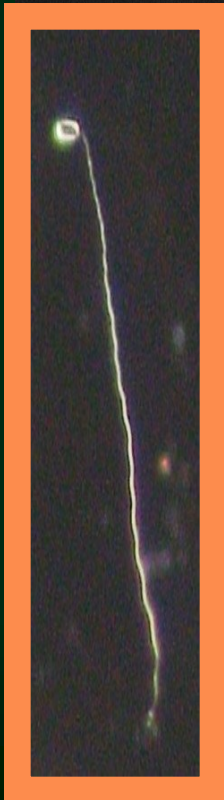
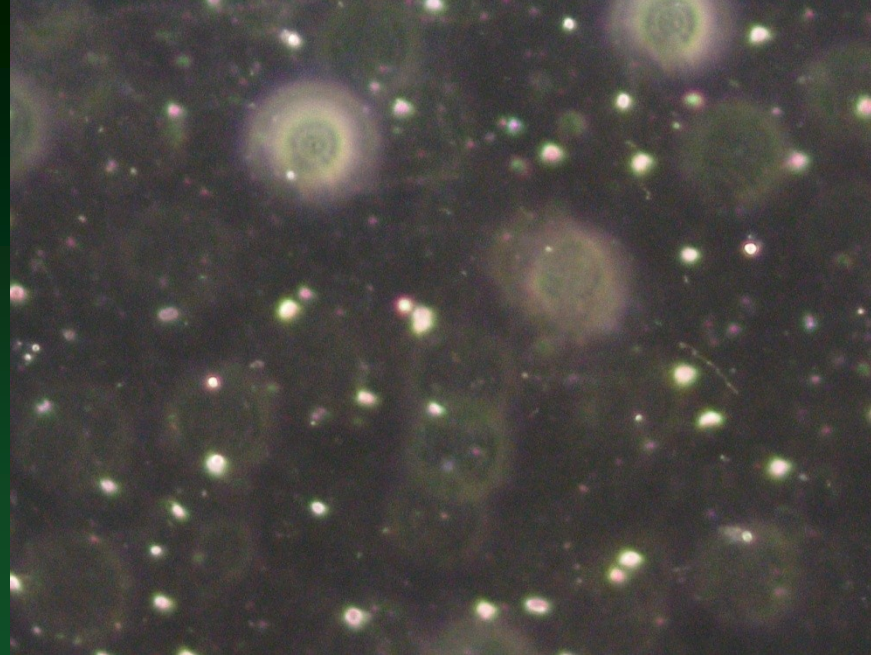
Zástinová mikroskopie spirochety

- DFM

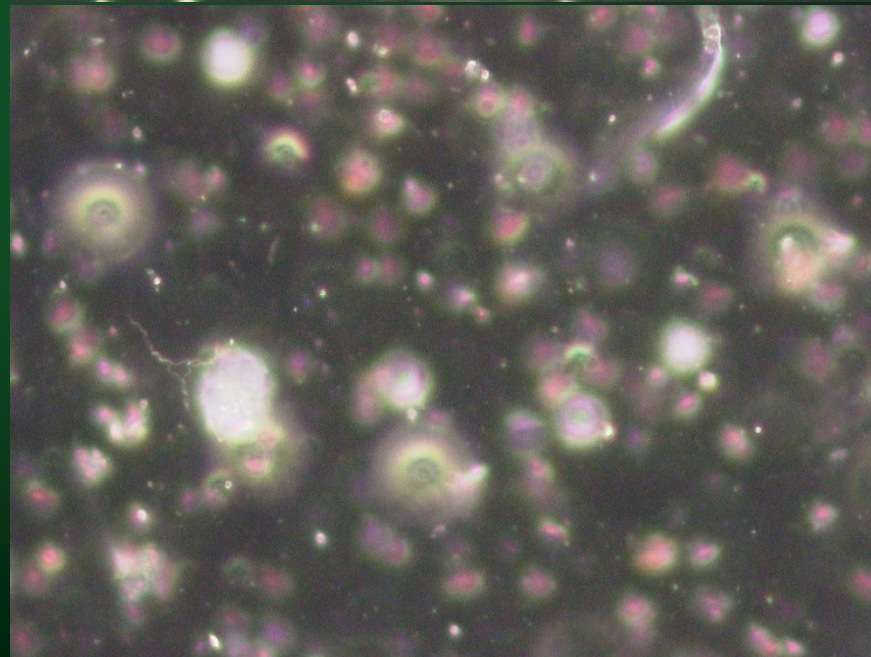




Z ovčí

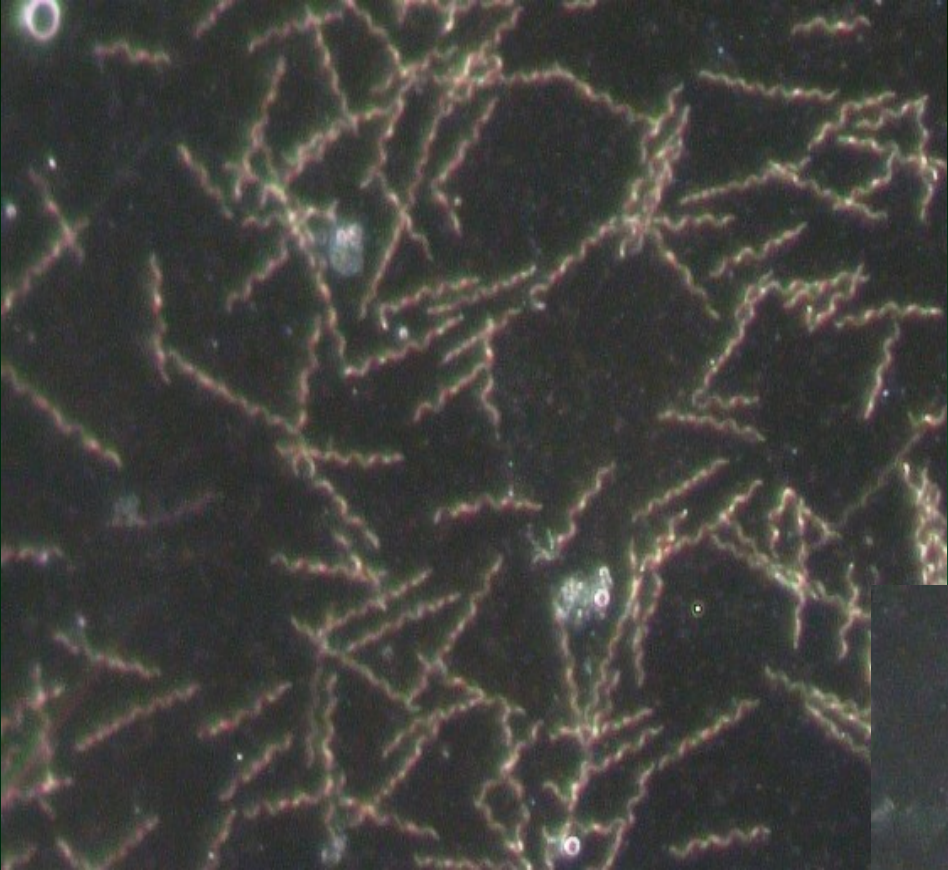


Z roztoče

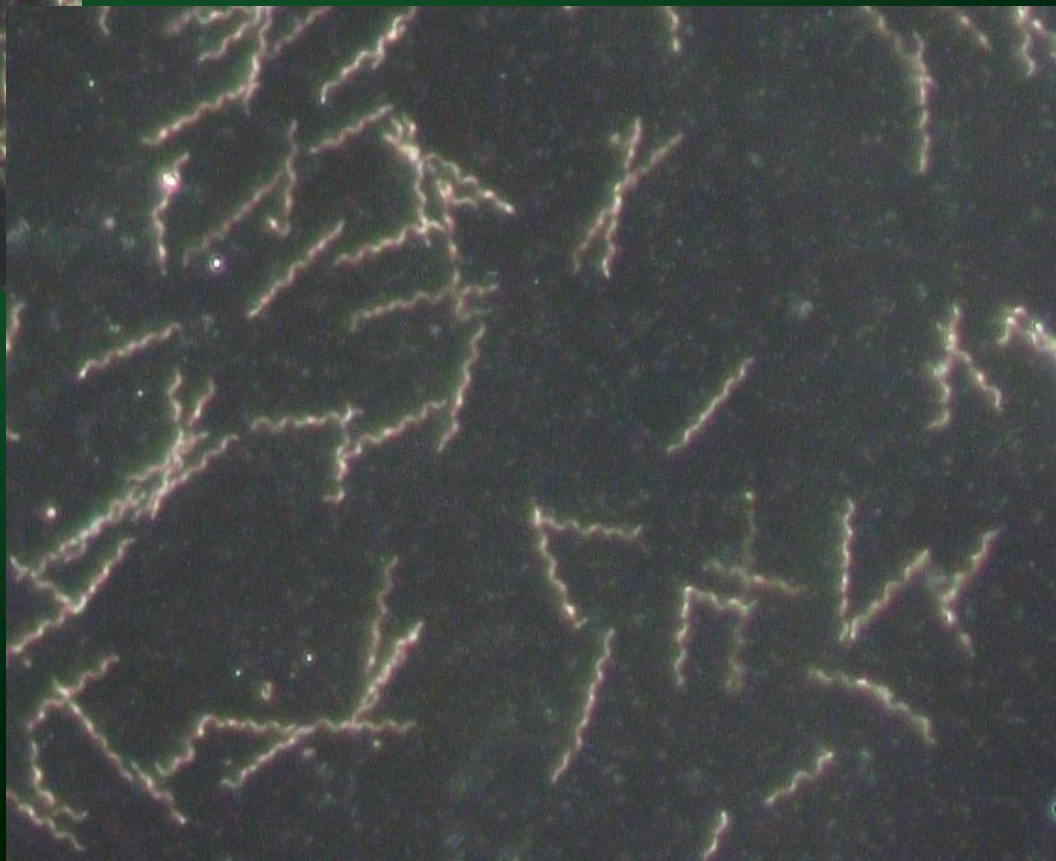


Z klíštěte





Z larev komárů



Borrelia burgdorferi sensu lato

21 definovaných příbuzných poddruhů „genomické skupiny“

u 13 genospecies

vztah k LB

(6) V USA: *B.*

burgdorferi sensu
stricto, vzácněji *B.*

americana, *B.*

andesonii, *B. mayonii*,

B. kurtebachii a *B.*

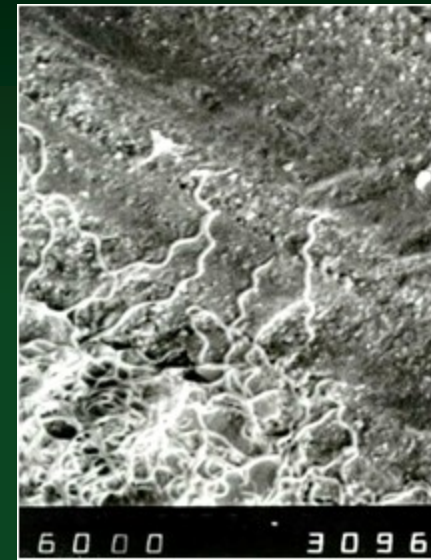
bissettii.

(4) V Asii a evropské
části Ruské federace

B. burgdorferi sensu
stricto, *B. garinii*, *B.*

afzelii a *B.*

bavariensis



Archiv AŽ

(9) V Evropě: *B. afzelii* + *B. garinii*

+ *B. b.* sensu stricto, *B.*

bavariensis, méně časté *B.*

valaisiana, *B. lusitaniae*, *B. bissettii*

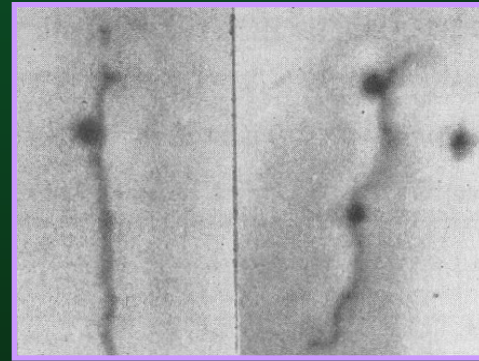
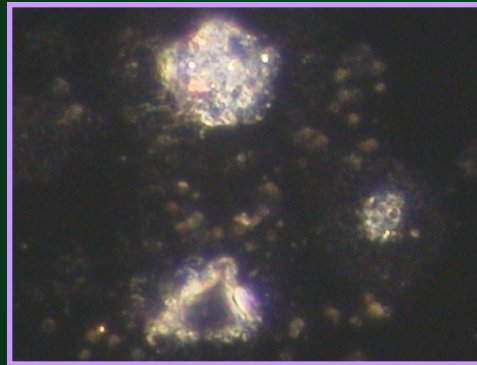
a *B. mayonii*, *B. spielmanii*



Charakterizace

- **Přežití v nepříznivých podmínkách**

Cysty, Blebs, Gemmae, L-formy



- schopnost přeměnit se v pohyblivou formu
- nachází se v nich geny z plasmidů
- diskoidní tvar všechna DNA

Obr. 18

Únik při léčbě

Cystické formy
Změny antigenních vlastností
Výměna plasmidů
Rezistence k antibiotikům
Tropismus ke tkáním
Tvorba biofilmu



Použité metody

- Vyšetření bakterií na přítomnost spirochet, pozorováním obsahu trávicího traktu v zástinovém mikroskopu (DFM)
- Vyšetření na přítomnost DNA *B.b.s.l.* PCR, One tube nested PCR
- PCR-RFLP SDS-gradient PAGE
- Western blot
- ELISA



Výsledky ELISA



Cíl práce

Studium některých aspektů onemocnění LB

Se zaměřením na ekologii patogenních borrelií, prevalenci Bbsl u vektorů i hostitelů:

- zjišťování positivity klíšťat, komárů a parazitických roztočů, na přítomnost spirochet, *Bbsl* (DFM), PCR
- vymezení hostitelů LB v ČR, sledování prevalence výskytu protilátek
- získání a identifikace izolátů spirochet, *Bbsl*
- studium Ag vlastností



Výzkumný materiál

Přítomnost patogenů



Komáři Culex (C.) pipiens s.l.

http://www.faunistik.net/DETINVERT/MORPHOLOGY/ANTENNEN/antennen_diptera02.html

Přítomnost patogenů



Klíšťata Larva *I. ricinus*

Přítomnost patogenů
(hantaviry) atd
protilátek



malí savci

<http://ddd.cirbus.com/apodemus.htm>

Přítomnost patogenů



Další roztoči *Laelaps agilis*

Katedra srovnávací fyziologie živočichů a obecné zoologie



Použité metody

- Vyšetření bakterií na přítomnost spirochet, pozorováním obsahu trávicího traktu v zástinovém mikroskopu (DFM)
- Vyšetření bakterií na přítomnost patogenů (např. *B.b.s.1.*) PCR, One tube nested PCR
- PCR, PCR-RFLP
- SDS-gradient PAGE
- Western blot
- ELISA



Výsledky ELISA



Přítomnost spirochet v larvách komárů



Culex (C.) pipiens molestus – larvy

<http://www.ento.okstate.edu/mosquito/biology.html>

DFM a PCR pozitivita larev komárů

Rok sběru	Lokalita	Počet DFM pozitivních/ Počet vyšetřených larev	Počet PCR pozitivních (% z celk. počtu larev)
1999 – 2001	Brno - Obřany	13/498 (2,6%)	8(1,6%)
2001	Brno - Žebětín	13/950 (1,4%)	1(0,1%)
2001	Vys. Mýto	1/350 (0,3%)	1(0,3%)
Celkem		27/1798 (1,5%)	10(0,6%)

pozitivita na *B.b. s.l* u rodů komárů: *Culex*



Vyšetření jiných parazitických roztočů

Použité metodiky: DFM, PCR, PCR-RFLP, PAGE

species	DFM	PCR
<i>Acarida</i> sp.	spirochety	<i>B. b. s. l.</i>
<i>I. ricinus</i> larva	spirochety	<i>B. b. s. l.</i>
<i>Eugamasus</i> sp.	spirochety	<i>B. b. s. l.</i>
<i>Eugamasus</i> sp.	spirochety	<i>B. b. s. l.</i>
<i>Haemogamasus nidi</i>	spirochety	<i>B. b. s. l.</i>
<i>Haemogamasus</i> sp.	spirochety	<i>B. afzelii</i>



Katedra srovnávací fyziologie
živočichů *Haemogamasus nidi*

- Celkem vyšetřeno asi 200 ektoparazitů řádu *Acarina* (roztoči),
- pozitivní ektoparaziti určeni jako: **2x *Eugamasus* sp.** patřící do čeledi *Parasitidae*, ***Haemogamasus* sp.**, ***Haemogamasus nidi*** patřící do čeledi *Haemogamasidae*, podřád *Gamasida* (čmelíkovci)



Přínos výzkumu

Provádíme základní výzkum v oblasti epidemiologie s výstupy, které se dají aplikovat na praktické cíle.

- Na orgány hygienické služby
- Na instituce humánní a veterinární medicíny (MVDr. Schánilec, doc. MVDr. E. Bártová VF Brno)
- Každý rok přednášky na čs. lékařských konferencích o nových výsledcích
- Informace jsou použity do sdělovacích prostředků (deníky, rozhlas, televize)



Literatura

- **Doby, J. M., Anderson, J. F., Couatarmanach, A., Marginelli, L. A., Martin, A. 1986.** Lyme borreliosis in Canada with possible transmission by an insect. Zbl. Bak. A: 488-490.
- **Doby J.M., Bigaignon G., Launay H., Costil C. and Lorvellec O., 1990, 1991.** In: Halouzka J., Postic D. and Hubálek Z. 1998. Isolation of the spirochaete *Borrelia afzelii* from the mosquito *Aedes vexans* in the Czech Republic. Med. Vet. Entomol. 12, 103–105.
- **Halouzka J., Postic D. and Hubálek Z., 1998.** Isolation of the spirochete *Borrelia afzelii* from the mosquito *Aedes vexans* in the Czech Republic. Med. Vet. Entomol. 12,103-105.
- **Halouzka, J., Wilske, B., Stünzner, D., Sanogo, Y.O., Hubálek, Z., 1999:** Isolation of *Borrelia afzelii* from Overwintering *Culex pipiens* Biotype *molestus* Mosquitos. Infection 27, 275-277
- **Hanson, M. S., Cassatt D. R., Guo, P. B., Patel N. K., McCarthy M. P., Dorward D. W., Hóók M. 1998.** Active and Passive Immunity against *Borrelia burgdorferi* Decorating Binding Protein (DbpA) Protects against Infection. Infect. Immun. 66: 2143-2153
- **Kosik – Bogacka D., Bukowska K., Kuzna-grygiel W., 2002:** Detection of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in mosquitoes (Culicidae) in recreational areas of the city of Szczecin. Ann Agric Environ Med 9 (1): 55 – 7.
- **Luger, W. S., Davis, M. D. 1990.** Lyme borreliosis transmitted by a biting fly. Engl. J. Med. 322: 1752.
- **Magnarelli, L. A., Anderson, J. F., Barbour, A.G., 1986:** The Etiologic Agent of Lyme Disease in Deer Flies, Horse Flies, and Mosquitoes. The Journal of Infection Disease Vol. 154, 2, 355–358
- **Sanogo, Y.O., Halouzka,**
- **Stanczak J., Kubica-biernat B., Racewicz M., Kruminis-Lozowska W.:** Occurrence of *Borrelia* spirochetes in haematophagous insects (Diptera, Siphonaptera, Anoplura). IX SOVE European meeting, 4 - 7 Sept. 1995, Prague, Czech Republic, Programme and Abstract, 49.
- **Van Hoecke Ch. & Lobet Y. , 2001.** Development of e European vaccine against Lyme disease. In: International conference on Lyme disease, Brussels, Belgium
- **Aberer, E., Duray, PH., 1991.** Morphology of *Borrelia burgdorferi*: Structural Patterns of Cultured *Borreliae* in Relation to Staining Methods. Journal of Clinical Microbiology, vol. 29, no. 4, p. 764-772.
- **Baranton, G., Old, IG., 1995.** The Spirochaetes: a different way of life. Bulletin de l'Institut Pasteur, vol. 93, no. 2, p. 63-95.
- **Brorson, Ø., Brorson, SH., 1997.** Transformation of Cystic Forms of *Borrelia burgdorferi* to Normal Mobile Spirochetes. Infection, vol. 25, no. 4, p. 240-246.
- **Hulínská, D., Dřevová, H., Godová, T., 2000.** Kultivace a identifikace *Borrelia burgdorferi* sensu lato z klinického materiálu. Zprávy CEM (SZÚ Praha), vol. 9, no. 12, p. 491-495.
- **Sapi, E., Bastian, SL., Mpoy, CM., Scott, S., Rattelle, A., Pabbati, N., Poruri, A., Burugu, D., Theophilus, PAS., Pham, VT., Datar., A., Dhaliwall, NK., MacDonald, A., Rossi, MJ., Sinha, SK., Luecke, DF., 2012.** Characterization of Biofilm Formation by *Borrelia burgdorferi* In Vitro. PLoS ONE, vol. 7, no. 10, p. e48277.
- **Nekolová, M., 2013.** Kultivace kmenů *Borrelia burgdorferi* sensu lato a detekce těchto mikroorganismů u odchytených hlodavců. Diplomová práce, Brno. Masarykova Univerzita, Přírodovědecká fakulta, p. 122.



Děkuji za pozornost

