

Beata Fiecek, Tomasz Chmielewski, Stanisława Tylewska-Wierzbanowska

***BORRELIA MIYAMOTOI* – NEW ETIOLOGIC AGENT OF NEUROBORRELIOSIS?**

***BORRELIA MIYAMOTOI* – NOWY CZYNNIK ETIOLOGICZNY NEUROBORELIOZY?**

National Institute of Public Health -
National Institute of Hygiene, Warsaw
Laboratory of Rickettsiae, Chlamydiae and Spirochetes

Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego – Państwowy Zakład Higieny
Samodzielna Pracownia Riketsji, Chlamydii i Krętków Odzwierzęcych

ABSTRACT

Borrelia miyamotoi spirochetes discovered in *Ixodes persulcatus* ticks in Japan, in 1994 and documented in ticks and rodents in moderate climate zone of northern hemisphere. They belong to tick-borne relapsing fever group spirochetes.

Borrelia miyamotoi is an etiologic agent of B.miyamotoi disease with acute febrile illness, including fever, headache, dizziness, fatigue, chills, and muscle and joint pain. Recurrence of fever has been observed in more than 10% patients. In some patients meningoencephalitis, encephalitis and cranial neuritis were observed.

Laboratory recognition is based mainly upon PCR testing. Serological testing is limited due to inaccessibility of tests.

Key words: *Borrelia miyamotoi*, *Miyamotoi borreliosis*, *central nervous system infection*

STRESZCZENIE

Krętki *Borrelia miyamotoi* wyizolowane z kleszczy *Ixodes persulcatus* w Japonii w 1994 roku, występują w kleszczach i w gryzoniach w strefie umiarkowanej półkuli północnej. Zaliczane są do krętków grupy gorączek powrotnych przenoszonych przez kleszcze.

Wywołują u ludzi boreliozę Miyamotoi objawiającą się gorączką sięgającą 40°C, bólami i zawrotami głowy, dreszczami oraz bólami mięśni i stawów. U ponad 10% badanych występuje od dwóch do trzech epizodów gorączki. U niektórych chorych stwierdza się zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych i mózgu oraz nerwów czaszkowych. Podstawą rozpoznania są badania molekularne, tj. różne rodzaje PCR. Badania serologiczne są ograniczone ze względu na brak testów komercyjnych.

Słowa kluczowe: *Borrelia miyamotoi*, *Borelioza Miyamotoi*, *zakażenia Ośrodkowego Układu Nerwowego (OUN)*

INTRODUCTION

Borrelia miyamotoi sensu lato spirochetes belong to group of bacteria that cause recurrent fever. They had been isolated from the *Ixodes persulcatus* ticks in Japan from 1990 to 1992, on the island of Hokkaido by the Japanese entomologist Kenji Miyamoto. In 1995, the genome of spirochetes isolated on Hokkaido was examined by M. Fukunaga et al., who found that it was a new species of spirochete, which was named *Borrelia miyamotoi* (4, 7).

WSTĘP

Krętki *Borrelia miyamotoi* sensu lato należą do grupy bakterii wywołujących gorączki powrotne. Krętki te były izolowane z kleszczy *Ixodes persulcatus* w Japonii w latach 1990–1992, na wyspie Hokkaido przez japońskiego entomologa Kenji Miyamoto. W 1995 roku, genom krętków izolowanych na Hokkaido został zbadany przez M. Fukunaga i współ., którzy stwierdzili, że jest to nowy gatunek krętków, który został nazwany *Borrelia miyamotoi* (4, 7).

The morphology and conditions in which these spirochetes can multiply are the same as those described for *B. burgdorferi* sensu lato (14). When comparing however, the DNA of these two species, the similarity between them is small, because it is 13% to *B. burgdorferi* sensu stricto and *B. garinii* and 8% to *B. afzelii*. *Borrelia miyamotoi* spirochetes resemble the group of tick-borne fever such as *Borrelia hermsii* (44%), *B. turicatae* (41%), *B. parkeri* (51%) (2, 30, 31). Molecular studies indicate that there is a distinct tick-borne relapsing fever group, which differs in certain characteristics from the group transmitted by Argasida ticks (soft ticks). Therefore, it was proposed to form a third group of relapsing fever spirochetes transmitted by *Ixodida* ticks (Tab. I, Fig. 1).

Morfologia, oraz warunki w których te krętki można rozmnażać są takie same jak opisane dla *B. burgdorferi* s.l. (14). Jednak porównując DNA tych dwóch gatunków okazało się, że podobieństwo pomiędzy nimi jest niewielkie, bo wynosi 13% z *B. burgdorferi* s.s. i *B. garinii* oraz 8% z *B. afzelii*. Umiarkowane podobieństwo DNA *Borrelia miyamotoi* wykazuje do przedstawicieli grupy gorączek powrotnych przenoszonych przez kleszcze, takich jak np.: *Borrelia hermsii* (44%), *B. turicatae* (41%), *B. parkeri* (51%) (2, 30, 31). Badania molekularne wskazują na istnienie odrębnej grupy gorączek powrotnych przenoszonych przez kleszcze, różniące się pewnymi cechami od grupy gorączek powrotnych przenoszonych przez kleszcze *Argasida* (soft ticks). W związku z tym zaproponowano utworzenie trzeciej grupy gorączek powrotnych przenoszonych przez kleszcze *Ixodida* (kleszcze właściwe) (Tab. I, Ryc. 1).

Table I. Diseases cause by *Borrelia* spp. Spirochetes
Tabela I. Choroby wywoływane przez krętki rodzaju *Borrelia*

Disease	Etiologic agent			Vector
	Group	Species	Genospecies / genotype	
Lyme borreliosis		<i>Borrelia burgdorferi</i> sensu lato	<i>Borrelia burgdorferi</i> sensu stricto <i>B. garinii</i> <i>B. afzelii</i>	<i>Ixodes</i> spp.
<i>B. miyamotoi</i> disease		<i>B. miyamotoi</i> sensu lato	European Asiatic American	<i>Ixodes</i> spp.
Recurrentis fever transmitted with tick	group <i>hermsii</i>	<i>B. hermsii</i> , <i>B. parkeri</i> <i>B. duttonii</i> , <i>B. crocidurae</i>		<i>Ornithodoros</i> spp.
Recurrentis fever transmitted with lice	group <i>recurrentis</i>	<i>B. recurrentis</i>		<i>Pediculus corporis</i> body louse

This group includes *B. miyamotoi* sensu lato, which is transmitted by *Ixodes* spp. ticks only. Also, *B. theileri* and *B. lonestari* spirochetes, which cause infections in animals, have been included in this group (27).

Until 2016, *B. miyamotoi* spirochetes were isolated from various tick species of the genus *Ixodes* in Asia (Japan and Russia), North America (in the United States and Canada) and in Europe (France, Czech Republic, Norway, Poland, Belgium, Great Britain, Denmark, Estonia, Sweden, Switzerland, Germany and Hungary) (3, 12, 14, 27, 28). In Europe, *Ixodes ricinus* ticks infected with these spirochetes were first detected in Sweden and Germany. In Poland, among 599 ticks examined in Lower Silesia, 12 (2%) were infected with *B. miyamotoi* spirochetes. Among the 12 infected ticks, three had mixed infections with *B. afzelii*, *B. burgdorferi* s. stricto and *B. garinii* (12).

Do tej grupy zalicza się *B. miyamotoi* sensu lato, która przenoszona jest wyłącznie przez kleszcze *Ixodes* spp. Również krętki *B. theileri* i *B. lonestari*, wywołujące zakażenia u zwierząt, włączono do tej grupy (27).

Do 2016 roku krętki *B. miyamotoi* wyizolowano z różnych gatunków kleszczy rodzaju *Ixodes* w Azji (w Japonii i Rosji), w Ameryce Północnej (w Stanach Zjednoczonych i Kanadzie) oraz w Europie (we Francji, Czechach, Norwegii, Polsce, Belgii, Wielkiej Brytanii, Danii, Estonii, Szwecji, Szwajcarii, Niemczech i na Węgrzech) (3, 12, 14, 27, 28). W Europie, kleszcze *Ixodes ricinus* zakażone tymi krętkami, po raz pierwszy wykryto w Szwecji i Niemczech. W Polsce, wśród 599 kleszczy zbadanych na Dolnym Śląsku, 12 (2%) było zakażonych krętkami *B. miyamotoi*. Wśród 12 zakażonych kleszczy, w trzech występowały zakażenia mieszane z: *B. afzelii*, *B. burgdorferi* s. s. i *B. garinii* (12).

- Order (Rząd): Spirochetales**
Family (Rodzina): Spirochetacea
- Genus (Rodzaj): Borrelia**
- **B. burgdorferi sensu lato**
Genospecies (Genogatunki): B. burgdorferi sensu stricto
B. garini
B. afzeli
 - **Group of recurrentis fever (Grupa gorączek powrotnych)**
B. miyamotoi sensu lato:
Genotypes (Genotypy) B. miyamotoi:
 American (amerykański)
 Asian (azjatycki)
 European (europejski)
 - **Group (Grupa) recurrentis:**
Species (gatunki): B. recurrentis, B. duttonii, B. crocidurae
 - **Group (Grupa) hermsii:**
Species (gatunki): B. hermsii, B. parkeri,

Fig. 1. Genus *Borrelia* spirochetes systematics
 Ryc. 1. Systematyka krętków rodzaju *Borrelia*

Recently, three genotypes of *B. miyamotoi* are known. They have been identified in North America, Europe and Asia (Fig. 1) (14). All are pathogenic to humans. In Europe, *Ixodes ricinus* ticks infected with these spirochetes were first detected in Sweden and Germany. They were present in all stages of development (larvae, nymphs, imago) of these ticks.

Obecnie znane są trzy genotypy *B. miyamotoi*, które zostały zidentyfikowane w Ameryce Północnej, Europie oraz Azji (Ryc. 1) (14). Wszystkie są chorobotwórcze dla ludzi. W Europie, kleszcze *Ixodes ricinus* zakażone tymi krętkami, po raz pierwszy wykryto w Szwecji i Niemczech. Były one obecne we wszystkich stadiach rozwojowych (larwa, nimfa, imago) tych kleszczy.

VECTOR AND MODES OF TRANSMISSION

B. miyamotoi spirochetes occur at all stages of development of *Ixodes ticks* (larvae, nymphs, imago), indicating transstadial transmission of the infection. In 2013 it was shown that *B. miyamotoi* can be also transmitted transovarially (23).

In the United States, *B. miyamotoi* spirochetes were present in the skin and blood of the mice *Peromyscus leucopus*. It is believed that it is main competent reservoir of spirochetes in the United States (11, 14). In Europe, in the Netherlands, the reservoir of *B. miyamotoi* spirochetes transmitted by *Ixodes* spp. are various species of wild-type rodents, deer, and also birds (27, 28). In Poland, the presence of *B. miyamotoi* spirochetes was detected in the tissues of badgers and raccoons hunted in the West Pomerania (32). In southern Slovakia, the percentage of different species of small rodents infected with these spirochetes ranged from 0 to 7.8% (6). In southern Europe, *B. miyamotoi* spirochetes were found in 0.4% of *Apodemus flavicollis* mice and 0.8% of *Myodes glareolus*.

WEKTOR I DROGI SZERZENIA ZAKAŻENIA

Krętki *B. miyamotoi* występują we wszystkich stadiach rozwojowych kleszczy rodzaju *Ixodes* (larwa, nimfa, imago), co wskazuje na przenoszenie zakażenia transstadialnie. W 2013 roku wykazano, że *B. miyamotoi* może być przenoszona przez kleszcze także transowarialnie (23).

W Stanach Zjednoczonych, krętki *B. miyamotoi* obecne były w skórze i krwi odłowionych myszy *Peromyscus leucopus*. Uważa się, że jest to główny kompetentny rezerwuuar tych krętków na obszarze Stanów Zjednoczonych (11, 14) W Europie, na terenie Holandii, rezerwuarem krętków *B. miyamotoi*, przenoszonych przez kleszcze *Ixodes* spp., są różne gatunki dziko żyjących gryzoni, sarny, a także ptaki (27, 28). W Polsce, obecność krętków *B. miyamotoi* wykryto w tkankach borsuków i jenotów upolowanych na terenach województwa zachodniopomorskiego (32). Na terenie południowej Słowacji odsetek różnych gatunków małych gryzoni zakażonych tymi krętkami wahał się od 0 do 7,8% (6). W południowej Europie, w Słowenii krętki *B. miyamotoi* występowały u 0,4 % badanych myszy *Apodemus flavicollis* i u 0,8% *Myodes glareolus*.

B. miyamotoi spirochetes occur frequently in mixed infections (6, 18, 26). Both in the tick (vector) and in the different vertebrate groups (reservoir), several species of pathogenic microorganisms were identified. *B. miyamotoi* spirochetes were most often associated with *B. burgdorferi* sensu lato, as well as *Anaplasma phagocytophilum*, *Rickettsia helvetica*, *R. raoultii* and *Babesia microti*. This indicates the risk of infection with *B. miyamotoi* spirochetes, also as mixed infections. If there are mixed infections with *B. burgdorferi*, erythema migrans appears usually, which is not present in the case of *B. miyamotoi* (18, 22, 25). In the year 2013 it was shown that *B. miyamotoi* can be transmitted by ticks transversally and transstadially (24). In contrast, *B. burgdorferi* spirochetes persist in only one tick stage. *Ixodes* ticks belong to the three-host ticks, which means that in their life cycle, before each transformation, they feed on another host (27). The source of contamination of subsequent stages of development of this arachnid is its host feeding the spirochetes.

SYMPTOMS OF *B. MIYAMOTOI* DISEASE

Until 2011 when the first case of human infection was recognized in Russia, *B. miyamotoi* spirochetes were considered to be saprophytic bacteria. There are currently three genotypes of *B. miyamotoi* present in North America, Europe and Asia. All are pathogenic to humans. Because of the occurrence of infections in the northern hemisphere, the disease caused by *B. miyamotoi* has been identified as an emerging disease (13, 14).

A serological screening was conducted in the USA and 584 sera from healthy residents were collected from 1990 to 2010. In 1% of the subjects, the presence of antibodies to *B. miyamotoi* was observed. Also examined were 277 individuals suspected of Lyme borreliosis. In 3% of patients there were antibodies to *B. miyamotoi* (15,16) In the Netherlands, antibodies to *B. miyamotoi* were detected in 2% of blood donors, 10% of foresters, 14.6% of patients diagnosed with HGA, and 7.4% of Lyme borreliosis patients (9, 27)

Zwraca uwagę bardzo częste występowanie *B. miyamotoi* w zakażeniach mieszanych (6, 18, 26). Zarówno w kleszczach (wektor) jak i u różnych grup kręgowców (rezerwuuar) stwierdzano obecność kilku gatunków drobnoustrojów chorobotwórczych dla człowieka. Krętki *B. miyamotoi* najczęściej towarzyszyły krętkom *B. burgdorferi* sensu lato, a także *Anaplasma phagocytophilum*, *Rickettsia helvetica*, *R. raoultii* oraz *Babesia microti*. Wskazuje to na istnienie ryzyka zakażenia krętkami *B. miyamotoi* występującymi w kleszczach, także jako zakażenia mieszane. Jeżeli występują w zakażeniach mieszanych z *B. burgdorferi*, to pojawia się zwykle rumień wędrujący, który nie występuje przy zakażeniu tylko krętkami *B. miyamotoi* (18, 22, 25). W 2013 roku wykazano, że *B. miyamotoi* mogą być przenoszone przez kleszcze transowarialnie i transstadialnie. Natomiast krętki *B. burgdorferi* utrzymują się tylko w jednym stadium kleszcza (24). Kleszcze rodzaju *Ixodes* należą do kleszczy trzy-żywieliowych, co oznacza, że w swoim cyklu życiowym, przed każdym przeobrażeniem żerują na innym żywicielu (27). Źródłem zakażenia kolejnych stadiów rozwojowych tego pajęczaka jest jego żywiciel – rezerwuuar krętków.

OBJAWY BORELIOZY MIYAMOTOI (*B. MIYAMOTOI* DISEASE)

Do czasu rozpoznania w 2011 roku, w Rosji pierwszego przypadku zachorowania człowieka, krętki *B. miyamotoi* były uważane za saprofityczne bakterie. Obecnie znane są trzy genotypy *B. miyamotoi*, występujące w Ameryce Północnej, Europie oraz Azji. Wszystkie są chorobotwórcze dla ludzi. Ze względu na występowanie zakażeń w całej strefie umiarkowanej półkuli północnej, wywoływana przez nie borelioza Miyamotoi (*B. miyamotoi* disease) została uznana za nowo pojawiające się zagrożenie (*emerging disease*) (13, 14).

W USA przeprowadzono przegląd serologiczny i zbadano 584 surowice zgromadzone w latach 1990-2010, pochodzące od zdrowych mieszkańców. U 1% badanych stwierdzono obecność przeciwciał dla *B. miyamotoi*. Zbadano także 277 osób z podejrzeniem boreliozy z Lyme.

Table II. Number and symptoms described cases of *Borrelia miyamotoi* disease until now
Tabela II. Liczba i objawy opisanych dotychczas przypadków boreliozy *miyamotoi*

Disease	Symptoms	No. of cases	Author /date	Country
meningoencephalitis	mental deterioration: increasing confusion, wobbling gait	1	Gulietta J.L. et al 2013	USA, New Jersey
neuroborreliosis	dizziness, headache, fever 5 days duration	1	Boden K. et al. 2016	Germany
	fever, fatigue, headache, neck stiffness, chills, myalgia, relapse fever	46	Platonov A.E. 2011	Russia, Yekaterinburg
	tick bite, headache, chills, fatigue	18	Jahfari S. et al. 2017	Russia, Izhevsk City,
Morgellons disease	dermopathy: multicolored filaments, embedded in skin, psychiatric disorders	1	Middelveen M.J.	USA

Only a few dozen documented cases of human disease have been reported (Tab. II) (1, 5, 8, 17, 20). Both in the USA and in Europe it has been reported that *Borrelia miyamotoi* disease in people causes fever up to 40°C (more than 10% of patients have two to three episodes of fever), pain and dizziness, chills, sweating, increased thirst and muscle and joints pains. Some cases of meningitis, cerebrovascular and cranial nerves (14, 22, 24, 28, 32) are reported. Nausea, vomiting and impaired renal function (oliguria, leukocytes, erythrocytes, urinary epithelial cells) may also occur (24). Leucopenia may be transient and thrombocytopenia and increase in AST/ALT enzymes.

In addition to the most common symptoms, mentioned above, in the Netherlands, in a 70-year-old patient sudden cognitive decline, memory loss, and gait disturbances worsened in the following weeks were observed. In this case there was no fever, the patient had not left the country for several years, but in the his records a tick bite was recorded. The patient was treated for lymphoma (8). Low levels of *B. burgdorferi* serum antibodies were detected by immunofluorescence, whereas neither *B. burgdorferi* antibodies nor *B. burgdorferi* DNA was detected in the cerebrospinal fluid by PCR. In dark field microscope, the motile spirochetes were found in PMR before antibiotic treatment. PCR with primers complementary to the 16S rDNA sequence and the glpQ and p66 gene sequences specific for relapsing fever group of the *Borrelia* genus enabled detection of *B. miyamotoi* DNA in both serum as well as in PMR (8)

In Germany, a 74-year-old woman with lymphoma was also hospitalized with dizziness and headaches, vomiting and a 5-day diarrhea and slowed cognitive processes, memory lapses and gait disturbances. She was bitten by a tick. No specific antibodies for *B. burgdorferi* in serum and PMR were found. *B. burgdorferi* DNA was not tested. Studies on *B. miyamotoi* infection were performed and the presence of DNA of these spirochetes was found in PMR (1).

If mixed with *B. burgdorferi* infections occur, there may be *erythema migrans*, which is not present in *B. miyamotoi* spirochetes infection alone (22). In Poland, the first case was diagnosed at the end of 2016, in a patient hospitalized due to visual impairment, diagnosed with peritonitis and demyelinating lesions in the brain (*T. Chmielewski et al.*, prepared for publication).

Treatment of *Borrelia miyamotoi* disease is based on the empirical use of antibiotics as in the case of Lyme borreliosis. The most effective treatment was doxycycline in mild uncomplicated cases in adults and ceftriaxone and penicillin G in meningitis (14). In vitro susceptibility to two antibiotic strains of *B. miyamotoi* isolated on two different continents (North America

U 3% pacjentów występowały przeciwciała dla *B. miyamotoi* (15,16) W Holandii, u 2% dawców krwi, 10% leśników, 14,6% pacjentów z rozpoznaniem HGA i 7,4% z rozpoznaniem boreliozy z Lyme wykryto przeciwciała dla *B. miyamotoi* (9, 27)

Dotychczas opisano zaledwie kilkadziesiąt udokumentowanych przypadków zachorowań u ludzi (Tab. II) (1, 5, 8, 17, 20). Zarówno w USA jak i w Europie stwierdzono, że wywołują u ludzi boreliozę Miyamotoi objawiającą się gorączką sięgającą 40°C (u ponad 10% badanych występuje od dwóch do trzech epizodów gorączki), bólami i zawrotami głowy, dreszczami, poceniem się, wzmożonym pragnieniem oraz bólami mięśni i stawów. U niektórych chorych stwierdza się zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych i mózgu oraz nerwów czaszkowych (14, 22, 24, 28, 32). Mogą występować także mdłości, wymioty oraz zaburzenia funkcji nerek (skąpomocz, leukocyty, erytrocyty, komórki nabłonka w moczu) (24). Przejściowo może wystąpić leukopenia i trombocytopenia oraz wzrost enzymów AST/ALT.

Poza powyżej wymienionymi, najczęstszymi objawami, w 2012 roku, w Holandii zaobserwowano u 70-letniego pacjenta spowolnione procesy poznawcze, luki w pamięci oraz zaburzenia chodu, które nasilały się w kolejnych tygodniach. W tym przypadku nie występowała gorączka, pacjent od kilku lat nie opuszczał kraju, natomiast w wywiadzie odnotowano ukłucie przez kleszcza. Chory leczony był z powodu chłoniaka (8). Metodą immunofluorescencji wykryto w surowicy krwi niski poziom przeciwciał dla *B. burgdorferi*, natomiast w płynie mózgowo-rdzeniowym (PMR) nie wykryto ani przeciwciał, ani obecności DNA *B. burgdorferi* metodą PCR. Ponieważ w badaniu mikroskopowym w ciemnym polu widzenia, w PMR znaleziono ruchliwe krętki przed zastosowaniem leczenia, ponownie wykonano PCR, w którym zastosowano startery komplementarne do: sekwencji 16S rDNA oraz sekwencji genów glpQ i p66, charakterystycznych dla rodzaju *Borrelia* z grupy gorączek powrotnych. Umożliwiło to wykrycie DNA *B. miyamotoi* w surowicy i PMR (8).

W 2015 roku, w Niemczech, 74-letnia kobieta, również mająca chłoniaka, trafiła do szpitala z zawrotami i bólami głowy, wymiotami i trwającą 5 dni biegunką oraz spowolnionymi procesami poznawczymi, lukami w pamięci oraz zaburzeniami chodu. Była ukłuta przez kleszcza. Nie oznaczano swoistych przeciwciał dla *B. burgdorferi* w surowicy krwi i PMR. Nie poszukiwano obecności DNA *B. burgdorferi*. Przeprowadzono natomiast badania w kierunku zakażenia *B. miyamotoi* i stwierdzono obecność DNA tych krętków w PMR (1).

Podczas występowania zakażeń mieszanych z *B. burgdorferi* może pojawić się rumień wędrujący, który nie występuje przy zakażeniu tylko krętkami *B. miyamotoi* (22). W Polsce pierwszy przypadek wykryto

and Asia), two strains of *Borrelia burgdorferi* s.l. and one strain of *B. hermsii* was examined. The MIC and MBC values were determined by two methods. *B. miyamotoi* and *B. hermsii* strains are more sensitive to doxycycline and azithromycin as compared with *B. burgdorferi*, all tested strains have a similar sensitivity to ceftriaxone and all but *B. burgdorferi* have been found to be resistant to amoxicillin. MIC and MBC values for amoxicillin were 16-32 mg / L and 32-128 mg / L, respectively. Since the cited studies were conducted on a very limited number of strains, and because of the established resistance to amoxicillin, further studies with more strains are needed (13).

DIAGNOSTICS

Until now, *B. miyamotoi* infections are detected sporadically because there are no freely available diagnostic tests. It is not known what the scale of the disease is. The tests based on antibody detection for GIpQ protein present in *Borrelia miyamotoi* disease but absent in Lyme borreliosis may be useful in the diagnosis of *B. miyamotoi* infection (29). Access to them, however, is limited. The similarity of *B. miyamotoi* antigens and genospecies of *Borrelia burgdorferi* sensu lato can lead to cross-reactivity of antibodies, especially in tests with diagnostic antigens prepared from the whole bacterial cell (19). Approximately 20 percent of healthy patients with *B. miyamotoi* antibodies reacted with *B. burgdorferi* antigens in ELISA and only 10% in ELISA and Western blot. The most frequent cross-reacting proteins were FlaB (flagellin), GroEL's heat shock proteins and BmpA protein (p39). The study, however, covered only a small group of 36 people from the USA, where *B. burgdorferi* sensu stricto is present only (15).

Until now, only home-made serological tests for the detection of *B. miyamotoi* antibodies produced in one laboratory are available. They are not well standardized and controlled. The sensitivity, especially in the initial phase of infection, is low (10, 29). Currently, diagnosis of this infection consists mainly in the search for *B. miyamotoi* DNA by nested PCR or real-time PCR in whole blood, plasma, cerebrospinal fluid and tissues. It is helpful to evaluate the number of spirochetes in blood smear preparations stained with Giemsa or Wright's method but only if the spirochetes blood density is $\geq 10^4$ /ml (5, 26).

This indicates the need for further studies of patients with signs of CNS infection. A particular group are neurological patients with only *B. burgdorferi* antibodies in serum (no antibodies in PMR). They are a serious diagnostic problem, because they do not meet the criteria for neuroborreliosis.

pod koniec 2016 roku Był to pacjent hospitalizowany z powodu zaburzeń widzenia, u którego rozpoznano pozagałkowe zapalenie nerwu wzrokowego i zmiany demielinizacyjne w mózgu (T. Chmielewski i wsp. publikacja przygotowana do druku).

Leczenie boreliozy Miyamotoi opiera się na empirycznym stosowaniu antybiotyków, podobnie jak w przypadkach boreliozy z Lyme. Skuteczne w leczeniu były doksycyklina w lekkich nieskomplikowanych przypadkach u osób dorosłych oraz ceftriaxon i penicylina G w zapaleniu opon mózgowo-rdzeniowych (14). Porównano wrażliwość na antybiotyki w warunkach *in vitro* dwa szczepy krętków *B. miyamotoi* izolowane na dwóch różnych kontynentach (Ameryka Płn. i Azja), 2 szczepy *Borrelia burgdorferi* s.l. i jeden szczep *B. hermsii*. Określono dla nich wartości MIC i MBC dwiema metodami. Wykazano, że w porównaniu z *B. burgdorferi*, szczepy *B. miyamotoi* i *B. hermsii* są znacznie wrażliwsze na doksyklicynę i azytromycynę, wykazują porównywalną do *B. burgdorferi* wrażliwość na ceftriaxon, natomiast są odporne na amoksycylinę. Wartości MIC i MBC dla amoksycyliny wynosiły odpowiednio 16-32 mg/L i 32-128 mg/L. Ponieważ cytowane badania prowadzone były na bardzo ograniczonej liczbie szczepów, a także z powodu stwierdzonej oporności na amoksycylinę, konieczne są dalsze badania większej liczby szczepów (13).

DIAGNOSTYKA

Dotychczas zakażenie wykrywane jest jedynie sporadycznie, gdyż brak jest szeroko dostępnej diagnostyki w tym kierunku. Nie wiadomo, jaka jest skala zachorowań. Testy oparte na wykrywaniu przeciwciał dla białka GIpQ, obecnych w boreliozie Miyamotoi, nieobecnych natomiast w boreliozie z Lyme, mogą być użyteczne w diagnozowaniu infekcji *B. miyamotoi* (29). Dostęp do nich jednak jest ograniczony, a ponadto czułość, zwłaszcza w początkowej fazie zakażenia, niska (10, 29).

Podobieństwo antygenów *B. miyamotoi* i genogrup *Borrelia burgdorferi* sensu lato wywołujących boreliozę z Lyme może prowadzić do krzyżowych reakcji przeciwciał, zwłaszcza w diagnostyce opartej na antygenach z całej komórki bakteryjnej (19). Około 20 procent pacjentów z przeciwciałami dla *B. miyamotoi* (zdrowi) reagowało z antygenami *B. burgdorferi* w teście ELISA, a tylko 10% jednocześnie w teście ELISA i Western-blot. Najczęściej reagującymi krzyżowo białkami były FlaB (flagellina), białka szoku cieplnego GroEL i białko BmpA (p39). Badania te jednak objęły tylko małą grupę 36 osób z USA, gdzie występuje głównie genogrupa *B. burgdorferi* sensu stricto (15).

Testy stosowane do badań poziomu przeciwciał dla *B. miyamotoi* są wytwarzane w warunkach laboratoryjnych („home-made”) bezpośrednio przez osoby wykonujące badania i nie są standaryzowane, ani nie

According to the Department of Epidemiology NIZP-PZH (epidemiological reports), in 2013, there were 12,742 Lyme borreliosis cases registered, including 1267 (10%) cases with neurological symptoms. Most of them, 1092 are registered as probable cases, meeting the clinical criteria of neuroborreliosis, in which other reasons are excluded. Cases of CNS involvement meeting the clinical and laboratory criteria (detection of antibodies in PMR) were only 175 (14%) of all cases reported as neuroborreliosis.

Detecting the presence of *B. miyamotoi* spirochetes in patients with central nervous system infections will allow a better understanding of the epidemiology of infections caused by *Borrelia* bacteria. It will influence the development of knowledge on neuroborreliosis, accelerate the direct examination of individuals with severe neurological disorders for suspected spirochetes infections, and to decide on the correct treatment. These studies will answer the question whether patients who have been diagnosed with serum specific antibodies to *B. burgdorferi* (PMR - negative) can also be considered as confirmed cases of neuroborreliosis and modify the criteria of EFNS (Guidelines on the diagnosis and management of European Lyme neuroborreliosis) (21).

REFERENCES

1. Boden K, Lobenstein S, Hermann B, et al. *Borrelia miyamotoi*-associated neuroborreliosis in immunocompromised person. *Emerg Infect Dis* 2016; 22:1617-1620.
2. Fomenko NV, Borgoiakov VIu, Panov VV, et al. Genetic features of *Borrelia miyamotoi* transmitted by *Ixodes persulcatus*. *Mol Gen Mikrobiol Virusol* 2011; 2: 12-17.
3. Fomenko NV, Livanova NN, Borgoiakov VIu, et al. Detection of *Borrelia miyamotoi* in ticks *Ixodes persulcatus* from Russia. *Parazitologiya* 2010; 44: 201-211. (Russian)
4. Fukunaga M, Takahashi Y, Tsuruta Y, et al. Genetic and phylogenetic analysis of *Borrelia miyamotoi* sp. nov. isolated from the ixodid tick *Ixodes persulcatus*, the vector of Lyme disease in Japan. *Int J Syst Bacteriol* 1995; 45: 804-810.
5. Gugliotta JL, Goethert HK, Berardi VP, et al. *Meningoencephalitis* from *Borrelia miyamotoi* in an immunocompromised patient. *N Engl J Med* 2013; 368: 240-245.
6. Hamsikova Z, Coipan C, Mahrikova L, et al. *Borrelia miyamotoi* and co-infection with *Borrelia afzelii* in *Ixodes ricinus* ticks and rodents from Slovakia. *Microb Ecol* 2017; 73: 1000-1008.
7. Henry R. Etymologia *Borrelia miyamotoi*. *Emerging Infect Diseases* 2014; 20: 1390.

podlegają kontroli jakości. Diagnostyka tego zakażenia obecnie polega przede wszystkim na poszukiwaniu DNA *B. miyamotoi* metodą nested PCR lub real time PCR we krwi pełnej, osoczu, płynie mózgowo-rdzeniowym oraz tkankach. Pomocna jest ocena liczby krętków w preparacie wykonanym z rozmazu krwi i wybarwionym metodą Giemzy lub Wright'a, ale tylko, jeśli gęstość krętków we krwi jest $\geq 10^4$ /ml (5, 26).

Wskazuje to na potrzebę prowadzenia dalszych badań grup chorych z objawami zakażenia OUN. Szczególną grupą są chorzy z objawami neurologicznymi, u których wykrywane są przeciwciała dla *B. burgdorferi* tylko w surowicy krwi (brak przeciwciał w PMR). Stanowią oni poważny problem diagnostyczny, ze względu niespełnienie kryteriów neuroboreliozy.

Według danych Zakładu Epidemiologii NIZP-PZH (meldunki epidemiologiczne), w 2013 roku zarejestrowano 12 742 przypadki zachorowań na boreliozę z Lyme, w tym zakwalifikowane jako zachorowania na neuroboreliozę – 1 267 (10%) przypadków. Większość z nich, bo aż 1 092 to przypadki prawdopodobne, tzn. spełniające kryteria kliniczne neuroboreliozy, u których wykluczono inne przyczyny. Przypadków potwierdzonych z zajęciem ośrodkowego układu nerwowego, spełniających kryteria kliniczne i laboratoryjne (wykrycie przeciwciał w PMR) było tylko 175, czyli 14% wszystkich przypadków zarejestrowanych jako neuroborelioza.

Wykrywanie obecności krętków *B. miyamotoi* u pacjentów z zakażeniami ośrodkowego układu nerwowego pozwoli na lepsze poznanie epidemiologii zakażeń wywoływanych przez bakterie rodzaju *Borrelia*, wpłynie na rozwój wiedzy o neuroboreliozy, przyspieszy ukierunkowanie diagnostyki ciężkich neurologicznych przypadków u osób z podejrzeniem zakażenia wywołanego przez krętka, oraz skróci czas podjęcia decyzji o prawidłowym leczeniu. Badania te dadzą odpowiedź na pytanie, czy chorych, u których wykryto swoiste przeciwciała dla *B. burgdorferi* tylko w surowicy krwi (PMR – ujemny), można uznać także za potwierdzone przypadki neuroboreliozy i zmodyfikować kryteria EFNS (*Guidelines on the diagnosis and management of European Lyme neuroborreliosis*) (21).

Received: 8.08.2017 r.

Accepted for publication: 9.10.2017

Otrzymano: 8.08.2017 r.

Zaakceptowano do publikacji: 9.10.2017 r.

Address for correspondence:

Adres do korespondencji:

Mgr Beata Fiecek

Samodzielna Pracownia Riketsji, Chlamydii i Krętków

Odzwierzęcych

NIZP-PZH

Chocimska 24; 00-791 Warszawa

e-mail: bfiecek@pzh.gov.pl

8. Hovius JW, de Wever B, Sohne M, et al. A case of *meningoencephalitis* by the relapsing fever spirochaete *Borrelia miyamotoi* in Europe. *Lancet* 2013; 382:658.
9. Jahfari S, Herremans T, Platonov AE, et al. 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: 144-149.
10. Jahfari S, Sarksyian DS, Kolyasnikova NM, et al. Evaluation of a serological test for the diagnosis of *Borrelia miyamotoi* disease in Europe. *J Microbiol Methods* 2017; 136: 11-16.
11. Jobe DA, Lovrich SD, Oldenburg DG, et al. *Borrelia miyamotoi* infection in patients from upper midwestern United States, 2014-2015. *Emerging Infectious Diseases* 2016; 22: 1471-1473.
12. Kiewra D, Stańczak J, Richter M. *Ixodes ricinus* ticks (*Acari, Ixodidae*) as a vector of *Borrelia burgdorferi* sensu lato and *Borrelia miyamotoi* in Lower Silesia, Poland-preliminary study. *Ticks and Tick Borne Dis* 2014; 5: 892-897.
13. Koetsveld J, Draga ROP, Wagemakers A, et al.: In vitro susceptibility of the relapsing fever spirochete *Borrelia miyamotoi* to antimicrobial agents. *Antimicrob Agents Chemother* 2017; doi: 10.1128/AAC.00535-17.
14. Krause PJ, Fish D, Narasimhan S, et al. *Borrelia miyamotoi* infection in nature and in humans. *Clin Microbiol Infect* 2015; 21: 631-639.
15. Krause PJ, Narasimhan S, Wormser GP, et al.: *Borrelia miyamotoi* sensu lato seroreactivity and seroprevalence in the Northeastern United States. *Emerg Infect Dis* 2014; 20: 1183-1190.
16. Krause PJ, Narasimhan S, Wormser GP, et al. Human *Borrelia miyamotoi* infection in the United States. *N Engl J Med* 2013; 368: 291-293.
17. Krause PJ, Schwab J, Narasimhan S, et al.: Hard tick relapsing fever caused by *Borrelia miyamotoi* in a child. *Pediatr Infect.Dis* 2016; 35: 1352-1354.
18. Krause PJ, Telford SR, Spielman A, et al.: Concurrent Lyme disease and babesiosis. Evidence for increased severity and duration of illness. *JAMA* 1996; 275: 1657-1660.
19. Magnarelli LA, Anderson JF, Johnson RC. Cross-reactivity in serological tests for Lyme disease and other spirochetal infections. *J Infect Dis* 1987; 156: 183-8.
20. Middelveen MJ, Stricker RB. Morgellons disease: a filamentous borrelial dermatitis. *Internal J. General Med* 2016; 9: 349-354.
21. Mygland A, Ljøstad U, Fingerle V, et al. European Federation of Neurological Societies. EFNS guidelines on the diagnosis and management of European Lyme neuroborreliosis. *Eur J Neurol* 2010; 17:8-16.
22. Platonov AE, Karan LS, Kolyasnikova NM, et al.: Humans infected with relapsing fever spirochete *Borrelia miyamotoi*, Russia. *Emerg Infect Dis* 2011; 17: 1816-23.
23. Rollend L, Fish D, Childs JE. Transovarial transmission of *Borrelia* spirochetes by *Ixodes scapularis*: a summary of the literature and recent observations. *Ticks Tick Borne Dis* 2013; 4: 46-51.
24. Sarksyian DS, Maleev VV, Platonov AE, et al.: Relapsing (recurrent) disease caused by *Borrelia miyamotoi*. *Ter Arkh* 2015; 87: 18-25.
25. Siński E, Welc-Fałęciak R, Zajkowska J. *Borrelia miyamotoi*: A human tick-borne relapsing fever spirochete in Europe and its potential impact on public health. *Adv Med Sci* 2016; 61: 255-260
26. Thorp AM., Tonnetti L. Distribution and survival of *Borrelia miyamotoi* in human blood components. *Transfusion* 2016; 56: 705-711.
27. Wagemakers A, Jahfari S, de Wever B, et al. *Borrelia miyamotoi* in vectors and hosts in The Netherlands. *m Ticks and Tick-borne Diseases* 2017; 8: 370-374.
28. Wagemakers A, Staarink PJ, Sprong H, Hovius JW. *Borrelia miyamotoi*: a widespread tick-borne relapsing fever spirochete. *Trends Parasitol* 2015; 31: 260-269
29. Wagemakers A, Koetsveld J, Narasimhan S, et al. Variable major proteins as targets for specific antibodies against *Borrelia miyamotoi*. *J Immunol* 2016; 196: 4185-4195.
30. Wang G, Swartz I. Genus II. *Borrelia* Swellengrebel 1907. In: *Bergey's Manual of systematic Bacteriology*, II edition, Volume 4. Krieg N.R., Staley J.T., Brown D.R., et al. Springer New York, Dordrecht, Heidelberg, London 2011: 2141-2143.
31. Wodecka B, Michalik J, Lane RS, et al. Differential associations of *Borrelia* species with European badgers (*Meles meles*) and raccoon dogs (*Nyctereutes procyonoides*) in western Poland. *Tick and Tick-borne Diseases* 2016; 7: 1010-1016.
32. Wroblewski D, Gebhardt L, Prusinski M, et al.. Detection of *Borrelia miyamotoi* and other tick-borne pathogens in human clinical specimens and *Ixodes scapularis* ticks in New York State, 2012-2015. *Ticks and Tick-borne Diseases* 2017; 8: 407-411.