

Genetisk mangfold i *Borrelia burgdorferi sensu lato*

Av ANN-KRISTIN TVETEN, bioingeniør og førsteamanuensis ved Avdeling for biologiske fag, Høgskolen i Ålesund
E-post: antv@hials.no

Bakgrunn

Borrelia burgdorferi sensu lato (s.l.) er en samlebetegnelse for flere *Borrelia*-arter, som på verdensbasis er assosiert med flått fra familien Ixodidae, herunder *Ixodes ricinus* (skogsflått). I Europa er *Borrelia afzelii*, *Borrelia garinii* og *Borrelia burgdorferi sensu stricto* (s.s.) ansett for å være de tre vanligste humanpatogene *Borrelia*-artene (1, 2). *Borrelia*-spiroketer er heliksførmede bakterier med en lagdelt cellulær struktur og flageller – som er et karakteristisk trekk for spiroketer (2). I 1982 oppdaget Willy Burgdorfer *Borrelia*-spiroketer i flått, og Borreliose ble identifisert som en vektorbåret zoonose som kunne overføres til mennesker via flått (3). Ulike genotypingsmetoder har de siste årene vært tatt i bruk for å studere evolusjon og taksonomi av gruppen med *Borrelia*-spiroketer som utgjør *B. burgdorferi* s. l. Metoden multilokus sekvenstyping (MLST) har avslørt et stort genetisk mangfold hos ulike *Borrelia*-stammer, noe som har ført til taksonomiske endringer (4-10).

Borreliose kan i sjeldne tilfeller gi alvorlig sykdom. Symptomene er blant annet feber, ubehag, erythema migrans (EM), lyme artritt og nevrologiske lidelser (11). Human borrelioseinfeksjon kan deles i inntil tre faser med forskjellige kliniske manifestasjoner. I de tidlige stadiene av infeksjonen kan man få en lokal hudinfeksjon (trinn 1) som kan bli etterfulgt av spredning til hele kroppen (trinn 2). I tillegg indikerer forskning at noen pasienter har lange ettervirkninger (trinn 3) (12, 13).

■ Bioingeniøren er godkjent som vitenskapelig tidsskrift. Denne artikkelen er fagfellevurdert og godkjent etter Bioingeniørens retningslinjer.

Forskning indikerer også at *B. afzelii* og *B. garinii* kan gi forskjellige kliniske manifestasjoner, noe som kan tyde på et ulikt patogenet potensial (4). *B. afzelii* er forbundet med mild systemisk infeksjon, EM og lymphocytoma i de tidlige stadiene, etterfulgt av acrodermatitis chronica atrophicans (ACA) som rammer det perifere nervesystemet. *B. garinii* kan forårsake EM og lymphocytoma i de tidlige stadiene, men er vanligvis forbundet med nevrologiske lidelser (11-13). *B. burgdorferi* s.s. gir sjelden EM i Europa, men opptrer noe annerledes i USA. *B. burgdorferi* s.s. kan føre til en sjelden tilstand kjent som Lyme Karditt (hjertebetennelse)(14).

Materiale og metoder

Denne artikkelen er basert på søk i PubMed (www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/) og de globale MLST databasene (www.mlst.net/ og <http://pubmlst.org/>). Søkeord som ble brukt; «MLST, *Borrelia*, Genetics, Host, Taxonomy, Evolution, Lyme». Relevante artikler ble valgt på grunnlag av tittel, sammendrag, forfattere og tidsskriftet hvor artiklene er trykket. Forfattere ble valgt på bakgrunn av publikasjonsliste, forsknings-

Sammendrag

Bakgrunn: *Borrelia burgdorferi sensu lato* er en samlebetegnelse for flere *Borrelia*-varianter som forårsaker borreliose. Tre av de humanpatogene variantene; *Borrelia burgdorferi sensu stricto*, *Borrelia afzelii* og *Borrelia garinii*, er vanlige i Europa. Human Borreliose er en kompleks sykdom og de ulike *Borrelia*-artene kan gi ulike symptomer.

Materialer og metoder: Artikkelen er basert på søk i PubMed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>) og de globale MLST databasene (<http://www.mlst.net/> og <http://pubmlst.org/>). Søkeord som ble brukt; «MLST, *Borrelia*, Genetics, Host, Taxonomy, Evolution, Lyme». Av artiklene som er bruk har de fleste forfatterne tilhørighet til de store fagmiljøene som jobber med *Borrelia*-MLST på verdensbasis.

Diskusjon: *Borrelia*-taksonomi er stadig i utvikling og multilokus sekvenstyping (MLST) er en av metodene som brukes til genetisk karakterisering av *Borrelia*. MLST er et analyseverktøy som gir resultater som er sammenlignbare med resultater fra hele verden via en online database (borrelia.mlst.net). Metoden bygger på et sett strenge kriterier som må oppfylles for at MLST skal kunne anvendes til taksonomi og evolusjonsstudier. MLST har påvist et stort mangfold blant *Borrelia*-stammer. Forskning indikerer at det store genetiske mangfoldet blant *Borrelia*-stammer kan kobles til determinanter som vertsdyr og geografisk tilknytting.

Nøkkelord: MLST – *Borrelia* – Genetisk mangfold

tilhørighet og fagområder de publiserte innenfor. De fleste forfatterne tilhører de store fagmiljøene som jobber med *Borrelia*-MLST på verdensbasis. Litteratursøket er gjennomført i forbindelse med doktorgradsavhandlingen med tittel «Tick-borne pathogens: Detection and characterization of *Borrelia burgdorferi sensu stricto*, *Borrelia afzelii*, *Borrelia garinii* and *Borrelia valaisiana* in *Ixodes ricinus* ticks» (15).

Taksonomi

Bakteriell taksonomi er en vitenskapelig disiplin som stadig utvikles og endres. Tidligere ble en ny bakterievariant inkludert i en art dersom DNA-DNA hybridisering viste mer enn 70 prosent likhet mellom den nye varianten og en kjent artsklassifisert stamme. Nye analysemetoder som MLST og DNA-sekvensering har gitt enklere måter å karakterisere nye stammer på, blant annet ved å måle genetisk distanse. Nye stammer kan verifiseres som nye arter eller som tilhørende en eksisterende art mye raskere enn tidligere, og dette påvirker utviklingen av den bakterielle taksonomien (8).

Borrelia-spiroketer ble opprinnelig delt i to hovedgrupper; de artene som forårsaker borreliose og de som forårsaker tilbakefallsfeber (infeksjon overført av lus eller flått som gir sepsis med tilbakevendende feberanfall, forekommer ikke i Norge). Den hovedgruppen som forårsaker borreliose inkluderer *B. burgdorferi* s.l., og i denne gruppen fins tre kjente humanpatogene arter, *B. afzelii*, *B. garinii* og *B. burgdorferi* s.s., og 15 mindre patogener eller ikke-patogene arter (per d.d.), blant annet *Borrelia lusitaniae*, *Borrelia tanukii*, *Borrelia turdi*, *Borrelia spielmanii* og *Borrelia valaisiana*. I nyere tid har *B. garinii* blitt delt inn i to grupper, en gruppe som i hovedsak infiserer fugler og en gruppe som i hovedsak infiserer smågnagere. Den siste gruppen har fått tildelt navnet *Borrelia bavarensis*, etter regionen Bayern (Bavaria) i Tyskland hvor den først ble oppdaget (7).

Den andre hovedgruppen, som forårsaker tilbakefallsfeber, består av om lag 20 forskjellige arter, blant dem *Borrelia duttoni* og *Borrelia hermsii* (2). Nyere studier viser at *Borrelia*-spiroketer også kan deles inn etter hvilke vertsdyr de benytter seg av. *B. afzelii* og *B. bavarensis* er assosiert med smågnagere, mens *B. garinii* og *B. valaisiana* er assosiert med fugler. *B. burgdorferi* s. s. er beskrevet som en generalist og er en av *Borrelia*-spiroketene som kan benytte seg av mer enn én bestemt type vertsdyr (16).

Borreliagenomet

I 2002 ble det første fullsekvenserte genomet av *Borrelia burgdorferi sensu stricto* (stamme B31) publisert (17). Genomet består av et 910 725 basepar (%GC = 28,5) lineært kromosom samt 9 sirkulære og 12 lineære plasmider. Det er identifisert mer enn 150 lipoproteinkodende gener, og studier av genomet har vist en høy mutasjonsfrekvens, samt evne til genetisk rearrangering (17). *Borrelia*-spiroketers naturlige levested er *in vivo*, enten i en vert eller i en vektor. Ved bruk av mikromatriser er det vist at enkelte gener i *Borrelia*-genomet uttrykkes ulikt i ulike miljøer. Studien ble utført på *Borrelia*-stammer isolert fra ulike levesteder, og forskjellen i genuttrykket ser ut til å være induert av verten. Disse funnene tyder på at *Borrelia*-spiroketer lever mer som parasitter, med stor evne til å tilpasse seg ulike verter (1, 18).

I epidemiologistudier og studier av genetisk utvikling hos de forskjellige *Borrelia*-artene, har et utvalg av såkalte husholdningsgener (gener som koder for proteiner som er nødvendig for de normale cellefunksjonene) blitt sekvensert og karakterisert. Det samme er blitt gjort med ikke-kodende DNA-sekvenser og gener med høy mutasjonsfrekvens. Studiene viser at overflateproteinene representerer en gruppe av gener med høy mutasjonsfrekvens. De ytre overflateprotein

(Osp)-genene er lokalisert i både lineære (OspA/B) og sirkulære plasmider (OspC). Studier av disse svært variable genene har gitt informasjon om genetisk homogenitet, og identifisert horisontal genoverføring mellom arter (8). Det er også påvist at de ytre overflateproteinene uttrykkes ulikt i forskjellige miljøer. Uttrykket av OspA, OspB og OspC er koblet til spesifikke levesteder, enten det er i pattedyr eller i flått. Yang et al. (2004) har vist at OspA og OspB spiller en viktig rolle i koloniseringen av *Borrelia*-spiroketer i den midtre delen av tarmen hos flått (19). Et utvalg av husholdningsgener har blitt brukt i molekylære metoder for å studere utbredelsen av spesifikke *Borrelia*-arter. Kromosomale gener som 16S rRNA, *groEL*, *hbb*, *flaB*, *recA*, *clpA*, *clpX*, *nifS*, *pyrG*, *pepX*, *rpLB*, *recG*

Abstract

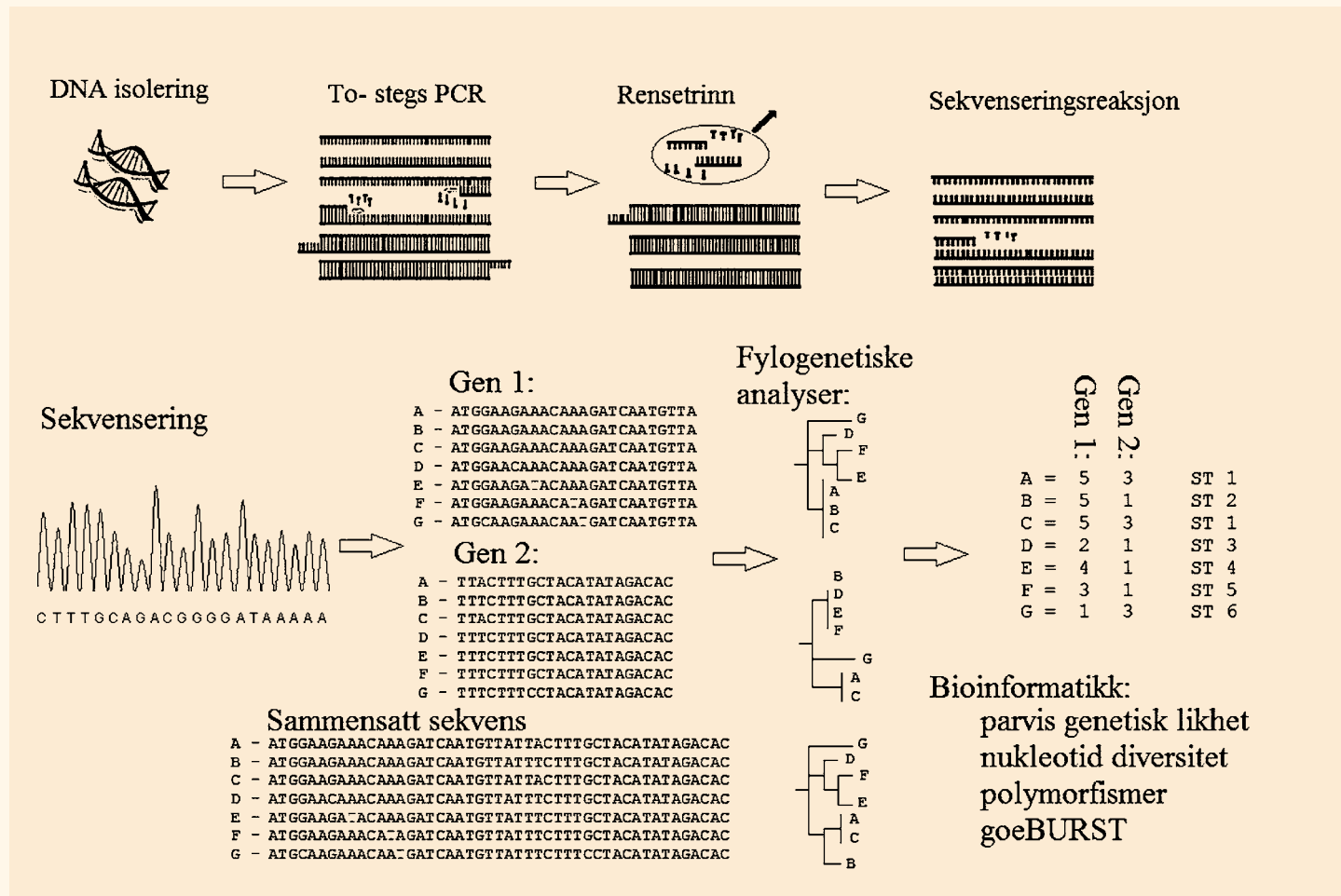
Genetic diversity in *Borrelia burgdorferi sensu lato*

Background: *Borrelia burgdorferi sensu lato* complex comprise a number of *Borrelia* species related to Lyme Borreliosis (LB). Three of the human pathogenic species, *Borrelia burgdorferi sensu stricto*, *Borrelia afzelii* and *Borrelia garinii* are common in Europe. Human LB infection is a complex disease and the different *Borrelia* species display different clinical manifestations.

Materials and methods: The study is based on search in PubMed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>) and global MLST databases (<http://www.mlst.net/> and <http://pubmlst.org/>). Search keywords; «MLST, *Borrelia*, Genetics, Taxonomy, Host, Evolution, Lyme». The majority of authors of the articles used are working in the major research groups that study *Borrelia*-MLST worldwide.

Discussion: *Borrelia* taxonomy is in continual development and multilocus sequence typing (MLST) is one of the methods used for genetic characterization of *Borrelia* species. MLST is an analysis tool that provides results comparable worldwide through an online database (borrelia.mlst.net). The method is based on a set of strict criteria, which have to be met in order for the MLST to be applied in taxonomy and evolutionary studies. MLST has demonstrated a great diversity among *Borrelia* strains. Research indicates that the diversity among *Borrelia* strains can be related to determinants such as host and geographic origin.

Keyword: MLST – *Borrelia* – genetic diversity



og uvrA, representerer et utvalg av konserverte gener med lav mutasjonsfrekvens. De fleste av disse genene har tilstrekkelig grad av heterogenitet mellom de ulike *Borrelia*-artene til at de kan benyttes i utviklingen av artsspesifikke deteksjonsmetoder (5, 9, 10). Studier har vist at 16S rRNA-regionen er svært konservert, og at det kan være utfordrende å etablere artsspesifikke deteksjonsmetoder i denne regionen. De andre nevnte genene er alle anvendt i MLST-metoder som brukes til å skaffe kunnskap om *Borrelia*-genomets utvikling (5-7, 9, 10).

Metoder for måling av evolusjon og genetisk diversitet

Genotypingsmetoder er basert på nukleotidsekvensen til ulike gener, og utgjør en pålitelig og reproduserbar analysemetodikk som kan påvise polymorfismer i utvalgte gener. Genotypingsmetoder kan være basert på kutting med restriksjonsenzymmer, DNA-kopiering med PCR-metoder, DNA-sekvensering eller en kombinasjon av disse metodene (20).

Multilocus sekvensotyping (MLST)

MLST er en sekvensbasert karakterisering av bakterier og andre organismer. C. J. Maiden et al. (20)

utviklet MLST basert på analyseprinsippet fra multilokus enzym elektroforese (MLEE). MLEE er blitt brukt til å beskrive genetisk variasjon hos husholdningsgener ved hjelp av restriksjonsenzymmer. Metoden ga gode resultater, men det var vanskelig å sammenligne resultater fra forskjellige laboratorier (21, 22). Analyseprinsippet fra MLEE er overført til MLST, som er en mer reproduserbar metode. MLST kan brukes som et globalt epidemiologisk overvåkingsverktøy slik at forskjellige laboratorier kan sammenligne genotypingdata (22). Det er utviklet en online database for MLST genotypingsdata, og metoden regnes som nøyaktig og svært detaljert (23).

MLST kan brukes til å beskrive bakteriestammer basert på genetisk variasjon. Metoden kombinerer PCR-amplifisering med sekvensering av fragmenter fra valgte husholdningsgener og bioinformatiske analyser (figur 1). Bioinformatikk kan brukes til å koble informasjon om global epidemiologi og lokalt mangfold mellom ulike bakteriestammer. Bioinformatikk kan også brukes til å fastslå om det finnes sporbare genetiske relasjoner (22, 24, 25). MLST, slik som Urwin og Maiden (25) beskrev den, har strenge kriterier for hvilke gener som er egnet til MLST genotyping. De bør være basert på husholdningsgener som har mode-

FIGUR 1. Steg for steg prosedyre for multilokus sekvensotyping. Metoden baserer seg på DNA-isolering og PCR-amplifisering av målgener. PCR-produktene sekvenseres og analyseres videre med ulike bioinformatiske metoder.

Figur: A. K Tveten

TABELL 1: Sammenlignende beskrivelse av målgener og genes plassering for tre *Borrelia multilocus* sekvenstyping/analysemetoder.

| Qui et al. 2008 | | | Richter et al. 2006 | | | Margos et al. 2008 | | |
|--|--|---------------------|--|------------------------------------|-------|--------------------|---------------------------|-------|
| Gen | Beskrivelse | Plass ^{a)} | Gen | Beskrivelse | Plass | Gen | Beskrivelse | Plass |
| <i>gap</i> | glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase | Chr ^{b)} | <i>rrs</i> | 16S rRNA | Chr. | <i>clpA</i> | Clp protease subunit A | Chr. |
| <i>alr</i> | alanine racemase | Chr. | <i>fla</i> | Flagellar protein flagellin | Chr. | <i>clpX</i> | Clp protease subunit X | Chr. |
| <i>glpA</i> | glycerol-3-phosphate dehydrogenase | Chr. | <i>groEL</i> | 60-kDa chaperonin protein subunits | Chr. | <i>nifS</i> | Aminotransferase | Chr. |
| <i>rrf - rrl</i> inter genic spacer | 5S – 23S | Chr. | <i>hbb</i> | Histone like protein | Chr. | <i>pepX</i> | Dipeptidyl amio-peptidase | Chr. |
| <i>xylB</i> | xylulokinase | Chr. | <i>recA</i> | Recombinase A | Chr. | <i>pyrG</i> | CTP syntetase | Chr. |
| <i>ackA</i> | acetate kinase | Chr. | <i>ospA</i> | Outer surface protein A | Lp54 | <i>recG</i> | DNA recombinase | Chr. |
| <i>tgt</i> | queuine tRNA-ribosyltransferase | Chr. | <i>rrf - rrl</i> inter genic spacer | 5S – 23S | Chr. | <i>rplB</i> | 50S ribosomal protein L2 | Chr. |
| <i>dpbA</i> | decorin-binding protein A | Lp ^{c)} 54 | | | | <i>uvrA</i> | Exonuclease ABC, SU A | Chr. |
| <i>ospC</i> | Outer surface protein C | Cp26 | | | | | | |
| BB_D14 | hypothetical protein | Lp17 | | | | | | |

a) Plass = Plassering. b) Chr = Komosomet. c) Lp = Linært plasmid. d) Cp = Sirkulært plasmid

rat mutasjonsrate, er cirka 450 – 500 basepar i størrelse og det bør velges gener fra hele genomet for å unngå lokale systematiske feil. De valgte genene bør ikke være flankert av gener som er under sterkt seleksjonspress, og de bør ha et jevnt genetisk mangfold for å bidra likt til den genetiske analysen (25). I MLST gis alleler fra de undersøkte genene et nummer basert på sekvensinformasjon, og videre analyser er basert på allelnummer og sekvenstype. MLST bruker klyngeanalyse for å beskrive slektskapsrelasjoner mellom de ulike allelene. Metoden er nyttig for identifikasjon og klassifisering av stammer med kjent artstilhørighet, men gir ufullstendig fylogeni (slektskapstre) og er ikke egnet for å definere nye arter (22, 25).

Multilokus sekvens analyse (MLSA)

MLSA, en alternativ bakteriell genotyping, benytter samme analyseprinsipp som MLST. MLSA er også nukleotidsekvensbasert med sekvenser fra flere gener – ofte de samme genene som brukes i MLST. Til forskjell fra MLST bruker MLSA selve sekvensen i videre analyser, og ikke et allelnummer. MLSA benytter avstandsmetode og parvis genetiske likheter for å beskrive slektskapsrelasjoner. Dette gir et mer nyantert bilde av den genetiske utviklingen (9). Den parvise

genetiske likheten kan brukes til å bestemme en grenseverdi for artstilhørighet. Terskelverdien for *B. burgdorferi* s.l. ble beregnet til < 0,017 (1,7 % genetisk ulikhet) innen de ulike *Borrelia*-artene. Dette har gjort det mulig å bruke MLSA til å definere nye arter og taksonomisk tilhørighet, basert på likheter og ulikheter mellom *Borrelia*-stammer (5). Metoden har sine begrensninger, og de kriteriene som ble utarbeidet av Urwin og Maiden (25) blir ikke alltid fulgt når det etableres nye MLST-metoder.

Utvikling av genotypingsmetoder

Både MLST og MLSA har vært benyttet i populasjonsstudier og slektskapsanalyser av *Borrelia*-arter fra forskjellige geografiske områder. Metodene er brukt både til taksonomi-studier og karakterisering av nye *Borrelia*-arter (5-7, 9, 10). I 2006 publiserte Richter et al. (9) en MLSA-metode for karakterisering av *B. burgdorferi* s. l., basert på fem husholdningsgener samt en intergenic spacer region (IGS) og *ospA* som er plassert på et lineært plasmid, og i 2008 publiserte Margos et al. (5) en MLST-metode basert på åtte husholdningsgener for taksonomi, populasjon og evolusjonære studier (tabell 1). Metoden har blitt videreført som MLSA-metode i andre studier av Margos et al. (6,

7, 26). Samtidig, i 2008, presenterte Qiu *et al.* (10) en MLST metode med en kombinasjon av seks husholdningsgener, IGS og plasmidgener under positiv seleksjon (tabell 1). Bare MLST-metoden av Margos *et al.* (2008) inkluderer husholdningsgener som oppfyller de strenge kriteriene som Urwin og Maiden (25) la til grunn for metodens validitet. Mens de andre MLST- og MLSA-metodene kombinerer plasmidgener, husholdningsgener og ikke-kodende gener, er MLST-metoden utviklet av Margos *et al.* (5), kun basert på husholdningsgener med fragmentstørrelser mellom 564 – 651 basepar og et jevnt nivå på det genetiske mangfoldet.

MLST er tidkrevende, og siden kostnadene for full-genomsekvensering (FGS) er på vei ned, bruker forskere stadig oftere FGS i stedet for MLST. Foreløpig er bruken av FGS forbeholdt de som har teknologien tilgjengelig og bioinformatikere som kan håndtere de store datamengdene, men etter hvert som bioinformatikk blir et mer utbredt fagfelt, vil FGS være en foretrukket teknologi for genotyping (27). Inntil videre vil imidlertid MLST-metoder som er nøye designet og som følger retningslinjer for validering av MLST, være en av de mest detaljerte genotypingsmetodene (27).

Utvikling av genetisk mangfold

Studier av det genetiske mangfoldet hos *Borrelia*-stammer og kartlegging av tilhørende epidemiologiske data (geografisk opprinnelse, vektor, vertsdyr), har gitt indikasjoner på at noen miljøfaktorer påvirker det genetiske mangfoldet mer enn andre. Geografisk opprinnelse og vektor-vertsdyr interaksjon, er de to determinantene som antas å være de viktigste påvirkningsfaktorene for evolusjon (figur 2) (8, 16). For å beskrive nye *Borrelia*-stammer brukes målgener som tidligere beskrevet: 16S rRNA, IGS, OSPs og utvalgte husholdningsgener kombinert i MLST- og MLSA-metoder. De ulike genene beskriver genetisk mangfold på forskjellige nivå. Husholdningsgener og 16S rRNA er nyttige til genetisk karakteristikk og taksonomi. Artsspesifikke studier krever et høyere nivå av mutasjoner og det finner man i gener som IGS og OSPs. De ulike OSPs har forskjellig nivå av variasjon i ulike arter. Eksempelvis viser *ospA* et mindre genetisk mangfold hos *B. afzelii*-stammer og *B. burgdorferi* s.s.-stammer enn hos *B. garinii*-stammer. Studier av *ospA* har blant annet avdekket horisontal genoverføring mellom *Borrelia*-arter. Genet *ospC* er beskrevet som det av OSPs med høyeste grad av sekvensvariasjon, og er mye brukt i studier av patogen – vertsdyr interaksjon. Graden av det genetiske mangfoldet varierer mellom forskjellige geografiske områder, og utbredelsen av ulike *Borrelia*-arter ser ut til å være geografisk betinget. Blant annet viser prevalensstudier at de humanpatogene *Borrelia*-artene har ulik utbredelse på verdensbasis. I Europa finnes alle de patogene *Borrelia*-artene; *B. afzelii*, *B. garinii*, *B. burgdorferi* s.s. (og *B. bavarensis*) mens i USA regnes *B. burgdorferi* s.s. for å være den eneste humanpatogene



Borrelia-arten i *B. burgdorferi* s.l.-gruppen. I Asia finner man *B. afzelii*, *B. garinii* og *B. bavarensis* (8, 28, 29).

Flått fra slekten *Ixodes* er den vanligste vektoren for *B. burgdorferi* s.l. Flåttens manglende evne til å krysse store geografiske avstander gjør at den erverver patogener fra vertsdyr i et begrenset område, og utbredelsen av flåttbårne patogener avhenger til en viss grad av vertsdyrenes forflytning mellom geografiske områder. Landskapet og de ulike vertsdyrenes naturlige levested kan ha ulik påvirkning på det genetiske mangfoldet hos *Borrelia*-bakterier. Forurensning, ernæring, vann og naturlig stråling kan også påvirke (8, 16, 29). Evolusjonsstudier har kartlagt slektskapsforholdet mellom *Borrelia*-stammer innsamlet på verdensbasis, og viser en klar sammenheng mellom geografisk opprinnelse og nukleotid-polymorfismer. Et stort genetisk mangfold blant analyserte *B. afzelii*-stammer settes i sammenheng med et begrenset trekkemønster hos vertsdyr som er reservoar for *B. afzelii*. Den viktigste gruppen vertsdyr for *B. afzelii* er smågnagere, som har territoriell tilknytning og dermed skaper geografisk tilknyttede *B. afzelii*-genotyper. Bare noen få *B. afzelii*-genotyper har blitt oppdaget på mer enn ett geografisk område. Dette skiller dem fra evolusjonære trekk hos for eksempel *B. garinii*-stammer, som har fugler som viktigste vertsdyr. Trekkfugler kan introdusere *B. garinii* til nye geografiske områder, noe som gir mulighet for spredning (28). Tilpasning til ulike vertsdyr har også en innvirkning på det genetiske mangfoldet. En spesifikk gruppe av *B. garinii*-stammer funnet i smågnagere har blitt omdøpt til *B. bavarensis*, ettersom genetiske egenskaper skiller dem fra *B. garinii* funnet i fugler. Denne assosiasjonen til vertsdyr tyder på at artsspesialisering og tilpasning til nye vertsdyr spiller en rolle i den genetiske utviklingen av *Borrelia*-stammer

FIGUR 2. Interaksjon mellom flått og et utvalg av vertsdyr i ulike geografiske områder påvirker det genetiske mangfoldet hos *Borrelia*.

Figur: A. K Tveten

(7). Vertsdyrets komplementsystem vil kunne hindre *Borrelia*-infeksjon dersom *Borrelia*-stammen ikke er komplementær med vertedyret. Gjennom blodmåltidet flåtten inntar fra vertedyret, kan vertens komplementsystem potensielt ta livet av *Borrelia*-bakteriene som er inne i selve flåtten (16, 30).

Konklusjon

B. burgdorferi s.l. er et vektorbåret patogen som sirkulerer mellom vertsdyr og vektor, og denne parasitiske levemåten påvirker evolusjon og levemønster. *Borrelia*-genomet har noen spesielle genetiske egenskaper, og den store genetiske endringen og behovet for tilpasning til nye vertsdyr understreker behovet for detaljerte genotypingsmetoder som MLST og MLSA. Nettbaserte genotypings-databaser bidrar til en bedre forståelse av utviklingen av *Borrelia*-arter, og den rolle vektorer og vertsdyr spiller i evolusjonen og spredningen av bakterien. MLST- og MLSA-metoder er viktige verktøy for epidemiologiske studier av *Borrelia*, selv om det i fremtiden vil bli mer utstrakt bruk av fullgenomsekvensering. ■

Referanser

1. Aguero-Rosenfeld ME, Wang G, Schwartz I, Wormser GP. Diagnosis of Lyme borreliosis. *Clin Microbiol Rev.* 2005;18(3):484-509.
2. Parte A. Bergey's manual of systematic bacteriology Krieg NR, Staley JT, Brown D, Hedlund B, Paster B, Ward N, et al., editors. New York: Springer; 2012.
3. Burgdorfer W, Barbour AG, Hayes SF, Benach JL, Grunwaldt E, Davis JP. Lyme disease—a tick-borne spirochetosis? *Science.* 1982;216(4552):1317-9.
4. Hanincova K, Mukherjee P, Ogden NH, Margos G, Wormser GP, Reed KD, et al. Multilocus sequence typing of *Borrelia burgdorferi* suggests existence of lineages with differential pathogenic properties in humans. *Plos One.* 2013;8(9):e73066.
5. Margos G, Gatewood AG, Aanensen DM, Hanincova K, Terekhova D, Vollmer SA, et al. MLST of housekeeping genes captures geographic population structure and suggests a European origin of *Borrelia burgdorferi*. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008;105(25):8730-5.
6. Margos G, Hojgaard A, Lane RS, Cornet M, Fingerle V, Rudenko N, et al. Multilocus sequence analysis of *Borrelia bissettii* strains from North America reveals a new *Borrelia* species, *Borrelia kurtenbachii*. *Ticks Tick Borne Dis.* 2010;1(4):151-8.
7. Margos G, Vollmer SA, Cornet M, Garnier M, Fingerle V, Wilske B, et al. A new *Borrelia* species defined by multilocus sequence analysis of housekeeping genes. *Appl Environ Microbiol.* 2009;75(16):5410-6.
8. Margos G, Vollmer SA, Ogden NH, Fish D. Population genetics, taxonomy, phylogeny and evolution of *Borrelia burgdorferi sensu lato*. *Infection, genetics and evolution : journal of molecular epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases.* 2011;11(7):1545-63.
9. Richter D, Postic D, Sertour N, Livey I, Matuschka FR, Baranton G. Delineation of *Borrelia burgdorferi sensu lato* species by multilocus sequence analysis and confirmation of the delineation of *Borrelia spielmanii* sp nov. *Int J Syst Evol Micr.* 2006;56:873-81.
10. Qiu WG, Bruno JF, McCaig WD, Xu Y, Livey I, Schriefer ME, et al. Wide distribution of a high-virulence *Borrelia burgdorferi* clone in Europe and North America. *Emerg Infect Dis.* 2008;14(7):1097-104.
11. Bhatte C, Schwartz RA. Lyme disease Part I. Advances and perspectives. *J Am Acad Dermatol.* 2011;64(4):619-36.
12. Steere AC. Medical progress: Lyme disease. *New Engl J Med.* 2001;345(2):115-25.
13. Steere AC, Coburn J, Glickstein L. The emergence of Lyme disease. *J Clin Invest.* 2004;113(8):1093-101.
14. Strle F, Stanek G. Clinical manifestations and diagnosis of Lyme borreliosis. *Current problems in dermatology.* 2009;37:51-110.
15. Tveten A-K. Tick borne pathogens: detection and characterization of *Borrelia burgdorferi sensu stricto*, *Borrelia afzelii*, *Borrelia garinii* and *Borrelia valaisiana* in *Ixodes ricinus* ticks. Doktorgradsavhandling. Norges miljø og biovitenskaplige universitet, 2014.
16. Kurtenbach K, Hanincova K, Tsao JI, Margos G, Fish D, Ogden NH. Fundamental processes in the evolutionary ecology of Lyme borreliosis. *Nat Rev Microbiol.* 2006;4(9):660-9.
17. Casjens S, Palmer N, Van Vugt R, Mun Huang W, Stevenson B, Rosa P, et al. A bacterial genome in flux: the twelve linear and nine circular extrachromosomal DNAs in an infectious isolate of the Lyme disease spirochete *Borrelia burgdorferi*. *Mol Microbiol.* 2002;35(3):490-516.
18. Revel AT, Talaat AM, Norgard MV. DNA microarray analysis of differential gene expression in *Borrelia burgdorferi*, the Lyme disease spirochete. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002;99(3):1562-7.
19. Yang XFF, Pal U, Alani SM, Fikrig E, Norgard MV. Essential role for OspA/B in the life cycle of the Lyme disease spirochete. *J Exp Med.* 2004;199(5):641-8.
20. Wassenaar TM. Molecular typing of pathogens. *Berl Munch Tierarztl.* 2003;116(11-12):447-53.
21. Selander RK, Caugant DA, Ochman H, Musser JM, Gilmour MN, Whittam TS. Methods of multilocus enzyme electrophoresis for bacterial population genetics and systematics. *Appl Environ Microbiol.* 1986;51(5):873-84.
22. Maiden MC, Bygraves JA, Feil E, Morelli G, Russell JE, Urwin R, et al. Multilocus sequence typing: a portable approach to the identification of clones within populations of pathogenic microorganisms. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1998;95(6):3140-5.
23. Aanensen DM, Spratt BG. The multilocus sequence typing network: mlst.net. *Nucleic Acids Research.* 2005;33(Web Server issue):W728-33.
24. Maiden MC. Multilocus sequence typing of bacteria. *Annu Rev Microbiol.* 2006;60:561-88.
25. Urwin R, Maiden MC. Multi-locus sequence typing: a tool for global epidemiology. *Trends Microbiol.* 2003;11(10):479-87.
26. Margos G, Piesman J, Lane RS, Ogden NH, Sing A, Straubinger RK, et al. *Borrelia kurtenbachii* sp. nov., a widely distributed member of the *Borrelia burgdorferi sensu lato* species complex in North America. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2014;64(Pt 1):128-30.
27. Pérez-Losada M, Cabezas P, Castro-Nallar E, Crandall KA. Pathogen typing in the genomics era: MLST and the future of molecular epidemiology. *Infection, Genetics and Evolution.* 2013;16(0):38-53.
28. Vollmer SA, Bormane A, Dinnis RE, Seelig F, Dobson AD, Aanensen DM, et al. Host migration impacts on the phylogeography of Lyme Borreliosis spirochaete species in Europe. *Environmental microbiology.* 2011;13(1):184-92.
29. Vollmer SA, Feil EJ, Chu CY, Raper SL, Cao WC, Kurtenbach K, et al. Spatial spread and demographic expansion of Lyme borreliosis spirochaetes in Eurasia. *Infection, genetics and evolution : journal of molecular epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases.* 2012;14C:147-55.
30. Kurtenbach K, De Michelis S, Etti S, Schafer SM, Sewell HS, Brade V, et al. Host association of *Borrelia burgdorferi sensu lato* – the key role of host complement. *Trends in Microbiology.* 2002;10(2):74-9.