

RESYMÉ AV PH D - AVHANDLING:
SPREDNING AV FLÅTT OG
FLÅTTBÅRNE SYKDOMMER MED
FUGLER

DISPERSAL OF TICKS AND TICK-BORNE PATHOGENS BY
BIRDS

DYNAMICS OF BIRDS' TRANSPORT OF TICKS TO NORWAY

LEGE GUNNAR HASLE

BIOLOGISK INSTITUTT, UNIVERSITETET I OSLO
DET MEDISINSKE FAKULTET, UNIVERSITETET I OSLO

VEILEDERE: HANS PETTER LEINAAS, KNUT HÅKON RØED
OG
GUNNAR AKSEL BJUNE

GAMLE FESTSAL 1. APRIL 2011

Oversikt over prosjektet

- Artikkel I og II: Flåttgenetikk
 - Fremstilling av verktøyet
 - Bruk av verktøyet for å teste farskap hos flått
- Artikkel III Flått på trekkfugler
- Artikkel IV Undersøkelse av kuer med hensyn på den flåttbårne parasitten *Babesia divergens*, som gir blodpiss på storfe
- Artillel V: Undersøkelse av *Borrelia*-arter i flått fra trekkfugler

Artikkel I

Røed, K.H., Hasle, G., Midthjell, L., Skretting, G., Leinaas, H.P., 2006. Primer note. Identification and characterization of 17 microsatellite primers for the tick, *Ixodes ricinus*, using enriched genomic libraries. Molecular Ecology Notes. 6, 1165–1167

Vi fant 17 nye mikrosatellitt-markører

- Mikrosatellitter er DNA med repeterte sekvenser, som ikke har noen kjent biologisk funksjon
- Følger vanlig Mendelsk arvegang
- Prosedyren for å finne disse genene (Hamilton 1999) rekker vi ikke å gjengi i dette resyméet

Artikkel I, forts.

- De mikrosatellittene vi fant hadde mange null-alleler (tilsvarende som i blodtypesystemet ABO), noe som gjør dem vanskelige å bruke i dataverktøy for populasjonsgenetikk
- Men de egnet seg godt til å teste farskap hos flått

Artikkel II

Hasle, G., Røed, K.H., Leinaas, H.P., 2008. Multiple Paternity in *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae), Assessed by Microsatellite Markers. *Journal of Parasitology*. 94(2), 345–347

- Vi brukte mikrosatellittene til å studere flåttfamilier
 - Vi plukket fullspiste hunflått fra kuer, med en hann som var i ferd med å pare seg med dem
 - Vi lot dem pare seg ferdig, og lot hunnen legge egg som vi bevarte til larvene ble klekket
 - Vi isolerte DNA fra mor, far og 20 larver
- Vi fant ut at det er mer enn én far i hvert flåttkull, og at den «ridende» hannen sjelden var faren



<http://commons.wikimedia.org>

Konklusjoner 1

- Det vil være nok genetisk variasjon i ett eller noen få kull til å kolonisere et nytt område

Kan fugler bringe nye flåttarter til nye områder?

Artikkel III:

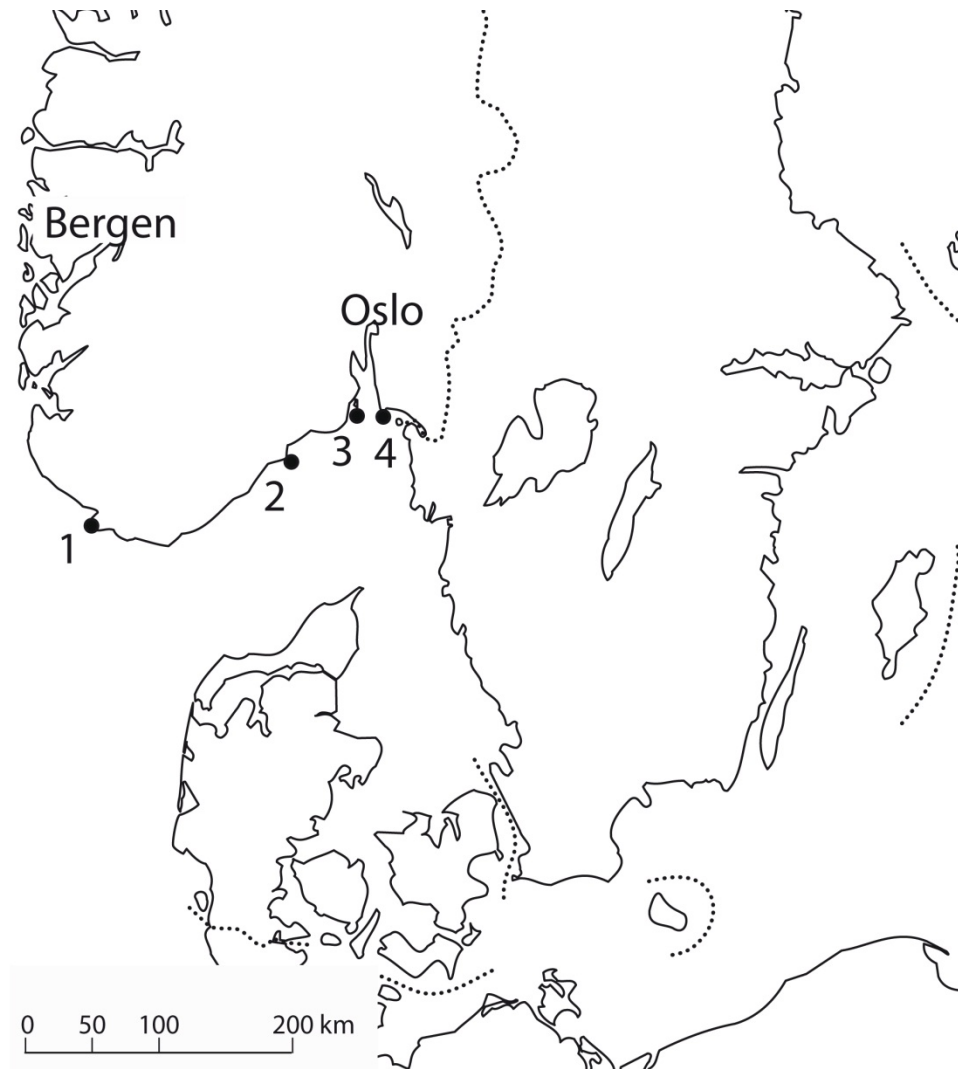
Transport av flått med trekkfugl til Norge

Hasle, G., Bjune, G.A., Edvardsen, E., Jakobsen, C., Linnehol, B.A., Røer, J.E., Mehl, R.A., Røed, K.H., Pedersen, J.E., Leinaas, H.P., 2009. TRANSPORT OF TICKS BY MIGRATORY PASSERINE BIRDS TO NORWAY. *Journal of Parasitology*. 95(6), 1342–1351.

- Hvor mange flått per fugl transporteres over havet?
- Hvilke fuglearter er viktigst?
- Varierer flåttbærerskapet med sted, år og måned?

En ideell situasjon for å studere flåttransport over en geografisk barriere

1. Lista: Storfe og noe flått
2. Jomfruland: Storfe og mye flått
3. Store Færder: Sauer og ingen flått
4. Akerøya: Sauer og ingen flått













Ekklusjonskriterier

- Alle fugler som ikke var spurvefugler
- Fugler med rugeflekk
- Ungfugler
- Fugler som var fanget tidligere samme år

Vårtrekket 2003 til 2005

- 9,768 spurvefugler
- 713 fugler (7.3%) hadde totalt 517 larver og 1,440 nymfer

Ixodes ricinus, stadier og vertskrav

Umodne stadier:

- Smågnagere og fugler, men også større pattedyr

Voksne:

- Pattedyr, fra kattestørrelse og oppover



De viktigste fugleartene

Svarttrost
Blackbird
Turdus merula



<http://www.sabima.no>

Rødstrupe
Robin
Erithacus rubcola



<http://www.duofoto.no/Galleri.htm>

Måltrost
Song thrush
Turdus philomelos



<http://www.norsknettskole.no>

Jernspurv
Dunnock
Prunella modularis



Rødstjert
Redstart
Phoenicurus phoenicurus



Lars Kapelrud
www.bird-view.org

Løvsanger
Willow warbler
Phylloscopus trochilus



Bokfink
Chaffinch
Fringola coelebs



<http://www.snl.no/bokfink>

Hagesanger
Garden warbler
Sylvia borin



<http://da.wikipedia.org/wiki/>

Tornsanger
Whitethroat
Sylvia communis



<http://da.wikipedia.org/wiki/>

Møller
Lesser whitethroat
Sylvia curruca



<http://www.fugler.no>

Munk
Blackcap
Sylvia atricapilla



20

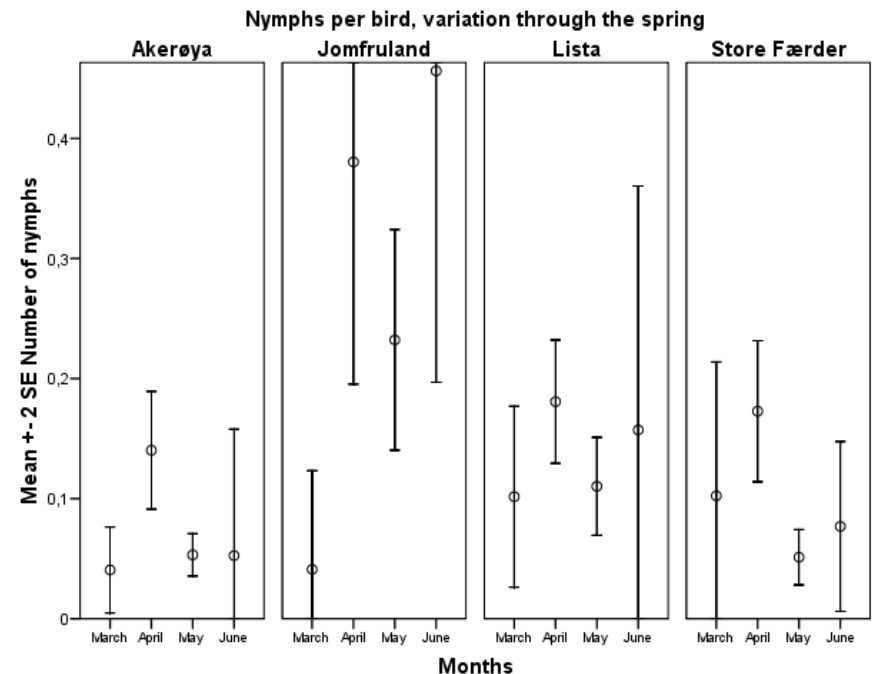
(c) Jon Østeng Hov

Fuglearter, sortert etter antall nymfer:

		% med flått	Larver	Nymfer	Fugler	Nymfer per fugl
<i>Turdus merula</i>	Svarttrost	31.5	102	781	543	1.44
<i>Erithacus rubecula</i>	Rødstrupe	12.7	182	156	1,263	0.12
<i>Turdus philomelos</i>	Måltrost	25.1	22	97	187	0.52
<i>Prunella modularis</i>	Jernspurv	15.7	12	91	198	0.46
<i>Phoenicurus phoenicurus</i>	Rødstjert	20.3	22	48	207	0.23
<i>Phylloscopus trochilus</i>	Løvsanger	2.1	45	42	3,383	0.01

Stor variasjon i antall nymfer per fugl

- Fra år til år
- Mellom lokaliteter
- I løpet av våren, med færre flått i mai enn i april, på grunn av løvsangernes ankomst

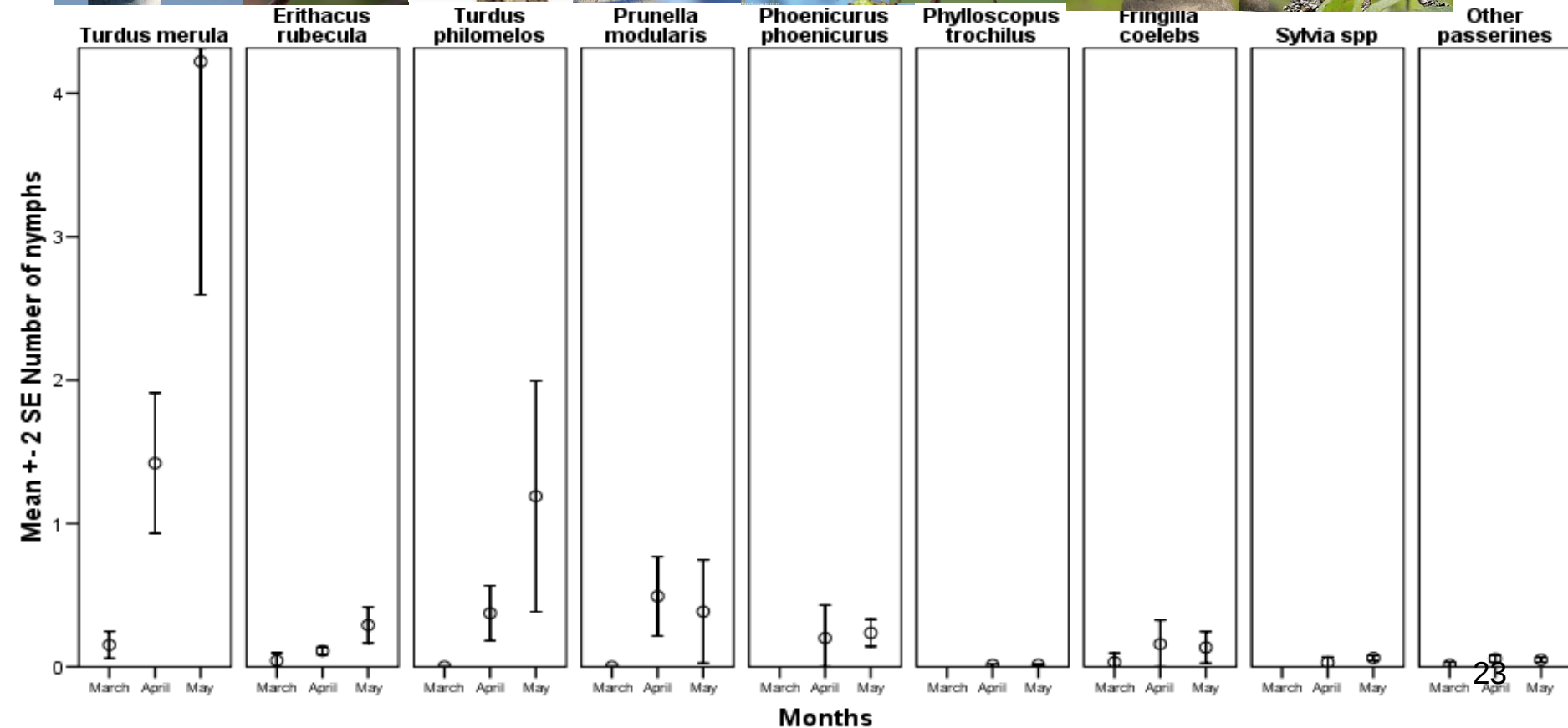


En økning i løpet av våren.

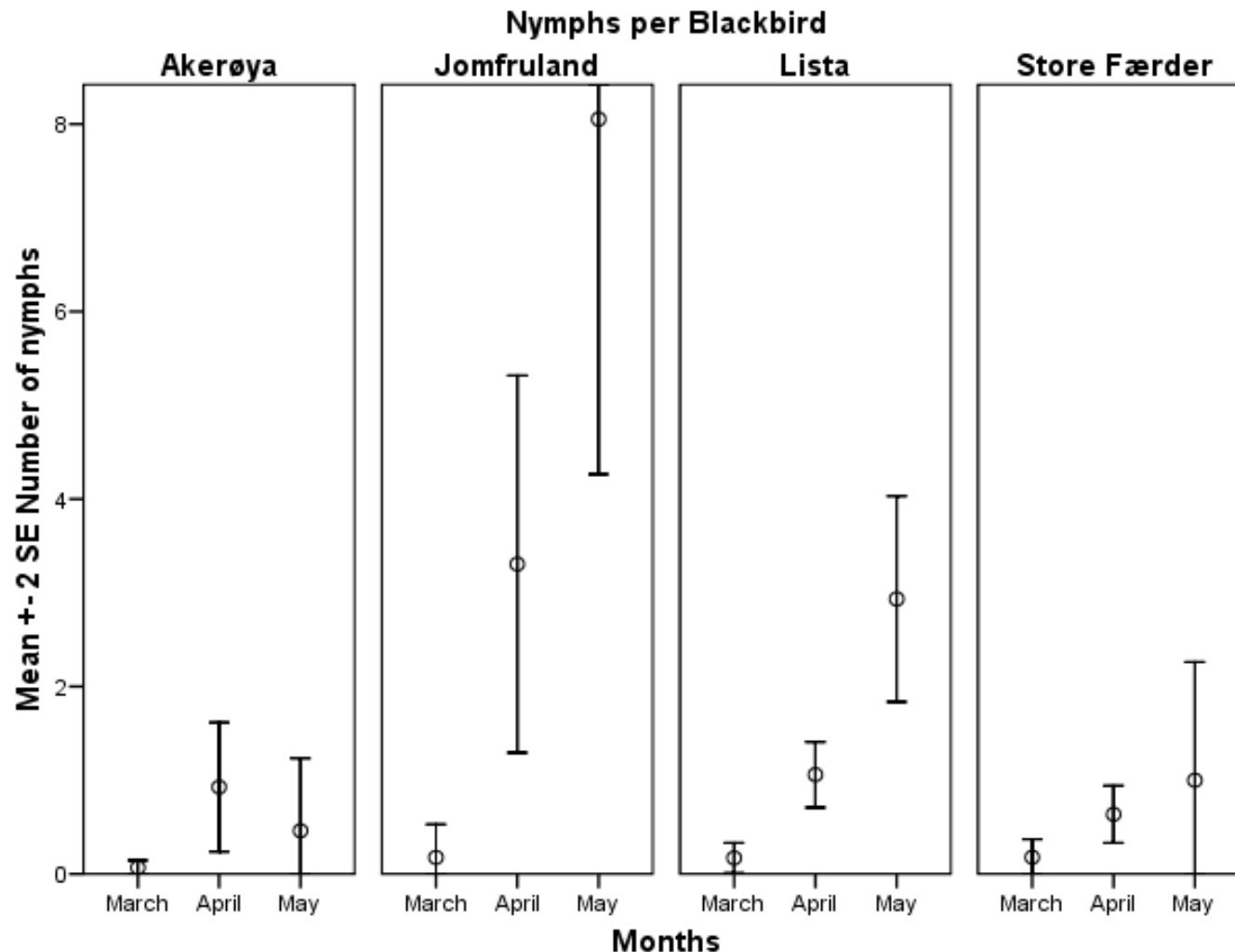
Åpenbar for svarttrost, ikke signifikant for de andre artene



Other passerines



Økningen i antall flått per svarttrost er enorm på Jomfruland, mindre Lista og ikke signifikant på Akerøya og Store Færder



Andre flåttarter enn *Ixodes ricinus*

Dermacentor sp., larve	Løvsanger, <i>Phylloscopus trochilus</i>	Akerøya
Hyalomma rufipes, nymfe	Steinskvett, <i>Oenanthe oenanthe</i>	Lista
Hyalomma rufipes, nymfe	Tornsanger, <i>Sylvia communis</i>	Jomfruland
Hyalomma rufipes, nymfe	Hagesanger, <i>Sylvia borin</i>	Jomfruland
Hyalomma rufipes, nymfe	Rørsanger, <i>Acrocephalus scirpaceus</i>	Jomfruland
Hyalomma rufipes, nymfe	Rødstjert, <i>Phoenicurus phoenicurus</i>	Lista
Hyalomma rufipes, to nymfer	Nattergal, <i>Luscinia luscinia</i>	Store Færder
Ixodes arboricola, nymfe	Rødstrupe, <i>Erithacus rubecula</i>	Lista
Ixodes arboricola, nymfe	Måltrost, <i>Turdus philomelos</i>	Lista
Ixodes frontalis, nymfe	Munk, <i>Sylvia atricapilla</i>	Store Færder

Dermacentor reticulatus hann:



<http://www.dartmoorcam.co.uk/>



En økning av fugl med flått fra 4,2% til 6,9% $P<0,001$

Akerøya og Store Færder	2003-2005 (denne studien)			1965-1970 (Mehl et al. 1984)			Kji ² -test
	N med flått	N fugler	% med flått	N med flått	N fugler	% med flått	
Rødstrupe, <i>Erithacus rubecula</i>	100	663	15,1	44	627	7	$P<0,001$
Rødstjert, <i>Phoenicurus phoenicurus</i>	29	128	22,7	32	288	11,1	$P<0,005$
Løvsanger, <i>Phylloscopus trochilus</i>	27	1672	1,6	17	505	3,4	$P<0,02^*$
Jernspurv, <i>Prunella modularis</i>	12	88	13,6	11	89	12,4	N.S.
<i>Sylvia</i> spp.	18	551	3,3	14	579	2,4	N.S.
Svarttrost, <i>Turdus merula</i>	45	248	18,1	12	262	4,6	$P<0,001$
Måltrost, <i>Turdus philomelos</i>	35	110	31,8	8	97	8,2	$P<0,001$

Konklusjoner 2

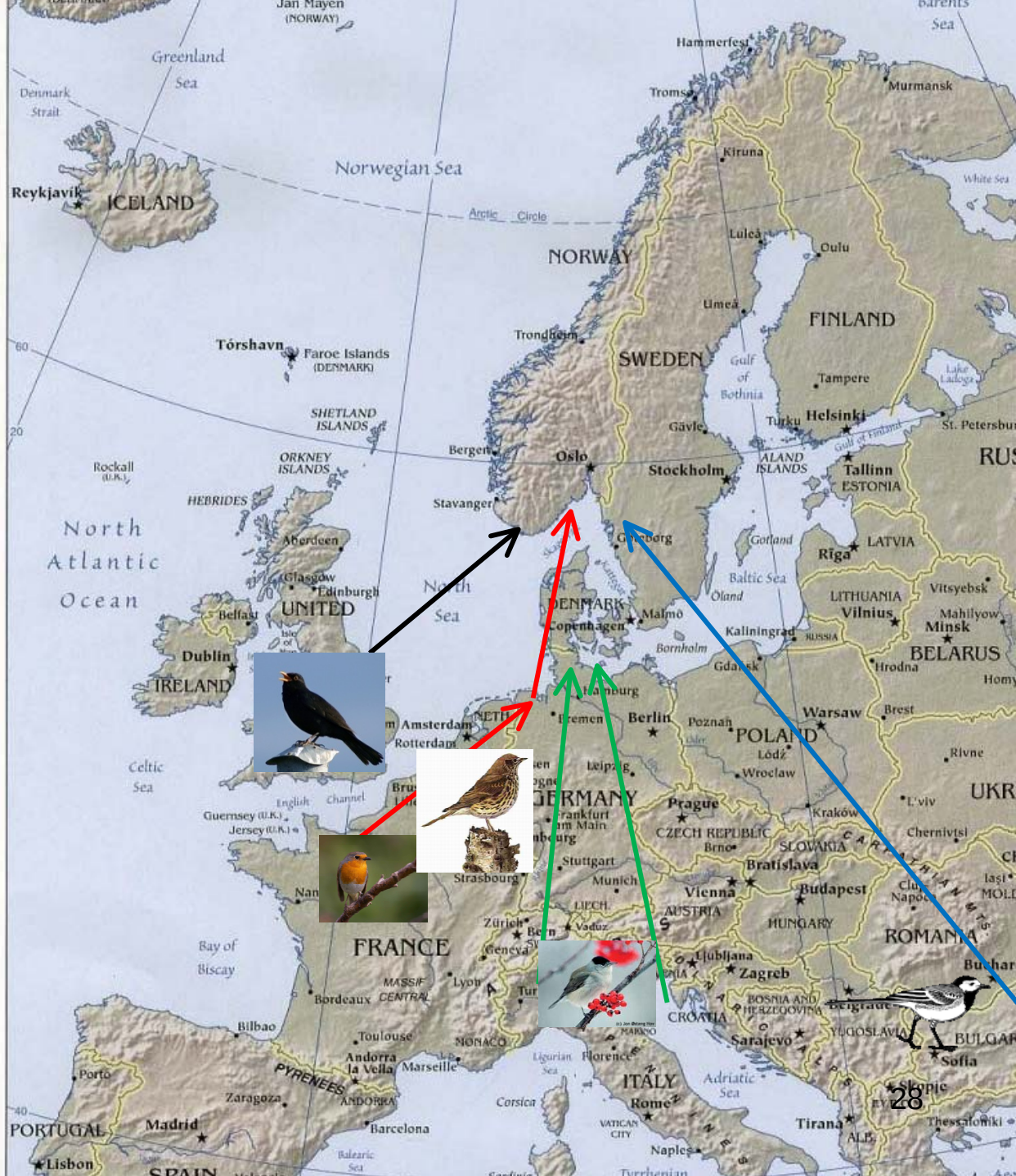
Mellom 30 and 70 millioner spurvefugler trekker hver vår til Norge (Gjershaug et al. 1994), våre data tyder på at de har med seg millioner av flåttnymfer

Det er de fuglene som spiser på bakken som er viktigst

I en situasjon der flått og flåttbårne patogener utvider sitt utbredelsesområde kan fugler spille en rolle for spredningsdynamikken

Trekkrutene innvirker på fuglenes potensielle betydning for spredning av flåttbårne sykdommer

- Svarttrost overvintrer hovedsakelig på de britiske øyer
- De fleste norske trekkfuglene følger vestkysten av kontinentet: rødstrupe, måltrost, rødstjert, løvsanger
- *Sylvia*-sangerne trekker bredt over Alpene
- Noen få arter har en østlig trekkrute: linerle og blåstrupe



The map is based on local reports of documented cases of TBE virus infection, screening for TBE antibodies in healthy unvaccinated populations, and regional screening for TBE virus in ticks and hosts.

Epidemiological information has been reported per district or region, e.g. Russia, Slovakia, Czech Republic, the Baltics and Germany; maps including reported locations, where infection occurred has been collected e.g. from Austria, Switzerland, Sweden and Denmark. For details please refer to the country specific references.

The extent of epidemiological assessment of TBE cases varies between countries. The data presented here may not therefore be entirely complete, nor can it be excluded that TBE viral infection - with subsequent development of the disease - won't occur in new areas.

<http://www.tbe-info.com/>



The map is based on local reports of documented cases of TBE virus infection, screening for TBE antibodies in healthy unvaccinated populations, and regional screening for TBE virus in ticks and hosts.

Epidemiological information has been reported per district or region, e.g. Russia, Slovakia, Czech Republic, the Baltics and Germany; maps including reported locations, where infection occurred has been collected e.g. from Austria, Switzerland, Sweden and Denmark. For details please refer to the country specific references.

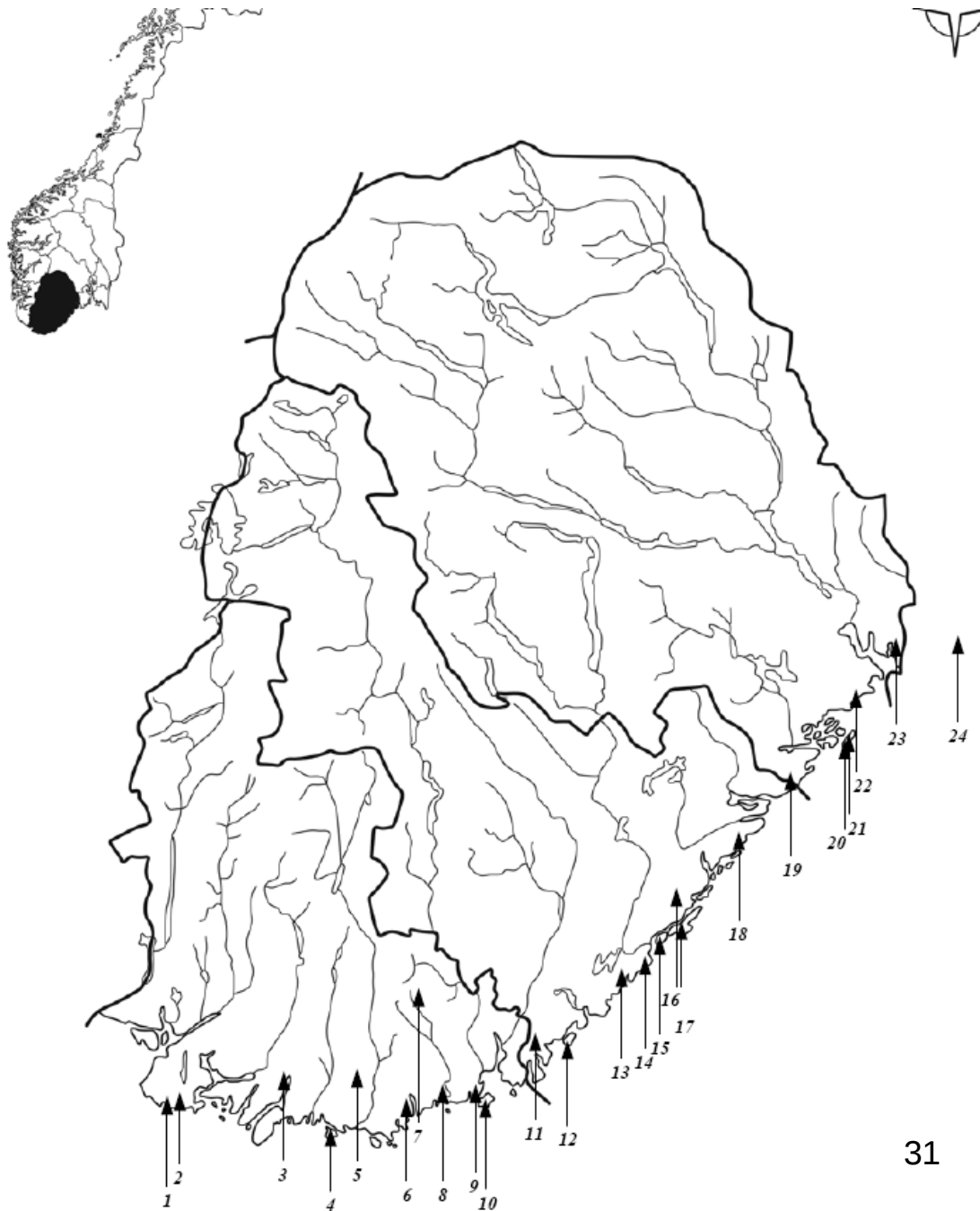
The extent of epidemiological assessment of TBE cases varies between countries. The data presented here may not therefore be entirely complete, nor can it be excluded that TBE viral infection - with subsequent development of the disease - won't occur in new areas.

<http://www.tbe-info.com/>



Artikkel IV: Blodprøver fra 306 friske, beitende kuer fra 24 gårder

Hasle, G., Bjune, G.A., Christensson, D.,
Røed, K.H., Whist, A.C., Leinaas, H.P.,
2010. Detection of *Babesia divergens* in
southern Norway using an
immunofluorescence antibody test in cow
sera. Acta Veterinaria Scandinavica.
52(55) doi:10.1186/1751-0147-52-55.

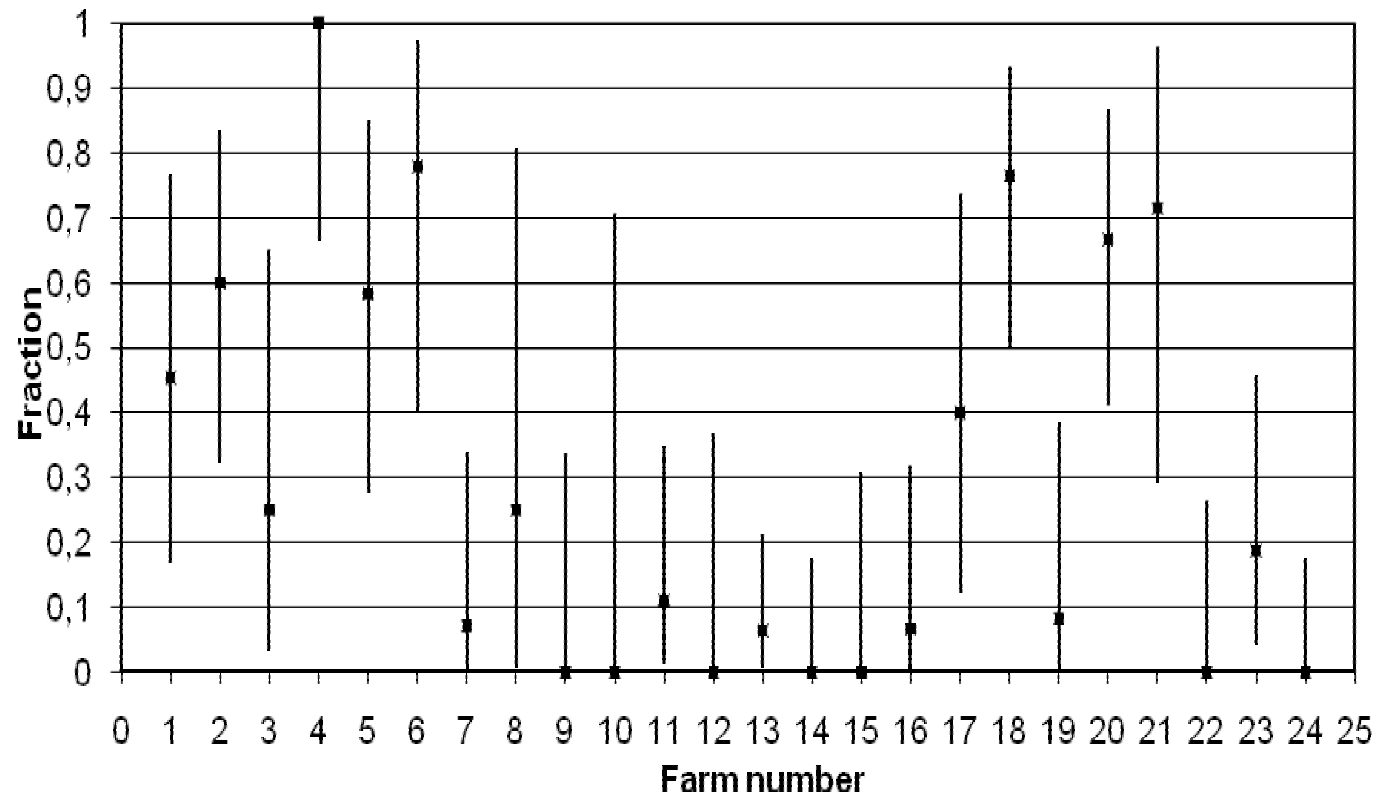


Prøvetakningen
ble gjort så
steril som
mulig....



Andel positive for *Babesia divergens* IgG IFAT

Error bars: 95% konfidensintervaller



Konklusjoner 3

- Et uventet totoppet utbredelsesmønster av *Babesia divergens* antistoffer
- Mye større andel med *B. divergens*-antistoffer enn observerte og meldte tilfeller av blodpiss skulle tilsi

Artikkel V

Hasle, G., Bjune, G.A., Midthjell, L., Røed, K.H., Leinaas, H.P., 2010. Transport of *Ixodes ricinus* infected with *Borrelia* species to Norway by northward-migrating passerine birds. *Ticks and Tick-borne Diseases*. Accepted October 22nd 2010.

- Artikkel V handler om *Borrelia* i flåttene som ble transportert med fugler
- Det har tidligere vært funnet patogener i flått fra trekkfugler
 - *Borrelia*: Olsén et al., 1995; Comstedt et al., 2006
 - *Anaplasma*: Bjöersdorff et al., 2001
 - Skogflåttencefalittvirus, TBEV: Waldenström et al., 2007

Borrelia spp. funnet på nymfer og larver fra trekkfugler Prosent (95% CI)
Borrelia turdi har ikke vært funnet i Europe før

Fuglestation	N	<i>Borrelia afzelii</i>	<i>B. garinii</i>	<i>B. turdi</i>	<i>B. valaisiana</i>	Alle <i>Borrelia</i> -artene
Nymfer:	513	3.7(2.2-5.7)	7.4(5.3-10.0)	0.4(0-1.4)	2.1(1.0-3.8)	13.6(10.8-16.9)
Alle larver	172	0(0-2.1)	5.8(2.8-10.4)	0.4(0-3.2)	2.1(0-3.2)	8.1(4.5-13.3)

Troster har mer *Borrelia* en andre fugler

Prosent (95% CI)

	N flått testet	<i>Borrelia afzelii</i>	<i>B. garinii</i>	<i>B. turdi</i>	<i>B. valaisiana</i>
Troster	208	3.4(1.4-6.8)	13.5(9.1-18.9)	0.5(0-2.7)	5.3(2.7-9.3)
Ikke-troster	477	2.5(1.3-4.4)	4.2(2.6-6.4)	0.4(0-1.5)	0.6(0.1-1.8)
χ^2 tosidig					
Fisher's eksakt test		P=0.613	P<0.001	P=1.000	P<0.001

«Samspising» (Co-feeding)



En GLM (generalized linear model) viser at både samspising og flåttene er funnet på trost øker sannsynligheten for *Borrelia* i flåttene

Effekten av samspising med en flått med *Borrelia* species, fullspisthet og av det å suge på en trost er gitt som odds ratio med 95% konfidensintervaller, i forhold til: “ikke samspisende”, “ikke full av blod” og “ikke trost”

	Samspisende med flått som har:			
	<i>B. afzelii</i>	<i>B. garinii</i>	<i>B. turdi</i>	<i>B. valaisiana</i>
Samspising	3.876 (1.0160-9.3832) $P=0.0468$	N.S.	N.S.	759.758 (34.20-16877) $P=2.76*10^{-5}$
Fullspist med blod	0.24005 (0.08999-0.66436) $P=0.00436$	N.S.	N.S.	6.8415 (0.8618-54.31) $P=0.0688$
Trost	N.S.	3.544 (1.9523-6.4713) $P=3.35*10^{-5}$	N.S.	30.30 (3.7939-241.9) $P=0.001288$
Interaksjon: Samspising * trost	N.S.	N.S.	N.S.	0.001795 ($5.46*10^{-5}$ -0.059) $P=0.000388$

Konklusjoner 4

- *Borrelia*-infiserte flått kan være blitt infisert
 - før de kom på fuglene
 - ved å spise på en infisert vert
 - ved transovarial overføring
 - fra fuglene de ble plukket fra
 - gjennom samspising med andre infiserte flått

Konklusjoner 5

- Prosjektet medførte mye morsomt feltarbeid!