



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

2017년 8월

석사학위논문

# 광주에서 포획된 설치류에서 라임병 원인균 검출

조선대학교 대학원

의과학과

박 소 영

# 광주에서 포획된 설치류에서 라임병 원인균 검출

**Detection of Causative Agents of Lyme Disease  
in Rodents in Gwangju City**

2017년 8월 25일

조선대학교 대학원

의과학과

박 소 영

# 광주에서 포획된 설치류에서 라임병 원인균 검출

지도교수 김 동 민

이 논문을 의과학과 석사학위신청 논문으로 제출함

2017년 4월

조선대학교 대학원

의 과학 과

박 소 영

# 박소영의 석사학위 논문을 인준함

위원장 조선대학교 교수 박 건 인

위 원 조선대학교 교수 김 춘 미 인

위 원 조선대학교 교수 김 동 민 인

2017 년 8 월

조선대학교 대학원



## 목차

### ABSTRACT

I. 서론		1
II. 실험 및 방법		3
Study site and collection of rodents		3
Identification of collected mice		3
DNA extraction from mouse samples		3
PCR amplification		4
Nucleotide sequencing		4
Phylogenetic analysis		5
III. 결과		6
IV. 고찰		9
V. 결론		12
VI. 참고 문헌		25

## 표 목 차

<b>Table 1. Mouse identification and entitled number.....</b>	<b>13</b>
<b>Table 2. Nested PCR primers used in this study.....</b>	<b>14</b>
<b>Table 3. PCR conditions used in this study.....</b>	<b>15</b>
<b>Table 4. The organs of the wild mouse (spleen, kidney, liver, heart, lung) and Nested PCR results.....</b>	<b>16</b>
<b>Table 5. Sequencing result after <i>pyrG</i> Nested PCR and identification of <i>Borrelia</i>.....</b>	<b>17</b>
<b>Table 6. Sequencing result after <i>ospA</i> Nested PCR and identification of <i>Borrelia</i>.....</b>	<b>21</b>



## 그림 목차

**Figure 1. Map of wild rodent collection sites. A. Buk-gu, B. Gwangsan-gu in Gwangju Metropolitan Area (MA), Republic of Korea showing the location of study site, Gwangju city, which is located in part of South Korea.....22**

**Figure 2. *PyrG* N-PCR for spleen, heart and lung tissue of the mice captured in October.....22**

**Figure 3. *PyrG* N-PCR for spleen, kidney and heart tissue of the mice captured in November.....23**

**Figure 4. Phylogenetic tree for *pyrG* (603bp) gene sequences of isolates obtained from mouse tissue.....24**

## ABSTRACT

### Detection of causative agents of Lyme disease in Rodents in Gwangju City

Park So Yeong

Supervisor: Prof. Dong-Min Kim, MD, PhD

Department of Biomedical Sciences

Graduate School of Chosun University

**Background:** Lyme disease is a vector-borne disease that occurs mainly in North America, Europe and Asia, human gets infected by being bitten by a tick infected with a bacterium *Borrelia* species. Symptoms include erythema migrans, fatigue, fever, headache, neck stiffness, myalgia, arthralgia and swelling of the lymph nodes. *Borrelia* species such as *Borrelia burgdorferi*, *B. afzelii* and *B. garinii* have been reported as the pathogens of Lyme disease, and ticks such as *Ixodes scapularis* and *I. persulcatus* have been reported as their carriers. For the diagnosis of Lyme disease, either indirect immunofluorescence or enzyme-linked immunosorbent assay is performed first and then positive specimen is confirmed by Western blot test, to isolate and identify the bacteria in a patient sample (blood, etc.) culture or molecular method targeting the *Borrelia* gene can be used. However, there are few reports on the prevalence of Lyme disease among tick - borne diseases in Korean wild rodents. This

study was carried out to investigate the infection rate of *Borellia* bacterium, a causative organism of Lyme disease, and to investigate the different *Borellia* species by using wild mouse specimens captured in the suburbs of Gwangju Metropolitan City in southwestern Korea.

**Experimental method:** In October and November 2014, a total of 27 rodents were captured at two different sites Gwangsan-gu and Buk-gu in the Gwangju Metropolitan City, South Korea. In October, 12 wild mice were caught, and in November 15 wild mice were caught. After the anesthesia, the spleen, kidney, liver, heart and lung tissues were collected. Tissues were homogenized, genomic DNA was extracted and PCR were performed. Nested PCR were performed targeting the *pyrG* gene and *ospA* gene specific to *Borrelia*. The products obtained after PCR were purified and sequenced using N-PCR primers to identify the bacteria.

**Result:** After PCR, positive specimens were sequenced. N-PCR targeting the *pyrG* gene specific to *Borrelia* confirmed the PCR positive specimen in 8 out of 27 wild mice. As a result of *pyrG* N-PCR sequence analysis, the positive rate of *Borrelia* in 27 wild mice captured in October and November was 29.63% (8 positive / 27 total) and only detected in spleen, kidney and heart tissues. The highest detection rate was found in the heart tissue that is 25.9% (7 positive / 27 total). The kidney and spleen showed 7.4% positivity (2 positive / 27 total) and 14.8% positivity (4 positive / 27 total), respectively. The infection rate of *B. afzelii* was 25.9% (7 positive / 27 total) and showed highest detection for *B. afzelii* in heart tissue. The kidney and spleen showed 7.4% (2 positive / 27 total) and 14.8% (4 positive / 27 total) positivity, respectively. In the case of *B. garinii*, the infection rate was 7.4% (2 positive / 27 total) in wild mice, while only the spleen tissue showed positive results among the five organs used in the experiment. When *ospA* N-PCR was performed, *B. afzelii* positive rate was 7.4%, detected in only 2 heart tissue among the 27 wild mice captured in October and November, all other

tissues did not showed positive result. A phylogenetic tree was constructed using the sequences of *pyrG* DNA fragment from *Borrelia*-positive tissue samples and *pyrG* gene from various *Borrelia* strains obtained from GenBank. All of *B. afzelii* positive specimens lied in the same clade of with *B. afzelii*. It was confirmed that *B. garinii*, which was detected in two wild mice spleen, was also located in the same clade of *B. garinii*. The *pyrG* DNA identified as *B. afzelii* positive in each organ showed the 99.1% or more similarity to *pyrG* gene of *B. afzelii* isolate from the Chinese patient HLJ01 strain. The *B. garinii* DNA positive for two mice spleen tissue were confirmed to have 98.3% or more similarity to *B. garinii* strains SCCH-7 CTP synthase gene isolated from US rodents.

**Conclusion:** In this study, *B. afzelii*, one of the causative bacteria of Lyme disease, was found to be highly positive 29.6% in wild mice caught in Buk-gu and Gwangsan-gu, Gwangju Metropolitan City. Infection was confirmed in spleen, kidney and especially in heart tissues. *B. garinii* positive rate was 7.4% but only the spleen tissues showed positive result. These results indicate that *B. afzelii*, a Lyme spirochete, shows a high tropism for the heart, and *B. garinii* has a high tropism for the spleen in mice. Therefore, in order to diagnose Lyme disease in rodents, detection in these tissues, heart and spleen should be conducted.

Keywords: *Borrelia burgdorferi*, *B. afzelii*, *B. garinii*, PCR, mites, stripped field mouse

## I. 서 론

라임병(Lyme disease)은 북아메리카, 유럽, 아시아에서 주로 발생하는 매개체 관련 질환(vector-borne disease)으로 보렐리아 속 세균에 감염된 진드기가 사람을 물 때 세균이 몸 안으로 들어가 감염되며, 감염 후 임상증상으로 유주성 홍반(erythema migrans), 피로감, 발열, 두통, 경부강직, 근육통, 관절통, 림프절 종창 등이 발생한다(18). 라임병의 병원체로는 *Borrelia burgdorferi*, *B. afzelii*, *B. garinii* 와 같은 보렐리아 속 세균들이 보고 되어 있고, *Ixodes scapularis*, *I. persulcatus* 등과 같은 참진드기가 그 매개체로 보고되어 있다(16). 봄에 알에서 나온 진드기 유충(larvae)은 작은 들쥐 등을 흡혈하며, 여름과 이듬해 봄 동안 유충에서 탈피한 약충(nymph)은 작은 척추동물과 사람을 흡혈하는데, 이때 보렐리아 균을 보유하고 있는 약충은 흡혈하는 숙주에 균을 전이시켜 질병을 유발한다(1, 21). 국내에서는 최초로 1992 년 *Ixodes* 진드기와 등줄쥐 한 마리의 심장조직에서 *B. burgdorferi* 가 분리 되었다(15). 또한 2002 년 한국의 충주에서 채집된 *I. nipponensis* 와 등줄쥐에서 9 개의 *B. afzelii* 균주들이 분리되었으며 *ospC* 유전자와 *rrf* (5S)-*rrl* (23S) intergenic spacer 를 타겟으로 PCR-RFLP 를 수행 하여 그 특성을 규명한바 있다(9). 라임병의 진단을 위해서는 간접면역형광항체법이나 효소면역측정법으로 1 차 검사 후 양성 나올 경우 웨스턴블롯으로 확진하거나, 또는 환자 검체(혈액 등)에서 균을 분리, 동정 하거나 또는 분자생물학적인 방법으로 16SrRNA 유전자나 *pyrG* 유전자 또는 *ospA* 유전자를 타겟으로 Nested PCR 후 *Borrelia* 를 동정하는 방법으로 진단한다(2-3, 5, 8, 11, 19). 그러나 현재까지 우리나라의 야생 설치류에서 이들 진드기 매개 질환 중 라임병의 유병율에 대한 보고는 거의 없는 실정이다.

*Borrelia* 에 특이적인 CTP synthase 유전자인 *pyrG* 와 outer surface protein A 유전자인 *ospA* 를 타겟으로 N-PCR 을 수행하여 이들 설치류에서 감염율을 확인하였다. 또한 들쥐 기관별로 *Borellia* 세균들의 감염율을 확인하고자 하였으며 감염된 *Borellia* species 에 따른 차이가 있는지 확인하고자 진행되었다.

## II. 실험 및 방법

### Study site and collection of rodents

2014 년 10 월부터 11 월 2 달동안 광주광역시 광산구와 북구 2 개의 지역에서 쥐덫(Sherman's live trap)을 사용해서 야생 설치류를 포획하였다. 쥐덫을 설치한 두 지역은 도시와 시골의 경계선 내에 있었고 휴경지 논 사이의 산마루, 숲과 들판, 무덤 주변, 물 주변의 경계 구역을 포함하고 있으며, 포획을 위한 쥐덫 내에 비스킷에 땅콩버터를 바른 먹이를 넣어 미끼로 사용하였다. 늦은 오후에 설치하고 다음날 아침에 수거하였으며, 포획 후 안락사 시켜 야생들쥐의 비장, 신장, 간, 심장, 폐 장기를 얻었으며  $-20^{\circ}\text{C}$  에서 보관하였다(14) (Figure 1).

### Identification of collected mice

포획 된 27 마리의 설치류 모두가 등줄쥐 (*Apodemus agrarius*)로 확인되었다. 10 월에는 12 마리가 포획되었고, 11 월에는 15 마리가 포획되었으며, 편의상 일련 번호가 부여되었다(Table 1).

### DNA extraction from mouse samples

$-20^{\circ}\text{C}$  에서 보관 한 27 마리의 야생 들쥐에서 얻은 비장, 신장, 심장, 폐, 간의 조직 검체를 Cell Strainer (70 $\mu\text{m}$ , Falcon, Corning, NY, USA)를 이용하여 분쇄하였으며, QIAamp DNA Blood & Tissue Mini Kit (QIAGEN, Hilden, Germany)을 사용하여 제조사의 지침에 따라 genomic DNA 를 추출했다.

## PCR amplifications

*Borrelia* 유전자검출을 위해 AmpliTaq Gold 360 Master Mix(Applied Biosystems, Foster city, CA, USA)와 *Borrelia* 에 특이적인 *pyrG* 유전자와 *ospA* 유전자를 증폭할 수 있는 primers 및 27 마리의 야생들쥐들의 기관 검체들(비장, 신장, 간, 폐, 심장)로부터 추출한 genomic DNA 를 이용하여 nested PCR 을 수행하였다. *pyrG* 유전자를 타겟으로 한 N-PCR 을 위해 *pyrG*-1F/*pyrG*-1R primers (1 차 PCR 용 primers), *pyrG*-2F/*pyrG*-2R primers (N-PCR 용 primers)를 사용하였으며, primer 의 서열은 Table 2 에 나타나 있다. *ospA* 유전자를 타겟으로 한 N-PCR 을 위해 *Borrel-ospAF1*/ *Borrel-ospAR1* primers (1 차 PCR 용 primers), *Borrel-ospAF2*/ *Borrel-ospAR2* primers (N-PCR 용 primers)를 사용하였으며, primer 의 서열은 Table 2 에 나타나 있다. PCR 을 위해 5  $\mu$ M 의 forward primer 와 reverse primer 각각 1  $\mu$ L, Master mix 10  $\mu$ L, GC enhancer 2 $\mu$ L, 증류수 4  $\mu$ L 로 이루어진 총 20  $\mu$ L 의 반응액으로 1 차 PCR 을 실시하였다. N-PCR 을 위해서는 template DNA 에 genomic DNA 대신에 1 차 PCR product 를 사용하고 N-PCR 용 primers 를 사용한다는 점을 제외하고는 1 차 PCR 과 동일한 조건의 반응액을 사용하였다. PCR 을 위한 cycling condition 은 Table 3 에 나타나 있다. PCR 종료 후 ethidium bromide 를 첨가한 1.2% agarose gel 에서 전기영동을 수행하였다.

## Nucleotide sequencing

염기서열분석을 위한 PCR product 의 정제를 위해 위와 동일하게 전기영동 후 QIAquick Gel Extraction Kit (QIAGEN, Hilden, Germany)를 이용하여 DNA 를 추출하였다. 이렇게 용출된 PCR product 는 염기서열 결정을 위해 솔젠트(Solgent,



Deajeon, Korea)에 의뢰하였으며 automatic sequencer (ABI Prism 3730XL DNA analyzer, Applied Biosystems, Carlsbad City, California)와 N-PCR 에 사용된 primers 를 이용하여 양방향으로 그 염기서열을 결정하였다. 결정된 염기서열은 National Center for Biotechnology Information (National Institutes of Health)의 BLAST network service (Ver 2.33; [www.techneleysium.com.au/chromas.html](http://www.techneleysium.com.au/chromas.html)) 를 이용하여 분석하였다.

### Phylogenetic analysis

그 서열이 결정된 염기서열의 확인, contig 생성, 유사성 검정은 DNASTAR-Lasergene v6, (DNASTAR, Madison, Wisconsin, US) 프로그램을 사용하여 수행하였다. 각 야생들쥐 조직 검체들에서 얻은 *pyrG* 유전자 단편의 염기서열과 GeneBank 에서 얻은 다양한 *Borrelia* 균주들의 *pyrG* 유전자 서열을 이용하여 ClustalX (Ver 2.0; [www.clustal.org/](http://www.clustal.org/)) 를 이용하여 Phylogenetic tree 를 제작하였다. Phylogenetic tree 의 신뢰도를 올리기 위해 1,000 회의 bootstrap 분석을 사용하였다(Figure 4).

### Ⅲ. 결과

*Borrelia* 에 특이적인 *pyrG*, *ospA* 유전자를 타겟으로 한 N-PCR 결과 총 27 마리의 야생들쥐 중 8 마리의 서로 다른 조직들에서 PCR 후 양성반응이 확인되었으며, PCR 후 염기서열을 분석하였다. *pyrG* N-PCR 과 sequencing 결과 10 월에 포획된 야생 들쥐 12 마리 중 3 마리, 즉 10-3, 10-5, 10-11 번 쥐에서 *B. afzelii* 의 존재가 확인되었으며, 이들 3 마리의 심장조직에서 모두 검출되었다. 신장의 경우는 10-11 쥐 한 마리에서 *B. afzelii* 가 확인되었고, 이것은 10-11 번 쥐의 심장에서 검출된 검출된 *B. afzelii* 와 동일하였다. 그러나 10-11 번 쥐의 경우 심장과 신장에서 검출된 *B. afzelii* 와는 다른 *Borrelia* species 인 *B. garinii* 가 비장에서 검출되었다. 10 월에 포획된 야생 들쥐 중 10-8 번 쥐의 경우 비장에서만 *B. garinii* 가 검출되었으며, 동일 들쥐 검체의 다른 조직에서는 검출되지 않았다. 실험을 수행했던 10 월달 야생들쥐 12 마리의 간과 폐 조직에서는 어떠한 *Borrelia* 도 확인되지 않았다. *ospA* 유전자를 타겟으로 한 N-PCR 의 경우 어떠한 조직에서도 *Borrelia* 의 존재가 확인되지 않았다. *pyrG* N-PCR 과 sequencing 결과 11 월에 포획된 야생 들쥐 15 마리 중 4 마리인 11-1, 11-6, 11-13, 11-15 번 쥐에서 *B. afzelii* 의 존재가 확인되었으며, 이들 모두 심장조직에서 PCR 양성반응을 나타냈다. 비장의 경우는 11-6 과 11-13 번 쥐에서 *B. afzelii* 의 존재가 검출되었고, 신장의 경우 11-1 번 쥐에서 *B. afzelii* 의 존재가 검출되었으며, 이들은 심장에서 양성으로 나타난 쥐 검체들과 일치하였다. 그러나 실험을 수행했던 11 월달 야생들쥐 15 마리의 간과 폐 조직에서는 어떠한 *Borrelia* 도 확인되지 않았다. *ospA* 유전자를 타겟으로 한 N-PCR 및 sequencing 결과 11 월 야생들쥐 15 마리 중 2 마리인 11-1 과

11-6 번 쥐의 심장조직에서 *B. afzelii* 의 존재가 검출되었고, 다른 조직에서는 *Borrelia* 의 존재가 확인되지 않았다. 이를 정리해보면 *pyrG* N-PCR 을 수행 시 10 월과 11 월 야생들쥐의 27 마리에서 *Borrelia* 양성율은 29.63% (8 마리 양성/총 27 마리)이며, 실험을 수행한 비장, 신장, 폐, 간, 심장 조직 중 심장에서 가장 높은 검출율인 25.9% (7 마리 양성/총 27 마리)를 보였으며, 신장과 비장은 각각 7.4%(2 마리 양성/총 27 마리) 와 14.8%(4 마리 양성/총 27 마리)를 나타냈다. 그리고 *B. afzelii* 의 경우 야생들쥐에서 25.9% (7 마리 양성/총 27 마리)의 감염율을 보였으며, 심장에서 25.9% (7 마리 양성/총 27 마리)의 감염율을 보이고, 신장과 비장에서 각각 7.4% (2 마리 양성/총 27 마리)의 감염율을 보였다. *B. garinii* 의 경우 야생들쥐에서 7.4% (2 마리 양성/총 27 마리)의 감염율을 보였으며, 실험에 사용된 다섯가지 기관 중 유일하게 비장에서만 검출되었다. *ospA* N-PCR 을 수행 시 10 월과 11 월 야생들쥐의 27 마리 중 2 마리의 심장에서만 *B. afzelii* 가 검출하였으며 그 양성율은 7.4% 이고, 다른 조직에서는 검출되지 않았다. *Borrelia* 양성반응을 보인 조직 검체들로 부터 얻은 *pyrG* 유전자 단편의 염기서열과 GeneBank 에서 얻은 다양한 *Borrelia* 균주들의 *pyrG* 유전자 서열을 이용하여 phylogenetic tree 를 제작하였다(Figure 4). *Borrelia* 양성으로 검출된 10-3, 10-5, 10-11, 11-1, 11-6, 11-13, 11-15 번 들쥐의 심장과 신장, 또는 비장에서 확인된 *B. afzelii* 는 모두 동일한 clade 의 *B. afzelii* 에 위치하고 있었고, 10-8 번과 10-11 번 들쥐의 비장에서 검출된 *B. garinii* 역시 동일한 clade 의 *B. garinii* 에 위치하고 있음을 확인하였다. 상동성 검사에서 각 기관 검체에서 *B. afzelii* 양성으로 확인된 *pyrG* DNA 는 중국환자에서 분리된 *B. afzelii* HLJ01 균주의 *pyrG* 유전자와 모두 99%이상의 유사성을 보였으며, 들쥐 2 마리의 비장에서 양성으로 확인된 *B. garinii*

DNA 는 미국 설치류에서 분리된 *B. garinii* strain SCCH-7 CTP synthase gene 과 98.3%이상의 유사성을 보였다.

## IV. 고찰

라임병(Lyme disease)은 진드기 매개 인수공통감염병으로 대략 20 종으로 구성된 그룹인 *Borrelia burgdorferi* sensu lato complex 에 의해 유발되며, *B. burgdorferi* sensu stricto, *B. afzelii*, *B. garinii*, *B. valaisiana*, 와 *B. lusitaniae* 등이 보고되었다(13). *Borrelia* 종들은 주로 *Ixodes* species 의 진드기에 의해 전파되며, 유럽에서는 *I. ricinus* 와 *I. persulcatus* 가 진드기 매개체로 보고되었고, 북아메리카에서는 *I. scapularis* 일본에서는 *I. nipponensis*, 중국에서는 *I. persulcatus* 등이 보고되었으며, 무엇보다 국내에서는 *I. persulcatus*, *I. nipponensis*, *I. granulatus*, *I. ovatus* 가 *Borrelia* 를 전파하는 매개체로 보고되었다(13, 20). 1990년대 초 야생들쥐의 장기와 *Ixodes* 속 참진드기 (*I. persulcatus*, *I. nipponensis*, *I. granulatus*)에서 *B. garinii* 와 *B. afzelii* 가 검출되었다. 북아메리카에서 라임병은 주로 *B. burgdorferi* 에 의해 발생하며 이보다 드물게 *B. mayonii* 에 의한 발생도 미국 중서부 위쪽 지역에서 보고되었다. 유럽과 아시아에서 라임병은 *B. afzelii* 또는 *B. garinii* 에 의해 주로 야기 되지만 *B. burgdorferi* 에 의한 감염은 덜 흔하게 발생 하며 *B. spielmanii* 또는 *B. bavariensis* 에 의한 감염은 드물게 발생한다고 알려져 있다(20). 국내에서는 1993년 *Ixodes* 진드기와 등줄쥐에서 *B. burgdorferi* 가 검출되었고, 2002년 *I. nipponensis* 와 등줄쥐에서 *B. afzelii* 균주들이 검출되었다(9, 15). 2008년 경기도 DMZ 근처에서 포획된 1,618마리의 진드기(420개 Pools)와 369마리의 설치류(등줄쥐)의 조직에서 뽑은 genomic DNA를 이용하여 *Borrelia* 에 특이적인 *ospC* 유전자를 타겟으로 conventional PCR을 수행하였으며, 그 결과 진드기에서 1%의 양성률(16/420)로 *B. burgdorferi* 가 검출되었으며 설치류에서는 확인되지 않았다고

보고하였다(4). 그러나 최근 국내에서 채집된 *I. persulcatus* 진드기에서 *B. garinii* strain 935T 가 분리되었고 그 whole-genome sequencing 이 보고된 것 이외에는 야생 설치류와 진드기에서 추가로 보고된바 없다(13). 라임병 스피로헤타(Lyme disease spirochetes)는 조직에 대한 친화도(tissue tropism)에서 균주 및 종 특이적인 차이를 보여준다. 예를 들어 3 개의 주요 라임병을 일으키는 스피로헤타인 *Borrelia burgdorferi* sensu stricto, *B. garinii* 및 *B. afzelii* 균주들은 임상 징후가 겹쳐지지만 뚜렷하게 구별되는 스펙트럼을 보인다. 미국에서 가장 흔한 라임병의 원인균인 *Borrelia burgdorferi* sensu stricto 는 관절염(arthritis)과 밀접하게 관련이 있으며, *B. garinii* 는 라임신경보렐리아증(neuroborreliosis)과 관련이 있고 *B. afzelii* 는 만성 손발피부염(chronic skin lesion acrodermatitis)과 관련이 있다고 보고하고 있다. 병원체 전파와 라임병의 징후에서 *Borrelia* 균주들 간에 변이(variation)가 있음이 동물 연구에서 관찰되었으며, *B. burgdorferi* 분리주와 *B. garinii* 분리주가 면역저하 마우스에서 높은 관절염을 유발한다고 보고하고 있다(7, 10). 한 연구팀은 라임 심장염(Lyme Carditis)과 관련하여 급성심장사(Sudden Cardiac Death)의 부검연구 결과 전층심장염(pancarditis)과 *B. burgdorferi* 의 심장조직에 대한 현저한 친화성간에 상관관계가 있음을 발표하였다(12). 본 연구에서는 설치류에서 라임스피로헤타인 *B. afzelii* 가 쥐의 심장에 대해 높은 친화성을 보이고, *B. garinii* 의 경우 비장에 대해 높은 친화성을 보인다는 것을 확인했다. 포획된 설치류에서 25.9%의 상대적으로 높은 *Borrelia* 감염율이 확인되어 한국의 광주지역이 라임병에 대한 감염위험이 높을 수 있음을 예측할 수 있다. 따라서 본 연구결과를 통해 한국에서 인수공통병원체로서 라임병의 원인균들과 유병율,

그리고 그들의 조직 친화성에 대해 추가적인 비교연구가 필요하다는 것을 제시한다.

## V. 결 론

본 연구에서는 광주광역시 북구와 광산구 근교에서 포획된 야생 들쥐에서 라임병의 원인균 중 하나인 *Borrelia afzelii* 가 29.6%의 높은 양성율을 보이고 있으며, 이들 모두 야생들쥐의 비장, 신장, 폐, 간, 심장 조직 중 특히 심장 조직에서 높은 감염율을 보이는것을 확인하였다. 포획된 들쥐 검체에서 *B. garinii* 역시 확인되었으며 7.4%의 양성율을 보였고, 유일하게 비장에서만 검출되었다. 이들 결과를 통해 라임 스피로헤타인 *B. afzelii* 의 경우 쥐의 심장에 대해 높은 친화성을 보이고, *B. garinii* 의 경우 비장에 대해 높은 친화성을 보이므로, 설치류에서 라임병 진단을 위해서는 심장과 비장을 이용하여 검출을 시도하는 것이 바람직하다는 것을 알 수 있다.



**Table 1. Mouse identification and entitled number.**

<b>Seral no.</b>	<b>Mouse identified name</b>	<b>Captured month</b>	<b>Number entitled</b>
1.	Stripped field mouse ( <i>Apodemus agrarius</i> )	October	10-1
2.	Stripped field mouse ( <i>Apodemus agrarius</i> )	October	10-2
3.	Stripped field mouse ( <i>Apodemus agrarius</i> )	October	10-3
4.	Stripped field mouse ( <i>Apodemus agrarius</i> )	October	10-4
5.	Stripped field mouse ( <i>Apodemus agrarius</i> )	October	10-5
6.	Stripped field mouse ( <i>Apodemus agrarius</i> )	October	10-6
7.	Stripped field mouse ( <i>Apodemus agrarius</i> )	October	10-7
8.	Stripped field mouse ( <i>Apodemus agrarius</i> )	October	10-8
9.	Stripped field mouse ( <i>Apodemus agrarius</i> )	October	10-10
10.	Stripped field mouse ( <i>Apodema agrarius</i> )	October	10-11
11.	Stripped field mouse ( <i>Apodemus agrarius</i> )	October	10-12
12.	Stripped field mouse ( <i>Apodemus agrarius</i> )	October	10-13
13.	Stripped field mouse ( <i>Apodemus agrarius</i> )	November	11-1
14.	Stripped field mouse ( <i>Apodemus agrarius</i> )	November	11-2
15.	Stripped field mouse ( <i>Apodemus agrarius</i> )	November	11-3
16.	Stripped field mouse ( <i>Apodemus agrarius</i> )	November	11-4
17.	Stripped field mouse ( <i>Apodemus agrarius</i> )	November	11-5
18.	Stripped field mouse ( <i>Apodemus agrarius</i> )	November	11-6
19.	Stripped field mouse ( <i>Apodemus agrarius</i> )	November	11-7
20.	Stripped field mouse ( <i>Apodemus agrarius</i> )	November	11-8
21.	Stripped field mouse ( <i>Apodemus agrarius</i> )	November	11-9
22.	Stripped field mouse ( <i>Apodemus agrarius</i> )	November	11-10
23.	Stripped field mouse ( <i>Apodemus agrarius</i> )	November	11-11
24.	Stripped field mouse ( <i>Apodemus agrarius</i> )	November	11-12
25.	Stripped field mouse ( <i>Apodemus agrarius</i> )	November	11-13
26.	Stripped field mouse ( <i>Apodemus agrarius</i> )	November	11-14
27.	Stripped field mouse ( <i>Apodemus agrarius</i> )	November	11-15

**Table 2. Nested PCR primers used in this study.**

PCR	Primer name (sequence)	Product size (bp)	Reference
CTP synthase gene ( <i>pyrG</i> ) (external primer)	<i>pyrG</i> -1F (5'-ATTGCAAGTTCTGAGAATA-3') <i>pyrG</i> -1R (5'-CAAACATTACGAGCAAATTC-3')	801	19
CTP synthase gene ( <i>pyrG</i> ) (internal primer)	<i>pyrG</i> -2F (5-'GATATGGAAAATATTTTATTTATTG-3') <i>pyrG</i> -2R (5'-AAACCAAGACAAATTCCAAG-3')	707	19
outer surface protein A ( <i>ospA</i> ) (external primer)	Borrel- <i>ospAF1</i> (5'-GGGAATAGGTCTAATATTAGC-3') Borrel- <i>ospAR1</i> (5'-CTGTGTATTCAAGTCTGGTCC-3')	427	6
outer surface protein A ( <i>ospA</i> ) (internal primer)	Borrel- <i>ospAF2</i> (5'-CAAAATGTTAGTAGCCTTGAT-3') Borrel- <i>ospAR2</i> (5'-TCTGTTGATGACTTGCTTT-3')	314	6

**Table 3. PCR conditions used in this study.**

PCR assay	Name of primers	PCR conditions			Cycles	PCR product size (bp)
		Denaturation (°C/min)	Annealing (°C/min)	Extension (°C/min)		
CTP synthase gene						
<i>(pyrG)</i> (external primer)	<i>pyrG</i> -1F/ <i>pyrg</i> -1R	94 (0.5)	45 (0.5)	72 (0.5)	30	801
CTP synthase gene						
<i>(pyrG)</i> (internal primer)	<i>pyrG</i> -2F/ <i>pyrg</i> -2R	95 (0.5)	49 (0.5)	72 (0.5)	30	707
outer surface protein						
A ( <i>ospA</i> ) (external primer)	Borrel- <i>ospAF1</i> / Borrel- <i>ospAR2</i>	94 (0.5)	52 (0.5)	72 (1)	30	427
outer surface protein						
A ( <i>ospA</i> ) (internal primer)	Borrel- <i>ospAF2</i> / Borrel- <i>ospAR2</i>	94 (0.5)	52 (0.5)	72 (1)	30	314

**Table 4. The organs of the wild mouse (spleen, kidney, liver, heart, lung) Nested PCR results.**

	Lung		Spleen		Heart		Kidney		Liver	
	<i>pyrG</i>	<i>ospA</i>	<i>pyrG</i>	<i>ospA</i>	<i>pyrG</i>	<i>ospA</i>	<i>pyrG</i>	<i>ospA</i>	<i>pyrG</i>	<i>ospA</i>
10-1	-		-		-		-		-	
10-2	-		-		-		-		-	
10-3	-		-		+( <i>B. afzelii</i> )	-	-		-	
10-4	-		-		-		-		-	
10-5	-		-		+( <i>B. afzelii</i> )	-	-		-	
10-6	-		-		-		-		-	
10-7	-		-		-		-		-	
10-8	-		+( <i>B. garinii</i> )		-		-		-	
10-10	-		-		-		-		-	
10-11	-		+( <i>B. garinii</i> )		+( <i>B. afzelii</i> )	-	+( <i>B. afzelii</i> )		-	
10-12	-		-		-		-		-	
10-13	-		-		-		-		-	
11-1	-		-		+( <i>B. afzelii</i> )	+( <i>B. afzelii</i> )	+( <i>B. afzelii</i> )		-	
11-2	-		-		-		-		-	
11-3	-		-		-		-		-	
11-4	-		-		-		-		-	
11-5	-		-		-		-		-	
11-6	-		+( <i>B. afzelii</i> )		+( <i>B. afzelii</i> )	+( <i>B. afzelii</i> )	-		-	
11-7	-		-		-		-		-	
11-8	-		-		-		-		-	
11-9	-		-		-		-		-	
11-10	-		-		-		-		-	
11-11	-		-		-		-		-	
11-12	-		-		-		-		-	
11-13	-		+( <i>B. afzelii</i> )		+( <i>B. afzelii</i> )	-	-		-	
11-14	-		-		-		-		-	
11-15	-		-		+( <i>B. afzelii</i> )	-	-		-	

**Table 5. Sequencing result after *pyrG* Nested PCR and identification of *Borrelia*.**

Sample Name	Leng th	Sequence ( <i>pyrG</i> )	Blastn result
Wild_mou se_10-8-spleen	684	GGAAGCAGCAATATTGCTTTTATTCATTTAACCTATGTACCAA GTCCAGCTGGAATTAATGAGCAAAAAATCTAAACCCACTCAACA GAGTGTAAAACTTTAAATAAAGCAGGCATTTCCCGATTG ATATTGCTAGAAGCTCTCAGGTATTAACAGATCAAATCAGAAA AAAAGTGGAATGTTTTGTAATGTTGAGATCACTTCTATTATTG ATAATATTGATGTTTCTACTATTTATGAAATTCCTATATCTTTTT ACAACAAGGCGTACATGAGATTTTAAGTTCTAAGTTGAATAT CAAGGTTGATCCAAAAATAGAAGAGCCTTCAAAGCTTGAGG AGTTAAAAATCTAATTTTTTTGCGCCTAAAAAAATTAATAA TTGCCATTTGTGGTAAATATGCTGAACCTTGATGATTCTTATGCG TCAATTCGAGAGTCTTTGGTTCATGTTGGAGCTAATTTGGATT ACTTATTAAGCACTCTAATTGATTCTAATGATTAAATGAG AATTATTAAGAGTTTGACGGCATTATTGTTCCCGCGGCTT TGGGGGAAAAGGATATGAGGGTAAAAATTATTGCTATT	<i>Borrelia garinii</i> strain SCCH-7 CTP synthase gene, partial cds
Wild_mou se_10-11-spleen	666	GGAAGCAGCAATATTGCTTTTATTCATTTAACCTATGTACCAA GTCCAGCTGGAATTAATGAGCAAAAAATCTAAACCCACTCAACA GAGTGTAAAACTTTAAATAAAGCAGGCATTTCCCGATTG ATATTGCTAGAAGCTCTCAGGTATTAACAGATCAAATCAGAA AAAAAGTGGAATGTTTTGTAATGTTGAGATCACTTCTATTATT GATAATATTGATGTTTCTACTATTTATGAAATTCCTATATCTTTT TACAACAAGGCGTACATGAGATTTTAAGTTCTAAGTTGAATA TCAAGGTTGATCCAAAAATAGAAGAGCTTCAAAGCTTGAGG AGTTATAAAATCTAAYTTTTTTGCGCCTAAAAAAATTAATAA TTGCATTTGTGGTAAATATGCTGAACCTTGATGATTCTTATGCG TCAATTCGAGAGTCTTTGGTTCATGTTGGAGCTAATTTGGATT ACTTATTAAGCACTCTAATTGATTCTAATGATTAAATGAG AATTATTAAGAGTTTGACGGCATTATTGTTCCCGCGGCTT TGGGGGAAAAGGATATGAGGGTAAAAATTATTGCTATT	<i>Borrelia garinii</i> strain SCCH-7 CTP synthase gene, partial cds
Wild_mou se_11-6-spleen	684	GGAAGTGGTAATATTGCTTTTATTCATTTAACCTATGTACCAAG TCCAGTTGGAATTAATGAGCAAAAAATCTAAACCCACCCAACAA AGTGTAAAACTTTAAATAAAGCAGGCATTTCCCTGATTGA TTATTGCTAGAAGTCTCAAGTATTGACAGATCAAATCAGAAA AAAAATAGCAATGTTTTGTAATGTTGAGAGTACTTCTATTATTG ATAATATTGATGTTTCTACTATTTATGAAATTCCTATATCTTTTT ACAAGCAAGGTGTGCATGAGATTTAAGTTCTAAGTTGAATAT TAAGGTTGACCAAAAAATAGGAGAGCTTCAAAGGCTTGAGGG ATTATAAAATCTAATTTTTTTGTCGCAAAAAAAATTAATAAT TACTATTTGTGGTAAGTATGCTGAACCTTGATGATTCTTATGCGTC AATTAGAGAGTCTTTGGTTCATGTTGCAGCTAATTTGGATTAC TTATTAAGCACTCTCATTGATTCTAATGATTAAATGAAAAG CTGTTTGAAGGATTTTGACGGTATTATTGTTCCCGGTGGCTTG GGGGCAAAGGATATGAGGGCAAGATTATTGCTATT	<i>Borrelia afzelii</i> HLJ01, complete genome
Wild_mou se_11-13-spleen	681	GGAAGTGGTAATATTGCTTTTATTCATTTAACCTATGTACCAAG TCCAGTCGGAATTAATGAGCAAAAAATCTAAACCCACTCAACAA AGTGTAAAACTTTAAATAAAGCAGGCATTTCCCTGATTGA TTATTGCTAGAAGTCTCAAGTATTGACAGATCAAATCAGGAA AAAAATAGCAATGTTTTGTAATGTTGAGAGTACTTCTATTATTG ATAATATTGATGTTTCTACTATTTATGAAATTCCTATATCTTTTT ACAACAAGGTGTGCATGAGATTTAAGTTCTAAGTTGAATAT TAAGGTTGACCAAAAAATAGAAGAGCTTCAAAGGCTTGAGGG ATTATAAAATCTAATTTTTTTGTCGCTAAAAAAATTAATAAT TGCTATTTGTGGTAAGTATGCTGAACCTTGATGATTCTTATGCGT CAATTAGAGAGTCTTTGGTTCATGTTGCAGCTAATTTGGATTTA CTATTAAGCACTCTCATTGATTCTAATGGTTAAATGAAA GCTGTTTGAAGGATTTTGACGGTATTATTGTTCCCGGTGGCTTT GGGGGCAAAGGATATGAGGGTAAAGATTATTGCTATT	<i>Borrelia afzelii</i> HLJ01, complete genome

Wild_mou se_10-3- heart	685	TATTTTATTTATTGAGACAGTAAGGCAAATAAGACATGAGGTT GGAAGTGGTAATATTGCTTTTATTCATTTAACCTATGTACCAAG TCCAGTTGGAATTAATGAGCAAAAATCTAAACCCACTCAACAA AGTGTAAAACTTTAAATAAAGCAGGCATTTCCCTGATTTGA TTATTGCTAGAAAGTTCTCAAGTATTGACAGATCAAATCAGAAA AAAAATAGCAATGTTTTGTAATGTTGAGAGTACTTCTATTATTG ATAATATTGATGTTTTCTACTATTTATGAAATTTCCCATATCTTTT ACAAAACAAGGTGTGCATGAGATTTAAGTTCTAAGTTGAATTA TAAGGTTGACCCAAAAATAGAAGAGCTTTCAAGGCTTGTGGGG ATTATAAAATCTAATTTTTTTTGTGCCTAAAAAAATATTAATAT TGCTATTTGTGGTAAGTATGCTGAACTTGATGATTCTTATGCGT CAATTAGAGAGTCTTTGGTTCATGTTGCAGCTAATTTGGATTTA CTTATTAAGAGCACTCTCATTGATTCTAATGATTTAAATGAAA GCTGTTGAAGGATTTTGACGGTATTATTGTTCCCGGTGGCTTT GGGGTAAAGGATATGAGGGCAAGATTATTGCCATTAATAT GCTCGCGAGAATAATATCCCTTTCTTGAATT	<i>Borrelia afzelii</i> HLJ01, complete genome
Wild_mou se_10-5- heart	689	ATATTTTATTTATTGAGACAGTAAGGCAAATAAGACATGAGGT TGGAAGTGGTAATATTGCTTTTATTCATTTAACCTATGTACCA GTCCAGTTGGAATTAATGAGCAAAAATCTAAACCCACCCAACA AAGTGTAAAACTTTAAATAAAGCAGGCATTTCCCTGATTTG ATTATTGCTAGAAAGTTCTCAAGTATTGACAGATCAAATCAGAA AAAAATAGCAATGTTTTGTAATGTTGAGAGTACTTCTATTATT GATAATATTGATGTTCTACTATTTATGAAATTTCCCATATCTTT TTACAAGCAAGGTGTGCATGAGATTTAAGTTCTAAGTTGAAT ATTAAGGTTGACCCAAAAATAGGAGAGCTTTCAAGGCTTGTAG GGATTATAAAATCTAATTTTTTTTGTGCCTAAAAAAATATTAAT ATTGCTATTTGTGGTAAGTATGCTGAACTTGATGATTCTTATGC GTCAATTANAGAGTCTTTGGTTCATGTTGCAGCTAATTTGGATT ACTTATTAAGCACTCTCATTGATTCTAATGATTTAAATGAA AGCTGTTTGAAGGATTTTGACGGTATTATTGTTCCCGGTGGCTT TGGGGTAAAGGATATGAGGGCAAGATTATTGCTATTAATAT GCTCGCGAGAATAATATCCCTTTCTTGAATTTGTC	<i>Borrelia afzelii</i> HLJ01, complete genome
Wild_mou se_10-11- heart	681	TTATTTATTGAGACAGTAAGGCAAATAAGACATGAGGTTGGAA GTGGTAATATTGCTTTTATTCATTTAACCTATGTACCAAGTCCA GTTGGAATTAATGAGCAAAAATCTAAACCCACTCAACAAAGTG TAAAACTTTAAATAAAGCAGGCATTTCCCTGATTTGATTATT GCTAGAAAGTTCTCAAGTATTGACAGATCAAATCAGAAAAAATA ATAGCAATGTTTTGTAATGTTGAGAGTACTTCTATTATTGATAA TATTGATGTTTCTACTATTTATGAAATTTCCCATATCTTTTTACA ACAAGGTGTGCATGAGATTTAAGTTCTAAGTTGAATATTAAG GTTGACCCAAAAATAGAAGAGCTTTCAAGGCTTGTGGGGGATTA AAAACTCTAATTTTTTTTGTGCCTAAAAAAATATTAATATTGCT ATTTGTGGTAAGTATGCTGAACTTGATGATTCTTATGCGTCAAT TAGAGAGTCTTTGGTTCATGTTGCAGCTAATTTGGATTACTTA TTAAAAGCACTCTCATTGATTCTAATGATTTAAATGAAAAGCTG TTGAAGGATTTTGACGGTATTATTGTTCCCGGTGGCTTTGGGG GTAAAAGGATATGAGGGCAAGATTATTGCCATTAATATGCTCG CGAGAATAATATCCCTTTCTTGAATTT	<i>Borrelia afzelii</i> HLJ01, complete genome
Wild_mou se_11-1- heart	700	AAAATATTTTATTATTGAGACAGTAAGGCAAATAAGACATGA GGTTGGAAGTGGTAATATTGCTTTTATTCATTTAACCTATGTAC CAAGTCCAGTTGGAATTAATGAGCAAAAATCTAAACCCACTCA ACAAAGTGTAAAACTTTAAATAAAGCAGGCATTTCCCTGAT TTGATTATTGCTAGAAAGTTCTCAAGTATTGACAGATCAAATCA GAAAAAAATAGCAATGTTTTGTAATGTTGAGAGTACTTCTAT TATTGATAAATATTGATGTTTCTACTATTTATGAAATTTCCCATAT CTTTTTACAAACAAGGTGTGCATGAGATTTAAGTTCTAAGTTG AATATTAAGGTTGACCCAAAAATAGAAGAGCTTTCAAGGCTTG TGGGGATTATAAAATCTAATTTTTTTTGTGCCTAAAAAAATATT AATATTGCTATTTGTGGTAAGTATGCTGAACTTGATGATTCTTA TGCGTCAATTAGAGAGTCTTTGGTTCATGTTGCAGCTAATTTGG ATTTACTTATTAAGCACTCTCATTGATTCTAATGATTTAAAT GAAAGCTGTTTGAAGGATTTTGACGGTATTATTGTTCCCGGTG GCTTTGGGGTAAAGGATATGAGGGCAAGATTATTGCCATTA ATATGCTCGCGAGAATAATATCCCTTTCTTGAATTTGTCTTG GTTT	<i>Borrelia afzelii</i> HLJ01, complete genome

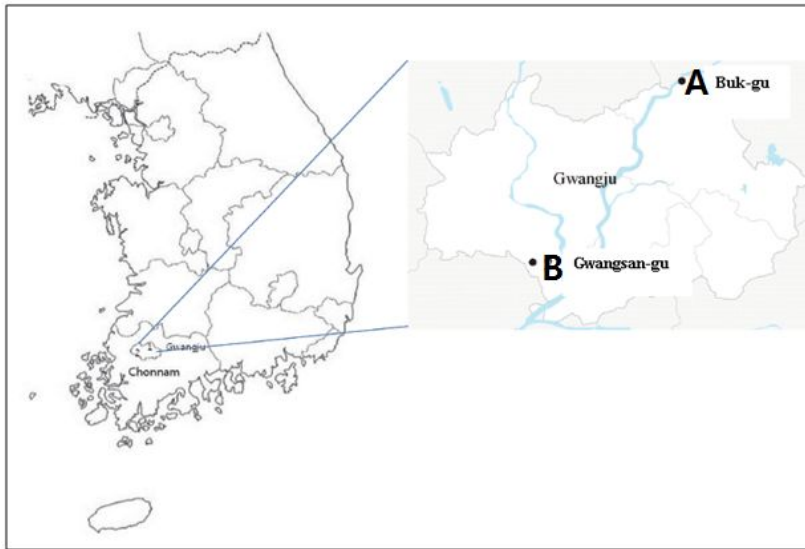
Wild_mou se_11-6- heart	655	TATTTATTGAGACAGTAAGGCAAATAAGACATGAGGTTGGAA GTGGTAATATTGCTTTTATTCATTTAACCTATGTACCAAGTCCA GTCCGAATTAATGAGCAAAAAATCTAAACCCACTCAACAAAGT GTTAAAACTTTAAATAAAGCAGGCATTTTCCCTGATTGATTAT TGCTAGAAGTTCTCAAGTATTGACAGATCAAATCAGGAAAAAA ATAGCAATGTTTTGTAATGTTGAGAGTACTTCTATTATTGATAA TATTGATGTTTCTACTATTTATGAAATTCCCATATCTTTTACAA ACAAGGTGTGCATGAGATTTTAAAGTTCTAAGTTGAATATTAAG GTTGACCCAAAAATAGAAGAGCTTTCAAGGCTTGTAGGGATTA TAAAACTCAATTTTTTTGTGCCTAAAAAAATTATTAATATTGCT ATTTGTGGTAAGTATGCTGAACTTGATGATTCTTATGCGTCAAT TAGAGAGTCTTTGGTTCATGTTGCAGCTAATTTGGATTTACTTA TAAAAAGCACTCTCATTGATTCTAATGGTTTAAATGAAAAGCTG TTTGAAGGATTTTGACGGTATTATTGTTCCCGGTGGCTTTGGGG GCAAAGGATATGAGGGTAAGATTATGCTATAAATATGCTCGCG AGA	<i>Borrelia afzelii</i> HLJ01, complete genome
Wild_mou se_11-13- heart	698	AATATTTATTTATTGAGACAGTAAGGCAAATAAGACATGAGG TTGGAAAGTGGTAATATTGCTTTTATTCATTTAACCTATGTACCA AGTCCAGTCGGAATTAATGAGCAAAAAATCTAAACCCACTCAAC AAAGTGTAAAACTTTAAATAAAGCAGGCATTTTCCCTGATTG GATTATTGCTAGAAGTTCTCAAGTATTGACAGATCAAATCAGA AAAAAAATAGCAATGTTTTGTAATGTTGAGAGTACTTCTATTA TTGATAATATTGATGTTTCTACTATTTATGAAATTCCCATATCT TTTTACAAACAAGGTGTGCATGAGATTTTAAAGTTCTAAGTTGA ATATTAAGGTTGACCCAAAAATAGAAGAGCTTTCAAGGCTTGT GGGGATTATAAAAATCTAATTTTTTTGTGCCTAAAAAAATTATTA ATATTGCTATTTGTGGTAAGTATGCTGAACTTGATGATTCTTAT GCGTCAATTAGAGAGTCTTTGGTTCATGTTGCAGCTAATTTGG ATTTACTTATTAAGTACTCTCATTGATTCTAATGATTTAAAT GAAAGCTGTTTGAAGGATTTTGACGGTATTATTGTTCCCGGTG GCTTTGGGGGCAAAGGATATGAGGGCAAGATTATTGCCATTA ATATGCTCGCGAGAATAATATCCCTTCTTGGAAATTGTCTTG GTTT	<i>Borrelia afzelii</i> HLJ01, complete genome
Wild_mou se_11-15- heart	680	TTATTTATTGAGACAGTAAGGCAAATAAGACATGAGGTTGGAA GTGGTAATATTGCTTTTATTCATTTAACCTATGTACCAAGTCCA GTCGGAATTAATGAGCAAAAAATCTAAACCCACTCAACAAAGT GTTAAAACTTTAAATAAAGCAGGCATTTTCCCTGATTGATTAT TGCTAGAAGTTCTCAAGTATTGACAGATCAAATCAGGAAAAAA ATAGCAATGTTTTGTAATGTTGAGAGTACTTCTATTATTGATAA TATTGATGTTTCTACTATTTATGAAATTCCCATATCTTTTACAA ACAAGGTGTGCATGAGATTTTAAAGTTCTAAGTTGAATATTAAG GTTGACCCAAAAATAGAAGAGCTTTCAAGGCTTGTAGGGATTA TAAAACTCAATTTTTTTGTGCCTAAAAAAATTATTAATATTGCT ATTTGTGGTAAGTATGCTGAACTTGATGATTCTTATGCGTCAAT TAGAGAGTCTTTGGTTCATGTTGCAGCTAATTTGGATTTACTTA TAAAAAGCACTCTCATTGATTCTAATGGTTTAAATGAAAAGCTG TTTGAAGGATTTTGACGGTATTATTGTTCCCGGTGGCTTTGGGG GCAAAGGATATGAGGGTAAGATTATTGCTATTAATATGCTCG CGAGAATAATATCCCTTCTTGGAAAT	<i>Borrelia afzelii</i> HLJ01, complete genome
Wild_mou se_10-11- kidney	680	TTATTTATTGAGACAGTAAGGCAAATAAGACATGAGGTTGGAA GTGGTAATATTGCTTTTATTCATTTAACCTATGTACCAAGTCCA GTTGGAATTAATGAGCAAAAAATCTAAACCCACTCAACAAAGTG TAAAACTTTAAATAAAGCAGGCATTTTCCCTGATTGATTATT GCTAGAAGTTCTCAAGTATTGACAGATCAAATCAGAAAAAA GTAGCAATGTTTTGTAATGTTGAGAGTACTTCTATTATTGATAA TGTTGATGTTTCTACTATTTATGAAATTCCCATATCTTTTACAA ACAAGGTGTGCATGAGATTTTAAAGTTCTAAGTTGAATATTAAG GTTGACCCAAAAATAGAAGAGCTTTCAAGGCTTGTAGGGATTA TAAAACTCAATTTTTTTGTGCCTAAAAAAATTATTAATATTGCT ATTTGTGGTAAGTATGCTGAACTTGATGATTCTTATGCGTCAAT TAGAGAGTCTTTGGTTCATGTTGCAGCTAATTTGGATTTACTTA	<i>Borrelia afzelii</i> PKo, complete genome

		TAAAAAGCACTCTCATTGATTCTAATGATTTAAATGAAAAGCTG TTGAAGGATTTTGACGGTATTATTGTTCCCGCGGCTTTGGAG GTAAAGGATATGAGGGCAAGATTATTGCTATTAATATGCTCG CGAGAATAATATCCCTTTCTTGGAAT	
Wild_mou se_11-1- kidney	700	AAAATATTTTATTATTGAGACAGTAAGGCAAATAAGACATGA GGTTGGAAGTGGTAATATTGCTTTTATTCATTTAACCTATGTAC CAAGTCCAGTTGGAATTAATGAGCAAAAATCTAAACCCACTCA ACAAAGTGTTAAAACTTAAATAAAGCAGGCATTTCCCTGAT TTGATTATTGCTAGAAGTTCTCAAGTATTGACAGATCAAATCA GAAAAAAAATAGCAATGTTTTGTAATGTTGAGAGTACTTCTAT TATTGATAATATTGATGTTTCTACTATTTATGAAATTCCCATAT CTTTTACAAACAAGGTGTGCATGAGATTTAAGTTCTAAGTTG AATATTAAGGTTGACCCAAAAATAGAAGAGCTTCAAGGCTTG TGGGGATTATAAAATCTAATTTTTTTGTGCCTAAAAAAATTATT AATATTGCTATTTGTGGTAAGTATGCTGAACTTGATGATTCTTA TCGCTCAATTAGAGAGTCTTTGGTTCATGTTGCAGCTAATTTGG ATTTACTTATTTAAAAAGCACTCTCATTGATTCTAATGATTTAAAT GAAAGCTGTTTGAAGGATTTTGACGGTATTATTGTTCCCGGTG GCTTTGGGGGTAAAGGATATGAGGGCAAGATTATTGCCATTA ATATGCTCGCGAGAATAATATCCCTTTCTTGGAATTTGTCTTG GTT	<i>Borrelia afzelii</i> HLJ01, complete genome

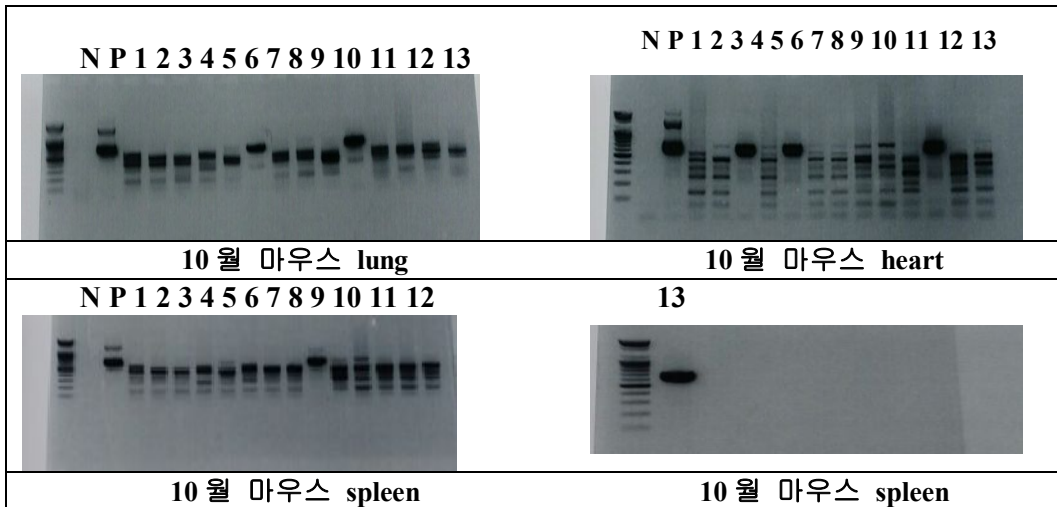


**Table 6. Sequencing result after *ospA* Nested PCR and identification of *Borrelia*.**

Sample Name	Length (bp)	Sequence ( <i>ospA</i> )	Blastn result	Identification
11-1M-heart	290	TTGCTTTAGAACTTACTTTTCTTGACACTAATG TTTTGCCATCTTCTTTGAAAAGTTCGAATGTGGT TTTACTTAGATCGTCAGCAATTGTTAATTTTGCT TTACTTTTGCATCTTTTGTACCTTCAAGCACCC CAGAACCATTGTCTTATCAGAAGTTCCTTTTA GCTCAATCTTGTCTACTGTTGCCTTTAGACTGTA CTTACCGTCTTGTCTTTTCTTTACTTACAAGA ACTTTCATCTCACCAGGCAAATCTACTGAAGCG CTGTTTTTTCATCAAGGCT	<i>Borrelia</i> <i>afzelii</i> strain BO23 plasmid lp54-lp38 fusion, complete sequence	290/290 (100%)
11-6M-heart	290	TTGCTTTAGAACTTACTTTTCTTGACACTAATG TTTTGCCATCTTCTTTGAAAAGTTCGAATGTGGT TTTACTTAGATCGTCAGCAATTGTTAATTTTGCT TTACTTTTGCATCTTTTGTACCTTCAAGCACCC CAGAACCATTGTCTTATCAGAAGTTCCTTTTA GCTCAATCTTGTCTACTGTTGCCTTTAGACTGTA CTTACCGTCTTGTCTTTTCTTTACTTACAAGA ACTTTCATCTCACCAGGCAAATCTACTGAAGCG CTGTTTTTTCATCAAGGCT	<i>Borrelia</i> <i>afzelii</i> strain BO23 plasmid lp54-lp38 fusion, complete sequence	288/288 (100%)



**Figure 1.** Map of wild rodent collection sites. A. Buk-gu, B. Gwangsan-gu in Gwangju Metropolitan Area (MA), Republic of Korea showing the location of study site, Gwangju city, which is located in south part of South Korea.



**Figure 2.** *PyrG* N-PCR for spleen, heart and lung tissue of the mice captured in October.

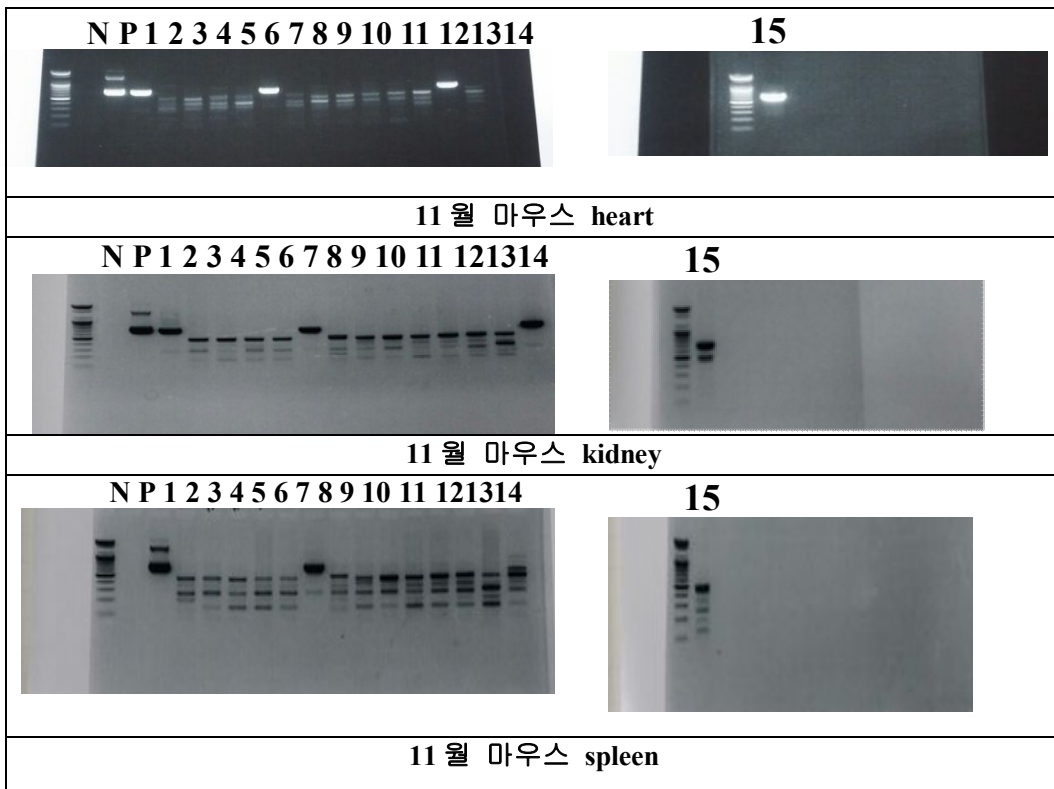
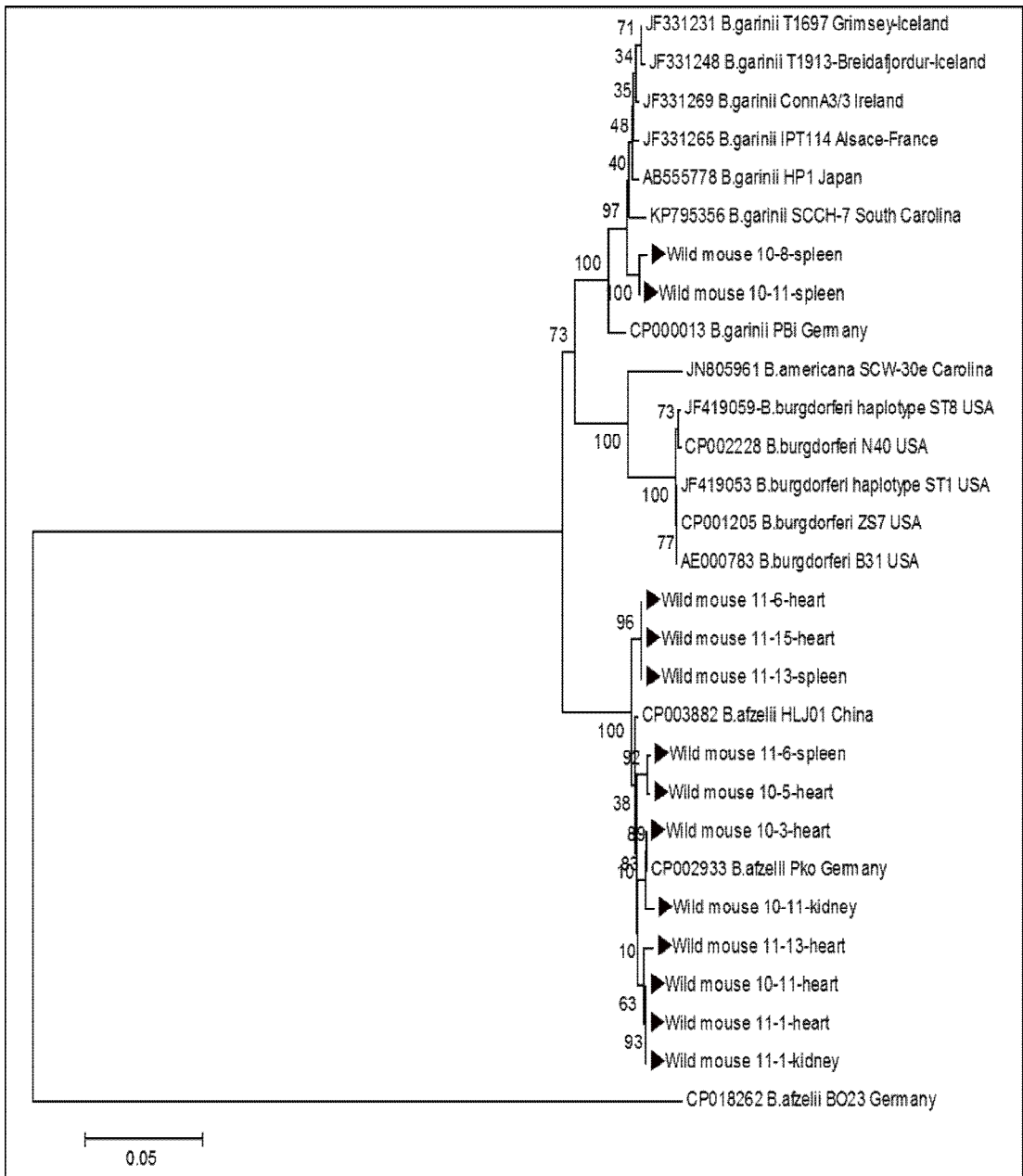


Figure 3. *PyrG* N-PCR for spleen, kidney and heart tissue of the mice captured in November.



**Figure 4. Phylogenetic tree for *pyrG* (603bp) gene sequences of isolates obtained from mouse tissue.**

## 6. References

- (1) Abele DC, Anders KH. 1990. The many faces and phases of *borreliosis*. I. Lyme disease. J Am Acad Dermatol. 23:167-86.
- (2) Asbrink E, Hovmark A, Hederstedt B. 1985. Serologic studies of erythema chronicum migrans Afzelius and acrodermatitis chronica atrophicans with indirect immunofluorescence and enzyme – linked immunosorbent assays. Acta Derm Venereol. 65:509-14.
- (3) Barbour A. 1984. Isolation and cultivation of Lyme disease spirochetes. Yale J Biol Med. 57:521 – 5.
- (4) Chae JS, Yu DH, Shringi S, Klein TA, Kim HC, Chong ST, Lee IY, Foley J. 2008. Microbial pathogens in ticks, rodents and ashrewin northern Gyeonggi-do near the DMZ, Korea. J Vet Sci. 9:285-93.
- (5) Choi YJ, Han SH, Park JM, Lee KM, Lee EM, Lee SH, Song HJ, Koh YS, Lee KW, Jang WJ, Park KH. 2007. First Molecular Detection of *Borrelia afzelii* in Clinical Samples in Korea. Microbiol Immunol. 51:1201-7.
- (6) Choi YJ, Han SH, Park JM, Lee KM, Lee EM, Lee SH, Song HJ, Koh YS, Lee KW, Jang WJ, Park KH. 2007. First molecular detection of *Borrelia afzelii* in clinical samples in Korea. Microbiol Immunol. 51:1201-7.
- (7) Craig-Mylius KA, Lee M, Jones KL, Glickstein LJ. 2016. Arthritogenicity of *Borrelia burgdorferi* and *Borrelia garinii*: comparison of infection in mice. Am J Trop Med Hyg. 80:252-8.
- (8) Johnson BJ, Robbins KE, Bailey RE, Cao B, Sviat SL, Craven RB. 1996. Serodiagnosis of Lyme disease : accuracy of a twostep approach using a flagella – based ELISA and immunoblotting. J Infect Dis. 174:346-53.
- (9) Lee SH, Jung KD, Lee JH, Kim SC, Kim JH, Jang WJ, Park KH. 2002. Characterization of *Borrelia afzelii* isolated from *Ixodes nipponensis* and *Apodemus agrarius* in Chungju, Korea, by PCR-rFLP analyses of *ospC* gene and *rfl* (5S)-*rfl* (23S) intergenic spacer. Microbiol Immunol. 46:677-83.

- (10) Lin YP, Benoit V, Yang X, Martínez-Herranz R, Pal U, Leong JM. 2009 Strain-specific variation of the decorin-binding adhesin DbpA influences the tissue tropism of the Lyme disease spirochete. *PLoS Pathog.* 31:10.
- (11) Ma B, Christen B, Leung D, Vigo – Pelfrey C. 1992. Serodiagnosis of Lyme *borreliosis* by Western immunoblot : reactivity of various significant antibodies against *Borrelia burgdorferi*. *J Clin Microbiol.* 30:370–6.
- (12) Muehlenbachs A, Bollweg BC, Schulz TJ, Forrester JD, DeLeon Carnes M, Molins C, Ray GS, Cummings PM, Ritter JM, Blau DM, Andrew TA, Prial M, Ng DL, Prahlow JA, Sanders JH, Shieh WJ, Paddock CD, Schriefer ME, Mead P, Zaki SR. 2016. Cardiac Tropism of *Borrelia burgdorferi*: An Autopsy Study of Sudden Cardiac Death Associated with Lyme Carditis. *Am J Pathol* 186(5):1195-205
- (13) Noh Y, Kim SY, Lee YS, Kim DW, Kwon T, Hwang KJ. 2014. Whole-Genome Sequence of *Borrelia garinii* Strain 935T Isolated from *Ixodes persulcatus* in South Korea. *Genome Announc.* 24:1-2.
- (14) Park JW, Chung JK, Kim SH, Cho SJ, Ha YD, Jung SH1, Park HJ, Song HJ, Lee JY, Kim DM3, Pyus J, Ha DR, Kim ES, Lee JI. 2016. Seroepidemiological Survey of Zoonotic Diseases in Small Mammals with PCR Detection of *Orientia tsutsugamushi* in Chiggers, Gwangju, Korea. *Korean J Parasitol.* 3: 307-13,
- (15) Park, K.H., Chang, W.H., and Schwan, T.G. 1993. Identification and characterization of Lyme disease spirochetes, *Borrelia burgdorferi* sensu lato, isolated in Korea. *J Clin Microbiol.* 31:1831–1837.
- (16) Picken RN, Strle F, Picken MM, Ruzic-Sabljić E, Maraspin V, Lotric-Furlan S, Cimperman J. 1998. Identification of three species of *Borrelia burgdorferi* sensu lato (*B. burgdorferi* sensu stricto, *B. garinii*, and *B. afzelii*) among isolates from acrodermatitis chronica atrophicans lesions. *J Invest Dermatol.* 110:211-4.
- (17) Rijpkema SG, Molkenboer MJ, Schouls LM, Jongejan F, Schellekens JF. 1995. Simultaneous detection and genotyping of three genomic groups of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in Dutch *Ixodes ricinus* ticks by characterization of the amplified intergenic spacer region between 5S and 23S rRNA genes. *J Clin Microbiol.* 33:3091-5.
- (18) Rudenko N, Golovchenko M, Grubhoffer L, Oliver JH Jr. 2011. Updates on *Borrelia burgdorferi* sensu lato complex with respect to public health. *Ticks Tick Borne Dis.* 2:123-8.

- (19) Sapi E, Pabbati N, Datar A, Davies EM, Rattelle A, Kuo BA. 2013. Improved Culture Conditions for the Growth and Detection of *Borrelia* from Human Serum. *Int J Med Sci.* 10:362-76
- (20) Stanek G, Reiter M. 2011. The expanding Lyme *Borrelia* complex--clinical significance of genomic species? *Clin Microbiol Infect.* 17:487-93.
- (21) Steere AC. 2001. Lyme disease. *N Eng J Med.* 345:115-25.