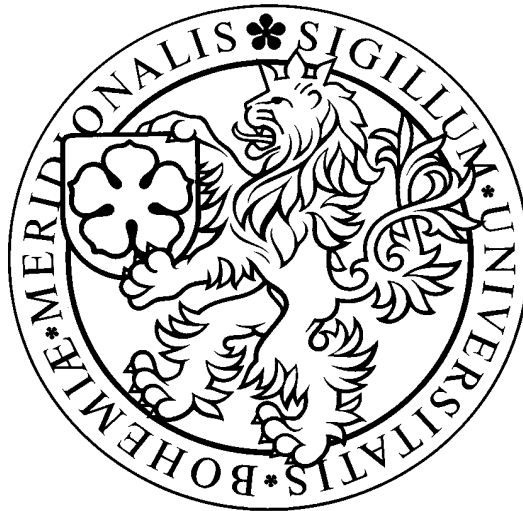


**PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA JIHOČESKÉ UNIVERZITY
V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH**



**EKOLOGICKÉ A EPIDEMIOLOGICKÉ ASPEKTY
LYMESKÉ BORELIÓZY**

Bakalářská práce 2008

Autor: Lucie Brejchová

Vedoucí práce: doc. RNDr. Jan Kopecký, CSc.

Brejchová L, 2008: Ekologické a epidemiologické aspekty Lymeské boreliózy. [Ecological and epidemiological aspects of Lyme borreliosis. Bc., Thesis, in Czech] – 41 p., Faculty of Science, University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic.

Annotation:

This Bc. thesis deals with the most common human tick-borne disease, the Lyme borreliosis, its occurrence and clinical features. Spirochetes from the *Borrelia burgdorferi* complex are causative agents of the disease. Ticks of the genus *Ixodes* are responsible for pathogen transmission from wild animals to humans.

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci jsem vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to v nezkrácené podobě – v úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných Přírodovědeckou fakultou – elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách.

V Miroticích 28. 4. 2008

.....

Lucie Brejchová

Na tomto místě bych chtěla poděkovat svému školiteli doc. RNDr. Janu Kopeckému, CSc. a školiteli specialistovi primární infekčního oddělení Nemocnice České Budějovice a.s. MUDr. Václavu Chmelíkovi za trpělivost a cenné rady.

Obsah

1. Cíl práce	2
2. Úvod	3
3. Historie Lymeské boreliózy	3
4. Etiologické agens	4
4.1. <i>Borrelia burgdorferi</i> sensu lato	4
4.2. Druhy borelií	4
4.3. Morfologie patogena	5
4.4. Bakteriální genom	6
4.5. Osp proteiny A, B, C, D, E a F	7
4.6. Další antigeny	8
4.7. Teplotně řízená genová regulace	10
4.8. Druhy klíšťat přenášející <i>Borrelia burgdorferi</i>	10
4.9. Rezervoáry borelií	11
4.10. Podmínky kultivace borelií	11
4.11. Patogeneze	11
4.12. Imunitní odpověď organismu na infekci <i>Borrelia burgdorferi</i> sensu lato	12
5. Vakcinace	13
6. Klinické formy	14
6.1. Postižení kůže	14
6.1.1. Migrující erytém – erythema migrans	14
6.1.2. Borreliový lymfocytom (BL)	15
6.1.3. Chronická atrofická akrodermatitida (ACA)	15
6.1.4. Diagnostika kožních forem LB	15
6.2. Postižení nervového systému – neuroborelióza	15
6.2.1. Diagnostika neuroboreliózy	16
6.3. Postižení muskuloskeletálního systému	16

6.3.1. Diagnostika postižení muskuloskeletálního systému	17
6.4. Postižení srdce – Lymeská karditida	17
6.4.1. Diagnostika Lymeské karditidy	17
6.5. Postižení oka	17
7. Výskyt onemocnění ve světě	18
8. Výskyt onemocnění v České republice	18
9. Klíště	18
9.1. Obecná charakteristika klíšťat	18
9.2. Choroby přenášené klíšťaty	18
9.3. <i>Ixodes ricinus</i>	19
9.4. Geografické rozšíření	19
9.5. Vývojová stadia	20
9.6. Velikost a délka sání	21
9.7. Kopulace	21
9.8. Styk klíštěte s hostitelem	21
9.9. Přenos patogenů do hostitele	22
9.10. Podmínky výskytu klíšťat	22
9.11. Způsob přenosu borelií na obratlovce	23
9.12. Hlavní cesta nákazy klíštěte <i>Borrelia burgdorferi</i>	24
9.13. Obranná reakce klíšťat na infekci boreliemi	25
10. Prevence a ochrana člověka před napadením klíšťaty	26
11. Incidence Lymeské boreliózy v ČR	26
12. Diskuze	31
13. Závěr	34
14. Seznam použité literatury	35

1. Cíl práce

Cílem této bakalářské práce je prostudování dostupné literatury o daném problému a vypracování literární rešerše, zahrnující popis patogena, jeho interakci s hostitelem, lidské onemocnění a epidemiologii choroby. Dále zhodnocení vlivu klimatu na výskyt klíšťat a problematiky vakcinace proti Lymeské borelióze.

2. Úvod

Lymeská borelióza (LB) je zoonóza způsobovaná spirochetou *Borrelia burgdorferi* sensu lato (Lipsker, 2007). Spirochety *Borrelia burgdorferi* sensu lato jsou přenášeny hlavně klíštětem *Ixodes ricinus* (Grubhoffer et al, 2005). U většiny pacientů s tímto onemocněním nacházíme erythema migrans, což je červená skvrna v místě přisátí klíštěte, která se objevuje u 60-80% pacientů 7-20 dní po odstranění klíštěte (Lipsker, 2007). Erythema migrans je jediným spolehlivým znakem pro určení diagnózy (Stanek, Strle, 2003). Onemocnění LB postihuje řadu orgánů a nebezpečí je v tom, že pokud není včas diagnostikováno, může zanechat trvalé následky, které se mohou projevit až za několik let. Výskyt tohoto onemocnění stále narůstá. To může mít souvislost s globálním oteplováním, které má za následek kratší a mírnější zimy, a tak přežití většího množství hostitelů (drobní hlodavci) a přenašečů (klíšťata).

3. Historie Lymeské boreliózy

LB se řadí k nemocem, jejichž podstata byla objevena v 80. letech minulého století. Jde tedy o chorobu relativně novou. Popisy klinických jednotek, které do jejího obrazu patří, jsou však známy mnohem déle (Roháčová, 2005). První popis případu LB se objevil v roce 1883 v Německu, kdy německý lékař Alfred Buchwald poprvé popsal kožní změny u pacienta s idiopatickou kožní atrofií (Buchwald 1883). Podobné případy byly popsány v roce 1902 Karlem Herxheimerem a Kuno Hartmanem, který tento jev nazval acrodermatitis chronica atrophicans (ACA) (Herxheimer, Hartman, 1902). V roce 1909 švédský dermatolog Arvid Afzelius poprvé popsal erythema migrans (EM) (Afezelius, 1910). V roce 1913 Benjamin Lipschütz uvedl několik případů migrujícího erytému a označil jej jako erythema chronicum migrans (Roháčová, 2005). Garin a Bujadoux v roce 1922 popsali ženu, která po přisátí klíštěte a po následujícím migrujícím erytému, měla bolesti, ochrnutou ruku a zvýšený počet lymfocytů v cerebrospinální tekutině (Garin, Bujadoux, 1922). V roce 1941 bylo pozorování rozšířeno o údaje Alfreda Bannwartha o pacienty se zánětem mozkových blan a obrnou lícního nervu. Projevy tohoto typu jsou označovány jako Garinův-Bujadouxův-Bannwarthův syndrom (Bannwarth, 1941). V roce 1948 Carl Lennhoff prezentoval nález spirochet v biopsii provedené z erythema migrans (Lennhoff, 1948). Tento nález inspiroval Hollströma k použití

penicilinu k léčbě EM v roce 1951 (Hollström, 1951).

Od roku 1975 začíná intenzivní výzkum na poli LB, který započal upozorněním na kloubní obtíže některých rodin v americkém městě Old Lyme ve státě Connecticut (Roháčová, 2005). To vedlo k nazvání nemoci Lymeskou artritidou (Steere et al., 1977). Při dalším pečlivém sledování se zjistilo, že nové sezónní onemocnění může mít i kardiální, neurologické a kožní příznaky. Proto se původní označení Lymeská artritida posléze změnilo na Lymeská nemoc (Gustafson, 1993). Prvním odborníkem, který dal do souvislosti klíště (později identifikované jako *Ixodes scapularis*) a EM, byl biolog Joe Dowhan (Roháčová, 2005). V roce 1982 William Burgdorfer zcela náhodně izoloval do té doby neznámé spirochety ze střeva klíštěte *Ixodes dammini* (dnešní název *Ixodes scapularis*) a vyřešil tak otázku původce choroby (Burgdorfer et al., 1982), který byl později (v roce 1984) na počest Burgdorfera označen jako *Borrelia burgdorferi* (Roháčová, 2005).

4. Etiologické agens

4.1. *Borrelia burgdorferi* sensu lato

Původcem onemocnění je bakterie *Borrelia burgdorferi* sensu lato. Borelie jsou v přírodě udržovány díky infekčnímu cyklu mezi divokými savci a klíšťaty. Jsou to choulostivé, pomalu rostoucí bakterie, které v přírodě nalézáme pouze ve spojení s členovci nebo savčími hostiteli (Rosa, 1997). Rozeznáváme několik druhů patogenních borelií pro člověka, které se liší i uvnitř jednoho druhu ve své antigenní výbavě. Navíc u nich může docházet i ke změnám v antigenní skladbě, například při kultivaci. Patogenita dalších borelií není zatím jednoznačně prokázána (Roháčová, 2005).

4.2. Druhy borelií

Borrelia burgdorferi sensu lato je komplex nejméně dvanácti blízce příbuzných druhů borelií, z nichž jen některé způsobují onemocnění LB (Krupka et al. 2007).

Tabulka 1: Druhy *Borrelia burgdorferi* sensu lato a jejich světové rozšíření.

<i>Borrelia</i> species	Výskyt
<i>Borrelia burgdorferi</i> sensu stricto	Evropa, Severní Amerika
<i>Borrelia garinii</i>	Evropa, část Asie
<i>Borrelia afzelii</i>	Evropa, část Asie
<i>Borrelia valaisiana</i>	centrální Evropa, Irsko, Nizozemí, velká Británie
<i>Borrelia lusitaniae</i>	Portugalsko, Tunis, vzácně centrální a východní Evropa
<i>Borrelia bissettii</i>	Slovensko, Severní Amerika
<i>Borrelia japonica</i>	Japonsko
<i>Borrelia tanuki</i>	Japonsko
<i>Borrelia sinica</i>	Čína
<i>Borrelia turdii</i>	Japonsko
<i>Borrelia andersoni</i>	Severní Amerika
<i>Borrelia spielmani</i>	

V tabulce jsou uvedeny druhy *Borrelia burgdorferi* sensu lato a jejich výskyt.

Borrelia burgdorferi sensu lato je souhrnný název pro komplex všech uvedených druhů borelií (Stanek et al., 2002). Pouze několik druhů borelií způsobuje onemocnění u lidí (Grist, 1992). Tyto druhy jsou v tabulce zvýrazněny. V Severní Americe je nejrozšířenější *Borrelia burgdorferi* sensu stricto (Marti Ras et al., 1997). Zastoupení jednotlivých druhů v Evropě je následující: *Borrelia garinii* (39,7 %), *Borrelia afzelii* (37,1 %), *Borrelia burgdorferi* sensu stricto (15,9 %), *Borrelia valaisiana* (6,7 %) a *Borrelia lusitaniae* (0,6 %) (Hubálek, Halouzka, 1997). Americké a evropské izoláty se liší v morfologii (Hovind-Hougen et al. 1986), proteinech vnější membrány (Barbour et al. 1985), plazmidech (Barbour, 1988) a v homologii DNA (LeFebvre et al., 1989).

4.3. Morfologie patogena

Borrelia burgdorferi je gramnegativní spirálovitá bakterie s periplazmatickými bičíky. Charakteristický tvar borelie je využit periplazmatickým bičíkem, který se nachází pod vnější membránou a připojuje se k protoplazmatickému válci (Rosa P, 1997). Velikost borelie kolísá mezi 8 a 30 µm v délce. Příčný průměr borelie je 0,2 a 0,3 µm. Tělo je tvaru šroubovice se 4-15 pravidelnými závity, vzdálenými 2,2 µm. Obal bakterie tvoří cytoplazmatická membrána,

kteřá je navíc kryta buněčnou stěnou. Ta je oddělena periplazmatickým prostorem od cytoplazmatické membrány na povrchu protoplazmatického válce (Barbour, Hayes, 1986). Buněčná stěna sestává ze tří vrstev, vnitřní peptidoglykanové, střední lipopolysacharidové a vnější lipoproteinové, přičemž střední a vnější vrstva buněčné stěny tvoří tzv. vnější membránu. Vnější membrána je tvořena ze 45-62 % proteiny, 23-50 % lipidy a 3-4 % sacharidy a tvoří podstatnou část buněčné stěny (Barbour, Hayes, 1986). Od ostatních gramnegativních bakterií odlišuje borelie vysoký výskyt proteinů vnější bakteriální membrány, které se zde nacházejí v podobě kovalentně modifikovaných lipoproteinů a jsou přítomny i jiné glykolipidové antigeny (Brandt et al., 1990). Zcela zde chybí lipopolysacharid, který jinak běžně tvoří vnější část buněčné stěny gramnegativních bakterií (Takayama et al., 1987). Vnější membrána obsahuje relativně málo transmembránových proteinů ve srovnání s jinými gramnegativními bakteriemi (Jones et al., 1995). Je pravděpodobné, že tyto odlišnosti odrážejí unikátní fyziologické mechanismy, pomocí kterých borelie přežívají v různých životních prostředích (savcích i v klíšatech). Mohou také odrážet mechanismy patogeneze LB (Radolf et al., 1995). Bakterie je schopna pohybovat se rotací kolem podélné osy nebo smršťováním a natahováním. Pohyb umožňují bičíky (endoflagely), jejichž počet kolísá mezi 7 a 11. Bičíky vystupují na obou koncích buňky z bazálních disků, umístěných v cytoplasmatické membráně, a obtáčejí tělo borelie pod vnější buněčnou stěnou (Bergström et al., 2002). Bičíky jsou duté neopouzdržené. Borelie, které jsou bez bičků, vytvářejí nepravidelné struktury (cysty, granula) (Barbour, Hayes 1986).

4.4. Bakteriální genom

Spirochety *Borelia burgdorferi* mají unikátní genom. Genom všech druhů *Borrelia burgdorferi* sensu lato je neobvyklý v tom, že obsahuje jeden lineární chromozom a různé množství lineárních a cirkulárních plazmidů (Xu , Johnson, 1995). Téměř všechny bakterie mají chromozom i plazmidy cirkulární (Lin et al., 1993). Koncem roku 1997 byla poprvé uveřejněna sekvence genů boreliového chromozomu, stejně tak sekvence devíti lineárních a dvou kruhových plazmidů *Borrelia burgdorferi* sensu stricto. Chromozom je dlouhý 910 725 bp, obsahuje 28,6% GC-sekvencí a kóduje 853 genů pro proteiny DNA replikace, transkripce, translace, transport látek a energetický mechanismus (Fraser et al., 1997). Genom obsahuje 12 lineárních a 9 cirkulárních plazmidů a malý lineární chromozom (Fraser et al., 1997).

Extrachromozomální elementy (plazmidy) nejsou u mikroorganismů žádnou zvláštností. Skutečnost, že borelie mohou disponovat až 20 plazmidy (lineárními nebo kruhovými), je jasně odděluje od ostatních bakterií. Dokonce i mezi jednotlivými izoláty existují drastické odchylky v množství a ve velikosti (9-70 kb) plazmidů (Oschmann, Kraiczy, 1998). Vztahy mezi plazmidovými profily a druhy borelií při použití 40 různých borelií z různých biologických a geografických zdrojů zkoumali Y. Xu a R. C. Johnson (Xu, Johnson, 1995).

4.5. Osp proteiny A, B, C, D, E, F

Genom *Borrelia burgdorferi* kóduje velké množství lipoproteinů, které se nacházejí na vnější membráně a pravděpodobně hrají důležitou roli v přenosu borelií do hostitele (Ohnishi et al., 2001). Tyto proteiny se označují jako Osp (Outer surface proteins). Proteinům OspA, OspB a OspC jsou nejčastěji věnovány studie. Tyto proteiny jsou unikátní tím, že jsou kódovány plazmidy (Ohnishi et al., 2001). Produktem genu *ospA* je membránový protein OspA, který má 273 aminokyselin. Produktem genu *ospB* je membránový protein OspB, který je složen z 296 aminokyselin (Bergström et al., 1989). Mnoho těchto membránových proteinů jsou imunogeny a vyvolávají silnou imunitní odpověď, takže mají obrovskou váhu při diagnostice (Oschmann, Kraiczy, 1998). OspA (31-32 kDa) a OspB (34-36 kDa) jsou běžně přítomny u amerických izolátů. Hojný imunogenní lipoprotein OspA je kódován na lineárním plazmidu o velikosti 49 000 bp, který kromě *ospA* genů obsahuje i geny *ospB* (Barbour, Garon 1987). OspA je variabilní pro různé druhy *Borrelia burgdorferi* sensu lato (Hulínská 2001). Bylo popsáno sedm OspA sérotypů na základě odlišné reakce 112 evropských a 24 severoamerických iziolátů (Wilske et al., 1993). O něco později byl popsán i sérotyp 8 (Wilske et al., 1996 a). OspA umožňuje adhezi na střevní epitel klíštěte a mechanismus produkce tohoto proteinu je popsán v kapitole 4. 7. (Pal et al., 2000). OspB je také variabilní u jednotlivých druhů jak velikostí, tak antigení reaktivitou. Je to specifický antigen a protilátky proti němu se vyskytují jen u některých pacientů a jsou detekovatelné až v pozdních stádiích LB (Doutlík 1996). OspC je séroaktivní antigen převládající u časného stadia infekce způsobené *Borrelia burgdorferi* sensu lato. Jeho molekulová hmotnost se u různých druhů mění (20-25 kDa). Stejně jako OspA byl použit k sérotypizaci, na jejímž základě bylo stanoveno 16 OspC sérotypů (Wilske et al., 1996 b). Geny *ospC* jsou lokalizovány na cirkulárním plazmidu o velikosti 27 000 bp (Masoni et al., 1993). OspC se

syntetizuje v klíšťatech během sání a snižováním reguluje přenos borelií do hostitele (Grimm et al., 2004), což je také popsáno v kapitole 4. 7. OspD je lipoprotein o molekulové hmotnosti 28-29 kDa, který je kódován geny lineárního plazmidu o velikosti 38 000 bp. Jeho exprese je umožněna např. proteolýzou, ke které dochází během léčby hostitelského organismu (Hulínská 2001). OspE a OspF jsou povrchové proteiny o molekulové hmotnosti 18 a 26 kDa (Lam et al., 1994b). Jsou kódovány geny cirkulárního plazmidu o velikosti 32 000 bp (Akins et al., 1995). Patří do skupiny tzv. Erp proteinů (OspEF-related proteins) (Stevenson et al., 1996).

4.6. Další antigeny

Dalšími boreliovými antigeny s konstantní molekulovou hmotností jsou 41 kDa protein p41 (flagelin) a 60 kDa protein HSP60. Flagelin je bičíkový antigen a má vedle zkříženě reagujících epitopů také sérotypspecifické epitopy, zatímco HSP60 je cytoplazmatický antigen a vykazuje vysokou zkříženou reaktivitu s jinými bakteriemi (Oschmann, Kraiczy, 1998).

Tabulka 2: Lokalizace různých membránových proteinů a jejich význam pro imunitu hostitele. Osp: outer surface protein, EppA: exported protein A, Oms: outer membrane-spanning protein, Bmp: basic membrane protein

Protein	Molekulová hmotnost (kDa)	Genetické umístění	Velikost plazmidu (kb)	Imunitní odpověď v lidském hostiteli
OspA	31-32	lineární plazmid	49	ano
OspB	34-36	lineární plazmid	54	ano
OspC	20-25	cirkulární plazmid	27	ano
OspD	28-29	lineární plazmid	38	ne
OspE	18	cirkulární plazmid	32	ne
OspF	26	cirkulární plazmid	32	ne
EppA	18	cirkulární plazmid	9	ne
Flagelin (p41)	41	chromozom	-	ano
Osm66 (p66)	66	chromozom	-	ano
p83/100	80-100	chromozom	-	ano
BmpA (p39)	39	chromozom	-	ano
p18	18	plazmid	?	ano

4.7. Teplotně řízená genová regulace

Na základě výměny hostitelů během vývoje musí být borelie schopny upravit svoji biosyntézu v krátkém čase, jako odpověď na novou situaci. Proto disponují koordinovanou genovou expresí. Doposud nejlépe prozkoumaná teplotně řízená genová regulace se týká dvou vnějších membránových proteinů OspA a OspC (Oschmann, Kraiczy, 1998). Hladina exprimovaného proteinu OspA je v boreliích před nasátím klíštěte prokazatelná, ale už tomu tak není po dokončení sání. Během přenosu borelií do savčího hostitele imunologická data předpokládají, že borelie změní svůj povrch a začne exprimovat OspC, přičemž OspA se neexprimuje vůbec nebo jen ve velmi malém množství. Tato změna je regulována teplotou. OspC je vytvářen při teplotě 32-37 °C, není vytvářen při 24 °C (Schwan et al., 1995). Tím, jak se zvyšuje teplota, v důsledku přívodu krve do střeva klíštěte, začíná exprese OspC, který je pak prokazatelný na membránovém povrchu (Oschmann, Kraiczy, 1998). OspC proteiny se ve střevě klíšťat objevují na spirochetách během sání krve, a právě to zřejmě způsobí, že borelie střevo opouští a hemolymfou putují do slinných žláz klíštěte a odtud jsou pak přenášeny do nového hostitele (Schwan et al., 1995). Tímto se vysvětluje velice slabá imunitní odpověď na OspA a velice silná odpověď na OspC (Oschmann, Kraiczy, 1998).

4.8. Druhy klíšťat přenášející *Borrelia burgdorferi*

Borrelia burgdorferi je přenášena několika druhy klíšťat (Levine et al. 1985).

Tabulka 3: Druhy klíšťat přenášející *Borrelia burgdorferi* (Gustafson, 1993)

Druh	Výskyt
<i>Ixodes ricinus</i>	Evropa
<i>Iodes persulcatus</i>	Asie, výchdní Evropa
<i>Ixodes scapularis</i>	severo-východní a západní USA
<i>Ixodes pacificus</i>	západ USA

4.9. Rezervoáry borelií

Efektivní rezervoár musí být hojně napadán klíšťaty a zároveň musí umožňovat přenos mikroorganismů do klíštěte (Jeanson, 1991, Mather et al., 1989). V Evropě pokládáme osm savců za vhodné rezervoáry pro *Borrelia burgdorferi*. Jsou to myšice křovinná, myšice lesní (Aeschlimann et al., 1986), normík rudý (Hovmark et al., 1988), myšice temnopásá (Matuschka et al., 1992), rejsek obecný, rejsek malý, zajíc polní a zajíc běláček. (Tälleklint et al., 1993). Na severovýchodě USA se za efektivní rezervoár považuje křečík bělonohý (Levine et al., 1985).

4.10. Podmínky kutivace borelií

Borelie rostou *in vitro* v mediu bohatém na živiny, které obsahuje aminokyseliny, vitamíny, hovězí sérový albumin a králičí sérum (Oschmann, Kraiczy, 1998). Generační doba borelií je 12-24 hodin a optimální teplota pro růst je mezi 33°C a 35°C (Barbour, 1984). Borelie se dělí příčným nebo podélným zaškrcováním. Vytvořením příčného nebo podélného septa ztrácí mateřská buňka polovinu bičíků, ale ne disky a háčky, ze kterých v dceřinných buňkách vyrostou nové bičíky (Barbour, Hayes 1986).

4.11. Patogeneze

K proniknutí borelií do lidského organismu dochází nejčastěji přisátím klíštěte v kterémkoli z jeho vývojových stadií. Nákaza slinami potřebuje delší dobu sání z toho důvodu, že teprve po 24 hodinách se borelie ze střeva klíštěte dostávají do jeho hemolymfy a slinných žláz. Včasným odstraněním klíštěte můžeme předejít nákaze. K dřívějšímu zanesení infekce do kůže může dojít přímo ze střeva, zvláště při nesprávném odstraňování klíšťat holou rukou. Vnímavý je každý člověk, přirozená odolnost neexistuje. Po proniknutí do kůže se borelie zvolna množí a současně šíří v kůži za vzniku erythema migrans nebo putují lymfatickými cestami do mízních uzlin, kde vyvolají primární specifickou imunologickou odpověď. Vniknutí borelií do krevního oběhu je spojeno s rozsevem do dalších orgánů, hlavně těch, které patří k retikuloendotelovému systému (Doutlík, 1996). Protože borelie brzy pronikají do různých orgánů i přes hematoencefalitickou bariéru, kde napadají nervové buňky a glie, jejich přítomnost v krvi není dlouhodobá. V obraně hostitele hrají roli jak faktory buněčné, tak protilátkové odpovědi. Buněčná odpověď je při migrujícím erythemu spojena

s výskytem CD4 a CD8 lymfocytů a makrofágů. (Roháčová H, 2005)

4.12. Imunitní odpověď organismu na infekci *Borrelia burgdorferi sensu lato*

Povrchové proteiny borelií Osp jsou odpovědné za imunitní hostitelskou odpověď (Montgomery et al., 1996). Lipoproteiny borelií jsou mohutným stimulatorem makrofágů, v nichž vyvolávají produkci interleukinu-1 (IL-1), který zodpovídá za zvýšení teploty i sedimentace u erytrocytů a významně se podílí na vzniku kožních i kloubních změn. IL-1 jako hlavní imunoregulační produkt makrofágů stimuluje sekreci kolagenázy a prostaglandinů ze synoviálních buněk, působí chemotakticky na neutrofilů a stimuluje T-lymfocyty k produkci interleukinu-2 a dalších lymfokinů. Makrofágy splňují podmínky pro rozvoj specifické imunitní reakce uskutečňované lymfocyty B a T (Doutlík, 1996). Specifickou buněčnou odpověď lze u LB zjistit velmi časně, již před vznikem měřitelného kvanta humorálních protilátek. Souvisí to se vzájemnou kooperací T a B buněk probíhající při antigenní stimulaci. Pestré antigenní složení borelií způsobuje postupný rozvoj reakcí na dílčí antigeny, jejichž spektrum v průběhu nemoci narůstá. IgM-protilátky se objevují obvykle za 3-4 týdny po infekci, maxima dosahují za 6-8 týdnů a pak jejich hladina obvykle klesá. Imunitní odpověď zprostředkovaná IgM-protilátkami je zaměřena především na bičíkový antigen p41. Při dlouhodobém přetrvání odpovědi zprostředkované IgM-protilátkami se tvoří protilátky i na jiné antigeny (OspB) (Bartůněk, 1996). Specifické protilátky IgG, které odpovídají na OspA (Kalish et al., 1995) se objeví po 6-8 týdnech, již v nepřítomnosti IgM a mohou přetrvávat mnoho let po léčbě (Nadelman, Wormser, 1998). Borelie mají různé možnosti, jak se vyhnout mechanismu obrany proti infekci, která je zprostředkována boreliocidními protilátkami. Kromě četných antigenních variací, dochází často k proniknutí borelií do imunologicky privilegovaných oblastí, například do CNS. Tady jsou borelie chráněny před vlivem některých antibiotik i před stykem s imunologicky kompetentními buňkami (Bartůněk, 1996). Ochranné prostředí pro borelie představují i lidské fibroblasty, kde borelie přežívají intracelulárně i přesto, že jsou to extracelulární bakterie (Roháčová, 2005). V průběhu interakce borelií a imunitního systému dochází často k navození autoimunitních reakcí, které se mohou účastnit nebo dokonce stát iniciátory různých orgánových změn. U časného stadia neuroboreliózy jsou autoimunitní reakce přítomny ve více než 50 %. IgM-protilátky proti boreliím reagují zkříženě s antigeny nervových axonů. Za zkříženou humorální reakci zodpovídá hlavně flagelinový antigen.

Kromě autoimunitních reakcí a zkřížených reakcí vznikají ještě imunitní komplexy (agregáty protilátek a antigenů), které jsou imunopatologické z toho důvodu, že jejich nedostatečné odbourávání a vylučování z organismu vede k usazování do synoviální membrány (nachází se na vnitřní straně kloubního pouzdra), což vede ke vzniku artritid. Specifické protilátky vázané na boreliový antigen společně s komplementem přitahují neutrofile, z nichž se uvolňují enzymy atakující kloubní struktury. Přetrvávání imunitních komplexů v oběhu přispívá i k rozvoji srdečních a nervových poruch. Vedle změn zprostředkovaných imunologickými mechanismy uplatňují borelie také svůj přímý vliv na tkáňové struktury. Mají zvláštní schopnost adherence k různým savcím buňkám hlavně k lidským endotelovým buňkám. To může vést ke změnám v cévní stěně. Závažnost LB je dána i schopností borelií dlouhodobě přežívat v organismu a podílet se na progresi nemoci (Bartůněk, 1996).

5. Vakcinace

Vývoj vakcíny je u etiologického agens jako je *Borrelia burgdorferi* sensu lato poměrně složitý. Je to dáno jeho vysokou antigenní variabilitou. Přesto ale byla ve Spojených státech vakcína vyvinuta, protože antigenní variabilita zde není taková jako u evropských kmenů. Ve studiích, které proběhly v letech 1994-1997, se kandidátem pro přípravu vakcíny stal OspA, proti kterému se tvoří protektivní protilátky (Steere et al., 1998). Vakcína pod názvem LYMERIX byla uvedena na americký trh v roce 1998, ale v únoru 2002 byla její výroba přerušena. Hlavním důvodem byla vysoká cena všech tří vakcinačních dávek, při nichž však nebyla zaručena potřebná efektivita očkování. Vakcína byla v USA obecně málo účinná a v Evropě nebo Asii téměř neúčinná (Hayes, Schriefer, 2002). Vzhledem k tomu, že incidence LB je vysoká i v Evropě, jsou snahy o výrobu očkovací látky i zde. V roce 1998 byly uvedeny první výsledky s použitím rekombinantní polyvalentní vakcíny na bázi lipoproteinu OspC. Byla použita na dobrovolnících a její imunogenita byla hodnocena jako dobrá. Do klinického použití zatím nebyla uvedena (Lathrop et al., 2002). K dispozici je v současné době pouze americká vakcína pro veterinární účely proti *Borrelia burgdorferi* sensu stricto (Roháčová H, 2005).

6. Klinické formy

Rozmanitost klinických projevů u LB je dána tím, že tato spirochetální infekce je způsobena několika rozdílnými bakteriálními druhy (www.onkologickecentrum.cz).

Klasifikace LB rozlišuje 3 stadia: časné lokalizované stadium, časné diseminované stadium a pozdní stadium (Asbrink, Hovmark, 1988).

- Časné lokalizované stadium

V tomto stadiu je typickým příznakem šířící se skvrna, kterou nazýváme erythema migrans. Objevuje se přibližně po 7-20 dnech v místě přisátí klíštěte. Skvrna se kruhově zvětšuje a mívá ohraničený lem s centrálním výbledem uprostřed (www.onkologickecentrum.cz).

- Časné diseminované stadium

Borelie jsou hematogenně diseminovány (rozneseny) během několika dnů až týdnů do celého organismu. Mezi hlavní projevy patří neurologické příznaky, postižení kloubů, srdeční obtíže, oční projevy, kožní projevy druhého stadia, postižení dalších orgánů (jater, ledvin, plic) (www.onkologickecentrum.cz).

- Pozdní stadium

Dochází k němu měsíce až léta po infekci. Má chronický průběh. Projevuje se nevratným poškozením nervového systému, kloubů a kůže (www.onkologickecentrum.cz).

6.1. Postižení kůže

Kožní formy LB patří k nejtypičtějším postižením (Roháčová, 2005). Ke třem nejčastějším projevům postižení kůže patří erythema migrans, borreliový lymfocytom a chronická atrofická akrodermatitida (Mullegger, 2004).

6.1.1. Migrující erytém - erythema migrans

Migrující erytém - erythema migrans (EM) je nejčastějším projevem LB. Jde o kruhovitou či oválnou afekci, která se vytvoří v místě přisátí klíštěte v odstupu několika dnů až jednoho měsíce (Stanek et al., 2002). Proto je důležité napadené místo ještě několik týdnů sledovat. EM je nebolestivý, jeho velikost může dosáhnout i několik desítek cm. Po několika týdnech až měsících mizí i bez léčby. Během svého vývoje se však mění tak, že většinou od centra bledne a zbývá jasně kolorovaný okraj. Klinicky můžeme EM rozdělit na typ anulární a homogenní s lemem (Roháčová, 2005).

6.1.2. Borreliový lymfocytom (BL)

Borreliový lymfocytom (BL) je druhou typickou dermatózou. Je projevem kožní proliferace lymfoidních buněk (Stanek et al., 2002). Vyskytuje se v místě přisátí klíštěte, ale i mimo něj. Predilekčními místy jsou ušní lalůček, nos, prsní bradavka či šourek. Jde o nebolestivé zduření červenofialové či modrofialové barvy (Hercozová 2001). Odlišují se dva typy. Častý je typ lokalizovaný, vzácný naopak diseminovaný. BL není pozorován v Americe. V Evropě je častější u dětí (více u chlapců) (Roháčová, 2005).

6.1.3. Chronická atrofická akrodermatitida (ACA)

ACA je kožní projev pozdní fáze LB (Lipsker, 2007). ACA se pozoruje pouze v Evropě (Roháčová, 2005). Začíná jako nafialovělá skvrna obvykle na dolních končetinách (Lipsker, 2007). Vzácně se může vyskytnout na trupu či na obličeji (Roháčová, 2005). Tato manifestace je pozorována u 1-2% pacientů. Postižení jsou většinou starší pacienti a ženy. V dětském věku se ACA vyskytuje vzácně (Oschmann, Kraiczy, 1998).

Průběh bývá dělen na fázi zánětlivou a atrofickou (www1.lfl.cuni.cz). Postižení začíná většinou nenápadně mírným erytémem nemocné části a je nebolestivé. Poté se nad kostními prominencemi mohou objevit fibrotické uzlíky. Tím onemocnění přechází do stadia atrofického, kdy dochází k úbytku elastických vláken, kůže se stává nepružnou, prosvítají jí cévy a má charakter cigaretového papíru (Roháčová H, 2005).

Pouze tyto tři kožní projevy jsou nepochybně spojeny s infekcí *Borrelia burgdorferi* (Lipsker, 2007).

6.1.4. Diagnostika kožních forem LB

Pro diagnostiku kožních forem LB je hlavním diagnostickým nástrojem sérologické vyšetření boreliových protilátek, které jsou prokazatelné 3-6 týdnů po infekci. Stejnou citlivost pro vyšetření má ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) a IFT (Immunofluorescence test) (Garbe, 1991).

6.2. Postižení nervového systému – neuroborelióza

Jako neuroboreliózu označujeme takový průběh LB, kdy je napaden nervový systém. Symptomatologie neuroboreliózy je bohatá a proměnlivá (Zajkowska, 2000). Neuroborelióza

postihuje 12-14 % nemocných. Postižen může být jak centrální, tak periferní nervový systém. Již záhy po infekci dochází k průniku borelií krevní cestou do nervové tkáně, a to i přes to, že je nervová tkáň před průnikem patologických agens chráněna poměrně dokonalou hematoencefalitickou bariérou (Roháčová H, 2005). Bolesti hlavy nebo psychická porucha může být projevem počátečního osidlování CNS boreliemi. Může být napadena jakákoliv část nervového systému. Mezi klinické projevy neuroboreliózy patří encefalitida a meningitida, což jsou projevy akutní centrální neuroboreliózy. Často splývají do meningoencefalitidy. Postižení míchy vede k myelitidě, která je daleko vzácnější. Encefalitida a meningoencefalitida bývají provázeny obrnami hlavových nervů, z nichž je nejtypičtější obrna lícního nervu (Zajkowska, 2000).

Dalším klinickým projevem je Garinův-Bojadouxův-Bannwarthův syndrom, který je charakterizovaný chabými periferními parézami, někdy i parézou lícního nervu, dále aseptickým likvorovým nálezem a krutými radikulárními bolestmi. Neuroborelióza se dává i do spojitosti se vznikem psychiatrických onemocnění, poruch paměti či chování a závažným neurastenickým syndromem (Halperin, 1989) .

6.2.1. Diagnostika neuroboreliózy

Při neuroborelióze se provádí vyšetření mozkomíšního moku. Vyšetřují se specifické protilátky a autoprotilátky proti nervovému systému. Cenné je i vyšetření krve na přítomnost borelií, a to buď elektronmikroskopicky, nebo kultivačně. Z laboratorních vyšetření mají význam vyšetření sedimentace erytrocytů, krevního obrazu, jaterních enzymů, renálních funkcí, revmatologické testy a podrobnější imunologické vyšetření (Bartůněk, 1996).

6.3. Postižení muskuloskeletálního systému

Muskuloskeletální postižení, zvláště pak artritidy, jsou časté příznaky LB (Steere, 1995). Nejedná se pouze o postižení kloubů. V časně fázi může pacient trpět migrující bolestí kloubů, šlach, svalů nebo kostí. V pozdní fázi bývají postiženy velké klouby. Často se jedná o monoartritidu s postižením jednoho kloubu, oligoartritidu s postižením 2-4 kloubů nebo polyartritidu s postižením 5 a více kloubů. Nejčastěji bývá postižen kolenní, ramenní či loketní kloub (Steere, 1995).

6.3.1. Diagnostika postižení muskuloskeletálního systému

Hlavním kritériem pro diagnózu je vždy klinický obraz. Důležitým doplňujícím vyšetřením je sérologický průkaz zvýšených antiboreliových protilátek ve třídě IgG (Bartůněk, 1996).

6.4. Postižení srdce – Lymeská karditida

Kardiovaskulární příznaky LB se často objevují už během 21 dní po expozici a zahrnují kolísavý stupeň atrioventrikulární blokády (AV), akutní myoperikarditidu nebo lehkou disfunkci levé části srdce. Vzácně kardiomegalií nebo fatální perikarditidu. AV blokáda může kolísat od prvního, druhého a třetího stupně k srdeční arytmii (Lo R, 2003). Postižení srdce se projevuje tlakem na hrudníku, palpitacemi (bušení srdce), dušností, celkovým diskomfortem nemocného (Roháčová H, 2005).

6.4.1. Diagnostika Lymeské karditidy

Diagnóza je ve většině případů Lymeské karditidy obtížná. Většinou se zjišťuje, zda byl nemocný s kardiálními obtížemi v endemické oblasti. Nicméně je také nezbytný průkaz pozitivního sérologického vyšetření. Diagnostický proces zahrnuje postupy v následujícím pořadí: sérologický průkaz protilátek proti *Borrelia burgdorferi*, přímý průkaz *Borrelia burgdorferi* v myokardu, kompletní kardiologické vyšetření, další laboratorní vyšetření a vyšetření vylučující jiný původ postižení srdce. Sérologické vyšetření zahrnuje průkaz protilátek proti *Borrelia burgdorferi* buď nepřímou imunofluorescencí, nebo metodou ELISA. Přítomnost agens se prokazuje metodou PCR (Bartůněk, 1996).

6.5. Postižení oka

Výskyt očního postižení převažuje v akutním stadiu. V akutním stadiu se postižení oka může projevit jako konjunktivitida (zánět spojivek) několik dní po objevení se erythema migrans. Poškození cév v sítnici vede k retinální vaskulitidě. V chronickém stadiu se může objevit uveitida jako projev imunopatologického postižení. Do obrazu chronického postižení patří také keratitida (zánět rohovky) (Diblík, 2001). Významné je i postižení druhého hlavového nervu (Roháčová H, 2005).

7. Výskyt onemocnění ve světě

LB je onemocnění, které bylo zjištěno v mnoha zemích světa na několika kontinentech (Steere, 2001), a to v Severní Americe, Evropě, Číně, Japonsku, Austrálii a Jižní Americe (Wang et al., 1999b). Na jednotlivých územích je odlišná incidence onemocnění, druhy přenašečů i antigenní výbava jednotlivých etiologických agens a do jisté míry jsou odlišné i klinické projevy (Shapiro, Gerber, 2000). V celém mírném pásu se vyskytuje v závislosti na rozšíření klíšťat rodu *Ixodes*. V USA představuje LB nejčastější zoonózu přenášenou na člověka a nejdůležitější onemocnění přenášené klíšťaty (Barbour, Fish, 1993).

8. Výskyt onemocnění v České republice

V České republice se onemocnění LB věnuje značná pozornost. Její detailní sledování se provádí od roku 1986. Zhruba od téže doby se datují výzkumy, které jsou zaměřeny na hlavního přenašeče (klíště) a na přítomnost spirochét v jeho těle. Promořenost klíšťat boreliemi na území ČR kolísá v rozsahu 2-22 % (Hubálek et al., 1998). Vyšší četnost LB se každoročně vyskytuje v západních Čechách, středních Čechách a na severní Moravě (Janovská, 2001).

9. Klíště

9.1. Obecná charakteristika klíšťat

Klíšťata řadíme do třídy pavoukoců, která zahrnuje dvě významnější čeledi. Ixodidae – ixodidní nebo tvrdá klíšťata, která mají na dorzální (hřbetní) straně těla štítek (scutum) a vykazují větší geografické rozšíření až k subarktickým oblastem, ale většina upřednostňuje mírné klimatické pásy. Jejich sání je rozloženo do několika dní a může trvat až 3 týdny. Druhá čeleď je Argasidae – argasidní nebo měkká klíšťata, která štítek nemají a která žijí v teplých klimatických pásech a jejich sání obvykle trvá jen několik hodin. (Oschmann, Kraiczy, 1998) Tyto dvě hlavní taxonomické kategorie se liší ve tvaru, chování, vývoji a schopnosti přenášet různá onemocnění.

9.2. Choroby přenášené klíšťaty

Klíšťata přenášejí řadu chorob jako například:

1. Klíšťová encefalitida, původcem je virus klíšťové encefalitidy

2. Humánní granulocytární anaplazmóza (HGA), původcem je *Anaplasma phagocytophilum*, přenašeč *Ixodes ricinus* v Evropě a *Ixodes scapularis* v Sev. Americe
3. Humánní monocytární ehrlichioza (HME), původcem je *Ehrlichia chaffensis*, přenašeč *Amblyomma americanum* (klíště americké)
5. Ehrlichioza psů, původce *Ehrlichia canis*, přenašeč *Rhipicephalus sanguineus* (klíště hnědé)
6. Babesioza, původcem je intraerythrocytární prvok z rodu *Babesia*
7. Babesioza u lidí, původcem je *Babesia divergens* a přenašeč *Ixodes ricinus*, dalším původcem je *Babesia microti* a přenašeč *Ixodes scapularis*
8. Tibola, původcem je *Rickettsia slovaca*, přenašeč *Dermacentor marginatus* (piják stepní) (Daniel, Danielová, 2007).

9.3. *Ixodes ricinus*

Ixodes ricinus (klíště obecné) má vejčité tělo, které je rozděleno na přední část - hlavička (*gnathosoma, capitulum*), zadní část (*idiosoma*). Klíště obecné má zřetelné ústní orgány – chelicery a hypostom, které slouží k probodnutí kůže hostitele a sání krve. Hypostom je orgán sloužící k přísátí k hostiteli. Klíště vyhledá palpami vhodné místo k přísátí na hostiteli, vysune chelicery, jejichž zoubky natrhnou pokožku hostitele. Chelicery se v rance zakotví, zatáhnou se a jejich zatažením je hypostom zasunut do ranky. Hypostom je po stranách ozubený. Rychle tvrdnoucí substance produkovaná klíštětem (cement) vede k zakotvení v rance. Sliny *Ixodes ricinus* obsahují inhibitory koagulace a také lokální anestetika, takže přísátí je úspěšné, bezbolestné a často zůstává hostitelem nepovšimnuto. Je to také díky tomu, že klíště si obvykle na lidském hostiteli vybírá méně předpokládaná místa, jako je například vlasová část hlavy, kolenní a loketní jamky, plosky chodidel, uši a stejně tak oblasti genitálií (Süss, 2003). Když se na tyto oblasti zvláště nesoustředíme, je pravděpodobné, že přísáté klíště lehce přehlédneme. U dětí je 75 % klíšťat lokalizováno na hlavě. Je to dáno tím, že děti jsou blíže k vegetaci než dospělí (Süss, 2003).

9.4. Geografické rozšíření

Geografické rozšíření *Ixodes ricinus* sahá od Britských ostrovů přes Středomoří, úzký pruh severní Afriky, jižní Skandinávií, Pobaltí, Petrohradskou oblast, Karélii až po jižní

Povolží, Gruzii, Arménii, severní Írán a Turecko (Daniel, Danielová, 2007). Rozšíření klíšťat závisí na vhodném rostlinném biotopu, teplotě a vlhkosti, která je hlavním limitujícím faktorem a má optimum mezi 86-96 % (Süss, 2003).

9.5. Vývojová stadia

Klíště má tři vývojová stadia. Larva, nymfa a dospělý jedinec (obrázek 1). Každé z těchto stadií saje na jiném hostiteli (Süss, 2003). Toto nazýváme trojhostitelský vývojový cyklus. Hostitelé jsou obratlovci a klíšťata u nás sají na 47 druzích savců a 55 druzích ptáků. Střídání hostitelů spolu s transstadiálním a transovariálním přenosem má zásadní epidemiologický význam (Daniel, Danielová, 2007). Všechna vývojová stadia napadají člověka, nejvíce nymfy. Vývoj z jednoho stadia do druhého trvá u *Ixodes ricinus* asi jeden rok, takže nejkratší životní cyklus trvá tři roky. Nicméně tato hodnota kolísá od 2 do 6 let v závislosti na geografických podmínkách, dostupnosti hostitelů a na klimatických podmínkách. Nenasáté klíště může přežít několik týdnů, ale obvykle nepřežije z jedné sezóny do druhé. Sezóna klíštěte trvá od (března) dubna do října (listopadu) (Daniel, Danielová, 2007). *Ixodes ricinus* tráví 99 % svého života volně v určitých lokalitách se specifickou vegetací. Tak jako u většiny členovců žijících na zemi je i vývoj klíšťat závislý na teplotě, zatímco jejich další život je limitovaný ztrátami vody (Süss, 2003).

Obrázek 1: Vývojová stadia klíšťat (zleva: larva, nymfa, imago - samec, imago - samice)



(<http://www.danmarksinsekter.dk/artskovflaat.htm>)

9.6. Velikost a délka sání

Nenasátá samice *Ixodes ricinus* měří 3-4 mm, samec kolem 2,5 mm, nymfa okolo 1-2 mm a larva okolo 0,6-1 mm. Tvrdá klíšťata z čeledi Ixodidae zvětšují svoje tělo 10-200 krát během sání. Larva saje na hostiteli v průměru 2-4 dny a zvětšuje své tělo 10-20 krát. Nymfy sají 3-5 dní a během sání zvětší svoje tělo 15-40 krát. Dospělé samice sají 6-10 dní a zvětší se 100-200 krát. Každé vývojové stadium saje pouze jednou, kromě dospělého samce, který saje několikrát anebo vůbec, a zvětšuje své tělo pouze dvakrát (Süss, 2003).

9.7. Kopulace

Kopulace se obvykle odehrává na hostiteli ještě před samotným sáním. Krátce po spáření samec umírá. Za několik týdnů klade samice vajíčka, jejichž počet se udává mezi 1000 až 5000. Krátce po naklazení vajíček samice umírá (Süss, 2003). 65-70 % populace kopuluje ve volné fázi života na vegetaci. Ale značná část samců kopuluje znovu s přísátými samicemi, přičemž kopulace je podmínkou plného nasátí samic. Kopulační chování samců je ovlivňováno na dálku chemickými signály emitovanými samicemi. K chemickým signálům patří volatilní substance, kterou produkují nenasáté samice (méně) i nasáté samice (více). Nasáté samice vylučují feromon inhibující kopulační chování samců jako ochranu před znepokojováním při kladení vajíček (Daniel, Danielová, 2007).

9.8. Styk klíšťate s hostitelem

Klíšťata nalézáme na vegetaci, kde pasivně čekají na svého hostitele. Po kontaktu hostitele s vegetací se klíšťe na hostiteli uchycuje. Klíšťata jsou slepá. Pro rozpoznání hostitele jim slouží tzv. Hallerův orgán, který se nachází na posledním článku prvního páru noh. Tento orgán dále zachycuje oxid uhličitý, teplotu, pach, amoniak, pohyby a slouží také k orientaci během sání (Süss, 2003). Vyhledání vhodného místa k sání na těle hostitele může trvat i několik hodin. Způsob přísátí klíšťate na hostitele probíhá v následujících krocích. Nejprve klíšťe vyhledá vhodné místo palpami, vysune chelicery, jejichž zoubky natrhnu pokožku a zakotví se v rance. Do ranky pronikne hypostom a zatažením chelicer je zasunut do

ranky, kam jsou vypuštěny sliny (Daniel, Danielová, 2007).

9.9. Přenos patogenů do hostitele

Získávání a přenos patogenů je odděleno dlouhým obdobím. Řada hormonálně zprostředkovaných změn se v těle sajícího klíštěte vyskytuje během prvního dne po kontaktu s hostitelem (Süss, 2003). Borelie přetrvávají v trávicím traktu klíšťat (Ohnishi et al., 2001). Po nasátí klíštětem se borelie množí v jeho střevní stěně, kde zůstává infekce lokalizována, a exprimují vnější povrchové proteiny. Tyto proteiny nejsou exprimovány, pokud se borelie nachází v hostiteli. V hostitelích se naopak tvoří jiné proteiny, které nenejdeme u borelií v klíšťatech (Fingerle et al., 2000). Pevná tělní stěna na zadečku klíštěte se stává plastickou a roztahuje se, aby pojala množství nasáté krve (Süss, 2003). Během sání pronikají borelie do střevního lumen a hemolymfou jsou zaneseny do slinných žláz klíštěte (Burgdorfer et al., 1987). Slinné žlázy klíštěte fungují jako ledviny a snaží se vracet vodu do těla hostitele. Tím jsou patogeny přenášeny do hostitele (Süss, 2003).

9.10. Podmínky výskytu klíšťat

Aktivita klíšťat začíná při teplotě 5-10 °C, ale optimální teplota je 18-25 °C. Výskyt klíštěte obecného podmiňuje vhodné prostředí (mikroklima) a zdroj krve pro samičky. Suché studené zimy a zvláště takové bez sněhové pokrývky vedou k vyhubení klíšťat. Klíšťata žijí skryta ve vegetaci na zemi a jsou vystavena denním i sezónním výkyvům teplot. Zdrojem krve pro samičky klíštěte obecného jsou lovná zvířata - tzv. divoké místo zaklíštění, pasená zvířata - tzv. pastvinné místo zaklíštění a kombinace obou kategorií - tzv. smíšené místo zaklíštění. Ale dalším zdrojem mohou být i urbanizovaná prostředí jako parky, zahrady, kde klíšťata sají například na psech, kočkách, jezcích atd. Vhodnými prostředími jsou listnaté a smíšené lesy, neudržované pastviny, keře, rokle, strže. Význam zde mají i ekotony (styčné hraniční zóny). Setkáváme se s mozaikovitostí výskytu, kdy klíšťata nalézáme na okrajích lesů, kam proniká slunce, a nenalézáme je v monokulturách jehličnanů (Daniel, Danielová, 2007). V České republice stoupá výskyt klíštěte *Ixodes ricinus* do nadmořské výšky nad 700 m. n. m. Tato horní hranice výskytu byla zkoumána a prokázána v 50. letech minulého století a byla stejná i ve studii, která byla provedena v roce 1983. V roce 2002 byl výskyt *Ixodes*

ricinus prokázán v 1080 m. n. m. na Šumavě a v 1260 m. n. m. v severních Krkonoších u hranic s Polskem. Nasbíraná klíšťata byla posléze testována na infekci virem klíšťové encefalitidy (TBE virus) a na infekci druhu *Borrelia burgdorferi*. TBE virus byl prokázán u klíšťat z nadmořské výšky 720 m. n. m. a borelie byly prokázány u klíšťat z nadmořské výšky 1020 m. n. m. Byly detekovány čtyři druhy borelií. Průzkum prokázal, že horní hranice výskytu klíštěte *Ixodes ricinus* se během dvou desetiletí zvýšila na 1100-1200 m. n. m. Tím pádem se zvětšila i endemická oblast klíšťat. Zvyšuje se riziko nakažení lidí, protože nejvíce turistů navštěvuje Krkonoše v období od června do září, tzn. v období největší aktivity klíšťat (Daniel et al. 2003). Výskyt klíštěte *Ixodes ricinus* je vázán na určité typy vegetace, které poskytují vhodné mikroklima pro vývoj. Dále potravu a úkryty živočišným hostitelům zabezpečujícím zdroj krve pro klíšťata a tak podmínky pro cirkulaci patogenů v animální sféře. Kromě krve přijímají klíšťata vodu i z atmosféry (Süss, 2003). Vegetace je bioindikátorem existence vhodných podmínek ekosystému, jehož je *Ixodes ricinus* stálou součástí, jenž zaručuje podmínky pro koloběh nákazy v přírodě. Člověk je napaden přenašečem a infikován při vstupu do ohniska (Daniel, Danielová, 2007).

9.11. Způsob přenosu borelií na obratlovce

Lymeská borelióza je zoonóza. Nákazu přenášejí klíšťata. Při přenosu *Borrelia burgdorferi* sensu lato se nejčastěji uplatňují klíšťata rodu *Ixodes* (Piesman et al., 1990). V Evropě jsou hlavními přenašeči klíšťata z okruhu *Ixodes ricinus*. Kromě toho i druhy vyskytující se i u nás *Ixodes hexagonus* (klíště ježčí), *Ixodes trianguliceps*, *Haemaphysalis concinna* a *Dermacentor reticulatus* (Daniel, Danielová, 2007). V Americe v severovýchodní a centrální oblasti je to *Ixodes scapularis*, na západním pobřeží *Ixodes pacificus* (Burgdorfer et al., 1991). V Asii je to *Ixodes persulcatus* (Nakao et al., 1994). K dalším členovcům z nichž byly *Borrelia burgdorferi* sensu lato izolovány patří klíšťáci (Argasidae) a to *Argas reflexus* (Itálie) a *Argas vespertilionis* (Anglie), veš (Anoplura) *Haematopinus suis* (Francie), blechy (Siphonaptera) *Ctenophthalmus agyrtes* (ČR), *Ctenophthalmus solutus* (Slovensko), *Megabothris turbidus* (Francie, Slovensko), *Spilopsyllus cuniculi* (Francie), Diptera *Aedes vexans* (ČR), *Aedes cantans* (ČR), *Aedes sticticus* (ČR), *Culex pipiens pipiens* (ČR), *Culex pipiens molestus* (ČR), *Lipoptena cervi* (Francie) (Daniel, Danielová, 2007). O přenosu hmyzem se ale diskutuje. Někteří autoři jej považují za nepochybný, jiní jej zcela odmítají

(Roháčová, 2005). Faktem je, že jsou popsány klinické projevy po štípnutí hmyzem, v němž byly spirochety nalezeny. Nejpravděpodobnějším vysvětlením je nepřímý způsob nákazy, kdy je hmyz na kůži rozdrcen, a spirochety se do organismu hostitele dostávají drobnými oděrkami na kůži. Existuje transplacentární přenos borelií při onemocnění ženy během těhotenství. To je zatím jediný prokázaný přenos borelií z člověka na člověka.

9.12. Hlavní cesta nákazy klíštěte *Borrelia burgdorferi*

Při přenosu *Borrelia burgdorferi* do klíštěte je důležitá vektorová kompetence. Jedná se o schopnost určitého druhu přenašeče (vektora) nakazit se sáním krve infikovaného hostitele a nákazu přenést na nového hostitele. V přírodě se můžeme setkat s několika druhy přenosů.

- Biologický přenos je takový přenos, kdy se agens pomnoží ve specifickém přenašeči nebo v něm prodělá před přenesením na nového hostitele část svého vývojového cyklu.
- Dalším druhem je mechanický přenos, kdy se patogenní agens v přenašeči aktivně nevyvíjí a na hostitele se dostane kontaminativní cestou, například z povrchu končetin, ústním ústrojím, žihadlem nebo exkrementy členovce.

Významný je i přenos, který nazýváme co-feeding. Je to nevědomý přenos, který je u krev sajících členovců běžný. Jedná se o slinami aktivovaný přenos (sousing, SAT-saliva-activated transmission), kdy se klíště nakazí od jiného klíštěte při společném sání na jednom hostitelském obratlovcí. Tento způsob přenosu má zřejmý význam pro udržení agens v přírodě (www.onkologickecentrum.cz). Termín SAT byl poprvé použit k vysvětlení přenosu Thogoto viru spolu s SGE (salivary gland extract) z klíštěte *Rhipicephalus appendiculatus* (Nuttall, Labuda, 2004). Od té doby byl tento jev prokázán u řady patogenů přenášených klíšťaty. Přímým či nepřímým důkazem byl SAT prokázán i u několika patogenů přenášených hmyzem, kam mimo jiné patří *Leishmania* (Titus, Ribeiro, 1988). Experimentálně byl SAT prokázán zvýšením infekčnosti, kdy byl patogen spolu s extraktem ze slinných žláz injikován do hostitele. Výsledky byly srovnány s infekčností, kdy byl injikován pouze samotný patogen (Nuttall, Labuda, 2004). Podobný přímý důkaz tohoto slinami aktivovaného přenosu byl popsán u viru klíšťové encefalitidy a u spirochet LB, a to u *Borrelia afzelii*, *Borrelia burgdorferi* sensu stricto a u *Borrelia lusitaniae*. Nepřímý důkaz SAT je prováděn

pozorováním neviremičského přenosu mezi infikovanými a neinfikovanými klíšťaty, která sají společně na jednom hostiteli (Jones et al., 1987). Tento přenos byl kromě jiného popsán u *Borrelia burgdorferi* sensu stricto, *Borrelia garinii* a *Borrelia afzelii* (Nuttal, Labuda, 2004). SGE z *Ixodes ricinus* zvyšuje množství spirochet *Borrelia lusitaniae* v hostiteli, ale ne *Borrelia burgdorferi* sensu stricto. Naproti tomu SGE z *Ixodes scapularis* zvyšuje hladinu *Borrelia burgdorferi* sensu stricto, ale nemá vliv na diseminaci *Borrelia lusitaniae* (Zeidner et al., 2002). Borelie se mohou mezi přenašeči (vektory) šířit i transovariálně tzn. přes vajíčko, kdy se potomek vylíhne už infikován (www.onkologickecentrum.cz).

9.13. Obranná reakce klíšťat na infekci boreliemi

Hemocyty *Ixodes ricinus* pohlcují spirochety *Borrelia burgdorferi* různými mechanismy, které se také velmi pravděpodobně uplatňují během přirozené boreliové infekce klíšťat. Protože interakci hemocytů s boreliemi je možno ovlivnit volnými sacharidy a glykokonjugáty, lze usuzovat, že v mechanismu vzájemného rozpoznávání a vazby hemocytů s boreliemi jsou zapojeny povrchové sacharidy hemocytů nebo borelií a jejich receptory lektinového typu na povrchu hemocytů či borelií. Borelie pronikají stěnou střeva klíštěte do dutiny hemocoelu, poté do hemolymfy a poté je pohlcují hemocyty. Hemocyty pohlcují borelie fagocytózou čtyřmi mechanismy. Jeden z mechanismů se nazývá coiling fagocytóza. Borelie je pohlcována hemocytem postupně. Jedna z koncových částí borelie je stočena v hemocytu, ale podstatná část se dosud nachází mimo hemocyt volně natažená. Druhým mechanismem je overlapping, kdy se zcela pohlcená borelie nachází v hemocytu stočená. U dalšího mechanismu pohlcování obklopují borelii překrývající se panožky. Borelie je uvnitř hemocytu i v pozdějších fázích uzavřena membránou. Posledním typem je běžný mechanismus fagocytózy. Borelie uzavřené v hemocytu podléhají degradaci (Daniel, Danielová, 2007).

Tabulka 4: Průměrný výskyt *Borrelia burgdorferi* sensu lato v nenasátých klíšťatech *Ixodes ricinus* v Evropě (Daniel, Danielová, 2007).

	průměr	max.	min.
larvy	1,90 %	11 %	0
nymfy	10,80 %	43 %	2 %
dospělci	17,40 %	75 %	1 %

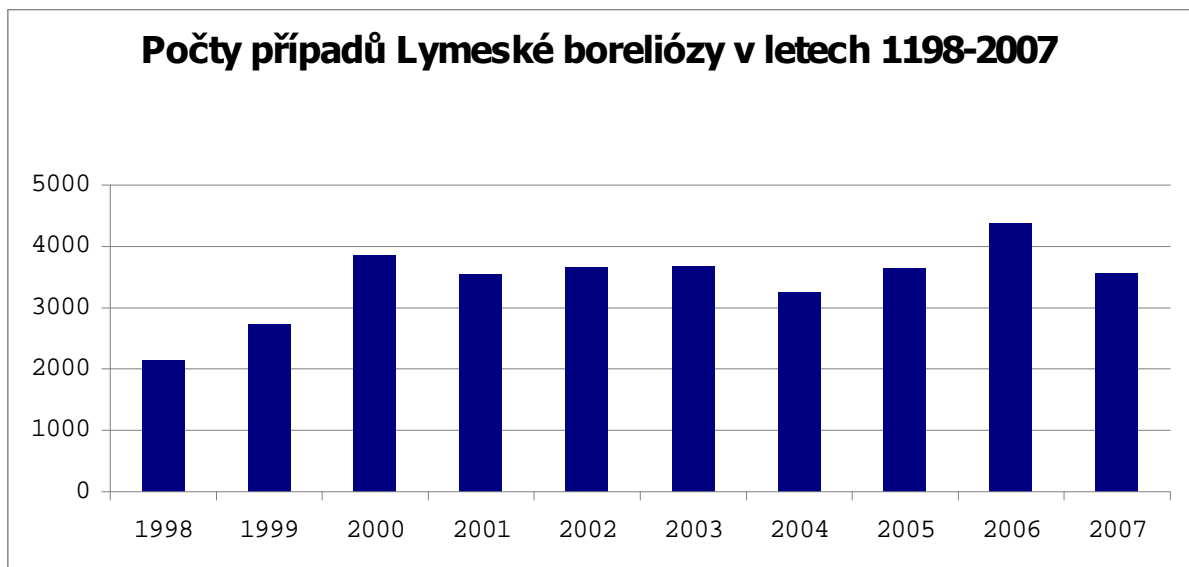
10. Prevence a ochrana člověka před napadením klíšťaty

Ochrana před napadením člověka klíšťaty spočívá ve způsobu chování lidí v terénu (Daniel, Danielová, 2007) Tato ochrana je zvláště důležitá v endemických oblastech. Endemická oblast je přitom chápána jako oblast s rizikem LB podporovaným buď přítomností ustáleného vektora (přenašeče *B. burgdorferi*), nebo výskytem minimálně 3 případů onemocnění lidí (Bartůněk, 1996).

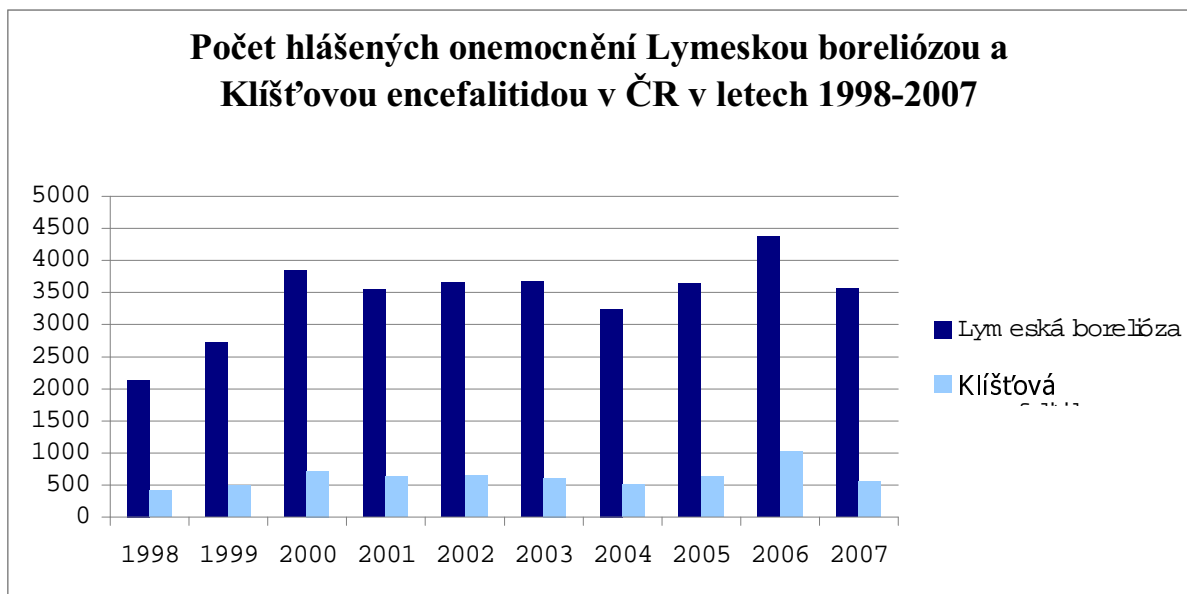
Doporučuje se chodit jen po cestách, neprocházet vysokou vegetací, nesedat, nelehat, dbát na vhodné oblečení, přiléhavé ze světlé hladké látky a používat repelenty. Nejúspěšnější prevencí jsou prohlídky těla hned po návratu z podezřelého terénu a včasné odstranění klíštěte vhodným způsobem - nešroubovat. Ranku poté vydezinfikovat a klíště spálit. Rozhodně klíště nerozmačkávat, mohli bychom se infikovat (Daniel, Danielová, 2007).

11. Incidence Lymeské boreliózy v ČR

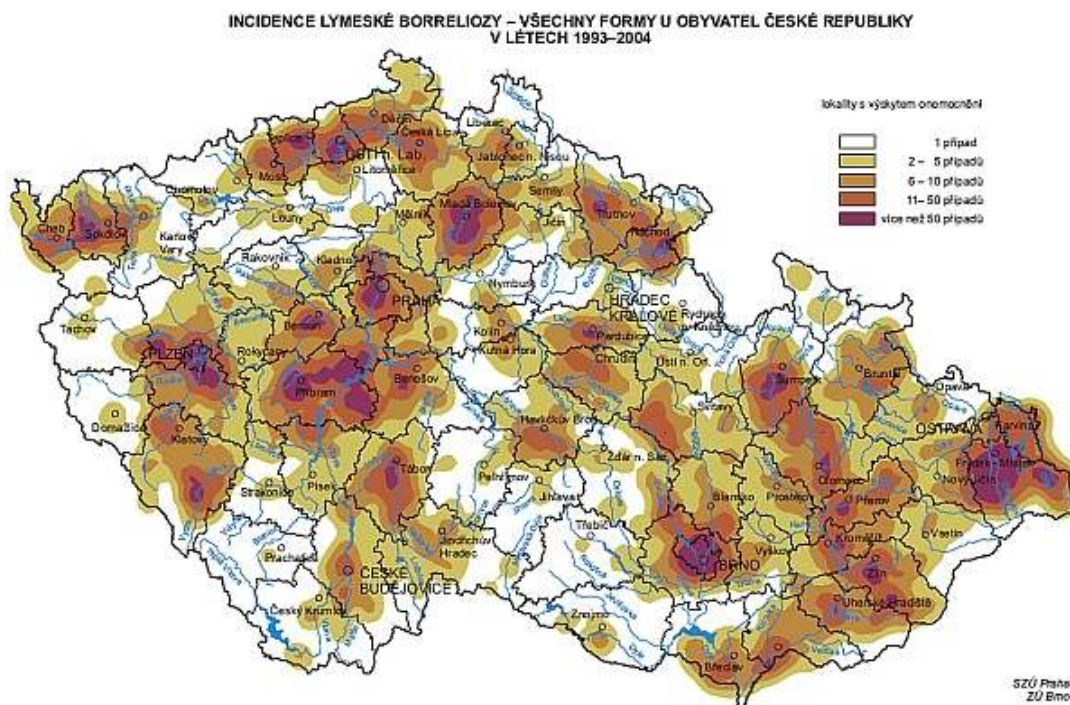
Graf 1: Počet hlášených onemocnění Lymeskou boreliózou v letech 1998 – 2007 (Zdroj: Krajská hygienická stanice v Českých Budějovicích)



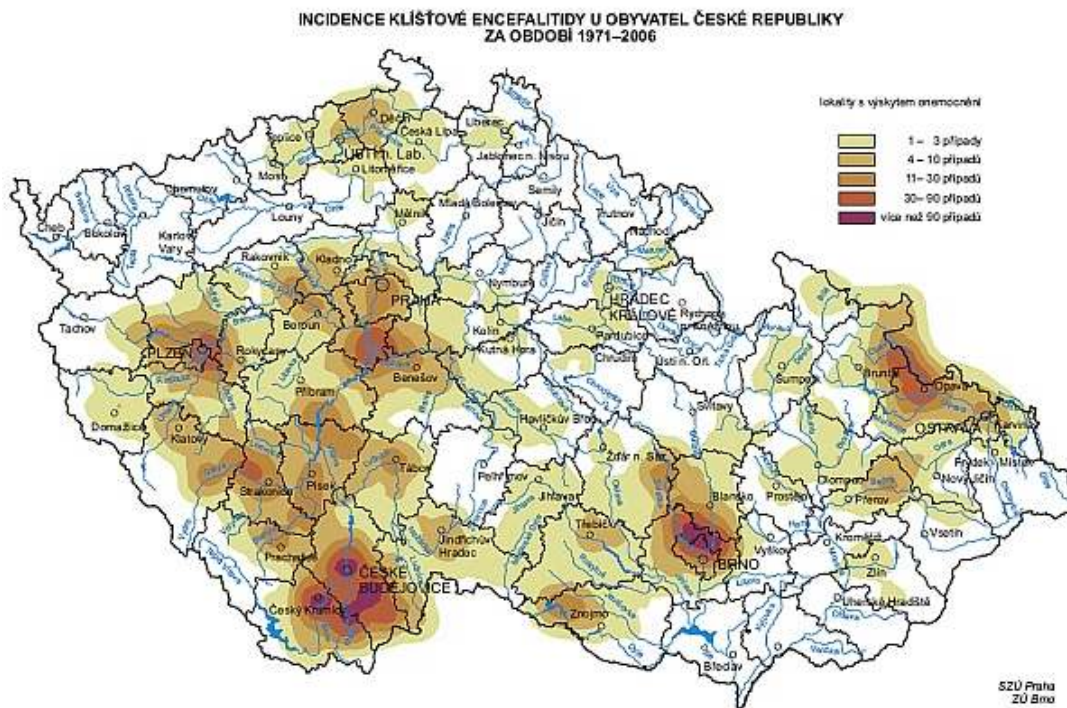
Graf 2: Počet hlášených onemocnění klíšťovou encefalitidou a Lymeskou boreliózou v České republice v letech 1998 – 2007 (Zdroj: Krajská hygienická stanice v Českých Budějovicích)



Mapa 1: Incidence LB v letech 1993-2004 v ČR



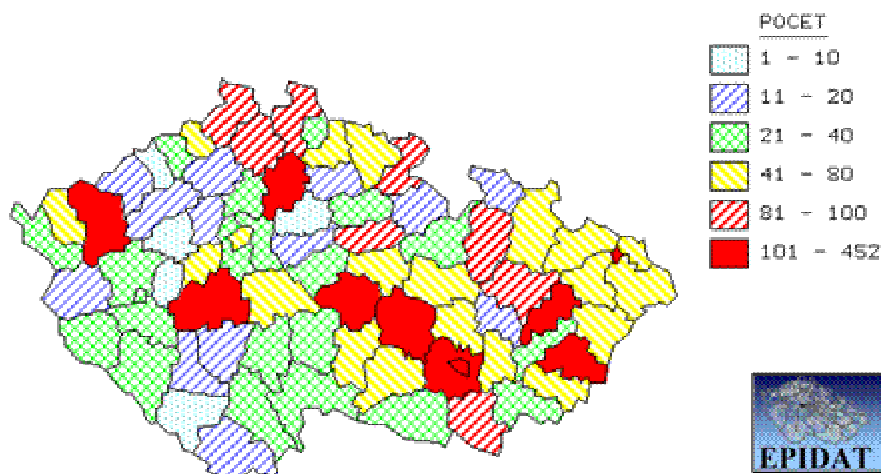
Mapa 2: Incidence klíšťové encefalitidy v letech 1971-2006 v ČR



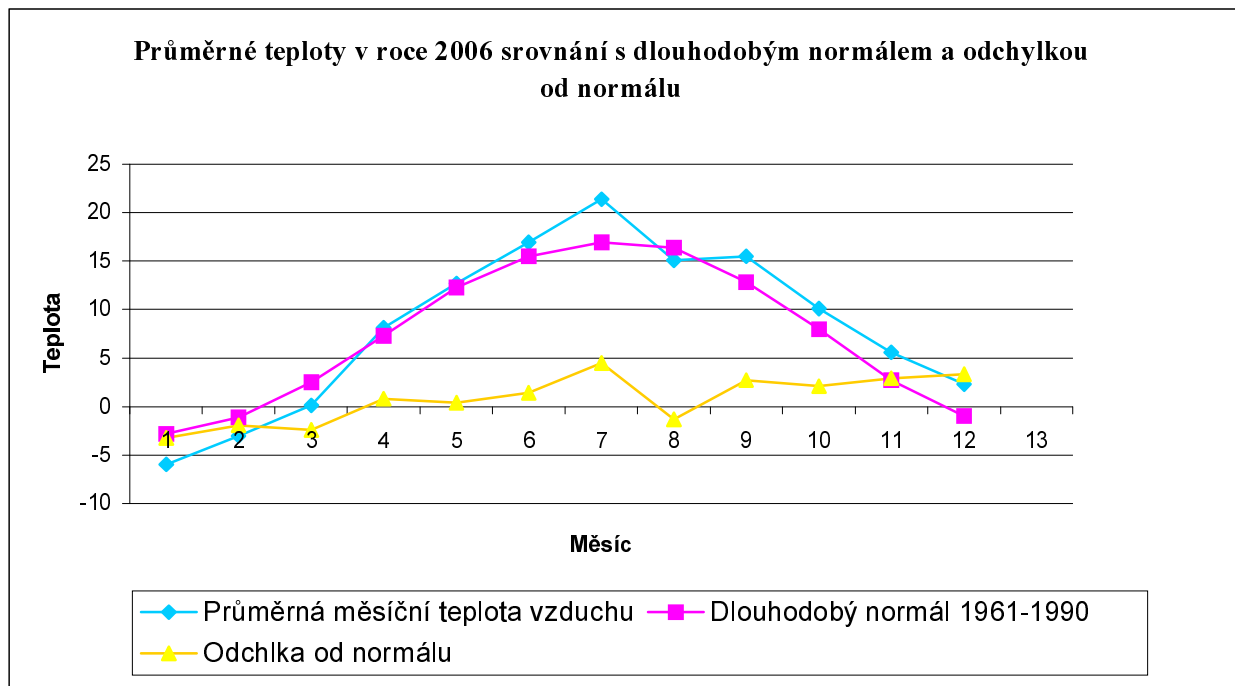
Mapa 3: LB v roce 2006, podle pravděpodobného okresu nákazy



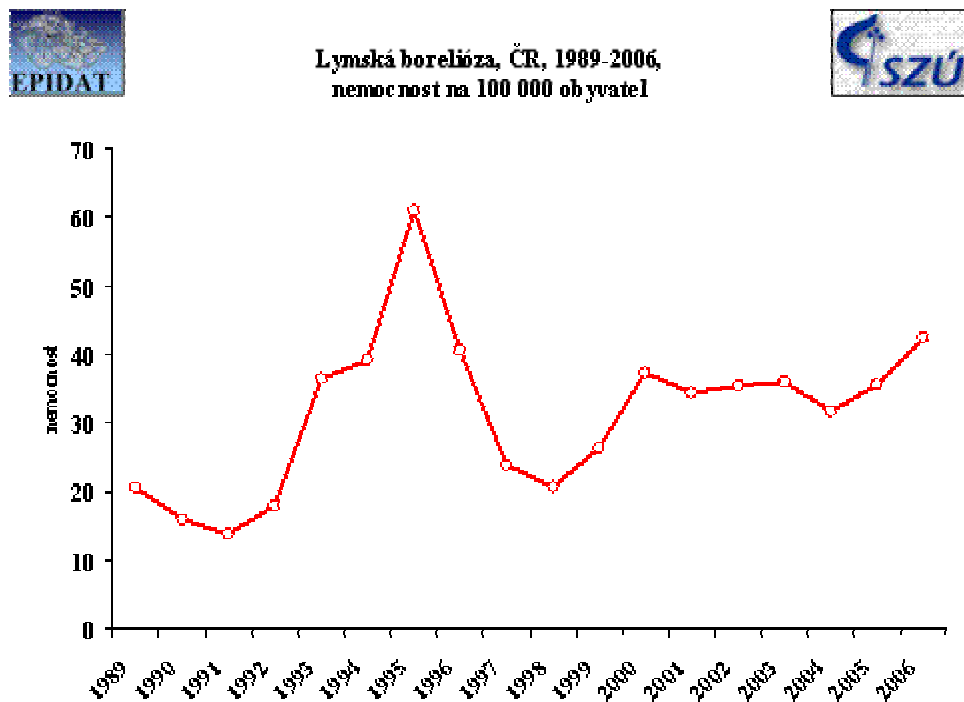
Lymfská borelióza, 2006
podle pravděpodobného okresu nákazy



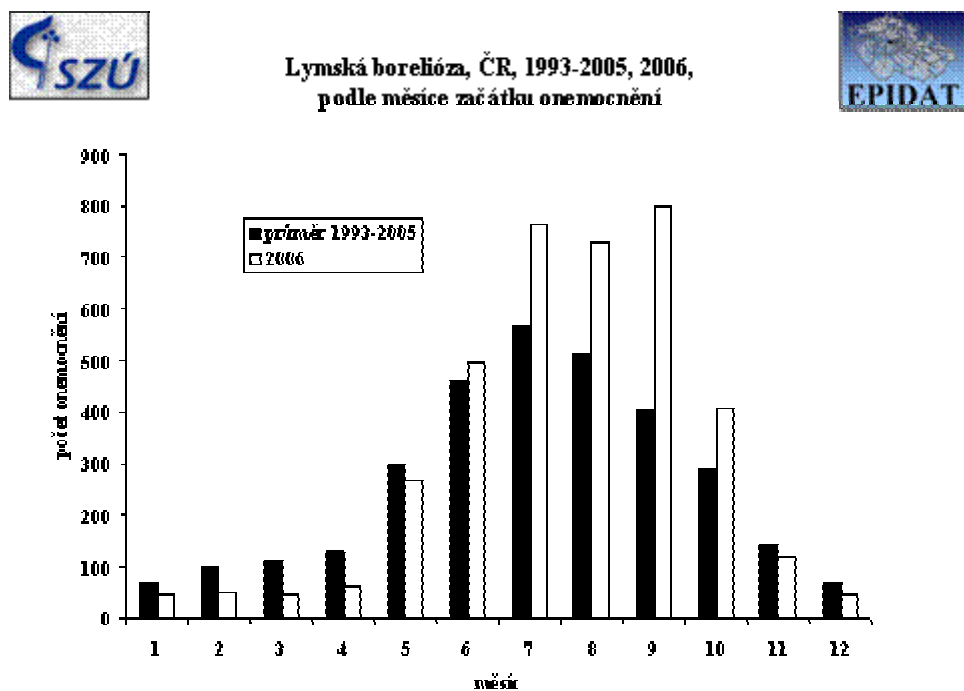
Graf 3: Průměrné teploty v roce 2006



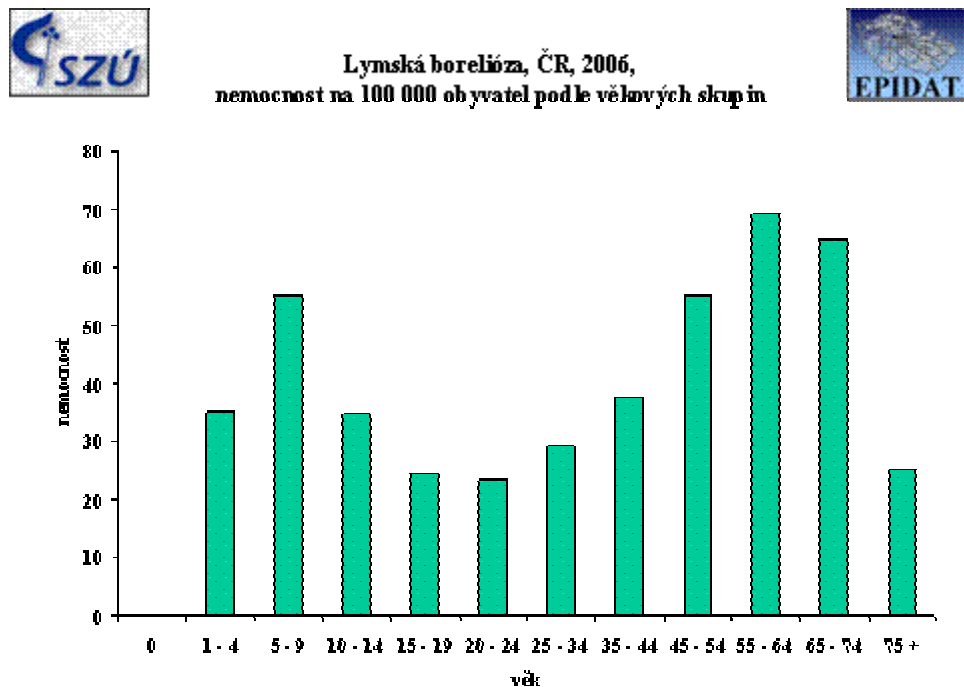
Graf 4: LB v letech 1989-2006 v ČR, nemocnost na 100 000 obyvatel



Graf 5: LB v letech 1993-2005 a 2006 v ČR, podle měsíce začátku onemocnění



Graf 6: LB v roce 2006 v ČR, nemocnost na 100 000 obyvatel podle věkových skupin



12. Diskuze

Práce si kladla za cíl vysvětlit pojmy vztahující se ke stále hojnému onemocnění Lymeská borelióza a zhodnotit vysoké výskyty tohoto onemocnění, které jsou každoročně hlášeny na krajské hygienické stanice. V práci se seznamujeme s popisem patogena (*Borrelia burgdorferi*), který tuto nemoc vyvolává, s vektorem (klíště), který tohoto patogena přenáší, a s klinickým průběhem onemocnění, které má celou řadu příznaků.

Existují dva postoje k přijímání diagnózy tohoto onemocnění. První je nekritický, podle kterého se do evidencí hygienických stanic nahlašují všechny, a to i nezávažné, případy onemocnění. Druhým postojem je postoj kritický, který se snaží odbourat chyby ve statistikách vzniklé právě nekritickým postojem. Podle tohoto postoje je ve statistikách nahlášeno vysoké procento případů, u nichž byly přítomny protilátky, ale jejichž závažnost byla mizivá. I když je infekce přenesena, neznamená to nutně propuknutí nemoci. Lokální imunita organismu může tuto infekci sama zlikvidovat a není tedy potřeba hlásit onemocnění Lymeskou boreliózou, což ale většina lidí a doktorů nedodržuje. Následkem toho vznikají ve výsledku obrovské hodnoty výskytů Lymeské boreliózy ve srovnání např. s klíšťovou encefalitidou (KE), což můžeme vidět v grafu č. 2. Vysoká čísla jsou velkým lákadlem pro média, která bez ohledu na poněkud zkreslené informace podávají obyvatelům obrázek hrůzné nemoci, která má až letální následky. Úmrtí přitom bývají důsledkem moderní medicíny, která dokáže léčit a udržovat při životě i lidi, kteří by dříve bez léčby zemřeli. V důsledku tohoto udržování při životě je většinou celkový stav těchto pacientů oslabený a pak u nich i lehká infekce může mít těžký průběh a fatální následky. S těmito názory se ztotožňuje i primář infekčního oddělení českobudějovické nemocnice MUDr. Václav Chmelík.

K rutinnímu vyšetření Lymeské boreliózy patří testy ELISA, které často ukazují falešně pozitivní výsledky, které mohou být způsobeny laboratorní chybou, přítomností jiné spirochetové infekce (syfilis, leptospiróza) či přítomností spirochet v dutině ustní nebo při EBV infekci. Když se tyto falešně pozitivní nálezy nahlásí na hygienické stanice, výsledkem jsou opět zkreslené informace. Protilátky proti boreliím má 5-10 % zdravých osob, proto se séropozitivita neléčí bez klinických příznaků. Indikace onemocnění LB jsou podezřelé kožní projevy po poštípání hmyzem nebo přisátí klíštěte, neurologické a kloubní obtíže. I po nákaze přetrvávají protilátky řadu let (Dlouhý, www.biology.estranky.cz). Vysoké výskyty

onemocnění mohou také souviset s globálním oteplováním. Je prokázáno, že od roku 1850 stoupla průměrná teplota z 14,6 na 15,3 °C a další změna mezi 1,8 a 4,0 °C je očekávána ve 21. století (Hemmer et al., 2007). Zimy bývají mírnější, teplejší, přežívá více klíšťat, kterých je pak více infikovaných, protože přes tyto zimy přežívá i větší počet rezervoárových zvířat (kapitola 4. 9.), od kterých se klíšťata nakazí. Čím více je infikovaných klíšťat, tím větší je pravděpodobnost, že s nimi člověk přijde do styku. Rozšiřují se i ohniska nákazy v důsledku postupu klíšťat do vyšších nadmořských výšek (kapitola 9. 10.). Trend výskytu LB v České republice v letech 1989-2006 je uveden v grafu 4. LB patří mezi infekční onemocnění, která byla objevena relativně nedávno. Spolehlivé údaje o jejím výskytu jsou k dispozici až od začátku devadesátých let minulého století. Stejně tak jako u KE, počet případů stoupl až do roku 1995, kdy dosáhl vrcholu. Po následujícím poklesu a stagnaci začátkem nového století kulminoval v roce 2006, kdy průměrné roční teploty dosahovaly 8,2 °C. Tento teplotně výjimečný rok shrnuje graf 3. V tom samém roce vidíme i nárůst Klíšťové encefalitidy (graf č. 2), což může mít zase souvislost s mírnou zimou a přežitím většího počtu klíšťat stejně jako u LB. Z grafu 2 je patrná i závislost výskytu LB na KE nebo naopak, protože vždy rostou nebo klesají výskyty onemocnění současně. Zvýšený výskyt onemocnění v roce 2006 může být zapříčiněn i společenskými a sportovními aktivitami osob, které se díky teplému a suchému počasí, které sebou přineslo i bohatou úrodu hub, častěji pohybovaly v oblastech vysokého výskytu klíšťat, a to i v podzimních měsících. Potvrzuje to graf 5, kde se onemocnění vyskytuje i v zimních měsících. V roce 2000 (graf 2) stouplo onemocnění LB a stejně tak stoupla onemocnění KE. V roce 2004 pak vidíme pokles obou onemocnění. To samé se pak opakuje v letech 2006 a 2007. Můžeme tak usuzovat, že to souvisí právě s charakterem zimních měsíců a s tím, kolik klíšťat danou zimu přežilo.

Globální oteplování nemá vliv pouze na LB a KE. Přináší sebou růst onemocnění způsobených tropickými patogeny (např. malarických patogenů, plasmodií, leishmanií, viru Žluté zimnice, viru Dengue) a jejich vektorů (komárů a klíšťat) (Hemmer et al., 2007).

Větší výskyt LB může také souviset s tím, že ohniska LB nejsou identická s ohnisky KE (mapa 1 a 2). LB se oproti KE vyskytuje také v parcích a zahradách městských aglomerací (www.szu.cz). Z mapky 3 je patrné, že LB se vyskytuje ve všech okresech ČR, což zvyšuje riziko nákazy a ztěžuje vyhnout se nákaze. Zatímco ohniska KE se vyskytují pouze v určitých oblastech (jižní Čechy, podhůří Šumavy, okolí Prahy, Brna, Ústí nad Labem,

Plzeňsko, Opavsko, Podyjí), což ukazuje mapa 2. Takovýmto oblastem se člověk může vyhnout. Graf 6 udává, že nejvíce bývají postiženy dětské věkové skupiny od 5 do 9 let a věkové skupiny starších 45 let. Příčinou tohoto rozložení souvisí pravděpodobně s rekreační a sportovní aktivitou osob.

Lymeská borelióza je léčitelná nemoc, přesto by se ale toto onemocnění nemělo brát na lehkou váhu. I když LB není fatální onemocnění, kromě případů, které jsou popsány ve druhém odstavci, může postihovat kůži, srdce, nervový a muskuloskeletální systém někdy se zhoršením kvality života. Jakmile je ale ihned po určení diagnózy zahájena léčba příslušnými antibiotiky, zabrání se přechodu nemoci do pozdějších stadií a kvalita života není ohrožena. Přesto by lidé měli dbát na své zdraví a využívat prostředků prevence (repelenty, oděvy napuštěné látkou odpuzující klíšťata), kterých je na trhu dostatek. Účinná očkovací látka zatím na trhu není, i když vědci z olomoucké univerzity vyvinuli vakcínu, která je zatím ještě ve fázi testování a podle odborníků by se na trhu mohla objevit nejdříve za osm let. Proto by měl člověk především dbát na prevenci a důkladné prohlídky těla po návratu z přírody. Vhodným pomocníkem je také předpověď aktivity klíšťat na internetových stránkách Státního zdravotnického ústavu (www.szu.cz).

13. Závěr

Lymeská borelióza je onemocnění, jehož původcem jsou spirochety *Borrelia burgdorferi* sensu lato. Borelie jsou přenášeny klíšťaty, zvláště klíšťaty rodu *Ixodes*. Incidence tohoto onemocnění stále narůstá, což je pravděpodobně způsobeno globálním oteplováním. To má za následek mírnější zimy, a tím přežití většího množství klíšťat, ale i menších hlodavců, kteří jsou rezervoáry borelií. S globálním oteplováním souvisí i postup klíšťat do vyšších nadmořských výšek a s tím i zvyšování výskytu tohoto onemocnění. Výroba vakcíny proti Lymeské borelióze je velmi složitá kvůli obrovské antigenní variabilitě borelií. Z tohoto důvodu zatím není dostupná žádná účinná vakcína.

14. Seznam použité literatury:

- Aeschlimann A, Chamont E, Gigon F, Jeanneret J-P, Kessler D, Walther C.** *Borrelia burgdorferi* in Switzerland. Zentralbl. Bakteriol. Mikrobiol. Hyg A. 1986; 263: 450-458
- Afezelius A.** Verhandlungen der dermatologischen Gesellschaft zu Stockholm. Arch. Dermatol. Syph. 1910; 101: 404
- Akins D, Porcella SF, Popova TG, Shevchenko D, Baker SI, Li M, Norgard M, Radolf JD.** Evidence for *in vivo* but no *in vitro* expression of *Borrelia burgdorferi* outer surface protein F (OspF) homologue. Mol. Microbiol. 1995; 18: 507-520
- Asbrink E, Hovmark A.** Early and late cutaneous manifestations in Ixodes-borne borreliosis (Erythema migrant borreliosis, Lyme borreliosis). Ann. NY Acad. Sci. 1988; 539: 4-15
- Bannwarth A.** Chronische lymphocytäre Meningitis, entzündliche Polyneuritis und „Rheumatismus“. Arch. Psychiat. Nervenkr. 1941; 113: 284-376
- Barbour AG, Fish D.** The biological and social phenomenon of Lyme disease. Science. 1993; 260: 1610-1616
- Barbour AG, Garon CF.** Linear plasmids of the bacterium *Borrelia burgdorferi* have covalently closed ends. Science. 1987; 237: 409-411
- Barbour AG, Hayes SF.** Biology of *Borrelia* species. Microbiol. Rev. 1986; 50: 381-400
- Barbour AG, Heiland RA, Howe TR.** Heterogeneity of major proteins in Lyme disease borreliae: a molecular analysis of North American and European isolates. J. Infect. Dis. 1985; 152: 478-484
- Barbour AG.** Isolation and cultivation of Lyme disease spirochetes. Yale J. Biol. Med. 1984; 57: 521-525
- Barbour AG.** Plasmid analysis of *Borrelia burgdorferi*, the Lyme disease agent. J. Clin. Microbiol. 1988; 26: 475-478
- Bartůněk P a kolektiv.** Lymeská borrelióza, Grada Publishing, Praha, 1996
- Bergström S, Bundoc VG, Barbour AG.** Molecular analysis of linear plasmid-encoded major surface proteins, OspA and OspB, of the Lyme disease spirochaete *Borrelia burgdorferi*. Mol. Microbiol. 1989; 3: 479-486
- Bergström S, Noppa L, Gylfe A, Östberg Y.** Molecular and cellular biology of *Borrelia burgdorferi* sensu lato. In: Lyme borreliosis: Biology, Epidemiology and Control. CAB International, UK, 2002, 47-90
- Brandt ME, Riley BS, Radolf JD, Norgard MV.** Immunogenic integral membrane proteins of *Borrelia burgdorferi* are lipoproteins. Infect. Immun. 1990; 58: 983-991

- Buchwald A.** Ein Fall von diffuser idiopathischer Haut-atrophie. Arch. Derm. Syph. (Berlin) 1883; 15: 553-556
- Burgdorfer W, Anderson JF, Gern L, Lane RS, Piesman J, Spielman A.** Relationship of *Borrelia burgdorferi* to its arthropod vectors. Scand. J. Infect. Dis. Suppl. 1991; 77: 35-40
- Burgdorfer W, Barbour AG, Hayes SF, Benach JL, Grunwaldt E, Davis JP.** Lyme disease – a tick-borne spirochetosis? Science. 1982; 216: 1317-1319
- Burgdorfer W, Hayes SF, Benach JL.** Development of *Borrelia burgdorferi* transmission. J. Clin. Microbiol. 1987; 25: 557
- Daniel M, Danielová V.** Kurz: Nové poznatky o klíšťatech a jimi přenášených nákazách, Praha, 2007
- Daniel M, Kríž B, Danielová V, Materna J, Rudenko N, Holubová J, Schwarzová L, Golovchenko M.** Occurrence of tick infected by tickborne encephalitis virus and *Borrelia* genospecies in mountains of the Czech republic. Euro. Surveill. 2005; 10: E050331.1.
- Diblík P.** Postižení oka, pp. 76-78. In Bartůněk P. Lymeská borrelióza. Grada Publishing, Praha, 2001
- Dlouhý P.** www.biology.estranky.cz/clanky/mikrobiologie-a-virologie/lymeska-borelioza
- Doutlík S.** Patogeneze, pp 17-19. In Bartůněk P. Lymeská borelióza. Grada Publishing, Praha, 2001
- Fingerle V, Laux H, Munderloh UG, Schulte-Spechtel U, Wilske B.** Differential expression of outer surface proteins A and C by individual *Borrelia burgdorferi* in different genospecies. Med. Microbiol. Immunol. (Berl). 2000; 189: 59-66
- Fraser CM, Casjens S, Huang WM, Sutton GG, Clayton R et al.** Genomic sequence of Lyme disease spirochaete, *Borrelia burgdorferi*. Nature. 1997; 390: 580-586
- Garbe C.** *Borrelia* infections of the skin--progress of knowledge since the discovery of Lyme disease. Hautarzt. 1991; 42: 356-365
- Garin C, Bujadoux R.** Paralyse par les Tique. J. Med. Lyon. 1922; 71: 765-767
- Grimm D, Tilly K, Byram R, Stewart PE, Krum JG, Bueschel DM, Schwan TG, Policastro PF, Elias AF, Rosa PA.** Outer-surface protein C of the Lyme disease spirochete: a protein induced in ticks for infection of mammals. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2004; 101: 3142-7
- Grist N.** Ticks are topical. J. Infect. 1992; 24: 177-121
- Grubhoffer L, Golovchenko M, Vancová M, Zacharovová-Slavíková K, Rudenko N, Oliver JH Jr,** Lyme borreliosis: insights into tick-/host-borrelia relations, Folia Parasitol. (Praha). 2005; 52: 279-94
- Gustafson R.** Epidemiological studies of Lyme borreliosis and Tick-borne encephalitis, Repro Print AB, Stockholm 1993

- Halperin JJ, Luft BJ, Anand AK, Rogue CT, Alvarez O, Volkman DJ, Dattwyler RJ.** Lyme neuroborreliosis: central nervous system manifestations. *Neurology*. 1989; 39: 753-759
- Hayes EB, Schriefer ME.** Vaccination Against Lyme Borreliosis, pp. 281-300. In Gray JS, Kahl O, Lane RS, Stanek G. Lyme borreliosis – Biology, Epidemiology and Control. CABI Publishing, Wallingford, Oxfordshire, UK, 2002
- Hemmer CJ, Frimmel S, Kinzelbach R, Gürtler L, Reisinger EC.** Global warming: trailblazer for tropical infections in Germany? *Dtsch. Med. Wochensch.* 2007; 132: 2583-2589
- Herczová J.** Postižení kůže, pp. 51-57. In Bartůněk P. Lymeská borrelióza. Grada Publishing, Praha, 2001
- Herxheimer K, Hartman K.** Über Acrodermatitis chronica atrophicans. *Acta. Dermatol.* (Berlin) 1902; 61: 57-76
- Hollström E.** Successful treatment of erythema migrans Afzelius. *Acta. Derm. Venereol.* 1951; 31: 235-243
- Hovind-Hougen K, Asbrink E, Stiernstendt G, Steere AC, Hovmark A.** Ultrastructural differences among spirochetes isolated from patients with Lyme disease and related disorders, and from *Ixodes ricinus*. *Zentralbl. Bakteriol. Hyg. A.* 1986; 263: 103-111
- Hovmark A, Jaenson TGT, Asbrink E, Forsman A, Jansson E.** First isolations of *Borrelia burgdorferi* from rodents collected in northern Europe. *Acta. Pathol. Microbiol. Immunol. Scand. Sect. B.* 1988; 96: 917-920
- Hubálek Z, Halouzka J.** Distribution of *Borrelia burgdorferi* sensu lato genomic groups in Europe (Review). *European J. Epidemiol.* 1997; 13: 951-957
- Hubálek Z, Halouzka J, Juricová Z.** Investigation of haematophagous arthropods for borreliae--summarized data, 1988-1996. *Folia Parazitol.* 1998; 45: 67-72
- Hulínská D.** Laboratorní diagnostika, pp 39-45. In Bartůněk P. Lymeská borrelióza. Grada Publishing, Praha, 2001
- Janovská D.** Epidemiologická analýza výskytu borreliózy v České republice, pp. 19-32. In Bartůněk P. Lymeská borelióza. Grada Publishing, Praha, 2001
- Jeanson TGT.** The epidemiology of Lyme borreliosis. *Parasitol* 1991; 7: 39-45
- Jones JD, Bourell KW, Norgard MV, Radolf JD.** Membrane topology of *Borrelia burgdorferi* and *Treponema pallidum* lipoproteins. *Infect. Immun.* 1995; 63: 2424-2434
- Jones LD, Davies CR, Steele GM, Nuttall PA.** A novel mode of arbovirus transmission involving a nonviraemic host. *Science.* 1987; 237: 775-777
- Kalish RA, Leong JM, Steere AC.** Early and late antibody responses to full-length and truncated constructs of outer surface protein A of *Borrelia burgdorferi* in Lyme disease. *Infect. Immun.* 1995; 63: 2228-2235

- Krupka M, Raska M, Belakova J, Horynova J, Novotny R, Weigl E.** Biological aspects of Lyme disease spirochetes: Unique bacteria of the *Borrelia burgdorferi* species group, Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub. 2007; 151:175-86
- Lam TT, Nguyen TPK, Montgomery RR, Kantor FS, Fikrig E, Flavell RA.** Outer surface protein E and F of *Borrelia burgdorferi*, the agent of Lyme disease. Infect. Immun. 1994; 62: 290-298
- Lathrop SL, Ball R, Haber P, Mootrey GT, Braun MM, Shadomy SV, Ellenberg SS, Chen RT, Hayes EB.** Adverse event reports following vaccination for Lyme disease: December 1998-July 2000 Vaccine. 2002; 20: 1603-1608
- LeFebvre RB, Perng GC, Johnson RC.** Characterization of *Borrelia burgdorferi* isolates by restriction endonuclease analysis and DNA hybridization. J. Clin. Microbiol. 1989; 27: 636-639
- Lenhoff C.** Spirochaetes in aetiologically obscure diseases. Acta. Derm. Venereol. 1948; 28: 295-324
- Levine JF, Wilson ML, Spielman A.** Mice as reservoirs of Lyme disease spirochete. Am. J. Trop. Med. Hyg. 1985; 34: 355-360
- Lin YS, Kieser HM, Hopwood DA, Chen CW.** The chromosomal DNA of *Streptomyces lividans* 66 is linear. Mol. Microbiol. 1993; 10: 923-933
- Lipsker D.** Dermatological aspects of Lyme borreliosis. Med. Mal. Infect. 2007; 37: 540-547
- Lo R, Menzies DJ, Archer H, Cohen TJ.** Complete heart block due to lyme carditis. J. Invasive Cardiol. 2003; 15: 367-369
- Marconi RT, Samuels DS, Garon CF.** Transcriptional analyses and mapping of the ospC gene in Lyme disease spirochetes. J. Bacteriol. 1993; 175: 929-932
- Marti RAS N, Postic D, Foretz M, Baranton G.** *Borrelia burgdorferi* sensu stricto, a bacterial species „made in the USA?“, International J. Syst. Bacteriol. 1997; 47: 1112-1117
- Mather TN, Wilson ML, Moore SI, Ribeiro JMC, Spielman A.** Comparing the relative potential of rodents as reservoirs of the Lyme disease spirochete (*Borrelia burgdorferi*). Am. J. Epidemiol. 1989; 130: 143-150
- Matuschka F-R, Fischer P, Heiler M, Richter D, Spielman A.** Capacity of European animals as reservoir hosts for the Lyme disease spirochete. J. Infect. Dis. 1992; 165: 479-483
- Montgomery RR, Malawista SE, Feen KJM, Bokenstedt L.** Direct demonstration of antigenic substitution of *Borrelia burgdorferi* ex vivo: exploration of the paradox of the early immune response to outer surface proteins A and C in Lyme disease, J. Exp. Med. 1996;183: 261-269
- Mulleger RR.** Dermatological manifestations of Lyme borreliosis. Eur. J. Dermatol. 2004; 14:296-309

- Nadelman RB, Wormser GP.** Lyme borreliosis. Lancet. 1998; 352: 557-565 review
- Nakao M, Miyamoto K, Fukunaga M.** Lyme disease spirochetes in Japan: enzoonotic transmission cycles in birds, rodents, and *Ixodes persulcatus* ticks. J. Infect. Dis. 1994; 170: 878-882
- Nuttall PA, Labuda M.** Tick-hostinteractions: saliva-activated transmission. Parasitol. 2004; 129: 177-189
- Ohnishi J, Piesman J, de Silva A.** Antigenic and genetic heterogeneity of *Borrelia burgdorferi* populations transmitted by tick. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2001; 98: 670-675
- Oschmann P, Kraiczy P.** Lyme-Borreliose und Frühsommer-Meningoenzephalitis, Uni-Med, Bremen, 1998
- Pal U, de Silva AM, Montgomery RR, Fish D, Anguita J, Anderson JF, Lobet Y, Fikrig E.** Attachment of *Borrelia burgdorferi* within *Ixodes scapularis* mediated by outer surface protein A. J. Clin. Invest. 2000; 106: 561-569
- Piesman J, Oliver JO, Sinsky RJ.** Growth kinetics of the Lyme disease spirochete (*Borrelia burgdorferi*) in vector ticks (*Ixodes dammini*) Am. J. Trop. Med. Hyg. 1990; 42: 352-357
- Radolf JD, Goldberg MS, Bourell K, Baker SI, Jones JD, Norgard MV.** Characterization of Outer Membranes Isolated from *Borrelia burgdorferi*, the Lyme Disease Spirochete. Infection and Immunity. 1995; 63: 2154-2163
- Roháčová H.** Lymeská borelióza, Maxdorf, Praha, 2005
- Rosa PA.** Microbiology of *Borrelia burgdorferi*. Semin Neurol. 1997; 17: 5-10
- Schwan TG, Piesman J, Golde WT, Dolan MC, Rosa PA.** Induction of an outer surface protein on *Borrelia burgdorferi* during tick feeding, Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1995; 92: 2909-2913
- Shapiro ED, Gerber MA.** Lyme disease Clin. Infect. Dis. 2000; 31: 533-542
- Stanek G, Strle F, Gray J, Wormser GP.** History and Characteristics of Lyme Borreliosis. In Lyme Boreliosis - Biology, Epidemiology and Control. UK, 2002, 1-28
- Stanek G, Strle F.** Lyme borreliosis. Lancet 2003; 362: 1639-47
- Steere AC.** Lyme disease. N. Engl. J. Med. 2001; 345: 115-125
- Steere AC, Malawista SE, Snyderman Dr, et al.** Lyme arthritis: an epidemic of oligoarticular arthritis in children and adults in free Connecticut communities. Arthritis Rheum 1977; 20: 7-17
- Steere AC.** Musculoskeletal manifestations of Lyme disease. Am. J. Med. 1995; 98: 445-485

Steere AC., Sikand VK, Meurice F, Parenti DL, Fikrig E, Schoen RT, Nowakowski J, Schmid CH, Laukamp S, Buscarino C, Krause DS. Vaccination against Lyme disease with recombinant *Borrelia burgdorferi* outer-surface lipoprotein A with adjuvant. Lyme Disease Vaccine Study Group. N. Engl. J. Med. 1998 Jul 23;339: 209-215

Stevenson B, Tilly K, Rosa PA. A family of genes located on four separate 32-kilobase circular plasmids in *Borrelia burgdorferi* B31. J. Bacteriol. 1996; 178: 3508-3516

Süss J. Epidemiology and ecology of TBE relevant to the production of effective vaccines. Vaccine. 2003; 21: 19-35

Takayama K, Rothenberg RJ, Barbour AG. Absence of lipopolysaccharide in the Lyme disease spirochete, *Borrelia burgdorferi*. Infect. Immun. 1987; 55: 2311-2313

Tälleklint L, Jaenson TGT. Maintenance by hares of European *Borrelia burgdorferi* in Ecosystems without rodents. J. Med. Entomol. 1993; 30: 273-276

Titus RG, Ribeiro JC. Salivary gland lysates from the sandfly *Lutzomyia longipalpis* enhance *Leishmania* infectivity. Science. 1988; 239: 1306-1308

Wang G, van Dam AP, Schwartz I, Dankert J. Molecular Typing of *Borrelia burgdorferi* Sensu lato: Taxonomic, Epidemiological, and Clinical Implications. Clin. Microbiol. Rev. 1999; 12: 633-653

Wilske B, Bush U, Eiffert H, Fingerle V, Pfister HW, Rossler D, Preac-Mursic V. Diversity of OspA and OspC among cerebrospinal fluid isolates of *Borrelia burgdorferi* sensu lato from patients with neuroborreliosis in Germany. Med. Microbiol. Immunol. (Berlin). 1996 a; 184: 195-201

Wilske B, Bush U, Fingerle V, Jaurius-Heipke S, Preac-Mursic V, Roster D, Will G. Immunological and molecular variability of OspA and OspC. Implications for *Borrelia valine* development. Infection. 1996 b; 24: 208-212

Wilske B, Preac-Mursic V, Gobel UB, Graf B, Jauris S, Soutschek E, Schwab E, Zumstein G. An OspA serotyping system for *Borrelia burgdorferi* based on reactivity with monoclonal antibodies and OspA sence analysis. J. Clin. Microbiol. 1993; 31: 340-350

www.danmarksinsekter.dk/altskovflaat.htm

www.onkologicentrum.cz

www.szu.cz

www1.lf1.cuni.cz

Xu Y, Johnson RC. Analysis and comparison of plasmid profiles of *Borrelia burgdorferi* sensu lato strains, J. Clin. Microbiol. 1995; 33: 2679-2685

Zajakowska JM, Hermanovska-Szpakowicz T, Kondrusik M, Pancewicz SA. Neurologic

syndromes in Lyme disease. Pol. Merkur. Lekarski. 2000; 9: 584-588

Zeidner NS, Schneider BS, Nuncio MS, Gern L, Piesman J. Coinoculation of *Borrelia* spp. with tick salivary gland lysate enhances spirochete load in mice and is tick species-specific. J. Parasitol. 2002; 88: 1276-1278