UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ

KATEDRA BIOLOGICKÝCH A LÉKAŘSKÝCH VĚD

LYMESKÁ BORELIÓZA

Bakalářská práce

Hradec Králové, 2009 Kalousová Petra

Bakalářská práce

LYMESKÁ BORELIÓZA

LYME DISEASE

Kalousová Petra

studijní program : Zdravotnická bioanalytika-kombinovaná forma

vedoucí bakalářské práce:

Mgr. Lenka Ješinová

(OKBD Nemocnice Ústí na Orlicí)

garant za KBLV: **Mgr. Klára Konečná**

(Farmaceutická fakulta UK v Hradci Králové)

P o d ě k o v á n í

Děkuji vedoucí mé bakalářské práce Mgr. Lence Ješinové a Mgr. Kláře Konečné za odborné vedení, cenné připomínky a především za trpělivost, kterou mi věnovali po celou dobu přípravy podkladů a zpracování mé bakalářské práce. Děkuji i své rodině za pochopení a pomoc.

P r o h l á š e n í

Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem, které jsem vypracovala samostatně. Veškerá literatura a další zdroje informací, z nichž jsem při zpracování této bakalářské práce čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Kalousová Petra

1. OBSAH PRÁCE ..…….…… 5
2. CÍL PRÁCE …… 7
3. LYMESKÁ BORELIÓZA ……. 8
3.1 Historie-nová klinická entita, objev původce onemocnění …… 8
3.2 Etiologické agens lymeské boreliózy.…… 10
3.2.1 Taxonomie etiologického agens lymeské boreliózy……... 10
3.2.2 Morfologie borelie ……..……. 14
3.2.3 Genom borelie ……. ……. 16
3.2.4 Antigenní vlastnosti borelie …… ……. 17
3.3 Epidemiologie …….. 19
3.3.1 Přenos infekčního agens ……..…….. 19
3.3.2 Geografická distribuce onemocnění ve světě ……..... 23
3.4 Patogeneze……. ……..... 24
3.5 Klinické projevy lymeské boreliózy ……..……. 26
3.5.1 Postižení kůže ……. 28
3.5.1.1 Migrující erytém ……. ……. 28
3.5.1.2 Boreliový lymfocytom …… 29
3.5.1.3 Chronická atrofická akrodermatitida …….. 30
3.5.2 Postižení muskuloskeletálního systému ……. 30
3.5.3 Postižení nervového systému …….. 31
3.5.4 Postižení srdce …….. 32
3.5.5 Postižení oka …… ……. 33
3.5.6 Chronická lymeská borelióza…… 33
4. DIAGNOSTIKA …….. 34
4.1 Metody přímého průkazu borelií …….. …… 34
4.1.1 Kultivace ……. 35
4.1.2 Mikroskopie …..……. 36
4.1.3 Polymerázová řetězová reakce. …….. 36
4.2 Metody nepřímého průkazu borelií …….. 37
4.2.1 ELISA (enzyme-linked immuno sorbent assay)
při průkazu *Borrelie burgdorferi* sensu lato ……..... 37
4.2.2 Konfirmace pozitivního výsledku metodou Western blot
(blotting proteinů) …….. ……. 39
4.3 Laboratorní diagnostika neuroboreliózy …. ……..... 40

5. TERAPIE 42
5.1 Prevence 42
6. SOUHRN 44
7. SUMMARY 46
8. ZÁVĚR 48
9. SEZNAM ZKRATEK 49
10. SEZNAM OBRÁZKŮ, GRAFŮ A TABULEK 50
11. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY 51

2. CÍL PRÁCE

Cílem této bakalářské práce je podat ucelený rozhled o poznatcích týkajících se infekčního onemocnění zvaného lymeská borelióza. V této práci budou podány informace o vlastním etiologickém agens, jeho biologii, či cestě přenosu na hostitele. Bude specifikováno vlastní onemocnění a jeho příznaky. Práce bude také zaměřena na možnosti dnešní laboratorní diagnostiky tohoto onemocnění, a také na antiinfekční terapii.

3. LYMESKÁ BORELIÓZA

Lymeská borelióza (LB) je název multisystémového infekčního onemocnění, které se může manifestovat rozličnými klinickými projevy, především kožními, nervovými a srdečními poruchami nebo postižením pohybového aparátu. Závažnost těchto projevů může být různá. Základní klinické spektrum onemocnění jsou podobné na celém světě, i když jsou rozdíly v klinických projevech mezi LB vyskytující se v Evropě a Severní Americe (Nadelman et Wormser,1998).

Tyto rozdíly se přisuzují různým druhům borelií vyskytujících se na kontinentech. Existují také rozdíly v klinické prezentaci i mezi regiony v Evropě (Hubalek et Halouzka, 1997).

Jde o nejběžnější vektorem přenosné onemocnění se širokou geografickou distribucí po celé severní polokouli, které postihuje nejen člověka, ale i domácí, hospodářská, či divoce žijící zvířata. I když byla tato nemoc objevena poměrně nedávno, poznatky o ní jsou poměrně široké. Přesto, že byla objasněna podstata onemocnění, patogeneze, klinické formy i způsoby léčby, názory na problematiku onemocnění se stále vyvíjí (Wang et al. 1999).

3.1 Historie-nová klinická entita, objev původce onemocnění

První zmínku o nemoci, později nazvané LB , učinil v roce 1883 v Breslau (Německo) dermatolog Alfred Buchwald, který poprvé popsal chronické zánětlivé postižení kůže. V roce 1902 zaznamenali Karl Herxheimer a Kuno Hartmann kožní příznaky bez toho, že bylo známo agens, způsobující dermatózu. Toto onemocnění upřesnili jako novou klinickou jednotku a nazvali ji *acrodermatitis chronica atrophicanus* (ACA). V roce 1909 demonstroval švédský lékař Afzelius na pacientech Švédského dermatologického ústavu ve Stockholmu dosud neznámé akutní erytémové onemocnění kůže se zánětlivými projevy, které nazval *erythema migrans* (EM). Afzelius v roce 1910 jako prvý a poté Lipschötz v roce 1913 prokázali vztah onemocnění k přisátí klíštěte.

Později popsal Afzelius kožní projev, nyní označovaný jako boreliový lymfocytom (Gray et al. 2002) .

Podrobný popis artropatie, v souvislosti s chronickou atrofickou akrodermatitidou, jako prvý uvedl Hövelborn v roce 1931 (Valešová, 1999).

V létě roku 1922 přichází v odborné literatuře zmínka o neurologických projevech, v souvislosti s přisátím klíštěte a vzniklým erytémem, o kterém jako první referovali francouzští neurologové Garin a Bujadoux (Garin et Bujadoux, 1922).

Popsali klinicky nápadné a nezřídka závažné postižení nervového systému probíhající pod obrazem meningopolyradikuloneuritidy s neuralgiformními bolestmi a obrnami. V roce 1941 na jejich práci navázal německý revmatolog Bannwarth, který se zabýval hojně rozšířenými „revmatickými" projevy, které provázely i projevy postižení nervového systému. Rozvinul poznatky těchto francouzských lékařů a vymezil diagnózu meningoradikulitidy, dodnes nazývané Bannwarthův syndrom (Bannwarth, 1941).

Od padesátých let přibývalo prací věnovaných možnému vztahu mezi infekcí navazující na přisátí klíštěte a kožními, popřípadě dalšími orgánovými projevy. Lehmannova hypotéza o spirochétovém původu záhadné choroby však byla opakovaně odmítnuta, a tak bylo marně pátráno po tehdy moderní virové infekci (Bojar, 2005).

Přelom ve výzkumu boreliózy znamenala až objevná Steerova práce. V osmdesátých letech minulého století, zaměřil Alan Steere, se svými spolupracovníky z revmatologické kliniky university v Yale, pozornost na epidemický výskyt zánětlivé artropatie u dětí i dospělých v oblasti města Lyme, ve státě Connecticut, USA. Mimo jiné zjistili, že u části dětí proběhlo v předchozím období postižení kůže EM. Analýzou podobných případů zjistili, že postižení jedinci artritidou žili v oblastech s četnými porosty, zahradami a parky. Steere předpokládal,že vektorem je nějaký členovec, nejpravděpodobněji klíště. V následujících letech bylo zjištěno, že vektorem je skutečně klíště a to *Ixodes dammini* (dnešní název *Ixodes scapularis*) (Burgdorfer et al.1982; Oliver et al.1993).

V r.1977 popsal Alan Steere se svými spolupracovníky novou nozologickou jednotku, kterou nazvali lymeská artritida, později nazvané lymeská nemoc.

Brzy poté byly úspěšně izolovány nové borelie z klíšťat u pacientů nejen v USA ale i Evropě. Evropské izoláty byly identické s americkými. Nový infekční agens, původce lymeské nemoci, byl poprvé popsán Williamem Burgdorferem a jeho kolegy v r.1982 a nese jeho jméno *Borrelia burgdorferi* (Bb). K objevu původce nové klinické entity-lymeské nemoci, došlo náhodou při zkoumání klíšťat a jejich vztahu k jinému bakteriálnímu původci zoonóz na Long Islandu v New Yorku (Burgdorfer et al. 1982).
V roce 1987, III.mezinárodní konference v New Yorku doporučila změnu názvu lymeská nemoc na lymeskou boreliózu (LB) (Gray et al. 2002).

3.2. Etiologické agens lymeské boreliózy

Původcem onemocnění LB je spirochétální bakterie rodu *Borrelia*. Soubor baktérií tohoto rodu, který má přímou vazbu k onemocnění LB byl v širším smyslu pojmenován *Borrelia burgorferi* sensu lato (Roháčová, 2005).

3.2.1 Taxnomie etiologického agens lymeské boreliózy

Etiologické agens je řazeno do následujících taxonů :

- doména : Baktérie (*Eubacteria)*
- kmen : Spirochéty (*Spirochatae*)
- třída : *Spirochaetes*
- řád : *Spirochaetales*
- čeleď : *Spirochetaceae*
- rod : *Borrelia*

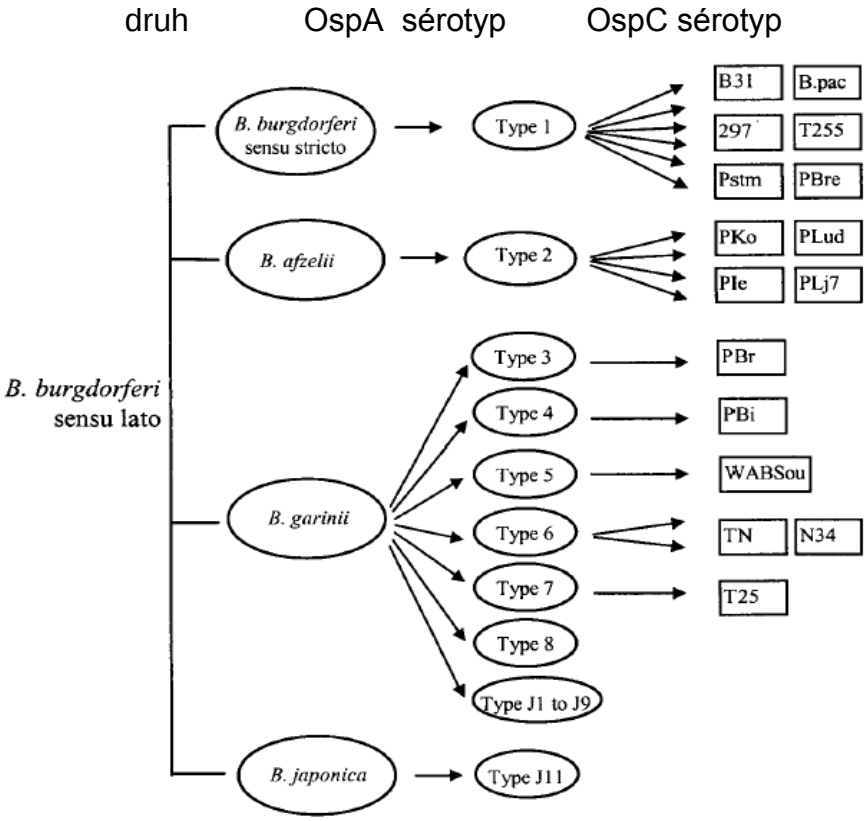
Rod *Borrelia* zahrnuje druhy mající vztah k onemocnění LB, ptačí boreliózy a druhy způsobující návratnou horečku (Barbour, 2001; Burgdorfer,1985).
Výčet jednotlivých druhů rodu *Borrelia* je uveden v Tabulce č. 1.

Borrelia sp.	Onemocnění	Vektor přenosu *	Georafické rozšíření onemocnění onemocnění
B. hermsii	návratná horečka nového kontinentu	*O. hermsi*	západní část USA, Kanada
B.turicatae	návratná horečka nového kontinentu	*O. turicata*	jihozápad USA, severní Mexiko
B. parkeri	návratná horečka nového kontinentu	*O. parkeri*	západní část USA, Kalifornie
B. mazzottii	návratná horečka nového kontinentu	*O. talaje*	Mexiko, Střední Amerika
B. venezuelensis	návratná horečka nového kontinentu	*O. rudis*	centrální část USA, severní část USA
B. duttoni	návratná horečka starého kontinentu	*O. moubata*	sub-saharská část Afriky
B. crocidurae	návratná horečka starého kontinentu	*O. erraticus*	severní, východní část Afriky, Blízký a Střední východ, Jižní Evropa
B. persica	návratná horečka starého kontinentu	*O. tholozani*	Střední východ, Řecko, centrální Asie
B. hispanica	návratná horečka starého kontinentu	*O. marocanus*	Iberský poloostrov, severozápadní Afrika
B. latyschewii	návratná horečka starého kontinentu	*O. tartakowskyi*	Irán, Afganistán, centrální Rusko
B. caucasia	návratná horečka starého kontinentu	*O. asperus*	Irák, jihozápadní část Ruska
B. recurrentis	vší přenášená návratná horečka	*Pediculus humanus*	celosvětově
B. anserina	ptačí borelióza	*Argas persicus, Argas spp.*	celosvětově
B. burgdorferi	lymeská borelióza	*I. dammini*	západní část USA
		I. ricinus	Evropa, západní část Ruska, Skandinávie

Tabulka č.: 1
Druhy bakterií rodu *Borrelia* asociované s různým onemocněním lidí a ptáků, zpracovaná data převzata z publikace: Oschmann P. et al., 1998, Stages and syndromes of neuroborreliosis, J Neurol, 254:262-272.
Legenda: *Borrelia* sp. – *Borrelia* species, druh bakterie rodu *Borrelia*;

* - *O. hermsi* – členovec rodu *Ornithorodus*, patřící do skupiny „klíšťáků“, měkkých klíšťat; *Pediculus humanus* – veš šatní, členovec; *Argas* spp. – různé druhy rodu *Argas*, členovci rodu *Argas* spadají do skupiny „klíšťáků“; *I. ricinus* – *Ixodes ricinus*, členovec rodu *Ixodes*, patřící do skupiny klíšťat, „tvrdých klíšťat“

Bb byla na počátku považována za homogenní druh. Nicméně zavedení a rozvoj nových metod molekulární analýzy přinesl nový pohled na druhovou klasifikaci tohoto agens. Tyto metody jsou v zásadě kategorizovány do dvou skupin a to na metody fenotypizační a genotypizační. V případě fenotypizace borelií souhrnně označovaných *Borrelia burgdorferi* sensu lato (Bbsl) je nejběžnější metodou sérotypizace. Tato metoda vychází ze sérotypové heterogenity dvou membránových proteinů „Outer surface protein A“ (OspA) a „Outer surface protein C“ (OspC). K dnešní době je rozpoznáno jedenáct OspA sérotypů, a to: J1 až J11 (Tabulka č. 2). OspC sérotyp je mnohem různorodější (Wilske at al.1996).



Tabulka č. 2

Sérotypy taxonu *Borrelia burgdorferi* sensu lato; rozlišení sérotypů na základě heterogenity dvou membránových proteinů, OspA a OspC proteinu. Převzato z: (Wang et al. 1999), Molecular Typing of *Borrelia burgdorferi* Sensu Lato: Taxonomic,

Epidemiological, and Clinical Implication, Clinical Microbiology Reviews, vol. 12, No. 4, s. 633-653.

Molekulární typizace vycházející z genotypizačních metod poskytuje mnohem detailnější informace o genetické různorodosti tohoto patogena. Autor (Krupka et al. 2007) uvádí dvanáct genotypů bakterií souhrnně označovaných Bbsl. Je pravděpodobné, že toto číslo není konečné. Také variabilita v rámci genomických druhů se jeví jako značná (Godfroid et al. 2003).

Jednotlivé genomické druhy se liší geografickým rozšířením (Tabulka č. 3). V severní Americe se vyskytuje jediný prokazatelně patogenní druh *Borrelia burgdorferi* sensu stricto a málo patogenní nebo nepatogenní druhy *B.andersonii* a *B. bissetti* (Marti Ras et al. 1997).

V Evropě patogenní druhy s prokázaným vztahem k LB jsou *B. burgdorferi* sensu stricto (Bbss), *B. garinii, B. afzelii* . Patogenita u *B. valaisiana* a *B. lusitaniae* zůstává nejistá (Rijpkema et al.1997).

Druh	Patogenní pro člověka	Zeměpisný výskyt
B.burgdorferi sensu stricto	patogenní	USA a západní Evropa
B. garinii	patogenní	Evropa a část Asie
B. afzelii	patogenní	Evropa a část Asie
B. japonica	není potvrzeno	Japonsko
B. andersonii	není potvrzeno	Severní Amerika
B. tanukii	není potvrzeno	Japonsko
B. turdi	není potvrzeno	Japonsko
B.valaisiana	popsány zřídka	Evropa
B. lusitaniae	popsány zřídka	Střední Evropa
B. sinica	není potvrzeno	Čína
B. bissettii	není potvrzeno	USA

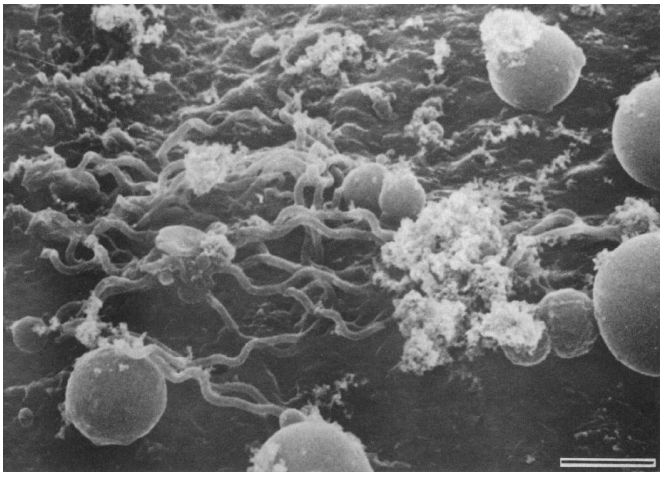
B. spielmanii	není potvrzeno	Západní Evropa

Tabulka č. 3
Druhy komplexu *Borrelia burgdoreferi* sensu lato: zeměpisný výskyt druhů a jejich patogenita pro člověka. Data převzata z: Krupka,M., Raska, M., Belakova, J., Horynova, M., Novotny, R., WeiglL, E. : Biological aspects of lyme disease spirochetes: Unique bakteria of the *Borrelia burgdorferi* species group. Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub. 2007, 151(2), s.175–186.

V důsledku zmíněných molekulárních odlišností existují také značné rozdíly v klinickém obrazu systémového onemocnění LB (Austen et al. 2001).

3.2.2 Morfologie borelie

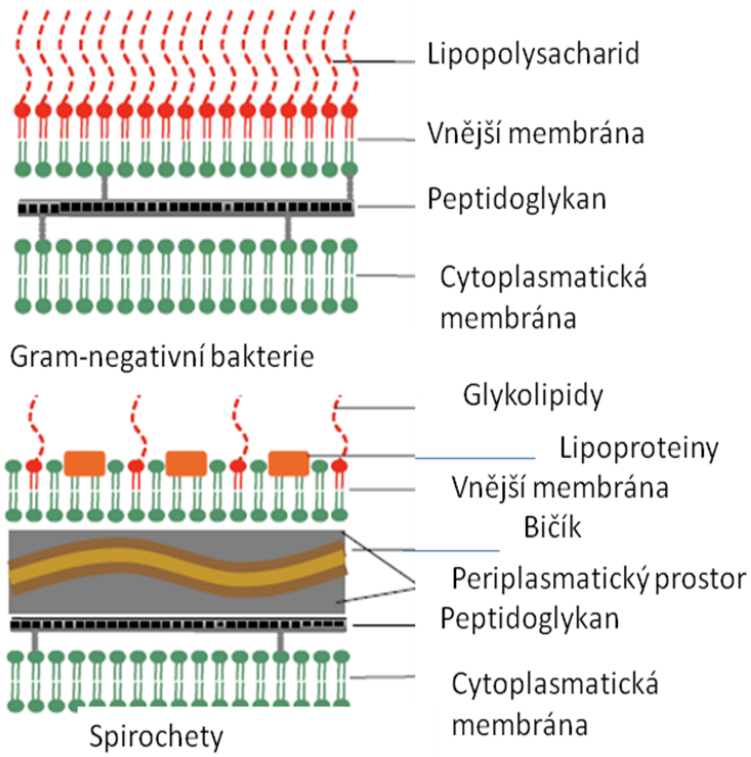
Morfologie borelií, jejich metabolismus a možnosti kultivace *in vitro* byla prvně blíže popsána roku 1986 (Barbour et Hayes,1986).
Borelie mají spirálový protáhlý tvar, který je typický pro všechny baktérie z kmene spirochét (Obrázek č. 1).



Obrázek č.: 1
Snímek spirochéty *B. burgdorferi* pořízený skanovacím elektronovým mikroskopem; spirochéty interagují s epiteliální výstelkou žaludeční sliznice klíštěte *I. dammini*; měřítko v pravém spodním rohu odpovídá 2,0 μm. Snímek převzat z Barbour A.G., Hayes S.F., 1986, Biology of *Borrelia* Species, Microbiological Review, vol. 50, No. 4., P. 381-400.

Třebaže spirochéty jsou některými autory často řazeny mezi Gram-negativní bakterie, jsou zde zásadní odlišnosti v architektuře buněčné stěny spirochét od buněčné stěny Gram-negativních bakterií. Podobně jako Gram-negativní bakterie mají spirochéty dvě membrány v buněčné stěně. Vnější membrána, která je tvořená převážně lipoproteiny a glykolipidy není ukotvena k vrstvě peptidoglykanu, obsaženém v periplasmatickém prostoru. Zvláštností navíc je, že periplasmatický prostor obsahuje bičík (Obrázek č. 2). (Schroder et al. 2008).

Borelie jsou pohyblivé, mikroaerofilní bakterie dlouhé 3–20 μm a široké 0,2–0,5 μm (Barbour et Hayes, 1986). Spirálový tvar bakterie má 4 až 15 pravidelných závitů (Cabello et al. 2006). Počtem bičíků se liší tato lymeská spirochéta od ostatních patogenních borelií, které mají obvykle 15 – 20 bičíků. Borelie jich má 7-11 (Valešová,1999).



Obrázek č.: 2
Architektura buněčné stěny Gram-negativních bakterií a spirochét. Spirochéty na rozdíl od Gram-negativních bakterií obsahují ve vnější membráně glykolipidy, spolu s lipoproteiny, dále v periplasmatickém prostoru je přítomen bičík. Obrázek převzat z: Schroder N. W.J., et al.: Immune response induced by spirochetal outer membrane lipoproteins and glycolipids, Immunobiology, 2008, 213, s. 329-340

Pohyb Bbsl umožňují bičíky, které rotují všemi směry a synchronizace jejich pohybu mezi oběma svazky. Pružnost membrány umožňuje vysouvání bičíků ke středu i k okrajům bakterie, tvorbu cyst a vylučování vezikul, které mají stejnou stavbu jako buněčná membrána a obsahují plasmidovou genetickou výbavu. Těmito vazikulárními a fibrilárními útvary se Bbsl odlišuje od ostatních spirochet (Roháčová, 2005).

Bakterie se pohybují šroubovitým pohybem kolem vlastní osy, natahováním a smršťováním celé buňky. Tento pohyb je výhodný vzhledem k místu jejich nejčastějšího výskytu, to je ve vysoce viskózním prostředí mezibuněčné hmoty. Způsob pohybu umožňuje boreliím překonávat epiteliální bariéru, ale i vysoce účinnou bariéru hematoecefalickou. Borelie jsou schopné vstupovat do buněk, například fibroblastů, dendritických buněk a mikrofágů a v nich nadále přežívat. (Křupka et al. 2008).

3.2.3 Genom borelie

První kompletní sekvence genomu bakterie Bb, kmene B31, byla poprvé opublikována roku 1997 (Frazer et al 1997).

Genom Bb je poměrně malý ve srovnání s jinými známými patogeny, jako je např. *Mycobacterium tuberculosis.* Velikost kompletního geonomu Bb je 1,52 Mbp. Tvoří jej jeden lineární chromozom, 12 lineárních a 9 cirkulárních plazmidů. Velikost chromozomu je 910725 bp, poměr G-C párů je pouze 28,6%. Lineární chromozom obsahuje 853 kódujících sekvencí, tzv. „open reading frames“ (ORF) Chromozom obsahuje geny pro kódování základního souboru proteinů k DNA replikaci, transkripci nebo energetického metabolismu, neobsahuje geny pro biosyntézu látek. Z celkového počtu 853 ORF je u 59% genů známa jejich biologická funkce, 12% kóduje sekvence s neznámou funkcí nalezené i u jiných druhů bakterií a 29% jsou geny s neznámou funkcí (Fraser et al.1997).

Mimo lineární chromozom obsahuje genom Bb ještě lineární a cirkulární plazmidy o celkové velikosti 610694 bp. Plazmidy obsahují 430 ORF. Poměr G-C párů se pohybuje mezi 23 až 32%. Kódující sekvence představuje 71%

plazmidové DNA. Z celkového počtu 430 ORF je dosud identifikováno 16% genů. Na plazmidech jsou kódovány především sekvence neznámých biologických funkcí souvisejících většinou s virulencí a infektivitou (Fraser et al.1997).

V dnešní době jsou již dostupné informace o kompletnim genomu dalších čtyř kmenů bakterií rodu *Borrelia* (*B. afzelii* kmene Pko, *B. burgdorferi* kmene ZS7, *B. recurentis* kmene A1, *B. duttonii* kmene Ly), (genomová databáze NCBI, National Center for Biotechnology Information, http://www.ncbi.nih.gov).

3.2.4 Antigenní vlastnosti borelie

Repertoár povrchových proteinů borelií je vysoce komplexní. Tato komplexnost se zdá být přímým důsledkem evoluční adaptace patogena na nehostinné prostředí uvnitř hostitele v podobě členovce, či savce. Po biochemické stránce se u většiny identifikovaných proteinů jedná o lipopolysacharidy (Templeton, 2004).

Změny exprese proteinů vnějšího povrchu borelií mají za následek ztíženou možnost rozpoznání imunitním systémem borelie a laboratorní diagnostiky (Glöckner et al. 2006).

Mezi nejlépe prostudované antigeny patří povrchové proteiny vnější membrány, označené OspA, OspB, OspC (Osp – „Outer surface protein“), o hmotnosti molekul 31,34 a 21-25 kDa. Geny pro antigenní proteiny OspA a OspB jsou umístěny na lineárním plazmidu 49kb. Velice výrazná je u Bbsl variabilita těchto dvou hlavních proteinů. Vyskytují se i borelie, v jejichž antigenní výbavě chybí jeden nebo oba tyto proteiny. V těchto případech je rozhodujícím protein OspC, který má gen kódovaný na cirkulárním plazmidu 26kb a vyskytuje se jako dimer. Je převládajícím séroaktivním antigenem vyvolávajícím časnou protilátkovou odpověď (Xu et al. 2008).

Protilátky (Ab) proti OspA a OspB se tvoří až v pozdních fázích nemoci (Schwan et al. 1995; Fingerle et al.1995).

Dalšími povrchovými antigeny Bbsl jsou lipoproteiny OspD a OspE/F, patřící do rodiny proteinů ErpS. Tyto antigeny byly identifikovány jako strukturní složky vnější membrány borelií s různým stupněm exprese u jednotlivých izolátů a

v závislosti na fázi životního cyklu borrelií. OspD, lipopolysacharid, o molekulové hmotnosti 28kDa se účastní procesu adheze k receptorům buněk hostitele. V důsledku rekombinace genu, ke které dochází v rámci OspD, je jeho tvorba nízká a stupeň variability vysoký. Omezená distribuce tohoto genu u různých druhů borelií naznačují, že diagnostické testy založené na imunní odpovědi na tento protein mohou vést ke špatným výsledkům**.** Molekulová hmotnost proteinů OspE a OspF je 19,2 kDa a 26,1 kDa. Jsou kódovány geny cirkulárního plazmidu o velikosti 45kb (Zhang et al.1997; Hefty et al. 2001).

OspE je jedním z pěti povrchových lipoproteinů, které mají receptor pro vazbu regulačních molekul komplementu faktoru H (Bykowski et al. 2007).

Tyto proteiny usnadňují přežití spirochét a jejich vstup do krevního oběhu savců. Pomáhají spirochétám vyhnout se imunitní reakci a fagocytóze (Seiler et Weis, 1996).

Významnými antigeny borelií jsou i bičíkové proteiny. Bičíky většiny druhů spirochét obsahují tři proteiny - FlaB1, FlaB2 a FlaB3. Tyto proteiny jsou připojeny subterminálně na koncích vláken válce bičíků, obálka obsahuje protein FlaA. Každý z těchto proteinů kóduje samostatný gen. Periplasmatický bičík se skládá z jednoho až dvou proteinů FlaA (37 kDa) a tří až čtyř proteinů (flagelin) FlaB (41 kDa) (Randolf et Lukehart, 2006).

Protein FlaA podléhá posttranslační glykosylaci, spouští časnou IgM protilátkovou imunitní odpověď u pacientů s LB a bývá často využíván jako marker v diagnostických sadách (Panelius et al. 2001) .

V pozdní fázi infekce se uplatňuje tzv. „antigenic variation protein“ VlsE. Gen je lokalizovaný blízko konce lineárního plazmidu lp 28-1. Pro vznik VlsE slouží sekvence DNA borelie obsahující 15 až 20 „kazet“, lišících se ve variabilních oblastech (Dworkin et al. 2006).

Variabilní části VlsE jsou nasměrovány ven a jsou neustále měněny rekombinací, čímž se zasahující imunitní systém setkává neustále s novými, pozměněnými antigeny (Embers et al. 2007). Konstantní oblasti jsou maskovány variabilními oblastmi a v žijících boreliích jsou tak chráněny od přímého zásahu imunitního systému. VlsE je velice specifický antigen, charakteristický pro pozdní fázi boreliózy (Liang et al. 2001).

P60 je obecný antigen společný pro více baktérií. Tento protein může být příčinou zkřížených reakcí a působit tím potíže při hodnocení výsledků testů. P83/100 jsou vysoce specifické proteiny vyvolávající pozdní imunitní odpověď (Cullen et al. 2004; Van Nicht, 2007).

Protein Oms66 (p66) patří do skupiny proteinů formujících nespecifické difuzní kanály a pravděpodobně je tento protein důležitý pro patogenezi LB a fyziologii spirochét. Vyvolává imunitní reakci v prvních fázích infekce (Neubauerová et al. 2008).

Dále borelie syntetizují adhezivní molekuly umožňující uchycení v hlavním cíli, to je pojivové tkáni. Mezi nejvýznamnější se řadí tzv. Decorin binding protein (Dbp) A a B, Fibronectin binding protein (BBK 32) a Borelia glycosaminoglycansbinding protein (Bgp) (Shi et al. 2008).

3.3 Epidemiologie

LB je přírodně ohnisková nákaza. Její původce Bbsl. koluje v ekosystému mezi živočišnými hostiteli prostřednictvím přenašečů. Náhodným hostitelem borelií může být i člověk (Valešová,1999). Pravděpodobnost přenosu borelií na člověka po přísátí klíštěte je v prvních 24 hodinách nízká a pak se výrazně zvýší (Satz, 2002).

3.3.1 Přenos infekčního agens

Přenosem nákazy rozumíme přenos infekčního agens ze zdroje nákazy na vnímavého hostitele. Existují dva základní typy přenosu – přenos přímý a nepřímý.

Pro přímý přenos je charakteristická současná přítomnost zdroje nákazy a vnímavého hostitele. Infekční agens přechází z brány výstupu infikovaného jedince do vhodné brány vstupu nového hostitele.

Takový přenos nastane :

- přímým kontaktem nebo kontaminací výměty infikované osoby či zvířete, při které se přenese infekční agens na sliznici některé z bran vstupu,
- kapénkovou infekcí, pokousáním či poškrábáním infikovanou osobou nebo zvířetem,
- proniknutím infekčního agens placentární bariérou a infekcí plodu. Jde o přenos patogenu z matky na plod –transplacentární přenos.

(Valešová,1999).

Pro nepřímý přenos je charakteristické, že se uskutečňuje nezávisle na přítomnosti zdroje nákazy a může být zprostředkován.

Takový přenos nastane:

- stykem s kontaminovanými předměty a jejich používáním,
- konzumací infikovaných potravin,
- vzduchem, prachem nebo infikovanými biologickými produkty, např. sérum, plazma, atd.,
- vektory.

V mnoha případech byl prokázán vertikální přenos agens z jednoho stádia vektora do dalšího v průběhu metamorfózy, tzv. transstadiální přenos a tzv. transovariální přenos, kdy agens je předáno samičkou potomstvu (Krbová, 2007).

Borelie jsou závislé na svém hostiteli, nejsou schopny růst ve vnějším prostředí a to vzhledem ke své nekompletní metabolické výbavě. Chybí jim enzymy pro syntézu aminokyselin, mastných kyselin a nukleotidů, které získávají z organizmu hostitele (Křupka et al. 2008).

Hlavním přenašečem LB jsou klíšťata rodu *Ixodes*. O přenosu hmyzem (komáři, blechy, a.j.) existují stále pochybnosti. Skutečností je, že byly nalezeny spirochéty v některých druzích hmyzu a byly popsány klinické projevy LB ve formě EM po štípnutí hmyzem. Za nejpravděpodobnější se považuje nepřímý mechanizmus, kdy se spirochéty dostaly oděrkami do organizmu po rozdrcení sajícího hmyzu na kůži. V naprosté většině dojde k infekci po přisátí klíštěte (Roháčová, 2005).

Na světě se vyskytuje kolem 650 druhů klíšťat. V Evropě je nejrozšířenější zástupce rodu *Ixodes* - *Ixodes ricinus* (klíště obecné), v USA a Kanadě zejména *Ixodes scapularis* a *Ixodes pacificus* (Steere et al. 2004).

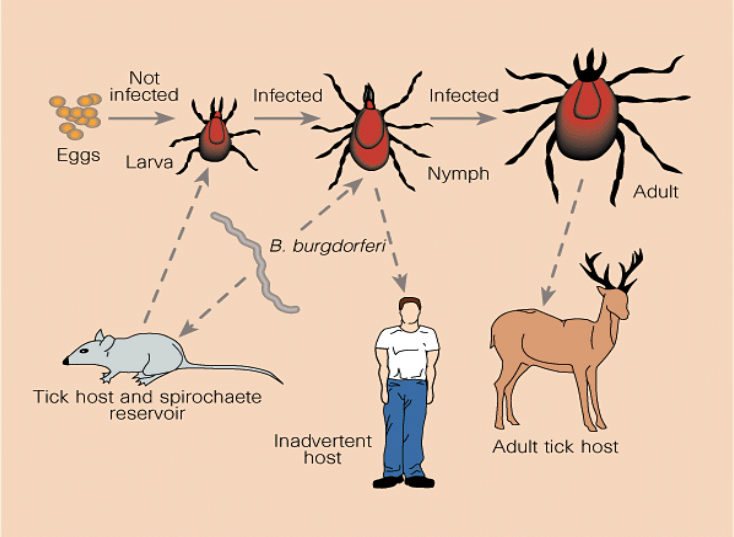
Obrázek č. 3
Ixodes ricinus - detail bodavě sacího ústrojí klíštěte (autor: Mgr. V. Bádr)
Převzato: http://www.biolib.cz/cz/taxon. Převzato: Förstl M.:Praktický atlas lékařské parazitologie, MultiMedia SoftWare, Hradec Králové, 2005.

Výrazným morfologickým znakem klíštěte je bodavě sací ústrojí (Obrázek č. 3). Tvoří je masivní zubatý sosák, sestávající z chitinu, opatřený mnoha zpětnými háčky a pohyblivé postranní chelicery. Chelicery jsou malé nožíky pohybující se proti sobě navzájem tak, že jsou schopné prořínout pokožku. Dlátovitý tvar hypostomu umožňuje klíštěti proniknutí do kůže, háčky uchycení na pokožce. Uchycení na pokožce je tak pevné, že není možné se klíštěte spontánně zbavit (Kimmig el al. 2003).

Obrázek č. 4
Klíště obecné (*Ixodes ricinus*) - sameček a samička. Převzato: http://www.arthropods.de/index.htm (autor: José Verkest)

Vývojový cyklus klíštěte probíhá ve třech stádiích : z vajíčka se vylíhne šestinohá larva a z ní později se vyvine osminohá nymfa. Posledním stádiem, tzv.dospělcem, je pohlavně zralá samička a sameček (Obrázek č. 4). Možnost infekce nymfami je nečastější koncem jara a počátkem léta, infekce dospělými klíšťaty je nejčastější zejména počátkem léta a na podzim.

V příhodných podmínkách, vzhledem k vlhkosti a teplotě, probíhá přeměna ve vyšší vývojové stádium klíštěte v období léta. Přirozeným prostředím pro výskyt klíšťat jsou zejména biotopy lesů, křovin a pastvin s křovinami až do výšek 2000 m n.m. Jejich výskyt je však pevně vázán na přítomnost vhodných hostitelů. Pro vyhledávání hostitele jsou klíšťata vybavena tzv.Hallerovým orgánem, který se nachází na koncích předních nohou. Tento složitý smyslový orgán dokáže zachytit mechanické, tepelné a chemické podněty. Klíště hostitele rozpozná na základě otřesů, vyzařovaného tepla a vydechovaného oxidu uhličitého (Kimmig et al., 2003).



Obrázek č. 5
Životní cyklus klíštěte *Ixodes*, vektora *Borrelia burgdorferi.* Převzato:Barbour,A.G., Zückert,W.R.: Genome sequencing: New tricks of tick-borne pathogen. Nature 390, 1997, s.553-554.

Hostitelem larev se stávají nejčastěji drobní hlodavci a ptáci, v jejichž organismu se mohou celoživotně vyskytovat borélie, aniž by u daného jednice

způsobily nákazu. Menší samečci krev nesají. Samičky parazitují zejména na větších savcích jako jsou domácí zvířata, lovná zvěř a samozřejmě i člověk (Obrázek č. 5) (Akademie věd, 2009).

3.3.2 Geografická distribuce onemocnění ve světě

Onemocnění LB bylo zjištěno v několika zemích světa na několika kontinentech. Základní klinické spektrum onemocnění jsou podobné na celém světě, i když jsou rozdíly v klinických projevech mezi LB vyskytující se v Evropě a Severní Americe (Steere, 2001). Výskyt artritidy je častější u pacientů v Severní Americe, v Evropě se častěji vyskytuje boreliový lymfocytom, ACA a encefalitida. Existují také rozdíly v klinické prezentaci mezi regiony Evropy a to pravděpodobně v závislosti na druhu Bbsl, který infekci vyvolal (Strle et al. 1999).

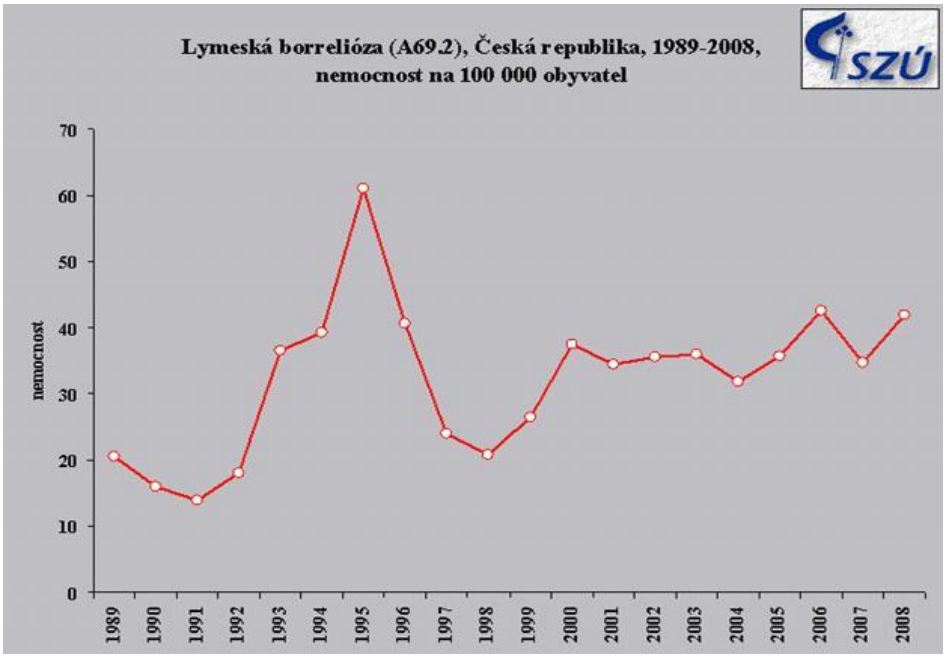
Bbss často způsobuje artritidu, *B. afzelii* je nejčastěji spojena s následky kožních onemocnění a *B. garinii* s neurologickými příznaky či komplikacemi (Wang et al. 1999). S ohledem na rozdílné spektrum patogenů nejsou klinické studie platné v Severní Americe použitelné v Evropě (Nau et al. 2009).

V Evropě se onemocnění LB vyskytuje ve všech státech s výjimkou jižního Španělska a Itálie a severní Skandinávie a Ruska. Geografické rozložení Bbsl. druhů je velmi variabilní. *B. garinii* a *B. afzelii* jsou přítomny ve většině evropských států jako dominantní druhy borelií. Třetím nejčastějším druhem v komplexu Bbsl. je v Evropě *B. valaisiana.* Výskyt *B. burgdorferi* sensu stricto v je větší v západní Evropě. Distribuce druhů se může lišit v relativně malých oblastech a v různých obdobích. V Americe byl izolován pouze druh *B.burgdorferi* sensu stricto (Derdáková et Lenčáková, 2005).

České republice se detailní sledování výskytu onemocnění LB provádí od roku 1986. Od té doby probíhají výzkumy zaměřené na klíště, jako hlavního přenašeče a na přítomnost spirochét v jeho těle. Promořenost klíšťat boreliemi na území ČR kolísá v rozsahu od 2 do 22% (Roháčová, 2005).

Z věkového rozdělení případů onemocnění LB v České republice bylo zjištěno, že postiženy jsou zejména dětské věkové skupiny s nejvyšším počtem onemocnění ve věkové skupině 5-9letých a věkové skupiny dospělých starších

45 let. Příčinou tohoto rozdělení jsou pravděpodobně rekreační a sportovní aktivity osob. Aktivní ohniska LB se častěji vyskytují také v parcích a zahradách městských aglomerací. V roce 2008 bylo v České republice hlášeno 4350 případů LB, což reprezentuje nemocnost 41,6/100000 obyvatel (Státní zdravotní ústav, 2009).



Graf č.1
Vývoj nemocnosti lymeskou boreliózou v ČR v letech 1989 až 2008.
Data převzata z : Státní zdravotní ústav/epidemiologická data : www.szu.cz

3.4 Patogeneze

Borelie se během svého vývojového cyklu musejí vyrovnat s velmi odlišnými podmínkami okolního prostředí. Musí být schopny osídlit trávící trakt klíštěte, po nasátí krve se skrze slinné žlázy klíštěte dostat do krevního oběhu hostitele, zde uniknout imunitním mechanizmům hostitele a rozšířit se do cílových orgánů. To je umožněno přesnou regulací exprese povrchových proteinů Osp. V trávícím traktu klíštěte jsou na povrchu borelií syntetizovány hlavně proteiny OspA a OspB, které zde mají funkci adhezivních molekul (Běláková et al. 2005). V průběhu sání krve klíštětem se snižuje exprese těchto proteinů a zvyšuje se exprese OspC, což umožňuje bakteriím opuštění trávicího traktu a

přechod do slinných žláz klíštěte. OspC má schopnost vázat imunoregulační protein Salp15 obsažený ve slinách klíštěte, a pomáhá tak boreliím přečkat imunitní reakci v iniciální fázi infekce hostitele. Podmínkou pro expresi OspC genů je teplota 37°C (Goodman et al. 2005).

Během přechodu do diseminované fáze choroby dochází k poklesu exprese OspC a na povrchu borelie se objevuje protein VlsE vyznačující se vysokou antigenní variabilitou, která je podmíněna genovou rekombinací multidoménového VlsE genu. Expresí VlsE borelie aktivně omezuje působení rozvíjející se specifické imunitní odpovědi hostitele a umožňuje přechod do chronické fáze infekce. V těle teplokrevného hostitele borelie dále exprimují molekuly vážící H-faktor zapojený do regulace aktivace komplementové kaskády a povrchové proteiny z rodiny ErpS (OspE/F). Povrchové proteiny Bb s vysokou afinitou k hostitelskému komplementárnímu kontrolnímu systému mohou být jedním z mechanismů přežívání borelií v organismu (Skotarczak, 2009).

Dále borelie exprimují adhezivní molekuly umožňující uchycení v hlavním cíli, to je v pojivové tkáni. Mezi nejvýznamnější se řadí tzv..Decorin binding protein (Dbp) A a B, Fibronectin binding protein (BBK 32) a Borrelia glycosaminoglycan binding protein (Bgp). V pozdní fázi infekce se na povrchu borelií znovu objevují adhezivní proteiny OspA a OspB (Křupka et al. 2008).

Klíště, infikované Bbsl, není vždy zdrojem onemocnění LB. Vliv na vznik a průběh infekce mají především imunologické faktory hostitele, ale i antigenní výbava borelií, jejich schopnost odolávat fagocytóze, adherovat k epitelovým či mozkovým buňkám a pronikat do nich. Nezanedbatelný vliv má i počet mikroorganismů uvolněných při sátí do krevního oběhu hostitele. Jejich počet závisí na délce doby sání infikovaného klíštěte a frekvenci kontaktů hostitele s infikovanými klíšťaty. Po proniknutí do kůže se borelie zvolna množí. Zůstávají v místě průniku infekce při vzniku migrujícího erytému nebo pronikají lymfatickými cestami do mízních uzlin. Při EM je reakce imunitního systému spojena s výskytem T a B lymfocytů a makrofágů. Proniknutí borelií do mízních uzlin vyvolává primární imunologickou odpověď a následnou regionální lymfadenititidu (Hanson et al. 1998).

V časné fázi infekce pronikají Bbsl do krevního oběhu hostitele a pomocí krevního oběhu se dostávají do různých orgánů, zejména patřících do mononukleárně - fagocytárního systém (MPS). Borelie jsou bakterie extracelulární. Mohou však pronikat do buněk, například do fibroblastů, kde přežívají intracelulárně. Fibroblasty při tvorbě kolagenu produkují i borelie. Borelie mohou také osídlovat mezibuněčný prostor různých tkání. Disponují tak různými možnostmi, jak se vyhnout zejména působení protilátek. Infekce aktivuje NK buňky vrozeného imunitního systému a spouští specifickou a nespecifickou imunitní odpověď, vyvolanou povrchovými proteiny Bbsl. Reakce na infekci vede k tvorbě specifických protilátek typu IgM a to ve třetím až šestém týdnu. Tyto protilátky jsou zaměřeny především proti flagelárnímu antigenu p41. Při dlouhodobém přetrvávání IgM odpovědi se tvoří protilátky i na jiné antigeny. V šestém až osmém týdnu se projeví specifické látky typu IgG.Tyto lze prokazovat po několik následujících let (Nadelman et Wormser,1998).

Mechanizmy postižení tkáně v průběhu LB nejsou dosud zcela objasněny. Je zřejmé, že postižená tkáň je důsledkem patogenního efektu Bbsl a obrany imunitního systému hostitele. Vznikat mohou imunologické reakce vyvolané přítomností spirochét v organizmu. K poškození tkání může docházet také v důsledku toxické reakce spojené s působením neurotoxinů, které borelie produkují. Skutečnost, že patogeneze LB se u jednotlivých forem onemocnění do jisté míry liší je právě projevem existence množství těchto vlivů a jejich kombinací (Roháčová, 2005; Valešová, 1999).

3.5 Klinické projevy lymeské boreliózy

Klinické formy LB jsou velmi variabilní a projevují se v závislosti na věku pacienta, druhu patogenu a dalších faktorech. (Christen et Eiffert, 2003).

Z pohledu hostitelského organizmu probíhá onemocnění ve třech fázích. (Tabulka č.4).

Orgán	Časná lokalizovaná fáze	Časná diseminovaná fáze	Chronická fáze
Kůže	Migrující erytém		ACA
Diseminovaný migrující erytém			
Boreliový lymfocytom			
Nervový systém		Meningo-polyradikuloneuritida	Encefalopatie Encefalomyelitida
	Kraniální neuritida	Neuropatie	
Muskuloskeletální systém		Artritida	Chronická artritida
	Myositida		
Srdce		Karditida	Kardiomyopatie
	Tachykardie		
	Atrioventrikulární blok		

Tabulka č. 4
Fáze a orgánová postižení onemocnění LB. Data převzata z: Müllegger,R.R.: Dermatological manifestations of lyme borreliosis.Eur J Dermatol 2004; 14: s. 296-309

První fáze: onemocnění časné lokalizované.

Tato časná fáze se projevuje v 70 % případů kožními příznaky ve formě EM. Příznakem může být také horečka, třesavka, bolesti ve svalech, únava. Dalším znakem časné fáze infekce je přítomnost sérových protilátek třídy IgM se specifitou k OspC a antigenu bičíků (flagelin). V této fázi dochází často ke spontánnímu uzdravení (Smith et al. 2002).

Druhá fáze: onemocnění časné diseminované.

Pokud bakterie nejsou eliminovány imunitním systémem a onemocnění zůstává neléčeno, mohou se borelie šířit z kůže do dalších orgánů a způsobovat postižení nervového systému (periferní obrna lícního nervu, meningoencefalitida, polyradikulopatie) nebo kloubů (lymeská artritida) či způsobit další kožní projevy (sekundární EM, boreliový lymfocytom a

později ACA). Vzácněji mohou způsobovat lymskou karditidu či postižení očí (Müllegger, 2004).

Třetí fáze: onemocnění pozdní diseminované.

Toto pozdní stádium má chronický průběh a objevuje se za více než 6-12 měsíců. Projevuje se zejména postižením kloubů, kůže, nervového systému. Pozdním kožním projevem je ACA, objevující se i za několik let po infekci. Polovina nemocných v tomto stádiu má současně s ACA i příznaky postižení jiných orgánů. Kloubní postižení má charakter chronické artritidy. V tomto stádiu mají borelie schopnost dlouhodobě přežívat v lidkém organismu a unikat imunitní odpovědi (Bojar, 1996).

3.5.1 Postižení kůže

Kožní formy LB patří k nejtypičtějším postižením. Mohou se projevovat ve všech třech stadiích onemocnění a vyskytují se až u 60-80 % případů. K nejčastějším projevům postižení kůže patří EM, boreliový lymfocytom a ACA (Müllegger, 2004).

3.5.1.1 Migrující erytém

EM je patognomickým příznakem boreliózy charakteristickým pro první stadium (Obrázek č. 6). Jde o nebolestivé onemocnění, které po několika týdnech a až měsících mizí i bez léčby. Tato primární forma EM má anulární či makulární konfiguraci, vzácnější je typ koncentrický. Velikost erytému přesahuje zpravidla 5 cm. Tato léze není obvykle spojena s typickými příznaky zánětu kůže, jako je svědění, odlupování, bolest, otoky. EM se objevuje průměrně jeden až dva týdny po přisátí klíštěte. V raném diseminovaném stadiu se může objevovat i na jiných místech než v oblasti vstupu infekce – jde o sekundární formu, která se u nás vyskytuje vzácně, častější je však v USA (Ogden et al. 2008).

Obrázek č. 6
Migrující erytém v oblasti trupu. Převzato: Müllegger,R.R.: Clinical aspects and diagnosis of erythema migrans and borrelial lymphocytoma**.** Acta dermatovenerologica APA, 2001, 10/4.

3.5.1.2 Boreliový lymfocytom

Boreliový lymfocytom je druhou typickou dermatózou. Jde o benigní B-buněčný lymfoproliferativní proces, který vychází na popud antigenního stimulu Bb v kůži. Lokalizován může být na ušním lalůčku, nosu, na prsní bradavce nebo na šourku v místě přisátí klíštěte i mimo něj (Obrázek č. 7). Jde o nebolestivé zduření červenofialové až modrofialové barvy. Častý je typ lokalizovaný, vzácný je typ diseminovaný. Vyskytuje se u dětí, méně často u dospělých (Roháčová, 2005).

Obrázek č. 7
Boreliový lymfocytom v části ušního lalůčku. Převzato: Müllegger,R.R.: Clinical aspects and diagnosis of erythema migrans and borrelial lymphocytoma**.** Acta dermatovenerologica APA, 2001, 10/4 .

3.5.1.3 Chronická atrofická akrodermatitida

ACA je onemocnění charakteristické pro třetí stádium. Potíže se mohou projevit po měsících i letech po infekci. Postižení začíná obvykle mírným erytémem nemocné části. Projevuje se obvykle na horních i dolních končetinách jako mírně zarudlé nebolestivé prosáknutí kůže (Obrázek č. 8). Vzácně se vyskytuje na trupu či obličeji.Ve stádiu atrofickém dochází k úbytku elastických vláken v kůži a kůže se stává tenkou, nepružnou s prosvítajícími cévami (Roháčová, 2007).

Obrázek č. 8
Chronická atrofická akrodermatitida v oblasti rukou. Převzato: Edlow,J.A.: Lyme Disease: http://emedicine.medscape.com/article/ 1053863-overview (2009)

3.5.2 Postižení muskuloskeletálního systému

Projevy postižení pohybového aparátu v průběhu jednotlivých stádií mají různý charakter. (Bartůněk et al. 1996) dělí tyto projevy do tří skupin :

1. Atralgie.
   Jde o muskuloskeletální, často migrující bolesti kloubů, kostí, páteře, šlach, vazů a svalů bez objektivních klinických známek postižení. Obvykle vzniká ve 2 a 3 diseminovaném stádiu. Bolesti trvají od

několika hodin až po řadu týdnů a často mění lokalizaci. Sporadicky bývají atralgie trvalé. Později mohou přecházet do akutního nebo chronickho zánětu některého kloubu –artritidy (Bartůněk et al. 2006).

2. Artritida.

   Artritida, zánět kloubu, se projevuje objektivním nálezem otoku, synoviální reakcí doprovázenou zhutněním nebo zhuštěním kloubního pouzdra, nálezem kloubního výpotku případně zvýšené lokální teplot (Steere et al. 1987).

   Důsledkem je omezení pohybu kloubu a bolest. Artritida se často objevuje již ve 2 stádiu diseminované infekce, obvykle několik měsíců od počátku infekce. Nejčastěji postihuje jeden nebo více kloubů, zejména kolena, hlezna, ramena, zápěstí, lokty. Nad postiženými klouby bývá pozorováno zarudnutí. Zánět kloubu může probíhat jako jedna epizoda, trvající řadu týdnů až měsíců. Může se střídat s obdobím komplexní remise, která může trvat od několika dnů do několika roků. Ve sporadických případech se rozvíjí chronická artritida, za níž se považuje zánět kloubu, který trvá déle než jeden rok (Valešová, 1999).

3. Chronické změny kloubů a kostí pod kůží s ACA.

   Toto onemocnění je projevem 3.diseminované fáze infekce. Atralgie, nebo artritidy mohou předcházet nebo probíhat současně s ACA. V této fázi infekce vznikají rozličné kloubní a kostní abnormality přímo pod kůží s dlouhodobě probíhajícím ACA (Valešová, 1999).

3.5.3 Postižení nervového systému

Při postižení nervového systému LB (neuroborelióza) může být napaden jak centrální, tak periferní nervový systém. Nervová tkáň je chráněna před průnikem patologických agens hematoencefalickou bariérou. Přesto dochází k průniku borelií krevní cestou přes tuto bariéru do nervové tkáně a to záhy po

infekci. Nález spirochét v nervové tkáni nemusí vždy provázet histopatologické změny nebo zánět. Je pravděpodobné, že dochází k perzistenci infekce v nervové tkáni a ta může být i dlouhodobá a může vést ke klinickým obtížím až po letech. Klinické projevy neuroboreliózy jsou pestré. Porušení centrálního nervového systému se projevuje jako encefalitida, meningitida nebo meningoencefalitida, provázené obvykle obrnou hlavových nervů, především nervu lícního (Hildenbrand et al. 2009).

Dalším projevem je i tzv. Garin-Bujadoux-Bannwarthův syndrom. Toto onemocnění je charakterizováno chabými periferními parézami, aseptickým likvorovým nálezem a krutými radikulárními bolestmi. Postižení periferního nervového systému se nejčastěji manifestuje jako polyneuritida. Projevem tohoto onemocnění je oslabení svalové síly a porucha citlivosti postižené části těla (Satz, 2002).

Nemoc se může někdy manifestovat neurologickými, neuropsychologickými a psychiatrickými příznaky bez dalších klinických projevů. Ty se mohou projevit i za několik let po nákaze. Psychiatrické symptomy mohou přecházet od lehké deprese, afektivní poruchy až po organické psychózy (Kohler,1990)

3.5.4 Postižení srdce

Postižení srdce LB má podobné příznaky jako běžné choroby oběhového ústrojí. Projevuje se především poruchami srdečního rytmu, arytmií, zánětem chlopňového aparátu srdce a endokardu (endomyokarditida), zánětem osrdečníku (perikarditida) a to bez nebo se selháním srdce (Van der Linde et al. 1993).

Vliv Bbsl na chronické srdeční onemocnění není zcela objasněn. Projevem může být skutečnost, že u pacientů s kardiomyopatií se vyskytuje významě vyšší hladina Ab proti Bbsl než u pacientů s ischemickou srdeční chorobou (Klein et al. 1991).

3.5.5 Postižení oka

Postižení očí LB se může projevit ve všech fázích onemocnění, především ve druhé a třetí diseminované fázi infekce. V akutním stádiu může probíhat jako zánět spojivek (konjunktivitida). Zánětlivé poškození cév v sítnici oka může vést k retinální vaskulitidě. V chronické fázi onemocnění se může projevit zánět očního nervu a sítnice (neuroretinitida), zánět oční rohovky (keratitida), zánět střední vrstvy oka-živnatky (uveitida), zánět sklivce (vitritida) (Karma et al., 1996).

Nitrooční záněty způsobené Bbsl jsou vzácné a těžko se diagnostikují (Schönherr et Strle, 1993).

3.5.6 Chronická lymeská borelióza

Chronická LB není přesně definována. Jde buď o případy, kdy není žádný objektivní důkaz o předchozí nebo současné infekci Bb nebo o případy, které jsou charakterizovány jako „post-lyme syndrom“. Syndrom je definován jako pokračování nebo relaps nespecifických příznaků u pacientů léčených na LB (Marques, 2008).

Přestože je terapie ATB úspěšná, může se objevit pomalejší reakce na terapii u LB s pozdními projevy. Projevuje se únavou, boletivostí kloubů a svalů, poruchami spánku, poruchami paměti nebo psychiatrickými onemocněními (Feder et al. 2007).

CDC (the Centers for Disease Control) stanovila kritéria pro hodnocení onemocnění LB. Tato kritéria závisí na přesné identifikaci objektivních příznaků, zejména EM a doplnění laboratorní diagnostikou (CDC, 2008).

4. DIAGNOSTIKA

Problematika diagnostiky LB v sobě zahrnuje nejen laboratorní metody, ale také anamnézu a klinické příznaky související s touto nemocí. Pokud jsou přítomny patognomické příznaky, jako např. EM, nejsou obvykle žádné laboratorní testy nutné (Canadian public health laboratory network, 2007).
V řadě případů však nejsou příznaky nemoci specifické a laboratorní testy jsou potřebné pro potvrzení diagnózy. Ke stanovení diagnózy LB je vždy nutno brát v úvahu i jiná možná onemocnění. Laboratorní vyšetření je založeno na přímém a nepřímém průkazu borelií. K vyšetření lze použít sérum, mozkomíšní mok (CSF), punktát, biopsie z tkání, moč a jiné biologické vzorky.(Wilske et al. 2000).

4.1. Metody přímého průkazu borelií

Metody přímé detekce Bbsl jsou nejspolehlivějším laboratorním diagnostickým nástrojem. Citlivost a specifičnost těchto metod závisí na různých faktorech, a je také variabilní mezi laboratořemi. Kultivace Bbsl je široce uznávánou metodou průkazu živých borelií ve vzorku. Nicméně molekulární testy založené na metodě polymerázové řetězové reakce (PCR) mají význam v laboratorní diagnostice LB pro jejich vysokou citlivost, specifičnost a schopnost kvantifikace a charakterizace spirochét v klinických vzorcích (Wang, 2002).

Mezi metody přímého průkazu borelií patří:

- kultivace původce onemocnění
- přímá mikroskopie
- stanovení nukleové kyseliny borelií pomocí PCR.

4.1.1 Kultivace

Kultivace je metoda, která dává důkaz o přítomnosti živých borelií v organizmu. Izolované spirochéty z infikovaných klíšťat, tkání a tělesných tekutin jsou kultivované ve vysoce obohacených půdách. Tyto kultivační půdy umožňují růst nutričně náročných bakterií. Standardně se používá Barbour-Stoenner-Kelly medium (BSK), což je půda obohacená Minimum Essential Medium (MEM) užívané s 10% fetálním hovězím sérem (Preac-Mursic et al. 2005).

Verze tohoto media, BSKII, BSK-H a MKP media, jsou schopna podporovat růst Bbsl z hlediska dosažení kratšího generačního času a jejich maximální koncentrace. Jedná se o média používaná ke kultivaci různých typů savčích buněk, která se liší svým variabilním složením（Pollack et al. 1993).

Schopnost růstu borelií v médiu závisí především na vhodnosti výběru jeho variabilních složek a teplotě kultivace. Kultury v tekutém médiu se inkubují při teplotě 30 až 34°C v mikroaerofilních podmínkách. Inkubace při teplotách 39°C a vyšších mohou omezit nebo zabránit růstu borelií. Inkubace probíhá po dobu až 12 týdnů (Barbour, 1984).

Nešroubovicové formy, to je další schopnost borelií, která nebyla dosud dokonale prozkoumána. Byly popsány různé cystické formy a L-formy borelií během kultivace v médiu s neoptimálním pH, absencí séra, za přítomnosti antibiotik nebo obecně v nepříznivých podmínkách (Miklossy et al., 2008). Tyto alternace zvyšují schopnost obrany borelií proti reakci imunitního systému hostitele, odolnost proti působení antibiotik a v souhrnu zvyšují patogenitu borelií. Během kultivace dochází i ke změnám v expresi genů (Brorson et Brorson, 1998).

Kultivace borelií, může napomoci v případech, kdy klinický obraz naznačuje onemocnění LB, ale test na protilátky je negativní. Nevýhodou, omezující použití této metody, je její obtížnost a časová náročnost. Kultivace Bbsl v pevném médiu, na rozdíl od kultivace v médiu tekutém, umožňuje separaci jednotlivých kolonií a tím i výběr různých genetických variant. Toho se využívá ve výzkumných studiích k identifikaci kmenů Bb. Izolované kmeny se užívají pro výrobu antigenů, kontrolní DNA a studium peptidů včetně genů pro jejich produkci (Stanek et Strle, 2009).

4.1.2 Mikroskopie

Pro přímý průkaz borelií se využívá mikroskopický průkaz v zástinu pomocí světelného mikroskopu nebo v negativním barvení pomocí elektronového mikroskopu. Barvení se provádí pomocí monoklonálních protilátek proti antigenům borelií imunosorbentní metodou. K negativnímu barvení se používá 1% fosforwolframová kyselina (Bartůněk et al 2006).

K histologickému průkazu borelií se užívá speciální metody barvení dle Giemse, toluidinovou modří nebo stříbřením (Abele et Anders, 1990).

Využívá se jak v roztěrech, tak v histologických řezech tkání zalitých do parafínu. Nevýhodou této metody je zbarvení pozadí a nespecifičnost vzhledem k malým rozměrům a počtu borelií ve vzorku.

Obecně má přímá mikroskopie omezenou použitelnost v diagnostice onemocnění vzhledem k nízkému počtu organismů ve vzorcích.

4.1.3 Polymerázová řetězová reakce

V současné době se z přímých metod průkazu borelií nejčastěji užívá molekulárně biologická metoda PCR. Využívá se jak pro detekci boreliové DNA přímo ve vzorcích, tak pro přípravu dostatečného množství materiálu pro genotypové anylýzy (Amsterdam et al. 1997; Wang et al. 1999).

Vzhledem k tomu, že počet nakažených spirochét v tkáních nebo tělních tekutinách je nízký, jsou pro získání spolehlivých výsledků PCR velmi důležité postupy pro sběr, přepravu vzorků a pro přípravu DNA. Klinické vzorky by měly být podrobeny extrakci DNA a PCR analýzou krátce po odběru, nebo by měly být zmrazeny. Specifičnost PCR je určena především výběrem vhodného cílového genu a setu primerů pro PCR. K detekci borelií se používají sety primerů sloužících k namnožení různých částí genomu s následnou identifikací genomických druhů (Lebech, 2002).

Pro detekci borelií pomocí PCR byla navržena celá řada primerů sloužících k amplifikaci různých částí genomu Bbsl. Mezi primery lokalizované na chromozomu řadíme: *rrf* (gen kódující 5S rRNA) - *rrl* (gen kódující 23S rRNA) intergenový mezerník, sekvence 16S rDNA, sekvence 23S rDNA, rec A, p66,

sekvence genu fla. Ze sekvencí lokalizovaných na plazmidech je to především OspA (Marconi et al. 1992).

V závislosti na klinických projevech jsou pro analýzu PCR jako vzorky vhodné krev, CSF, synoviální tekutina a moč. Citlivost detekce boreliové DNA s projevem EM léze je obvykle vysoká a pohybuje se v rozmezí 36% až 88%. Vyšetření CSF se pohybuje v rozmezí 12% až 46%, vyšetření moče 20% až 40% a v synoviální tekutině okolo 66%. Obecně však platí, že citlivost PCR detekce boreliové DNA v krvi a plazmě je nízká. Nižší citlivost může být způsobena nedostatkem spirochét v krvi nebo přítomností inhibitorů PCR v krvi hostitele (Aguero-Rosenfeld et al. 2005).

Výhodou použití PCR metody je její citlivost. Přítomnost borelií je možné prokázat ještě před průkazem specifických protilátek nebo naopak měsíce po nákaze. Pro laboratorní diagnostiku borelií je obvykle dostačující kvalitativní metoda PCR, využívají se však také její modifikace (Exner et Lewinski, 2003).

4.2. Metody nepřímého průkazu borelií

Mezi nepřímé metody detekce Bbsl patří:

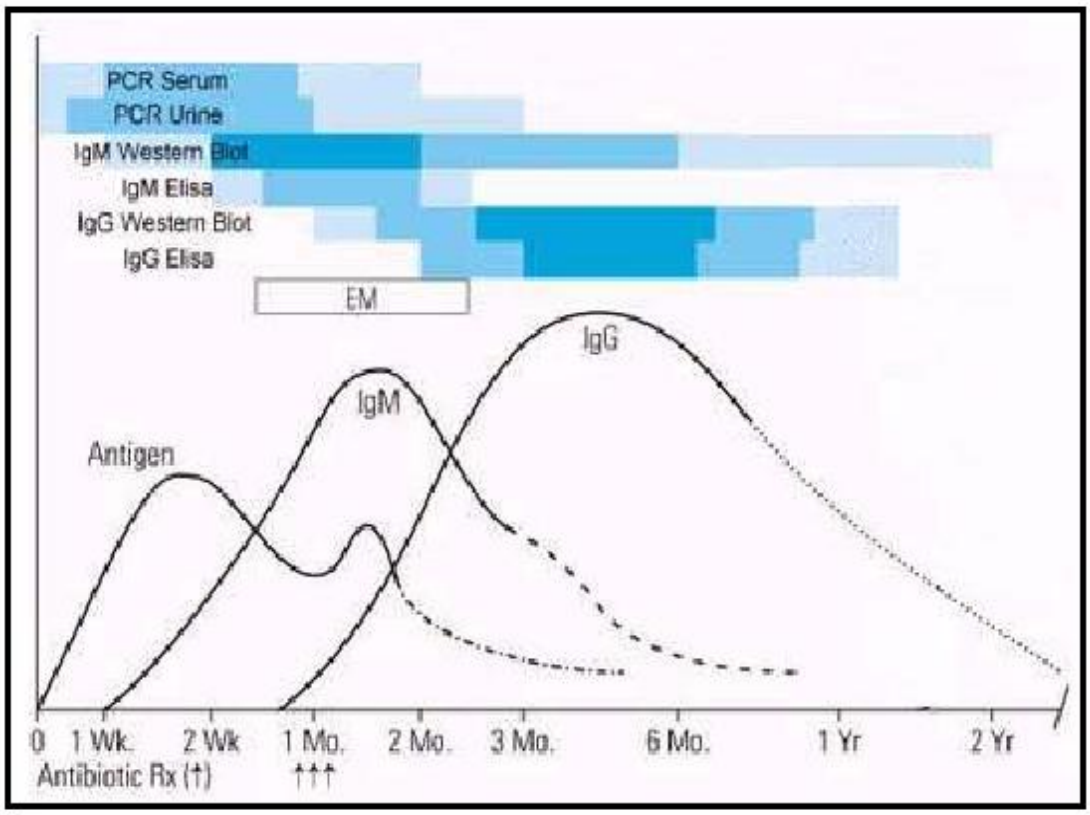
- ELISA metoda
- metoda Western blot

4.2.1 ELISA (Enzyme-linked immuno sorbent assay) při průkazu Bb

Jedná se o základní a nepřímou sérologickou metodu laboratorního průkazu infekce LB pomocí protilátkové odpovědi imunoenzymovou metodou ELISA. Touto metodou se sleduje přítomnost specifických Ab v séru vyšetřovaných osob. Stanovení Ab slouží k potvrzení klinické diagnózy v průběhu časné formy onemocnění nebo u chronické pozdní formy onemocnění. K detekci Ab se využívá značené protilátky. Používá se prasečí nebo králičí imunoglobulinová (Ig) frakce proti lidskému IgM nebo IgG konjugovaná peroxidázou. Výsledek testu se projeví po enzymatické reakci

změnou barvy substrátu. Konečný výsledek testu se vyhodnocuje spektrofotometricky při určité vlnové délce světla. K interpretaci výsledků se udává index pozitivity, který umožňuje hodnotit hladiny Ab třídy IgM a IgG (Panelius et al., 2001).

V časné fázi infekce jsou jako první detekovatelné specifické IgM. Objevují se ve třetím až čtvrtém týdnu po přisátí klíštěte a vrcholu tvorby dosahují v osmém týdnu. Po této době hladiny Ig postupně klesají. Ab třídy IgG se objevují v šestém až osmém týdnu po infekci (Graf č.2). Tyto Ab mohou přetrvávat po mnoho let a jsou chápány jako diagnostika již prodělaného onemocnění. Detekce Ab má však určitá omezení. Vyskytují se atypické sérologické nálezy, které souvisejí s fází onemocnění LB, ale i možnou přítomností jiné infekce nebo antibiotickou léčbou (Hofmann, 1996).



Graf č.2
Průběh tvorby protilátek proti boreliím. Převzato : P&R LAB s.r.o., Laboratoř imunologie a sérologie, Onkologické centrum J.G.Mendela, Nový Jičín, www.onkologickecentrum.cz. (2.7.2009)

Serologická diagnostika se provádí s použitím antigenní směsi obsahující celobuněčný lyzát bakterií získaný „sonifikací“. Detekovány mohou být jak Ab typu IgG, IgM tak IgA, velmi často v kombinaci. K těmto směsím jsou velmi často přidávány bičíkové antigeny, rekombinantně připravené jako je P39. Existuje také komerční kit, kde detekce spočívá v průkazu specifických Ab proti konstantní doméně VlsE antigenu, C6 peptidu, který je synteticky připraven (Liang et al. 2000).

Kmeny používané jako antigenové zdroje by měly pro detekci IgM protilátkové odpovědi syntetizovat OspC jako hlavní imunoantigen a DbpA jako hlavní imunoantigen v IgG protilátkové odpovědi (Cunha, 2000).

Ne všechny antigeny jsou diagnosticky specifické. Některé z nich jsou vysoce specifické, jiné vykazují zkříženou reaktivitu v rámci rodu nebo jiných bakteriálních rodů. Mezi antigeny se zkříženou reaktivitou patří flagelin nebo proteiny tepelného šoku P60 nebo P70. S ohledem na možnost zkřížené reaktivity by měly být ELISA testy dvougenerační nebo k detekci použity purifikované neporušené bičíky jako antigen. Výhodou metody je snadné testování, vyjádřené numerickou hodnotou množství protilátek a možnost automatizace. Ke stanovení protilátek je doporučeno dvoustupňové testování. Při pozitivním nebo hraničním výsledku ELISA testu, pro kvantitativní stanovení Ab, pokračuje vyšetření imunoblotingovou metodou (Western blot) (Steere et al. 2008).

4.2.2 Konfirmace pozitivního výsledku metodou Western blot (blotting proteinů)

Western blot metoda vychází v prvnim kroku z metody separace proteinů v elektrickém poli . Následující krok spočívá v přenesení proteinů separovaných v gelu na nitrocelulózovou membránu a vlastní detekce separovaných proteinů. Při hodnocení nálezu je určující počet přítomných proteinů („bandů“ na blotu), intenzita barevné reakce a specifita detekovaných proteinů pro borelii. Specifická protilátková odpověď metodou Western blot, umožňuje průkaz Ab

proti jejich jednotlivým antigenním strukturám ve třídách IgM a IgG. Jde o specifickou a senzitivní metodu. Omezením použití této metody pro detekci specifických Ab Bbsl., je nedostatek standardizace testů. Největší imunoreaktivity bylo dosaženo při testování sér pacientů , poskytnutých EUCALB (the European Union Concerted Action on Lyme Borreliosis) s kmeny PKa2 *(borrelie burgdorferi* sensu stricto), PKO (*borrelia afzelii*), a PBi *(borelia garinii*). Největší citlivosti bylo dosaženo s kmenem PKO. Úroveň immunoreaktivity je také závislá na konkrétním projevu LB (Hauser et al., 1999).

EUCALB stanovila kritéria hodnocení metodou Western blot pro IgG: imunoreaktivita alespoň dvou „bandů" z antigenů p83/100, p58, p43, p39(BmpA), p30, OspC, p21, p17 a p14 pro PKo , přítomnost jednoho „bandu" z p83/100, p39, p30, OspC, p21, p17b pro PBi. Pro IgM imunoblot, přítomnost jednoho „bandu" z p39, OspC, p17 ,p41 pro PKo a jeden „band" z p39, OspC, p41 pro PBi. Toto doporučení je platné pro serologickou diagnostiku metodou Western blot v celé Evropě (Hauser et al. 1999).

4.3 Laboratorní diagnostika neuroboreliózy

Diagnostický význam u časné a pozdní neuroboreliózy má průkaz intratekální produkce Ab. Jde o detekci specifických antiboreliových Ab syntetizovaných v CSF ve třídách IgM a IgG. Vyšetřuje se současně CSF a sérum. V obou materiálech se kromě koncentrace specifických protilátek zároveň měří koncentrace albuminu a celkových Ig. Stanovuje se specifický protilátkový index (AI), který vyjadřuje poměr hladiny protilátek v CSF k výši hladiny protilátek v krevním séru a to ve vztahu ke stavu hematoencefalické bariéry a koncentraci celkových Ig v CSF a séru. Hodnoty séra a CSF jsou převedeny na tzv."arbitrární jednotky" a poté je vypočtena hodnota AI. Arbitrární jednotky (AU) odpovídají absorbancím CSF a séra a jsou odečteny z kalibrační křivky (Bílková Fránková, 2009).

V cytologickém nálezu vyšetření CSF lze při diagnostice neuroboreliózy pozorovat různé typy zánětlivého postižení. V počátečních fázích euroboreliózy lze pozorovat smíšenou pleiocytózu s převahou neutrofilů. V pozdějším

průběhu přibývá elementů řady lymfocytární, méně i monocytární. V chronickém průběhu nemoci se objevují i buňky plasmatické. Pleiocytóza v CSF je kriteriem pro aktivitu zánětlivého procesu v CNS. Normální cytologický nález zcela nevylučuje možnost neuroboreliózy. Laboratorní diagnostiku neuroboreliózy doplňuje vyšetření CSF metodou PCR (Nau et al. 2009).

5. TERAPIE

Léčbu LB můžeme rozdělit na kauzální antibiotickou a symptomatickou. Může být zahájena ve všech třech stádiích onemocnění. Nejvíce efektivní je, pokud dojde k zahájení v prvním stádiu onemocnění, naopak pokud dojde k terapii v pozdní fázi, může tato být bez odpovědi na ATB léčbu (Fingerle et Wilske, 2006).

Podávání ATB lze zahájit pokud jsou přítomny klinické projevy nemoci s následným ověřením přítomnosti patogena laboratorními metodami. Bb je citlivá na celou řadu ATB. Nejčastěji se užívají léky na bázi penicilinů, tetracyklinů a makrolidů. Vhodná volba ATB a způsob podání závisí na systémovém postižení, stádiu nemoci, věku a stavu pacienta. Profylaktické podávání ATB není doporučeno jako rutinní opatření (Nau et al. 2009).

5.1 Prevence

Prevence lymeské borreliózy spočívá především v ochraně před kontaktem s klíštětem použitím vhodného oděvu a obuvi v endemických oblastech či používáním repelentů (American academy of pediatrics,2000). Včasné odstranění klíštěte má zásadní význam, protože k přenosu infekce dochází zřídka v prvních 24–48 hodinách po přisátí klíštěte (De Silva et Fikrig, 1995)

Důležité je i adekvátní odstranění přisátého klíštěte, protože nešetrná manipulace s klíštětem zvyšuje pravděpodobnost infekce. Ve Spojených státech byla vyvinuta vakcína pod názvem Lymerix. Využity byly bakteriální protilátky generované proti povrchovému proteinu OspA, které eliminovaly bakterie při sání klíštěte (Steere et al. 1998).

I přes to, že v prvních letech byla vakcinace úspěšná, byla její výroba a distribuce zastavena, v důsledku možných komplikací po její aplikaci. Z důvodu antigenní odlišnosti borelií nebyla tato vakcína v Evropě použita (CDC:Lyme disease vaccine).

K výrobě nové vakcíny by mohl přispět nově objevený Feritin 2. Čeští vědci odhalili u klíštěte obecného nový druh feritinu, který označili jako Feritin 2. Blokováním jeho syntézy se nedokážou klíšťata nasát a hynou (Hajdusek et al. 2009).

6. SOUHRN

Lymeská borelioza je multisystémové onemocnění vyvolané bakteriemi rodu *Borrelia*. Patří mezi onemocnění, jejichž podstata byla objevena v 80. letech minulého století. Nejčastějším vektorem přenosu lymeské boreliozy jsou klíšťata.

Borelie cirkulují mezi divoce žijícími zvířaty. Postiženi mohou být ptáci, domácí zvířata i člověk.Toto onemocnění se vyskytuje na všech kontinentech kromě Antarktidy a Jižní Ameriky.Teplotní změna zemského klimatu umožnila rozšíření klíšťat, jako přenašeče patogena lymeské boreliozy do oblastí, v nichž se dříve nevyskytovala. Jde především o oblasti vyšších poloh a oblasti podhorského pásma. Mírné zimy přežívá více klíšťat. Při relativně konstantní promořenosti klíšťat patogenními baktériemi rodu *Borrelia* dochází k absolutnímu nárůstu tohoto infekčního onemocnění. Nejčastěji postihuje kůži, klouby, nervový systém, a srdce.

I když je infekce přenesena, neznamená to, že nemoc musí nutně propuknout. Imunita lidského organizmu, především vrozená imunita, může infekci zlikvidovat bez jakýchkoliv projevů nemoci.

Lymeská borelioza může napodobovat mnoho jiných nemocí, proto její diagnóza nebývá snadná. Ta se opírá zejména o klinické projevy a laboratorní vyšetření. Základem nepřímých metod je vyšetření protilátek imunoenzymovou metodou s případným následným konfirmačním testem, využívajícím jednotlivých antigenů. Samotná pozitivní hodnota protilátek však nemusí znamenat aktivní onemocnění. Může jít o přetrvávání protilátek po léčbě, paměťové protilátky, zkříženou sérologickou reakci s nepatogenními boreliemi nebo pozitivní revmatoidní faktor.

V přímé diagnostice je v současné době nejpoužívanější vyšetření polymerázová řetězová reakce. Dále lze využít i přímý průkaz borelií mikroskopicky či kultivací. Tyto metody však nepatří ke standardním a využívají se pouze ojediněle nebo ve výzkumu.

Optimální terapie lymeské boreliozy závisí na vhodné volbě antibiotika, věku a klinických projevech. Podání antibiotika by mělo být dostatečně dlouhé a v

dostatečné dávce. Hodnotícím parametrem úspěšné léčby je vymizení klinických příznaků. Pokles protilátek může být otázkou několika měsíců až let.

Prevence je důležitým ochranným opatřením proti infekci boreliemi.Zahrnuje v sobě používání repelentů a vhodného oblečení v lokalitách s výskytem klíšťat, tak i následnou manipulaci při odstraňování přisátého klíštěte.

Vakcína proti lymeské borelioze pod názvem Lymerix, která byla zavedena do klinické praxe v USA, byla z důvodu vedlejších účinků a nízké poptávky stažena z trhu. V současné době žádná humánní vakcína proti lymeské borelioze k dispozici není.

Vysoká incidence, variabilita projevů, obtížná diagnostika, problematický účinek léčby a možné závažné důsledky staví lymeskou boreliozu mezi nejdiskutovanější infekční onemocnění.

I když toto onemocnění není fatální, následky se mohou projevit i řadu let po nákaze.

7. SUMMARY

Lyme Disease or Borreliosis is an infectious multisystem illness caused by a bacteria belonging to the genus Borrelia. It belongs among diseases whose essence was found in 80´s of last century. It is the most common tick-borne disease.

Borrelia is transmitted among wild animals. It can also be transmitted to birds, domestic animals and even humans. The disease occurs in all Continents except Antarctica and South America. Temperature change of earth climate has enabled to spread ticks as pathogenic transmitter of Lyme Disease in the areas where had not occurred before, particularly higher altitude regions and mountain ranges. More ticks survive mild winter periods. Relatively constant tick infestation of bacterias belonging to the genus Borrelia causes an absolute increase of this infectious illness. The most often symptoms may involve skin, joints, central nervous system and heart. Even if an infection is transmitted, it does not mean the illness must necessarily burst out. Human body immunity, mainly congenital immunity, can combat an infection without any disease symptoms.

Lyme Disease can mimic many other diseases so its diagnosis is not usually easy. It is especially based on clinical symptoms and lab tests. The basis of indirect methods is antibody testing measured by immunoenzyme method and followed by a confirmation test using single antigens. The positive value of antibodies itself, however, does not have to indicate an active disease. It can involve antibody persistance after treatment, memory antibodies, antibody cross-reactions with non-pathogenic Borrelias or a positive rheumatoid factor. As for direct diagnosis Polymerase chain reaction tests are currently most used. In order to detect Borrelia a microscope or bacterial cultivation can also be used. These methods, however, cannot be considered standard and are used rarely or under research.

Antibiotics are the primary treatment for Lyme disease; the most appropriate antibiotic treatment depends upon the patient´s age and the stage of the disease. Antibiotic dosage should be appropriate in the number of days and

prescribed amount. The evaluation criterion of successful treatment is total clinical symptom reduction. The decrease of antibodies can be in the range of several months to couple of years.

Prevention is an important protective measure against Borrelia infection. It includes using repelents and suitable clothes in the regions of tick occurance. Attached ticks should be removed promptly and handled with care.

The vaccine against Lyme Disease called Lymerix, which was put into clinical practise in the USA, was taken off due to side effects and low demand. Nowadays no human vaccine against Lyme Disease is available. High incidence, symptom variety, difficult diagnosis, troublesome treatment effect and possible worrying consequences make Lyme Disease the most disputed infectious illness.

Although the disease mentioned above is not fatal, after-effects can come out even several years after the infection.

8. ZÁVĚR

Cílem bakalářské práce bylo podat ucelený rozhled o poznatcích týkajících se infekčního onemocnění zvaného lymeská borelióza. Práce v souhrnu popisuje historii objevu etiologického agens lymeské boreliózy, zabývá se jeho klasifikací, strukturou organizmu a vlastnostmi. Uvádí způsob jeho šíření, geografický výskyt, vznik, průběh a projevy nemoci. V části DIAGNOSTIKA charakterizuje metody průkazu etiologického agens s hodnocením jejich významu v klinické praxi. V závěru se bakalářská práce zabývá procesem léčby a prevencí této nemoci.

Jako zdroje informací byly při zpracování bakalářské práce využity publikace, odborné časopisy a odborné články zveřejněné na internetu, zaměřené k problematice lymeské boreliózy. Použité a citované informační zdroje jsou uvedeny v závěru bakalářské práce.

9. SEZNAM ZKRATEK

Ab	- protilátka
ACA	- chronická atrofická akrodermatitida (*acrodermatitis chronica atrophicanus*)
ATB	- antibiotikum
Bb	- *Borrelia burgdorferi*
Bbsl	- *Borrelia burgdorferi* sensu lato
Bbss	- *Borrelia burgdorferi* sensu stricto
CSF	- mozkomíšní mok
DNA	- deoxyribonukleová kyselina
ELISA	- Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
EM	- migrující erytém (*erythema migrans)*
Ig	- imunoglobulin
LB	- lymeská borelióza
PCR	- Polymerase chain reaction

10. SEZNAM OBRÁZKŮ, GRAFŮ A TABULEK

OBRÁZKY :

Obrázek č. 1 Snímek spirochéty *B. burgdorferi* pořízený skanovacím elektronovým mikroskopem, str. č.14.

Obrázek č. 2 Architektura buněčné stěny Gram-negativních bakterií a spirochét, str. č. 15.

Obrázek č. 3 Ixodes ricinus - detail bodavě sacího ústrojí klíštěte, str. č. 21.

Obrázek č. 4 Klíště obecné *(Ixodes ricinus*) - sameček a samička, str. č. 21.

Obrázek č. 5 Životní cyklus klíštěte *Ixodes*, vektora *Borrelia burgdorferi,* str.č.22.

Obrázek č. 6 Migrující erytém v oblasti trupu, str. č. 29.

Obrázek č. 7 Boreliový lymfocytom v části ušního lalůčku, str. č. 29.

Obrázek č. 8 Chronická atrofická akrodermatitida v oblasti rukou, str. č. 30.

GRAFY:

Graf č.1 Vývoj nemocnosti lymeskou boreliózou v ČR v letech 1989 až 2008, str. č. 24.

Graf č.2 Průběh tvorby protilátek proti boreliím, str. č. 38.

TABULKY :

Tabulka č. 1 Druhy bakterií rodu *Borrelia* asociované s různým onemocněním lidí a ptáků, str. č. 11.

Tabulka č. 2 Sérotypy taxonu *Borrelia burgdorferi* sensu lato; rozlišení sérotypů na základě heterogenity dvou membránových proteinů, OspA a OspC proteinu, str. č. 12.

Tabulka č. 3 Druhy komplexu *Borrelia burgdoreferi* sensu lato: zeměpisný výskyt druhů a jejich patogenita pro člověka, str. č. 14.

Tabulka č. 4 Fáze a orgánová postižení onemocnění LB, str. č. 27.

11. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

ABELE,C.D.., ANDERS,K.H.: The many faces and phases of borreliosis:I. lyme disease. Journal of the american academy of dermatology,1990, 23:s.167-186.

AGUERO-ROSENFELD, M.E., WANG,G., SCHWARTZ,I., WORMSER,G.: Diagnosis of lyme borreliosis. American Society for Mikrobiology, Clin. Microbiol. Rev., 2005, 18(3), s. 484–509.

AKADEMIE VĚD ČESKÉ REPUBLIKY, 6.sekce biologicko-ekologických věd, anotace 5, dne 1.5 2009.
6.5 Protizánětlivé účinky slin klíšťat a jejich role v přenosu původců klíšťové encefalitidy a borreliózy.
Převzato :http://www.avcr.cz/anotace_txt.php?ID=72 (11.6.2009).

AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRICS: Prevention of lyme disease. PEDIATRICS, 2000, (105)/1, s.142-147.

AMSTERDAM,D., CUNNINGHAM,R.K., VAN OSS,C.J., : Immunological and molecular diagnosis of infectious disease. CRC Press, 1997, s.123-124,ISBN 0824700929.

AUSTEN, F.K., FRANK, M.M., SAMTER, M., ATKINSON, J.P., : Samter's immunologic diseases. Lippincott Williams & Wilkins, 2001, s.1041, ISBN 0781721202.

BANNWARTH, A: Chronische lymphocytäre Meningitis, entzundliche Polyneuritis und "Rheumatismus". Arch Psychiat Nervenkr 1941, 113:284–376.
Převzato: ANTEL,J., BIRNBAUM,G., HARTUNG,H.P.: Clinical Neuroimmunology. Oxford University Press, USA, 2005, s.350, ISBN 0198510683.

BARBOUR, A. G.: Isolation and cultivation of lyme disease spirochetes. Yale J. Biol. Med., 1984, 57:s.521-525.

BARBOUR,A.G.,: *Borrelia* : a diverse and ubiquitous genus of tick-borne pathogens. In: SCHELD,W.M., CRAIG,W.A., HUGHES,J.M., editors. Emerging infections 5, Washington, ASM Press, 2001, s.153-174.

BARBOUR, A.G., HAYES, S.F.: Biology of *Borrelia species.* Microbiol Rev., 1986 December; 50(4):s. 381–400.

BARTŮNĚK,P., et al.: Lymeská borelióza, Grada Publishing,1996, s.8, ISBN 8071692425.

BARTŮNĚK,P., et al.: Lymeská borelióza- 3 doplněné a přepracované vydání, Grada Publishing,2006, s.11-30, s. 66. ISBN 8024715430.

BĚLÁKOVÁ,J., KŘUPKA,M.,ŠEBESTOVÁ,M., TUHÁČKOVÁ,J., VRZAL,V., RAŠKA,M., WEIGL,E.: Preparation and purification of recombinant outer surface protein a (rOspa) of *borrelia burgdorferi* sensu stricto and *borrelia afzelii.* Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub. 2005, 149(2): s. 257–259.

BÍLKOVÁ FRÁNKOVÁ,H.: Den laboratorní diagnostiky lymeské boreliózy. Seminář firmy Dynex, Brno, 1.4.2009. Převzato:http://www.dynex.cz/files/akce-dynex/borelie2009/07_Prakticke_zkusenosti_s_automatickym_vyhodnocenim_Western_blotu.pdf (26.5.2009).

BOJAR, M.: Borrelióza-postižení nervového systému. Medicína po promoci 6/2005, 2005, Medical Tribune CZ, str.59, ISSN 1212-9445.

BOJAR,M.: Lymeská borelióza: diagnostika, léčba, postižení nervového systému. Maxdorf-Jessenius.Praha.1996, s. 224.

BRORSON,O., BRORSON,S.H.: In vitro conversion of *borrelia burgdorferi* to cystic forms in spinal fluid, and transformation to mobile spirochetes by incubation in BSK-H medium. Infection,1998, 26: s.144-150.

BURGDORFER, W. 1985. Borrelia, p. 479-484. In E. H. Lennette, A. Balows, W. J. Hausler, Jr., and H. J. Shadomy (ed.), Manual of clinical microbiology, 4th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
Převzato: SAMBRI,V., STEFANELLI,C., ROSSONI,C., LA PLACA,M., CEVENINI,R.: Acylated proteins in Borrelia hermsii,

Borrelia parkeri, Borrelia anserina, and Borrelia coriaceae. Appl Environ Microbiol. 1993 November; 59(11):s. 3938-3940.

BURGDORFER,W., BARBOUR, A.G.,HAYES, S.F., BENACH.J.I., GRUNWALD,E., DAVIS, J.P.,: Lyme disease-a tickborne spirochetosis, Science, 1982, 216:s.1317-1319.

BYKOWSKI,T., WOODMAN,M.E., COOLEY,A.E., BRISSETTE,C.A., BRADE,V., WALLICH,R., KRAICZY,P., STEVENSON,B.: Coordinated expression of *Borrelia burgdorferi* complement regulator-acquiring surface proteins during the lyme disease spirochete's mammal-tick infection cycle. Infect Immun., 2007, 75(9): s. 4227–4236.

CABELLO,F.C., HULINSKA,D., GODFREY,H.P.: Molecular biology of spirochetes. IOS Press,US, 2006, s.40-43,s.124-125, ISBN 1586036653.

CANADIAN PUBLIC HEALTH LABORATORY NETWORK.The laboratory diagnosis of lyme borreliosis: Guidelines from the canadian public health laboratory network.Can J Infect Dis Med Microbiol, 2007, 18(2): s.145-148.

CDC:Lyme Disease (*Borrelia burgdorferi*) 2008 Case Definition, Centers for Disease Control and Prevention,2008 Převzato:http://www.cdc.gov/ncphi/disss/nndss/casedef/lyme_disease_2008.htm (16.6.2009).

CDC:Lyme disease vaccine. Převzato:http://www.cdc.gov/vaccines/vpd-vac/lyme/default.htm (dne 15.7.2009).

CULLEN,P.A., HAAKE,D.A., ADLER,B.: Outer membrane proteins of pathogenic spirochetes.Published in final edited form as: FEMS Microbiol Rev.,2004,June; 28: s. 291–318.

CUNHA,B.A.: Tickborne infectious diseases: Diagnosis and management. Informa Health Care.,2000, s.21-22, ISBN 0824703103.

DERDÁKOVÁ,M., LENČÁKOVÁ,D.: Association of genetic variability within the *Borrelia burgdorferi* sensu lato with the ecology, epidemiology of Lyme borreliosis in Europe. *Ann Agric Environ Med* ,2005, 12, s. 165–172.

DE SILVA,A.M., FIKRIG, E.: Growth and migration of *Borrelia burgdorferi* in *Ixodes* ticks during blood feeding. Am J Trop Med Hyg,1995; 53 (4): 397–404.

Dworkin,M., Falkow, S., Rosenberg,E., Schleifer, K.H., Stackebrandt,E.: The prokaryotes: A handbook on the biology of bacteria: Proteobacteria - delta and epsilon subclasses - deeply rooting bakteria. Springer, 2006,s. 239-240, ISBN 0387254978.

EMBERS,M.E., JACOBS,M.B.,JOHNSON,B.J.B., PHILIPP,M.T.:Dominant epitopes of the C6 diagnostic peptide of *Borrelia burgdorferi* are largely inaccessible to antibody on the parent VlsE molecule. American Society for Microbiology,Clin Vaccine Immunol., 2007,14:s. 931-936.

EXNER,M. M., LEWINSKI,M.A.: Isolation and detection of *Borrelia burgdorferi* DNA from cerebral spinal fluid, synovial fluid, blood, urine, and ticks using the Roche MagNA Pure system and real-time PCR. Diagn. Microbiol. Infect. Dis.,2003, 46**:**s. 235-240.

FEDER,H.M.JR., JOHNSON,B., O´CONNELL, S., SHAPIRO,E.D., STEERE,A.C., WORMSER,G.P.,:A critical appraisal of “chronic lyme disease”. N Engl J Med., 2007;357:s.1422–1430.

FINGERLE,V., HAUSER,U., LIEGEL,G., PETKO,B., MURSIC, P.V., WILSKE,B.,: Expression of outer surface protein A and C of *Borrelia burgdorferi* in *Ixodes ricinus*. J.Clin.Microbiol.,1995, 33:s.1867-1869.

FINGERLE,V., WILSKE,B.: Stage-oriented treatment of lyme borreliosis. MMW Fortschr Med,2006 , 148(25):s. 39-41.

FRASER,C.M., CASJENS, S., HUANG, V.M., SUTTON, G.G., CLAYTON, R., et al. : Genomic sequence of lyme disease spirochete, Borrelia burgdorferi.Nature,1997, 390:s. 580-586.

GARIN, C., BUJADOUX, C.: Paralysie par les tiques. J. M6d. Lyon 71. ,1922, s.765-767.
Převzato:HAASS,A., TREIB,J.: Neurologic manifestation and classification of borreliosis. Infection,1996,(24)/6: s. 467-469.

GLÖCKNER,G., SCHULTE-SPECHTEL,U., SCHILHABEL,M., FELDER,M., SÜHNEL,J., WILSKE,B., PLATZER,M.: Comparative genome analysis: selection pressure on the *Borrelia vls* cassettes is essential for infectivity.BMC Genomics. 2006; 7: s. 211.

GODFROID,E., CHANG,M.H., HUMAIR,P.F., BOLLEN,A., GERN,L.: PCR-reverseline blot typing method underscores the genomic heterogenity of *Borrelia valaisiana* species and suggests its potential involvement in lyme disease.J.Clin.Microbiol., 2003, 41: s. 3690-3698.

GOODMAN,J.., DENNIS, D., : Tick-borne diseases of humans. American. Society for Microbiology, 2005, ISBN 1555812384.

GRAY, J., KAHL, O., LANE, R.S., STANEK,G.,: Lyme borreliosis : biology, epidemiology and control. Wallingford: CABI Publishing, 2002, . ISBN 9780851996325.

HAJDUSEK, O., SOJKA,D., KOPACEK,P., BURESOVA,V., FRANTA,Z., SAUMAN,I., WINZERLING,J., GRUBHOFFER,L., : Knockdown of proteins involved in iron metabolism limits tick reproduction and development. PNAS, 2009, 106/4, s.1033-1038.

HANSON,M.S. et al.: Active and passive immunity against *Borrelia burgdorferi* decorin binding protein A (DbpA) protects against infction. Infect.Immun.,1998,66:s. 2143-2153.

HAUSER,U., LEHNERT,G., LOBENTANZER,R.,WILSKE,B.: Interpretation criteria for standardized Western blots for three european species of *Borrelia burgdorferi* sensu lato. Journal of Clinical Microbiology, 1997,(35)/ 6, s.1433-1444.

HAUSER,U., LEHNERT,G., WILSKE,B.: Validity of interpretation criteria for standardized western blots (immunoblots) for serodiagnosis of lyme borreliosis based on sera collected throughout europe. Journal of Clinical Microbiology, 1999, (37)/7,s. 2241-2247.

HEFTY,P.S., JOLLIFF,S.E., CAIMANO,M.J., WIKEL,S.K., RADOLF,J.D., AKINS,D.R.:Regulation of OspE-related, OspF-related, and Elp lipoproteins of *Borrelia burgdorferi* strain 297 by mammalian host specific signals. Infect.Immun., 2001, 69:s. 3618-3627.

HILDENBRAND,P., CRAVEN,D.E., JONES,R., NEMESKAL,P.:Lyme Neuroborreliosis: Manifestations of a rapidly emerging zoonosis. American Journal of Neuroradiology, 2009, 30:s. 1079-1087.

HOFMANN,H.: Lyme borreliosis — problems of serological diagnosis, Infection, č.6, 1996, s.470-472.

HUBALEK, Z., HALOUZKA,J. : Distribution of *Borrelia burgdorferi* sensu Lato genomic groups in europe, a review. Eur. J. Epidemiol.,1997, 13: s. 951-957.

CHRISTEN,H.J., EIFFERT,H.: Lyme-Borreliose: Haut- und nervensystem. Monatschr Kinderheilk., 2003;151:s.1146–1155.

KARMA,A., STENBORG,T., SUMMANEN,P., IMMONEN,I., MIKKILÄ,H. and SEPPÄLÄ,I., : Longterm follow-up of chronic lyme neuroretinitis. Retina, 1996, 16 (6): s. 505-509.

KIMMIG,P., HASSLER,D., BRAUN,R.: Klíšťata. PRAGMA,2003,s.10-27, ISBN 8072058819.

KLEIN,J., STANEK,G., BITTNER,R., HORVAT,R., HOLZINGER,C. and GLOGAR,D.,: Lyme borreliosis as a cause of myokarditis and heart mscle disease. Eur Heart j. 1991, 12 Suppl D: 73-75.

KOHLER,V.J.: Lyme disease in neurology and psychiatry. Forschr med ,1990; (108):s.191–194.

KRBOVÁ,L.: Lymeská borrelióza, Med. Pro Praxi, 2007; 5:s. 200–203.

KRUPKA,M., RASKA, M., BELAKOVA, J., HORYNOVA, M., NOVOTNY, R., WEIGL, E. : Biological aspects of lyme disease spirochetes : Unique bakteria of the *Borrelia burgdorferi* species group. Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub. 2007, 151(2), s. 175–186.

KŘUPKA**,** M., RAŠKA, M., WEIGL, E., :Lymeská borelióza-biologie, patogeneze, diagnostika a léčba, Solen-Dermatologie pro praxi, ročník 2008, 5, s. 236-239.

LEBECH ,A.M.,: Polymerase chain reaction in diagnosis of *Borrelia burgdorferi* infections and studies on taxonomic classification.APMIS Suppl. , 2002;105s.1-40.

LIANG,T.F., ABERER, E., CINCO,M., GERN,L., HU,M.C., LOBET N.Y., RUSCIO,M., VOET,E.P.JR., WEYNANTS,E.V., PHILIPP,T.M.: Antigenic conservation of an immunodominant invariable region of the VlsE lipoprotein among european pathogenic genospecies of *Borrelia Burgdorferi* sl.J.Infect Dis, 2000, 182:s. 1455-1462.

LIANG,F.T., BOWERS,L.C., PHILIPP,M.T.**:**. C-terminal invariable domain of VlsE is immunodominant but its antigenicity is scarcely conserved among strains of lyme disease spirochetes. Infect. Immun., 2001, 69:s. 3224-3231.

MARCONI,T.R., LUBKE,L., HAUGLUM,W., GARON,C.F.: Speciesspecific identification of and distinction between *Borrelia burgdorferi* genomic groups by using 16S rRNA-directed oligonucleotide probes. J. Clin. Microbiol.,1992, 30:s. 628–632.

MARQUES,A: Chronic lyme disease: An appraisal.*Infect Dis Clin North Am*., 2008, 22: s. 341-360.

MARTI RAS,N., POSTIC,D., FORETZ,M. AND BARANTON,G.: *Borrelia Burgdorferi* sensu stricto, a bacterial species ‘made in the U.S.A. Int. J. Syst. Bacteriol.,1997, (47):s. 1112–1117.

MÜLLEGGER,R.R.: Dermatological manifestations of lyme borreliosis.Eur J Dermatol 2004; 14: s. 296-309.

NADELMAN, R. B., WORMSER,G.P.: Lyme borreliosis. Lancet ,1998 , 352:s. 557-565.

NAU,R., CHRISTEN,J.H., EIFFERT,H.: Lyme disease-current state of knowledge.Deutsches Ärzteblatt International, Dtsch Arztebl Int., 2009,106: s. 74.

NEUBAUEROVÁ,V., MACELA,A., HERNYCHOVÁ,L., LENČO,J., BRYCHTA,M., HAVLASOVÁ,J., KOPECKÝ, J., PECHOVÁ,J. : Proteomová analýza mikroorganismu *Borrelia garinii*. Vojenské zdravotnické listy, ročník LXXVII, 2008, (3), s.104.

OGDEN, N.H., ARTSOB, H., LINDSAY, L.R., SOCKETT, P.N. :Lyme disease: A zoonotic disease of increasing importance to canadians. Can Fam Physician,2008,(54),s.1381–1384.

OLIVER,J.H.J, OWSLEY,M.R., HUTCHESON,H.J., JAMES,A.M., CHEN,C., IRBY,W.S., DOTSON,E.M., MCLAIN, D.K.: Conspecificity of the ticks *Ixodes scapularis* and *I. dammini* (*Acari*: *Ixodidae*). J Med Entomol.,1993;30:s.54–63.
Převzato: WANG,G., VAN DAM, .A.P., SCHWARTZ I., DANKERT,J.: Molecular typing of *Borrelia burgdorferi s*ensu lato: taxonomic,epidemiological, and clinicali Implications. American Society for Microbiology, Clinical microbiology reviews, 1999,12:s.633-665.

PANELIUS,J., LAHDENNE,P., SAXEN,H., HEIKKILÄ,T., SEPPÄLÄ,I.: PREAC-MURSIC,V., WIL Recombinant flagellin a proteins from *Borrelia burgdorferi* sensu stricto, *B*. *afzelii*, and *B. garinii* in serodiagnosis of lyme borreliosis. Journal of Clinical Microbiology, 2001,39(11), s. 4013-4019.

POLLACK,J.R.., TELFORD III R.S., SPIELMAN,A**.**: Standardization of medium for culturing Lyme disease spirochetes. J. Clin. Microbiol.,1993, 31:s. 1251-1255.

PREAC-MURSIC,V., WILSKE,B., REINHARDT,S.: Culture of Borrelia burgdorferi on six solid media. European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. Springer Berlin,2005,(10):s.1076.

RADOLF,J.D., LUKEHART,S.A. : Pathogenic treponema: Molecular and cellular biology. Caister Academic Press,2006, ISBN 1904455107.

RIJPKEMA,S.G., TAZELEAR,D.J, MOLKEBOER,H.J., NOORDHOEK, G.T., PLANTINGA,G., SCHOUSL,L.M., et al.: Detection of *Borrelia afzelii*, *Borrelia burgdorferi* sensu stricto, *Borrelia garinii* and group VS116 by PCR in skin biopsies of patients with erythema migrans and acrodermatitis chronica atrophicans. Clin Microbiol Infect.,1997;3:s. 109–116.

ROHÁČOVÁ,H.,: Lymeská borelióza. Maxdorf, 2005, s. 9-26.

ROHÁČOVÁ,H.: Lymská borelióza v ordinaci praktického lékaře, Practicus s.r.o., č.2/2007, ročník č.1, s. 27.

SATZ N: Klinik der lyme-borreliose. Verlag Hans Huber, Bern, 2002, 2.Auflage.

SEILER,K.P., WEIS,J.J.,: Imunity to lyme disease:Protection, patology, and perzistence. Curr.Opin.Immunol.,1996, 8:s. 503-509.

SHI,Y., XU,Q., McSHAN,K., LIANG,F.T.: Both decorin-binding proteins A and B are critical for the overall virulence of *Borrelia burgdorferi*. Infect Immun. 2008;76:s.1239–1246.

SCHÖNHERR,U., STRLE,F.,: Clinical features of lyme borreliosis : ocular manifestations. In: WEBER,K. et al., eds: Aspects of lyme borreliosis. Heidelberg:Springer-Verlag, 1993:s. 248-258.

SCHRODER N. W.J., et al.: Immune response induced by spirochetal outer membrane lipoproteins and glycolipids,Immunobiology,2008, 213, s. 329-340).

SCHWAN,T.G., PIESMAN, J., GOLDE,W.T., DOLAN,M.C., ROSA,P.A. : Induction of an outer surface protein on *Borrelia burgdorferi* durign tick feeding. Proc.Natl.Acad.Sci.USA,1995, 92:s. 2909-2913.

SKOTARCZAK, B.: Adaptation factors of Borrelia for host and vector. Ann Agric Envi ron Med. 2009 Jun;16(1): s.1-8.

SMITH,R.P., SCHOEN,R.T., RAHN,D.W., SIKAND,V.K., NOWAKOWSKI,J, PARENTI,D.L., HOLMAN,M.S., PERSING,D.H., STEERE,A.C.: Clinical characteristics and treatment outcome of early lyme disease in patients with microbiologically confirmed erythema migrans. Ann Intern Med. , 2002 ,136(6):s. 421-428.

STANEK,G., STRLE,F.: Lyme borreliosis: a european perspective on diagnosis and clinical management.Curr Opin Infect Dis., 2009.Abstrakt.

STÁTNÍ ZDRAVOTNÍ ÚSTAV, KŘÍŽ,B., BENEŠ,Č.: Lymeská borelióza – epidemiologická data, 2007.
Převzato : http://www.szu.cz/tema/prevence/lymeska-borrelioza-epidemiologicka-data (14.6.2009).

STEERE,A.C.,: Lyme disease. N. Engl. J. Med. ,2001, 345:s.115-125.

STEERE,A.C., SCHOPEN,R.T., TAYLOR E.: The clinical evolution of lyme arthritis. Ann Intern Med 1987; 107: 725.

STEERE,A.C., COBURN,J., GLICKSTEIN,L.: The emergence of Lyme disease. J.Clin Invest. 2004 ,113(8): s.1093–1101.

STEERE,A.C., McHUGH,G., DAMLE,N.,SIKAND,V.K.:Prospective study of serologic tests for lyme disease.Clinical Infectious Diseases ,2008; 47:s.188–195.

STEERE,A.C., SIKAND,V.K., MEURICE,F. et al. : Vaccination against lyme disease¨with recombinant *Borrelia burgdorferi* outer-surface lipoprotein A with adjuvant. N Engl J Med 1998; 339: 209–15.

STRLE, F., NADERMAN,R. B.,CIMPERMAN, J.,NOWAKOWSKI J., PICKEN,R. N.,SCHWARTZ,I., MARASPIN,V., AGUERO-ROSENFELD, M. E., VARDE,S., LOTRIC-FURLAN,S., WORMSER,G. P.,: Comparison of culture-confirmed erythema migrans caused by *Borrelia burgdorferi* sensu stricto in New York State and by *Borrelia afzelii* in Slovenia. Ann. Intern. Med, 1999, 130:s.32-36.

TEMPLETON,TJ.: *Borrelia* outer membrane surface proteins and transmission through the tick, J. Exp. Med., 2004,199/5,s. 603-606.

VALEŠOVÁ,M.,: Lymeská artritida. Praha, Grada Publishing, 1999, s.14-25, ISBN 8071694320.

Van der LINDE,M.R., BALLMER, P.E., : Lyme karditis. In: WEBER,K. et al. eds: Aspects of lyme berreliosis. Heidelberg.Springer-Verlag, 1993:1331-151.

Van NITCH,P.: Research on lyme disease.Nova Publishers, 2007, s.86-87. ISBN 1600213901.

WANG,G.:Direct detection methods for lyme borrelia, including the use of quantitative assays. Vector Borne Zoonotic Dis., 2002, 2(4):s.223-231.

WANG,G., VAN DAM, .A.P., SCHWARTZ I., DANKERT,J.: Molecular typing of *Borrelia burgdorferi s*ensu lato: taxonomic, epidemiological, and clinicaliImplications.American Society for Microbiology, Clinical microbiology reviews, 1999,12:s.633-665.

WILSKE, B., BUSCH,U. , FINGERLE, V., JAURIS-HEIPKE, S., PREAC MURSIC,V., ROSSLER, D.,AND WILL,G.: Immunological and molecular variability of OspA and OspC. implications for *Borrelia* vaccine development. Infection,1996, 24:s.208-212.

WILSKE,B., ZÖLLER,L., BRADE,V., EIFFERT,H., GÖBEL,U.B., STANEK,G.: Lyme borreliosis, quality standards for the microbiological diagnosis of infectious diseases, 12/2000. Převzato : http://nrz-borrelien.lmu.de/miq-lyme/frame-miq-microbiological.html (14.3.2009)

XU, Q., McSHAN, K., LIANG, F.T.: Essential protective role attributed to the surface lipoproteins of *Borrelia burgdorferi* against innate defense. Mol Microbiol., 2008 July; 69(1): s.15–29.

ZHANG,J.R., HARDHAM,J.M., BARBOUR, A.G., NORRIS,S.J.,: Antigenic variation in Lyme disease *borreliae* by promiscous recombination of VNP-like squence cassettes. Cell, 1997, 89:s.275-285.