

# **FAKULTA ZDRAVOTNICKÝCH STUDIÍ**

**Studijní program: Specializace ve zdravotnictví B5345**

**Jan Vinklárek**

**Studijní obor: Zdravotní laborant 5345R020**

**Výskyt původců lymfské boreliózy v klíšťatech**

**Bakalářská práce**

**Vedoucí práce: RNDr. Karel Fajfrlík, Ph.D.**

**PLZEŇ 2019**

**Čestné prohlášení:**

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracoval/a samostatně a všechny použité prameny jsem uvedl v seznamu použitých zdrojů.

V Plzni dne 25.3.2019

# ABSTRAKT

Příjmení a jméno: Vinklárek Jan

Katedra: Katedra záchranářství, diagnostických oborů a veřejného zdravotnictví

Název práce: Výskyt původců lymské boreliózy v klíšťatech

Vedoucí práce: RNDr. Karel Fajfrlík, Ph.D.

Počet stran: 49

Počet příloh: 0

Počet titulů použité literatury: 20

Klíčová slova: lymská borelióza, *Borrelia burgdorferi*, *Ixodes ricinus*

V této bakalářské práci byl sledován počet klíšťat a procento infikovanosti klíšťat na území Plzeňského kraje.

Klíšťata byla získána vlajkováním a vyšetřena mikroskopickou metodou.

Klíšťata byla nalezena ve všech zvolených lokalitách a ve všech byla nalezena i infikovaná.

Z výsledků mé práce vyplývá, že klíšťata jsou na území Plzeňského kraje poměrně hojná a je možné i zde narazit na infikované klíště. Doporučuji dodržovat základy prevence před stykem s klíštětem. Pokud již k přisátí došlo, tak je nejlepší klíště odstranit co nejdříve. V případě zájmu o informaci o infikovanosti přisátého klíštěte jsou v České republice k dispozici specializované laboratoře, kde toto vyšetření provedou za určitou cenu. Přesto, že klíště bylo infikováno, nemuselo dojít k přenosu.

# ABSTRACT

Surname and name: Vinklárek Jan

Department: Department of Rescue Services, Diagnostic Fields and  
Public Health

Title of thesis: Incidence of Lyme disease pathogens in ticks

Consultant: RNDr. Karel Fajfrlík, Ph.D.

Number of pages: 49

Number of appendices: 0

Number of literature items used: 20

Keywords: Lyme boreliosis, *Borrelia burgdorferi*, *Ixodes ricinus*

# Předmluva

Lymfská borelióza a její přenašeč klíště patří mezi velmi zajímavá témata dnešní doby. Onemocnění touto chorobou je stále častější, které navíc při pozdním odhalení způsobuje i velmi závažné přetrvávající zdravotní potíže. Z tohoto důvodu jsem si tuto problematiku vybral jako téma mé bakalářské práce. Dalším důvodem byla přítomnost následků tohoto onemocnění mezi blízkými přáteli, ale i vlastní zájem o současnou situaci v okolí mého domova.

Cílem této bakalářské práce bylo zmapovat pozitivní lokality v Plzeňském kraji s určením procenta infikovanosti klíšťat v těchto oblastech.

Kvůli suchému létu a tím pádem vyšetřeného menšího množství klíšťat, jsou výsledky této práce orientační, nicméně potvrzují skutečnost, že se infikovaná klíšťata nacházejí ve všech lokalitách.

Poděkování:

Děkuji RNDr. Karlu Fajfrlíkovi, Ph.D. za odborné vedení práce, poskytování rad a materiálních podkladů a jeho času.

# OBSAH

ZKRATKY .....	13
ÚVOD .....	14
TEORETICKÝ ZÁKLAD.....	16
1 Borrelia burgdorferi.....	17
1.1 Patogenita a taxonomie.....	19
2 Přenos borélií .....	20
2.1 Způsoby přenosu.....	20
2.2 Přenašeč .....	20
2.3 Mechanismus přenosu .....	22
3 Lymfská borelióza - patogeneze.....	23
3.1 Imunitní odpověď.....	23
3.2 Průběh infekce.....	24
3.3 Klinické projevy boreliózy .....	25
4 Diagnostika lymfské boreliózy .....	28
4.1 Metody nepřímé.....	28
4.2 Metody přímé.....	29
5 Léčba .....	30
6 Prevence .....	31
MATERIÁL A METODIKA.....	32
1 Vlajkování.....	32
1.1 Pomůcky.....	32
2 Uchovávání .....	33
3 Vyšetřování .....	33
4 Zápis výsledků.....	33
VÝSLEDKY.....	34

Počet klíšťat .....	34
Počet navlajkovaných klíšťat v jednotlivých lokalitách.....	34
Počasí při vlajkování .....	35
Vývojové stádium .....	35
Pozitivita u jednotlivých vývojových stádií .....	35
Pozitivita v jednotlivých lokalitách.....	36
Výsledky z jednotlivých lokalit .....	37
DISKUSE .....	41
ZÁVĚR.....	44
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY .....	45
ZDROJE OBRÁZKŮ .....	49

# ZKRATKY

Bbsl - *Borrelia burgdorferi sensu lato*

Bdr – Borrelia direkt repeat

Da – Daltony

DNA – Deoxyribonukleová kyselina

dsDNA – dvouvláknová (double-strand) deoxyribonukleová kyselina

ELISA – Enzyme Linked Immunosorbent Assay

IFA – nepřímý imunofluorescenční test

IgG – Imunoglobulin G

IgM – Imunoglobulin M

kb – kilobáze

LB – Lymeská borelióza

Osp - Outer Surface Proteins

PCR – polymerázová řetězová reakce

µm – mikrometr



# ÚVOD

Již bylo objeveno mnoho infekčních nemocí, se kterými lidstvo bojuje už dlouhou dobu, a stále se je nedaří kontrolovat. Některé už byly eradikovány nebo byla alespoň zvládnuta jejich terapie, jiné jsou objevovány nově. K relativně novým nemocem patří i lymfská borelióza (LB). I přes její novotu jsou informace o ní z oblasti patogeneze, klinických obrazů, diagnostiky i léčby velmi obsáhlé. I v současné době můžeme tvrdit, že specialisté na toto onemocnění stále narážejí na mnohé problémy a úskalí především v léčbě. Jejich názory se různí a nemalá část otázek zůstává nezodpovězená. Mnozí, zejména starší lékaři mají rezervy právě v diagnostice a terapii a k onemocnění přistupují s nedůvěrou. Poměrně časté je přehlížení nebo záměna jiných kožních projevů za lymfskou boreliózu. V podstatě se však dá lymfská borelióza zařadit mezi nemoci s velmi dobrým léčebným postupem a prognózou. Lymfská borelióza je onemocnění bakteriálního původu. Původcem je bakterie *Borrelia burgdorferi*. První záchyty této nemoci byly zaznamenávány v 70. letech minulého století v USA. Zjistilo se, že většina pacientů, které trápila kloubní onemocnění, jimž předcházely kožní projevy formou zarudlých míst na kůži, žila v zalesněných oblastech a první projevy přicházely v letních měsících. Příbuznost mezi kožními a neurologickými příznaky začala být zřejmá. Spekulovalo se o možné bakteriální infekci. Tato hypotéza byla později potvrzena. V České republice se problémům okolo lymfské boreliózy věnuje mnoho pozornosti. Již od roku 1986 je povinně hlášena a velmi precizně sledována. Zhruba z této doby se datují výzkumy se zaměřením na přenašeče v podobě klíštěte i na bakterii samotnou. Lymfská borelióza patří mezi nejrozšířenější zoonózu s přírodní ohniskovostí a stále proti ní neexistuje spolehlivé očkování. Ročně je touto nemocí bakteriálního původu nakaženo kolem 3 000 lidí. Klíšťovou encefalitidou se lidé nakazí asi 6x méně. Ale ne každé infikované klíště je zdrojem onemocnění. Odhaduje se, že pouhá 3 % všech přísátí klíštěte způsobuje nakažení. Podle epidemiologů je počet případů této nemoci stabilizovaný. Odhalení lymfské boreliózy není snadné, protože nemoc se často zaměňuje s jinými nemocemi. K nejčastějším chybám patří nadhodnocený výsledek

sérologie, otálení a další laboratorní testy s nespecifickým výsledkem. Často dochází k opakovanému podávání antibiotik na podkladě náhodného nálezu antiboréliových protilátek. Je velmi důležité posouzení laboratorního a klinického nálezu současně. Při pozdějším odhalení může u některých pacientů lymfická borelióza zanechat vážné následky na nervové i pohybové soustavě a srdci. U citlivějších pacientů nemusí dojít k úplné eliminaci borélie z organismu i když se léčba zahájí včas. Mezi neodbornou veřejností se nadále vyskytují mnohé nepravdy a mýty ohledně závažnosti nemoci a způsobech léčby. Neznalost a další faktory mají vliv na celkový přístup veřejnosti k této nemoci. [3]

# TEORETICKÝ ZÁKLAD

Různé druhy klíšťat na celém světě přenáší celou řadu onemocnění. V ČR mezi nejfrekventovanější patří lymeská borelióza a klíšťová encefalitida. V této práci se zaměřím na prvně jmenovanou, lymeskou boreliózu, přenášenou klíšťaty v Čechách. [3]

# 1 *Borrelia burgdorferi*

Jedná se o spirálovitou gramnegativní bakterii s délkou 4-30  $\mu\text{m}$  a šířkou 0,2-0,5  $\mu\text{m}$ . Tvarem připomíná dlouhou pohyblivou spirálu s 4-15 závity, množí se příčným dělením. Bičíky má ukotveny na koncích buňky v bazálních discích. Ty obtáčí tělo pod vnější buněčnou membránou a tvoří tzv. osově vlákno. To umožňuje rotační pohyb kolem podélné osy nebo změnu délky buňky. Obal se skládá ze třívrstvé buněčné stěny s peptidoglykany na vnitřní straně, lipopolysacharidy a lipoproteiny na vnější straně. Flexibilita umožňuje vytváření cyst a vylučování vezikul obsahující plazmidy. Přítomnost fibrilárních a vezikulárních útvarů odlišuje borélie od ostatních spirochét.

**Obr. 1 *Borrelia burgdorferi* ve fluorescenčním mikroskopu**



Genetickou výbavu tvoří malý lineární chromozom s velikostí přibližně 900 kb a více než 20 lineárních a cirkulárních plazmidů s velikostí 5-56 kb. Kódující sekvence zabírají z chromozomu až 90 %, zatímco plazmidy mají vyšší podíl nekódujících sekvencí. Jenom 10 % z celkového počtu genů v plazmidech je podobných s geny ostatních bakterií rodu *Borrelia*. Tyto geny se účastní tvorby povrchových antigenů Osp, které jsou nezbytné pro virulenci bakterie. Spirochety vlastní také regulační geny – *Borrelia* direkt repeat (Bdr). Výměna a hromadění plazmidů s Bdr geny je důležité pro zachování druhu a velkou rozmanitost borelií. Kvůli těmto genům a jimi kódovaným proteinům se bakterie

rychle přizpůsobují změnám okolního prostředí. Dále ovlivňují množení nebo řídí funkci genů kódujících proteiny OspA a OspC. Ví se, že dlouhodobě kultivované borélie mohou některé plazmidy poztrácet, ale plazmidy s geny kódující Osp zůstávají zachovány, a proto jsou považovány za minichromozomy. [1] [10]

Jednotlivé kultivary *Borrelia burgdorferi* se neliší jen svojí genovou výbavou, ale i fenotypem. To způsobuje odlišnosti v antigenní výbavě, se kterou souvisí imunogenní a patogenní vlastnosti (virulence). Antigeny jsou většinou proteiny, ale vyskytují se také málo známé neproteinové antigeny, jako jsou peptidoglykan nebo látky podobné lipopolysacharidu. Dobře známými proteinovými antigeny jsou OspA a OspB o molekulové hmotnosti 30–36 kDa a OspC o molekulové hmotnosti 20–25 kDa. OspA a OspB jsou kódované lineárními plazmidy a běžně se vyskytují u amerických kmenů. Jejich rozmanitost je větší u evropských kmenů, které často postrádají antigen OspB. Lipoprotein OspA je převládajícím antigenem ve střevě klíštěte. OspC je kódován cirkulárním plazmidem a vyskytuje se jako dimer u většiny evropských a ojediněle i amerických kmenů. Přítomnost tohoto antigenu je důležitá při přechodu borélie z klíštěte do teplokrevného hostitele, protože souvisí s teplotními změnami, kterým se bakterie vystavuje. OspA a OspC se vyskytují v několika antigenních variantách a mají jako jediné antigeny baktericidní účinek. Mezi další antigeny vyskytující se na povrchu buňky patří OspE a OspF, které jsou stejně jako OspC zařazovány mezi antigeny teplotního šoku (Hsp). Mezi antigeny o konstantní molekulové hmotnosti, které se běžně vyskytují, patří bičíkový flagellin p41 (41 kDa) a cytoplazmatický antigen p60 (60 kDa), který zodpovídá za četné zkřížené reakce s jinými baktériemi. OspC a p41 patří mezi hlavní imunogeny, které způsobují časnou protilátkovou odpověď (IgM). V pozdní fázi imunity pak nachází uplatnění druhově specifický antigen p100.

Borélie jsou antigenně velmi nestálé a za určitých podmínek dochází ke změnám jejich antigenní struktury. Vlivem antibiotik, baktericidních protilátek nebo nepříznivých kultivačních podmínek se borélie může rozpadat na membránové vezikuly obsahující povrchové antigeny OspA, OspC nebo OspF a plazmidovou DNA. Tvorba vezikul se považuje za ochranný

mechanismus. Borélie se snaží zbavit vnějších antigenů, které jsou přednostně fagocytovány. Také se tvoří cysty, které po obnovení vhodných podmínek mohou způsobit vznik malých borélií.

## 1.1 Patogenita a taxonomie

V druhovém komplexu *Borrelia burgdorferi sensu lato* je rozlišováno 14 genomických skupin (genospecies). Zatím jsou pouze *Borrelia burgdorferi sensu stricto*, *Borrelia garinii* a *Borrelia afzelii* prokazatelně považovány za původce lymfské boreliózy. O patogenních účincích *B. lusitaniae* a *B. valaisiana* prozatím nebylo jednoznačně rozhodnuto. Na území Evropy se vyskytují všechny tři patogenní druhy, ve Spojených státech byla zatím izolována pouze *Borrelia burgdorferi sensu stricto*. Je známa afinita jednotlivých druhů borélií k určitým tkáním. *B. afzelii* způsobuje převážně kožní postižení, *B. garinii* onemocnění nervové soustavy a *B. burgdorferi sensu stricto* postižení kloubů. Tato afinita však není striktní a borélie jsou schopny vyvolat postižení různých tkání. [6]

## 2 Přenos borélií

V přírodě nacházející se bakterie rodu *Borrelia* včetně Bbsl cyklují mezi volně žijícími obratlovci a jejich parazity.

### 2.1 Způsoby přenosu

Borélie vniknou do lidského organismu či organismu zvířete přes přenašeče (vektora). Teoreticky se mohou přenašečem stát některé druhy hmyzu, u kterých se přítomnost spirochét podařila dokázat. Uplatnit se mohou krevsající mouchy, samičky komárů nebo muchniček. Tento způsob přenosu však není pokusně prokázán a izolaci borélií z hmyzu nelze považovat za důkaz možnosti přenosu onemocnění. Hlavním celosvětově uznaným přenašečem nákazy je tedy klíště. Možný je také přenos přes krevní transfúzi nebo transplacentárně. [8]

### 2.2 Přenašeč

Jak bylo výše popsáno, jako přenašeči borélií se mohou teoreticky uplatnit všichni členovci živící se krví. Tím nejvýznamnějším, a jediným potvrzeným přenašečem, jsou klíšata rodu *Ixodes*.

#### 2.2.1 Klíště

Taxonomicky se klíšě řadí do kmene členovců, třídy pavoukoců a do řádu roztočů (nepatří mezi hmyz). Hlavním přenašečem v Evropě je *Ixodes ricinus*, v USA *Ixodes dammini*. [5] [12]

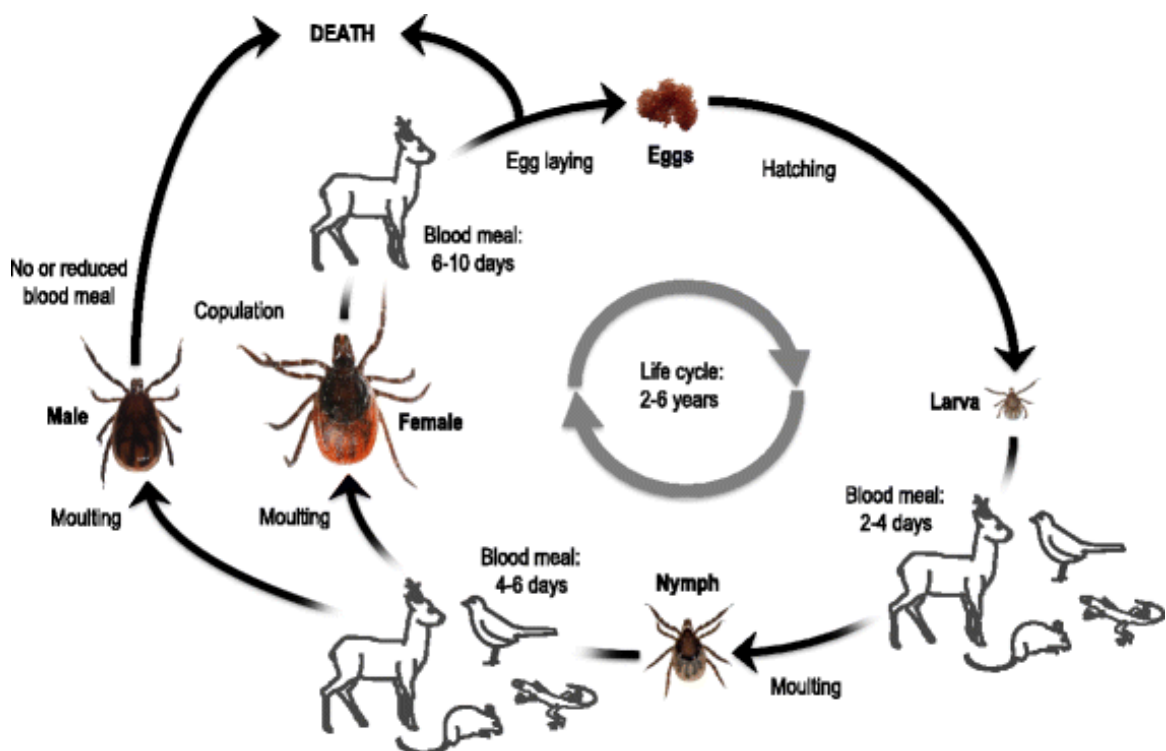
**Obr. 2 *Ixodes ricinus***



### 2.2.2 Životní cyklus klíštěte

Životní cyklus borélií souvisí s životním cyklem klíštěte, je závislý na aktuálních podmínkách a většinou trvá od 2 do 6 let. Než klíště dospěje, projde třemi vývojovými stádii. Při převlékání z jednoho stádia do druhého nebo při kladení vajíček jsou klíšťata velmi citlivá na okolní prostředí. Do 2 měsíců po nakladení vajíček se vylíhnou šestinohé nepigmentované larvy. K přeměně v osminohou nymfu se potřebuje tato larva jednou nasát krve, k přeměně dojde v jednom roce. K přeměně v dospělého stačí nymfě jedno nasátí krve drobných savců a k vlastní přeměně dojde na podzim. Samička přežívá zimu, kdežto samec hned po kopulaci umírá. Kromě vajíček jsou všechna vývojová stádia potenciálními přenašeči spirochét. [3] [13]

Obr. 3 Životní cyklus klíštěte *Ixodes ricinus*





## 2.3 Mechanismus přenosu

Borélie se v infikovaném klíštěti množí v jeho trávicím ústrojí. Styk borélií s krví při přísátí klíštěte k hostiteli stimuluje Bdr geny. Tyto geny pak ovlivňují tvorbu povrchových antigenů (OspA, OspC) umožňujících migraci borélií do slinných žláz. Za uchycení bakterií na střevní stěně klíštěte odpovídá OspA antigen a jeho exprese se při přechodu do slinných žláz zastavuje. Borélie se dostávají do hostitele v infikovaných slinách přes hypostom (bodací ústrojí klíštěte). [19] [18]

### 3 Lymfská borelióza - patogeneze

Mechanismy patologického působení můžeme rozlišit na několik základních:

- poškození způsobené mediátory zánětu a částmi spirochét vznikajícími v místě jejich množení
- při crossreakci mezi spirochétou a tkáňovými antigeny vznikají imunopatologické reakce za přítomnosti spirochét
- imunopatologické reakce způsobené přítomností spirochét, které ale pokračují dále po jejich zmizení
- při perzistenci borélie v organismu vznikají toxické reakce, které ale nevyvolávají prokazatelné zánětlivé změny (například u chronických variant infekcí). [11]

#### 3.1 Imunitní odpověď

Po 3 - 32 dnech od přisátí infikovaným klíštětem se začíná rozvíjet imunitní reakce na bakteriální infekci, při které najdou uplatnění nejen faktory bakteriální, ale i faktory nakaženého těla. Spirochéty mají dlouhý generační cyklus, malou invazivitu, odolávají fagocytóze, adherují k epitelovým či mozgovým buňkám a mohou do nich pronikat. Přítomnost vnitrobuněčného antigenu GroEL a vysoká pohyblivost borélií (v mikroskopu charakteristická) se uplatňuje při obraně proti imunitní odpovědi hostitele. Antigenní stimulace je zprostředkována celou řadou komponent, ze kterých k nejvýznamnějším antigenům patří OspA, OspB, OspC a flagellin.

### 3.1.1 Buněčná imunita

Po proniknutí borélií do hostitele nastává primární imunitní odpověď, kterou zprostředkovávají receptory na povrchu imunokompetentních buněk. Borélie jsou schopné aktivovat makrofágy, B lymfocyty a produkovat stimulační signály pro T lymfocyty.

Následkem výše popsaného děje se produkují prozánětlivé cytokiny. Některé interleukiny jsou zodpovědné za zvýšení propustnosti cév a migraci fagocytujících buněk do místa zánětu. Borélie s navázanými protilátkami ale fagocytovány nejsou.

Díky schopnosti spirochěty generovat na svém povrchu proteiny téměř identické s proteiny hostitele, dochází k produkci cytokinů a hostitelský organizmus je poškozován autoimunitními reakcemi.

### 3.1.2 Humorální imunita

Během prvních týdnů onemocnění se pozvolna rozjíždí protilátková odpověď. První specifické protilátky IgM jsou sekretovány ve 2. – 4. týdnu. Ve 3. – 6. týdnu jsou již běžně prokazatelné a dosahují nejvyšších hodnot. Jsou namířeny primárně proti flagelárnímu antigenu p41 a přetrvávají několik týdnů až měsíců. Po 6 – 8 týdnech se začíná tvořit další protilátka imunoglobulin IgG, která může přetrvávat několik let i desetiletí i v případě úplného uzdravení. Proto se protilátka IgG nemůže požívat jako ukazatel přetrvávající infekce u selhání terapie. [20]

## 3.2 Průběh infekce

*Borrelia burgdorferi* je velmi dobře adaptovaná na vnitřní prostředí člověka, ale i dalších obratlovců. To způsobuje slabé imunitní reakce, pomalý průběh infekce, a dochází ke spontánnímu uzdravení. Onemocnění může být i s chronickým nebo navracejícím se průběhem.

Borélie má schopnost přežívat v imunologicky privilegovaných tkáních (nervová tkáň, klouby či oko). Způsobuje to schopnost borélie modifikovat povrchové antigeny a tvořit cysty, které obsahují neaktivní spirochěty. Díky tomu mohou přežít i dlouhé nepříznivé období. Spirochěty jsou fagocytovány

makrofágy, v nich také mohou delší dobu přežívat. Jsou známy crossreaktivní antigeny vyskytující se v organismu a na spirochétách.

Po proniknutí borélie kůže se zde pomnoží a vytvoří erythema migrans. Ve většině případů se borélie dále rozšíří do organismu a z lokální infekce se stává infekce diseminovaná. Borélie mají schopnost vázat se na hostitelské enzymy (např. plazmin) nebo adherují k povrchu tkání, toto jim umožňuje pronikat endotelem krevních cév. Za využití vlastních glykosaminglykanů se vážou k povrchu erytrocytů nebo trombocytů. Šíří se poměrně pomalu a mimo šíření krví se také šíří lymfatickou a tkáňovou cestou. Těmito způsoby se borélie dostávají do centrálního i periferního nervového systému, kde napadají nervové buňky. Dále putují do kloubů a svaloviny, některých očních tkání a sekundárně se usídlují v kůži (sekundární erythema migrans). Důvod, proč se uchycují v těchto ložiscích, je zvýšená afinita k nim. V této fázi onemocnění se lze ještě spontánně uzdravit. Neléčená, případně neúspěšně léčená, infekce časem vede k tomu, že se borélie dlouhodobě usadí v některém z postižených orgánů a vzniká chronické stádium, které se však nevyskytuje velmi často.

### **3.3 Klinické projevy boreliózy**

Lymfská borelióza má velmi pestrý klinický obraz.

Klinické příznaky se rozdělují na akutní a chronické. Stále se ještě používá schematické dělení do tří stádií.

#### **3.3.1 První stádium (časná infekce lokalizovaná)**

Erythema migrans (EM) je typickým projevem 1. stádia. Je to kruhovitá či oválná kožní skvrna s červeným zbarvením a typicky vybledlým středem, která může být i značně rozsáhlá. Současně se mohou objevit příznaky prodromálního stádia infekce, jako jsou malátnost, únava, zvýšená teplota, bolesti svalů (myalgie), zvětšení lymfatických uzlin (regionální lymfadenopatie). Při diagnostice se často stává, že dojde k záměně s banální virovou infekcí.

**Obr. 4 Erythema migrans**



### **3.3.2 Druhé stádium (časná infekce diseminovaná)**

Příznaky spojené s 2. stádiem se objevují většinou do 2–12 týdnů po primární infekci, délka trvání je několik týdnů a ustoupí většinou do 3 měsíců po nákaze. Často se jedná o spontánní vymizení příznaků, nemoci samotné však nikoliv. Toto stádium se vyznačuje postižením nervového a svalového systému, srdce a kůže. Ve 40 % případů LB se vyskytuje časná neuroborelióza. Aseptická meningitida je jednou z forem postihující CNS. Ta bývá provázena obrnami hlavových nervů. Při postižení více hlavových nervů se může jednat o kraniální neuritidu, Garin-Bujadoux-Bannwarthův syndrom je nejnápadnější projev neuroboreliózy.

### **3.3.3 Třetí stádium chronické (pozdní infekce diseminovaná)**

Začíná po měsících až letech po nákaze a postihuje kůži, klouby a nervovou soustavu. Typickým projevem pozdní fáze boréliové infekce

je lymfská artritida. Postiženy jsou zejména velké klouby, nejčastěji kolena a ramena. Mezi její projevy patří relapsy zánětlivých procesů a mono-, oligo- nebo polyartritidu rozlišujeme podle počtu postižených kloubů.

Chronická neuroborelióza patří mezi další manifestace třetího stádia nemoci. Je pro ni typický vleklý průběh chronické encefalomyelitidy nebo encefalomyelitidy, která se podobá roztroušené skleróze, se kterou může být zaměněna. V periferním nervovém systému má podobné projevy jako polyneuritida (zánětlivé onemocnění nervů) a její důsledek je oslabení svalové síly a poruchy citlivosti. Nesmíme zapomenout na možnosti autoimunitních reakcí u chronických forem neuroboreliózy. [11]

## 4 Diagnostika lymfské boreliózy

Diagnostika lymfské boreliózy se stanovuje na základě tří faktorů, mezi které patří možnost styku s klíštětem, typické klinické projevy a laboratorní diagnostika na průkaz přítomnosti borélií.

### 4.1 Metody nepřímé

Jako nepřímé laboratorní metody se považují ELISA a IFA. Jedná se o sérologická vyšetření pro průkaz specifických antiboréliových protilátek třídy IgM a IgG v krevním séru, v likvoru a v synoviální tekutině. V dnešní době jsou k dispozici desítky komerčních setů využívajících antigeny různých druhů, kmenů *B. burgdorferi sensu lato*.

Jako první po objevení nemoci se používala metoda nepřímé imunofluorescence. Využívá reakci protilátek s antigenem Bbsl. Má nízkou specifitu i senzitivitu díky subjektivnímu hodnocení reakcí, a proto se používá jen zřídka.

ELISA je často využívaným testem při podezření na LB. Díky využití celobuněčných nebo rekombinantních antigenů je ELISA vysoce senzitivní a specifická. Při použití povrchových antigenů dokážeme odlišit rod, ne však druh. Můžeme tedy získat falešně pozitivní i falešně negativní výsledky. Imunoblotting a Western blotting se používá pro ověření výsledků. Jedná se o metodu velice citlivou ale technicky náročnou. Umožňuje detekovat a analyzovat reakce protilátek proti jednotlivým antigenům.

## 4.2 Metody přímé

Metody mikroskopické, kultivační, histologické, metody detekce nukleových kyselin se řadí mezi metody přímé diagnostiky.

Mikroskopickými metodami se pozorují pohyblivé borélie v různých vývojových stádiích klíšťat, a tak se zjišťuje míra infikovanosti v různých lokalitách.

Poměrně zdlouhavá a náročná metoda průkazu borélií v organismu je jejich kultivace potvrzující diagnózu. Při kultivaci z klinických vzorků se doporučuje použití vysoce obohacených kultivačních médií s příměsí sterilních koňských či králičích sér. Pro záchyt Bb ve formě cyst nebo granul jsou vhodné některé specializované druhy půd. Tohoto se využívá k diagnostice zejména v pozdní či chronické fázi onemocnění.

Polymerázová řetězová reakce je v současné době využívanější metodou detekce nukleových kyselin. S využitím různých setů primerů je možné také rozlišení Bb na jednotlivé genospecies. Principem PCR je cyklická trojfázová amplifikace požadované sekvence DNA. Nejprve dochází za vysoké teploty k denaturaci dsDNA, pak se teplota sníží a probíhá anealing (navázání synteticky připravených primerů). Po jejich navázání se teplota trochu zvedne a termostabilní DNA polymeráza syntetizuje nové vlákno DNA za využití nukleotidů přítomných v roztoku. Tyto nově syntetizované řetězce po opětovné denaturaci a nasednutí primerů slouží jako templáty pro další cyklus. Několikanásobným cyklováním získáme z výchozího malého množství materiálu (stačí i jedna kopie DNA) vysoký počet kopií, které se již dají prokázat gelovou elektroforézou. Velmi často využívanou modifikací PCR je Real-Time PCR (PCR v reálném čase), tato modifikace umožňuje kvantitativní analýzu vzorku díky sledování průběhu reakce v čase.



## 5 Léčba

Léčba se dělí na antibiotickou a symptomatickou. Při přítomnosti klinických projevů onemocnění a je-li laboratorně ověřená přítomnost patogenu, jsou splněny podmínky pro zahájení podávání antibiotik. Celá řada antibiotik spolehlivě působí na *Borrelia burgdorferi*. Peniciliny, tetracykliny a makrolidy jsou nejčastěji užívaná antibiotika. Podle postiženého orgánu, stádia onemocnění a celkového stavu pacienta se odvíjí volba a způsob podávání antibiotika. Mezi problémy při léčbě se dají počítat cystické formy borélií nebo obtížný průnik některých antibiotik do postižených tkání.

## 6 Prevence

Nejlepší cestou na omezení počtu pacientů s lymfskou boreliózou je prevence. Jako základní preventivní opatření se považuje ochrana před stykem s přenašečem choroby. Toho lze docílit v používání repelentů, nošení vhodného oblečení při návštěvě míst s potenciálním výskytem klíšťat a důkladná kontrola těla po návratu domů. V současné době se mnoho farmaceutických společností snaží vyvinout účinnou očkovací vakcínu.

Nově objevený protein ferritin 2 se považuje za velkou naději pro vývoj vakcíny. Tento protein přenáší železo v těle parazita a ten bez něj přežívá krátkou dobu. Pokud by se protein dostal s vakcínou do těla hostitele, jeho imunitní systém vytvoří protilátky. Když pak klíště nasaje protilátky s krví, tak dojde k jejich vazbě na ferritin 2. Vazba protilátek zablokuje funkci proteinu a neschopnost parazita neutralizovat toxické molekuly železa pocházející z krve hostitele (klíště se otráví železem) výrazně sníží šance klíštěte nakazit hostitele, protože k úspěšnému přenosu dostatečného množství borélií je potřeba delší kontakt.

# MATERIÁL A METODIKA

## 1 Vlajkování

Cílem této metody bylo za určitou dobu sběru získat co největší množství klíšťat všech vývojových stádií (vyjma samců, kteří kvůli faktu, že v dospělosti již krev nesají, nebyli sbíráni).

### 1.1 Pomůcky

Skleněná dobře uzavíratelná (nesmí mít otvory) nádoba (zavařovací sklenice), úzká pinzeta, látka o rozměrech 100 x 100 cm na dřevěné tyčce, kousek navlhčené vaty.

### 1.2 Princip metody

Vlajkování je stará metoda odchyty klíšťat. Na tyč o délce asi 150 cm je připevněn kus látky o rozměrech cca 100 x 100 cm. Touto plachtou je následně smýkáno po zemi, a poté se z ní sbírají zachycení roztoči. Látka by měla být světlá a bavlněná, nejlépe s jemným chlupem, který je ideální pro zachycení roztočů. Tmaví roztoči, v tomto případě klíšťata, se pak sbírají pomocí pinzety do skleněné nádoby, dobře uzavřené a doplněné kouskem navlhčené vaty.

### 1.3 Postup

Sběr probíhal v lese. Připravenou bílou látkou připevněnou na tyčce bylo smýkáno po zemi. Zachycená klíšťata byla pinzetou přenesena do připravené zavařovací sklenice, ve které byl vložen navlhčený vatový tampon. Z důvodu pohyblivosti nasbíraných klíšťat nebylo možné nasbírat do jedné sklenice více než 15 klíšťat (živá klíšťata neustále lezla po stěnách sklenice k otvoru a usazovala se zespoda na víčko, hrozilo tak nebezpečí jejich úniku nebo rozdrcení v závitech víčka).

## **2 Uchovávání**

Klíšťata byla uchovávána v zavařovacích sklenicích v chladu (ledniče). Takto uchovaná vydržela živá až 7 dní (několik klíšťat vždy uhynulo a mrtvá klíšťata nebyla vyšetřována).

## **3 Vyšetřování**

Obsah těla klíšťat byl vyškrábnut do kapky fyziologického roztoku nakápnutého na podložním skle a výsledné preparáty byly prohlíženy v temném poli. Hledané borélie se jevily jako pohyblivá krátká vlákna (na takto malém zvětšení nebyla vidět pro borélie jinak typická spirální struktura).

## **4 Zápis výsledků**

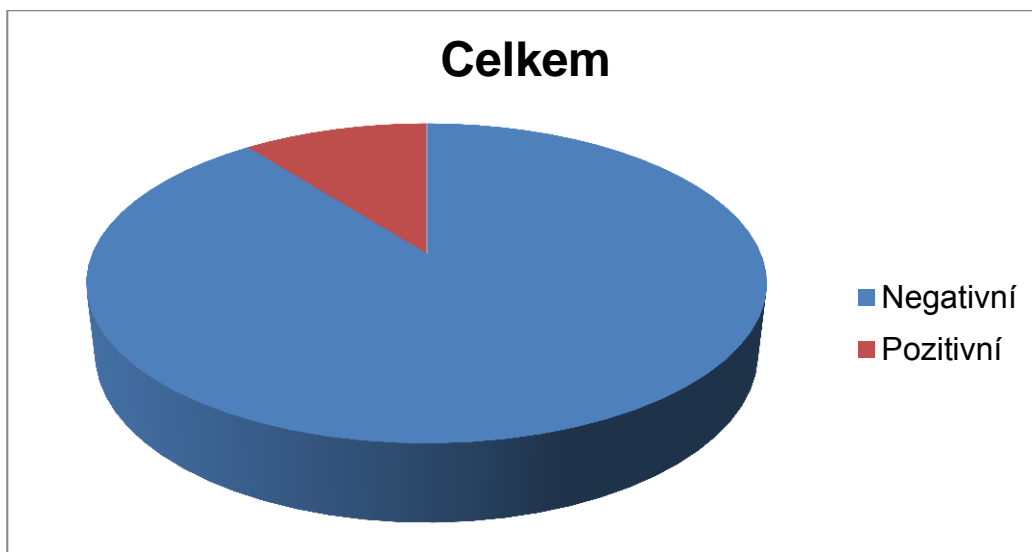
Byl zjišťován počet klíšťat, dále pak jejich dělení dle vývojového stádia, a byla zapisována případná pozitivita jedinců včetně údaje o vývojovém stádiu.

# VÝSLEDKY

## Počet klíšťat

Celkem bylo navlajkováno 114 klíšťat a z toho bylo 12 pozitivních.

Graf 1: Celkový výsledek



Zdroj: Vlastní

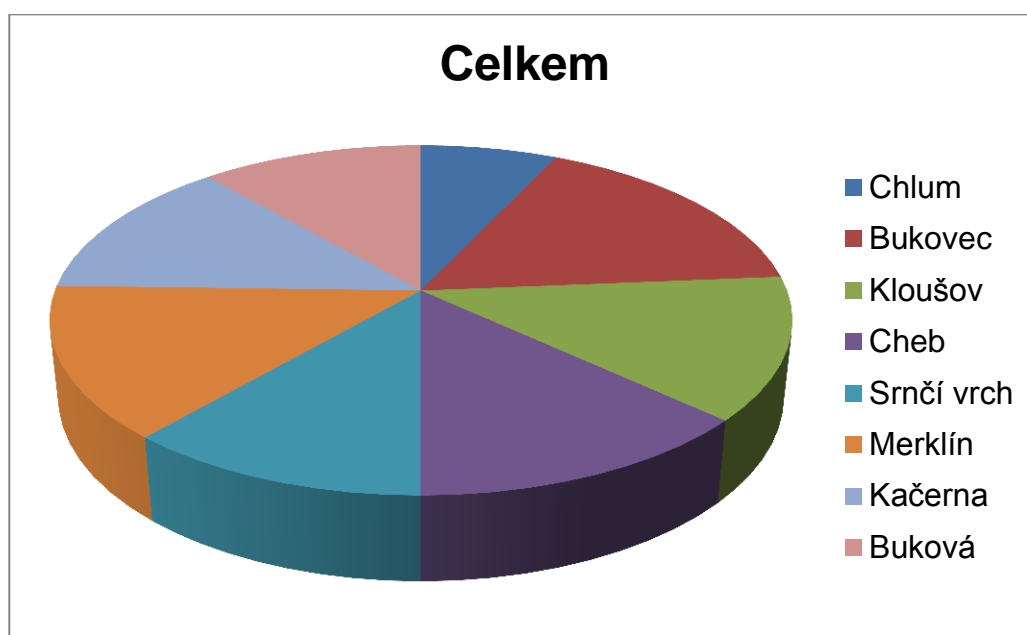
## Počet navlajkových klíšťat v jednotlivých lokalitách

Tabulka 1: Počet navlajkových klíšťat v jednotlivých lokalitách

Lokalita	Dospělci	Nymfy	Počet celkem
Chlum	3	5	8
Bukovec	1	18	19
Kloušov	3	12	15
Cheb	0	15	15
Srnčí vrch	1	12	13
Merklín	1	15	16
Kačerna	0	15	15
Buková	0	13	13

Zdroj: Vlastní

**Graf 2: Zastoupení navlajkováných klíšťat z jednotlivých lokalit**



Zdroj: Vlastní

## Počasí při vlajkování

Vlajkováno bylo vždy ve stejnou denní dobu den po dešti nebo vlhčím předchozím dnu. Nejčastěji bylo vlajkováno v odpoledních hodinách z důvodu prohřátí klíšťat po chladnější noci. Nebylo možné vlajkovat celé léto z důvodu vysokých teplot a sucha (v tomto počasí se klíšťata zavrtávají do země a nejsou aktivní).

## Vývojové stádium

Nejčastěji byly navlajkovány nymfy, dospělci méně často. U dospělců se jednalo vždy o samičky, jelikož samečci jsou nevýznamní, protože v dospělosti již nesají krev.

## Pozitivita u jednotlivých vývojových stádií

Všechna pozitivní klíšťata byla ve stádiu nymfy, nepodařilo se zachytit pozitivního dospělého.

## Pozitivita v jednotlivých lokalitách

Tabulka 2: Počet pozitivních klíšťat v jednotlivých lokalitách

Lokalita	Pozitivní dospělci	Pozitivní nymfy	Pozitivní celkem
Chlum	0	0	0
Bukovec	0	1	1
Kloušov	0	0	0
Cheb	0	3	3
Srnčí vrch	0	1	1
Merklín	0	2	2
Kačerna	0	2	2
Buková	0	3	3

Zdroj: Vlastní

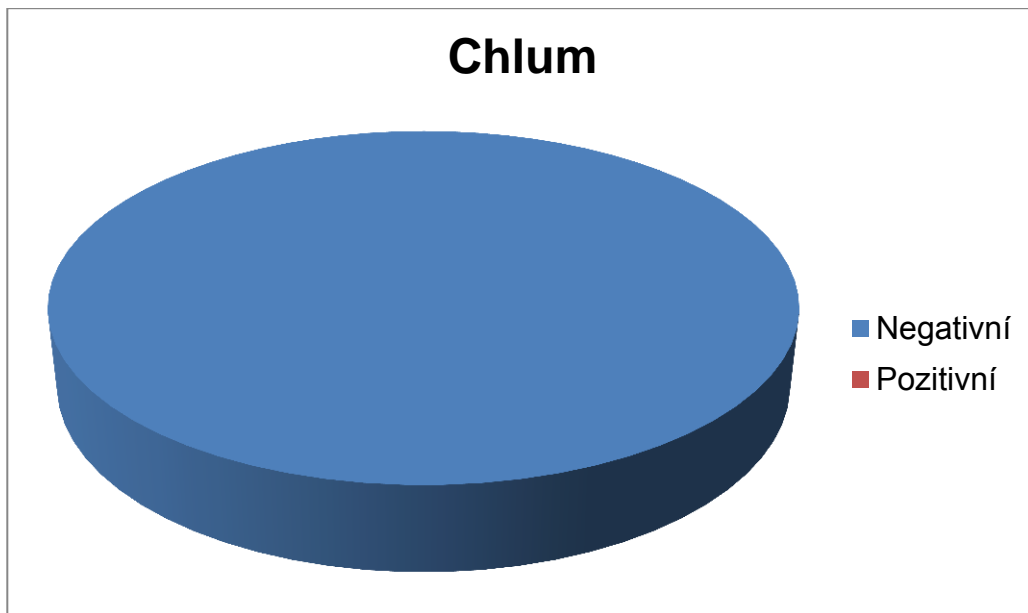
Graf 3: Zastoupení infikovaných klíšťat z jednotlivých lokalit



Zdroj: Vlastní

## Výsledky z jednotlivých lokalit

Graf 4: Výsledek v lokalitě Chlum



Zdroj: Vlastní

Graf 5: Výsledek v lokalitě Bukovec



Zdroj: Vlastní

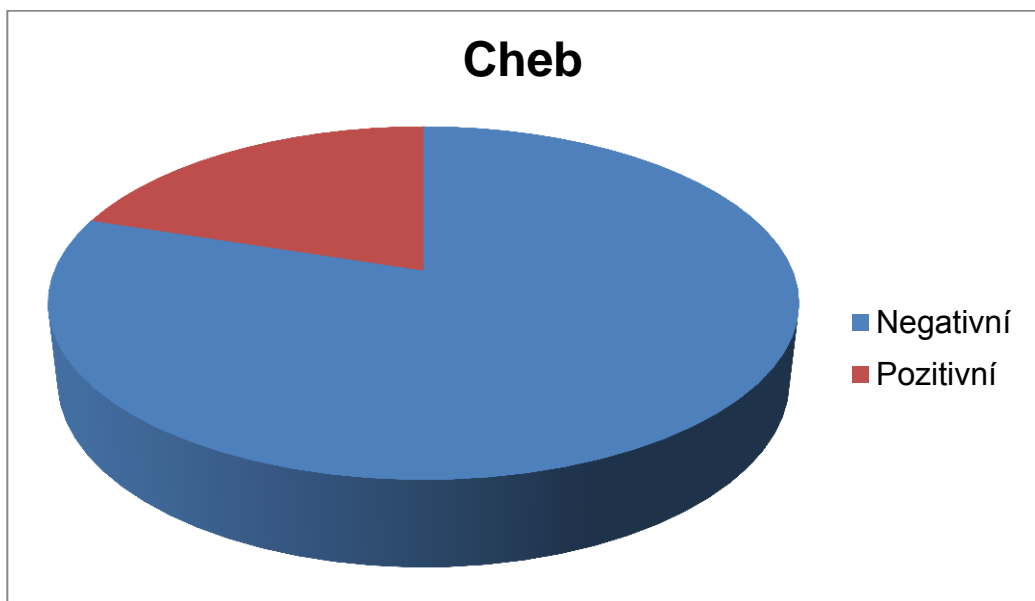


**Graf 6: Výsledek v lokalitě Kloušov**



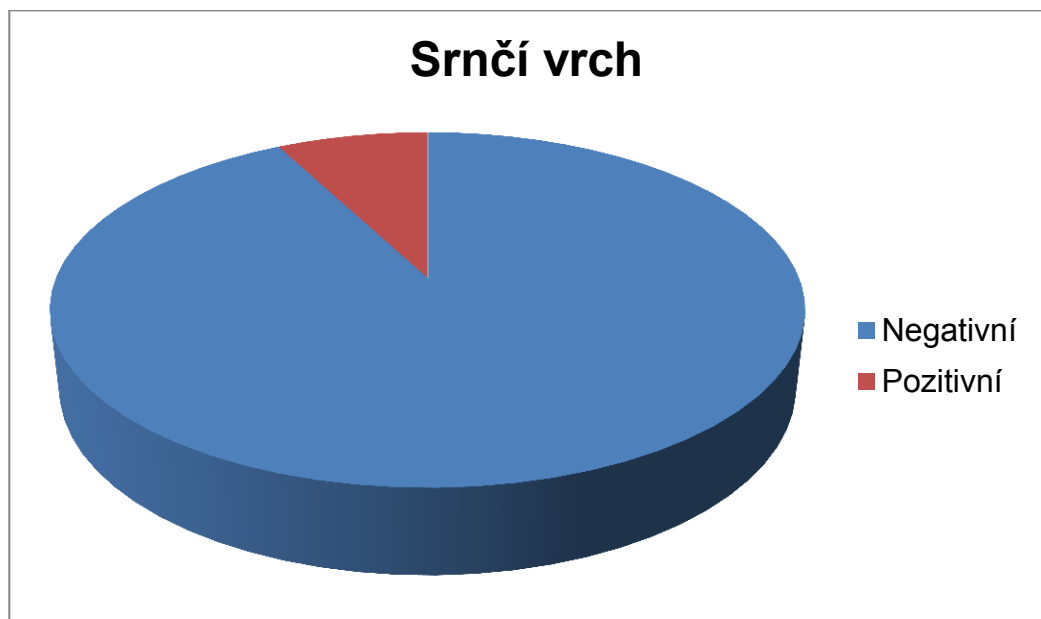
Zdroj: Vlastní

**Graf 7: Výsledek v lokalitě Cheb**



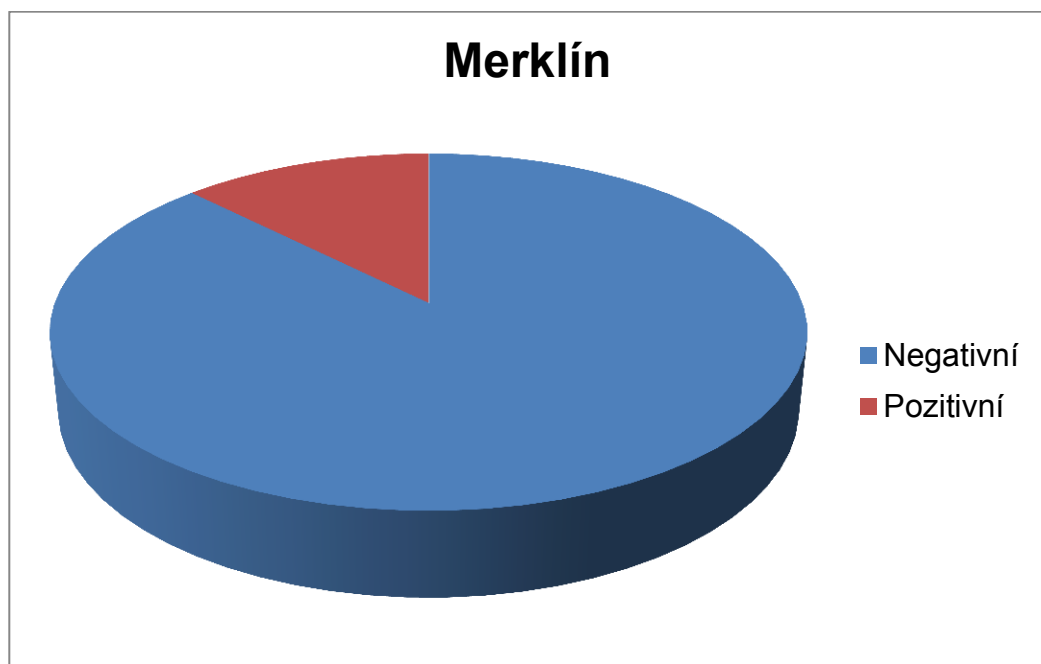
Zdroj: Vlastní

**Graf 8: Výsledek v lokalitě Srnčí vrch**



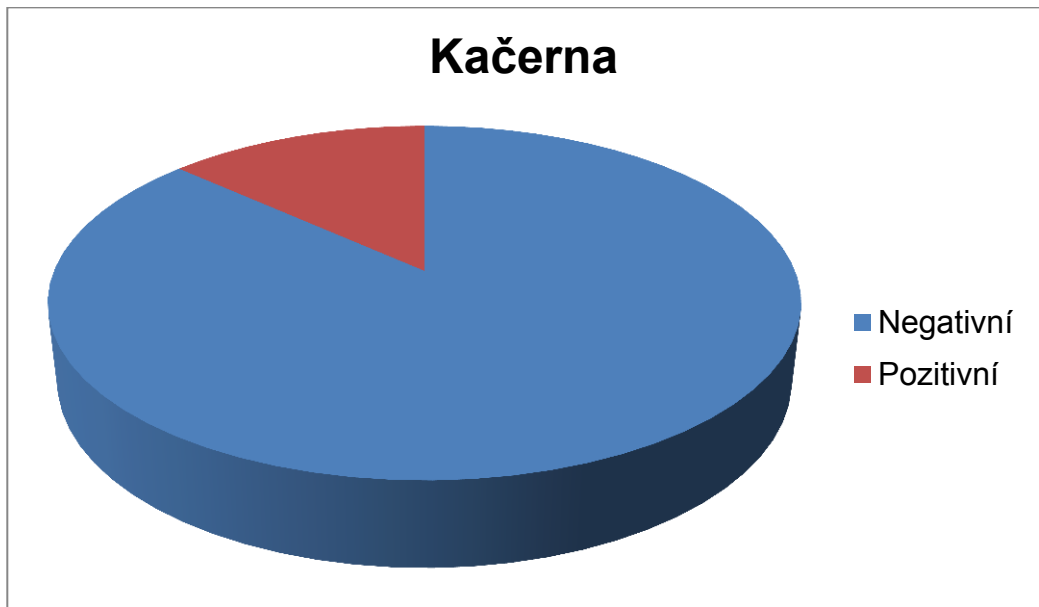
Zdroj: Vlastní

**Graf 9: Výsledek v lokalitě Merklín**



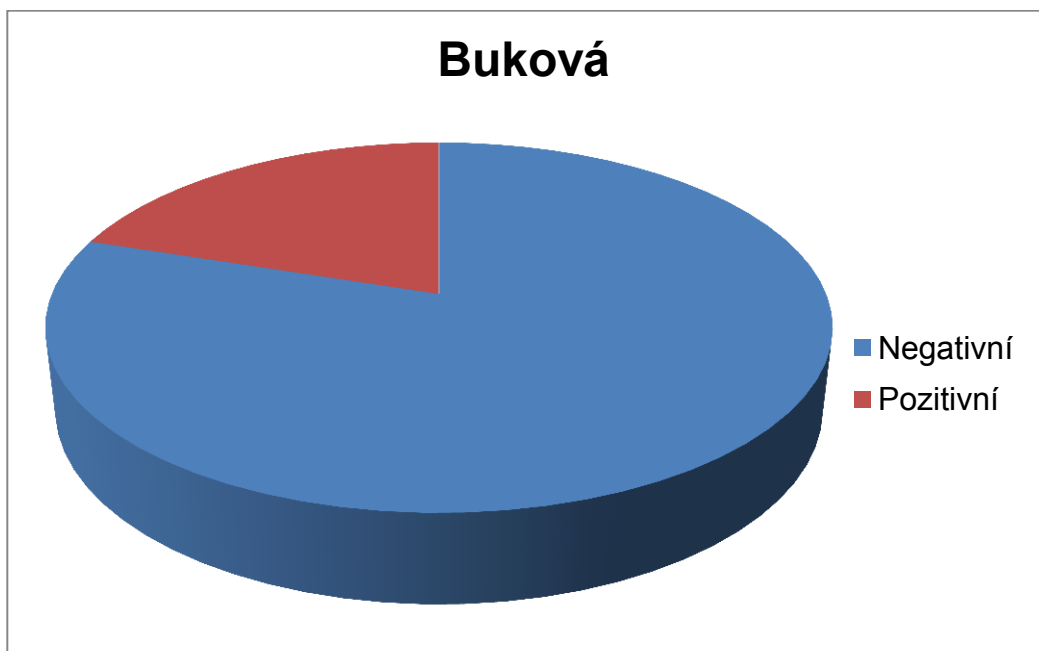
Zdroj: Vlastní

**Graf 10: Výsledek v lokalitě Kačerna**



Zdroj: Vlastní

**Graf 11: Výsledek v lokalitě Buková**



Zdroj: Vlastní

## DISKUSE

Jen několik milimetrů velké klíště obecné představuje pro člověka obrovské nebezpečí, které se však neskrývá v samotném kousnutí, ale v nemocích tímto parazitem přenášených. Mimo lymfské boreliózy, které se věnují ve své práci, tento cizopasník dále přenáší klíšťovou encefalitidu (TBE), bakteriální ehrlichiozu (HGA), rickettsiozu a babesiozu. Díky existenci očkovací látky proti klíšťové encefalitidě jsou v České republice případy této infekce regulovány. Případy dalších vyjmenovaných onemocnění jsou vzácné. Úmrtnost na LB je nízká, ale nutno podotknout, že se jedná o velmi závažnou nemoc. Toto onemocnění může připomínat vážné stavy roztroušené sklerózy a je škoda, že se proti lymfské borelióze nedá očkovat. Tento fakt je způsoben velkou antigenní nestálostí borélie (chová se podobně jako virus chřipky).

Z tohoto důvodu v rámci prevence LB je dobré znát oblasti se zvýšeným výskytem klíšťat a v těchto oblastech dodržovat zásady chránící před stykem s klíštětem. Zjišťování problémových oblastí je cílem hygienických a epidemiologických stanic. Tyto stanice vydávají každoročně nejprve předpověď na základě údajů z minulého roku a kvality zimy (mírná zima znamená nižší úhyn klíšťat a s tím spojený jejich vyšší výskyt v následujícím roce) a následně skutečné mapy s výskytem klíšťat později aktualizované o data jejich infikovanosti. Z těchto dlouhodobých sledování vyplývá, že možného přenosu LB se musíme obávat všude tam, kde se klíšťata vyskytují. Je-li náhodně lokalita jeden rok negativní, v dalších letech to takto být nemusí.

Mým průzkumem jsem zjistil, že Plzeňský kraj má stejnou promořenost jako zbytek republiky. Jsou ovšem určité oblastní výjimky, jako např. oblast kolem přehrady Hracholusky, kde je zvýšená pravděpodobnost, že narazíme na infikované klíště.

K výsledkům z jednotlivých lokalit lze souhrnně říci, že ve všech zkoumaných lokalitách se infikovaná klíšťata nacházejí, i když jsem je někde nenalezl (bylo vyšetřeno málo klíšťat).

Nejvíce klíšťat bylo navlajkováno v lokalitě Bukovec (oblast kolem konečné autobusové linky 28, zalesněná krajina), ale jen s jedním pozitivním. Nejméně klíšťat bylo navlajkováno v lokalitě Chlum (zalesněná část kopce Chlum), zde nebylo zachyceno žádné infikované klíště, přesto ovšem nelze o lokalitě Chlum tvrdit, že zde pozitivní klíšťata nejsou (mohou zde být, díky malému počtu vyšetřených klíšťat nelze brát výsledek vážně). Nejvíce infikovaných klíšťat bylo nalezeno v lokalitě Cheb (lesní oblast kolem rybníku Amerika). V lokalitě Kloušov (zalesněná oblast kolem vesnice Kloušov) nebylo nalezeno pozitivní klíště, ale ani o této lokalitě nelze tvrdit, že se zde infikovaná klíšťata nevyskytují (opět díky nízkému počtu vyšetřených klíšťat). V lokalitě Srnčí vrch (lesní porost pod kopcem Srčí vrch) bylo nalezeno pouze jedno pozitivní klíště. V lokalitě Merklín (oblast kolem obce Merklín) byla nalezena dvě pozitivní klíšťata. V lokalitě Kačerna (okolí rybníku Kačerna) byla nalezena dvě pozitivní klíšťata. V lokalitě Buková (louky kolem obce Buková) byla nalezena tři pozitivní klíšťata.

Literatura uvádí, že jsou více infikováni dospělci. Vzhledem k životnímu cyklu klíštěte je to logické, protože pravděpodobnost infekce klíštěte roste s počtem jeho sání. Mé výsledky toto ale nepotvrzují. Samozřejmě je logické, že jsem analyzoval poměrně malý soubor. Tuto skutečnost mohl zapříčinit malý počet navlajkovaných dospělců. Kdyby bylo dospělců více, je větší pravděpodobnost, že by byli také infikováni. Jiné výzkumy vyšetřují častěji dospělé než nymfy. Toto je dáno zejména tím, že lidé častěji posílají k vyšetření dospělé.

Výsledky mé práce jsou pouze hrubě orientační vlivem vyšetření malého množství klíšťat. Pokud by bylo klíšťat více, je pravděpodobné, že by výsledky byly jiné, lépe vystihující skutečnost. Vlajkování bylo prováděno pouze na území Plzeňského kraje, tudíž tyto výsledky nelze vztáhnout na celou republiku. Dalším faktem je, že vlajkování bylo prováděno v malém časovém úseku, a tedy výsledky nelze vztáhnout na celoroční období.

V rámci mé bakalářské práce byla pozitivita klíšťat vyšetřována metodou mikroskopování v temném poli. Tato metoda má ale i svá úskalí v možnosti přehlédnutí borélie vlivem přítomného znečištění a artefaktů (pozorování

v zástině zvyrazňuje všechno, kromě borélií byly v preparátech přítomny např. i vnitřnosti klíšťat). V České republice je k dispozici vyšetření metodou PCR, jejíž princip je popsán v teoretické části. Touto metodou lze vyšetřit kromě borélií i celou řadu dalších bakterií a virů. Toto vyšetření je sice placené, ale výhodou je, že nevyžaduje živá klíšťata (u metody pozorování v temném poli je zapotřebí přítomnost živých klíšťat, v mrtvých klíšťatech jsou i mrtvé borélie, které se už nepohybují a mohou být zaměněny za nečistoty). Metoda PCR má ale i svá rizika, může zachytit i mrtvé bakterie, stejně tak je citlivá na čistotu vzorku.

Pozitivní výsledek u klíštěte získaný jakoukoli metodou nemusí znamenat, že k přenosu infekce skutečně došlo. Je dokázáno, že u přísátí potvrzených infikovaných klíšťat pouze ve 3 % případů dojde k přenosu infekce.

## ZÁVĚR

Klíště obecné a lymfská borelióza včetně jejích nejčastějších původců na našem území (*Borrelia burgdorferi sensu lato*, *B. garinii*, *B. afzelii*) jsou pojmy, které se objevují v dnešní době velmi často. Nejenom ve vědě a medicíně, ale často jsou rozebírána v médiích i mezi širokou veřejností. I z tohoto důvodu se stále více lidí zajímá o možnost vyšetření přisátých klíšťat, i když pozitivní výsledek nemusí znamenat, že k přenosu došlo. Tato vyšetření poskytují specializované laboratoře a jde o odborné vyšetření zaslaných klíšťat na přítomnost patogenní bakterie rodu *Borrelia*.

V rámci vyšetření promořenosti klíšťat z Plzeňského kraje bylo vyšetřeno 114 navlajkových klíšťat. Tato klíšťata byla navlajkována v průběhu jara a léta roku 2018. Z důvodu vysokých teplot a sucha však nebylo možné vlajkovat po celou tuto dobu, ale vždy jen po dešti v odpoledních hodinách. Klíšťata byla vyšetřována vyškrábnutím zadečku do kapky fyziologického roztoku a výsledný preparát byl prohlížen v temném poli. Touto metodou byla zjištěna celková promořenost klíšťat kolem 10 %, což odpovídá celorepublikovému průměru.

Sezónní promořenost klíšťat je závislá na aktuálních podmínkách a nijak nevybočuje z dlouhodobého průměru.

## SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

1 JABBARI, Neda, Gustavo GLUSMAN, Lena M. JOESCH-COHEN, Panga Jaipal REDDY, Robert L. MORITZ, Leroy HOOD, Christopher G. LAUSTED a Brian STEVENSON. Whole genome sequence and comparative analysis of *Borrelia burgdorferi* MM1. *PLOS ONE* [online]. 2018, **13**(6) [cit. 2019-02-02]. DOI: 10.1371/journal.pone.0198135. ISSN 1932-6203. Dostupné z: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0198135>

2 CHARRIER, N. Pierre, Marjorie COUTON, Maarten J. VOORDOUW, Olivier RAIS, Axelle DURAND-HERMOUET, Caroline HERVET, Olivier PLANTARD a Claude RISPE. Whole body transcriptomes and new insights into the biology of the tick *Ixodes ricinus*. *Parasites & Vectors* [online]. 2018, **11**(1) [cit. 2019-02-02]. DOI: 10.1186/s13071-018-2932-3. ISSN 1756-3305. Dostupné z: <https://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13071-018-2932-3>

3 JOHN, Manuel, M RAMAN a Keith RYAN. A tiny tick can cause a big health problem. *Indian Journal of Ophthalmology* [online]. 2017, **65**(11) [cit. 2019-02-02]. DOI: 10.4103/ijo.IJO\_411\_17. ISSN 0301-4738. Dostupné z: <http://www.ijo.in/text.asp?2017/65/11/1228/218051>

4 ANDONE, Ioana;daia. Actual synthetic overview on Boreliosis (Lyme disease). *Infectio.ro* [online]. 2013, **34**(2), 18-24 [cit. 2019-02-02]. ISSN 1841348X.

5 VAN DUIJVENDIJK, G., G. GORT, H. SPRONG a W. TAKKEN. Behavioural responses of *Ixodes ricinus* nymphs to carbon dioxide and rodent odour. *Medical and Veterinary Entomology* [online]. 2017, **31**(2), 220-223 [cit. 2019-02-02]. DOI: 10.1111/mve.12214. ISSN 0269283X. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/mve.12214>

6 DIVAN, Ali, Timothy CASSELLI, S. Anand NARAYANAN, et al. *Borrelia burgdorferi* adhere to blood vessels in the dura mater and are associated with



increased meningeal T cells during murine disseminated borreliosis. *PLOS ONE* [online]. 2018, **13**(5) [cit. 2019-02-02]. DOI: 10.1371/journal.pone.0196893. ISSN 1932-6203. Dostupné z: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0196893>

7 SPRONG, Hein, Tal AZAGI, Dieuwertje HOORNSTRA, Ard M. NIJHOF, Sarah KNORR, M. Ewoud BAARSMA a Joppe W. HOVIUS. Control of Lyme borreliosis and other Ixodes ricinus-borne diseases. *Parasites & Vectors* [online]. 2018, **11**(1) [cit. 2019-02-02]. DOI: 10.1186/s13071-018-2744-5. ISSN 1756-3305. Dostupné z: <https://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13071-018-2744-5>

8 EHRMANN, Steffen, Sanne C. RUYTS, Michael SCHERER-LORENZEN, et al. Habitat properties are key drivers of *Borrelia burgdorferi* (s.l.) prevalence in *Ixodes ricinus* populations of deciduous forest fragments. *Parasites & Vectors* [online]. 2018, **11**(1) [cit. 2019-02-02]. DOI: 10.1186/s13071-017-2590-x. ISSN 1756-3305. Dostupné z: <https://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13071-017-2590-x>

9 SLUNGE, Daniel, Anders BOMAN a Brian STEVENSON. Learning to live with ticks? The role of exposure and risk perceptions in protective behaviour against tick-borne diseases. *PLOS ONE* [online]. 2018, **13**(6) [cit. 2019-02-02]. DOI: 10.1371/journal.pone.0198286. ISSN 1932-6203. Dostupné z: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0198286>

10 MARGOS, G., S. HEPNER, C. MANG, et al. Lost in plasmids: next generation sequencing and the complex genome of the tick-borne pathogen *Borrelia burgdorferi*. *BMC Genomics* [online]. 2017, **18**(1) [cit. 2019-02-02]. DOI: 10.1186/s12864-017-3804-5. ISSN 1471-2164. Dostupné z: <http://bmcbgenomics.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12864-017-3804-5>

11 STANEK, G., V. FINGERLE, K.-P. HUNFELD, et al. Lyme borreliosis: Clinical case definitions for diagnosis and management in Europe. *Clinical Microbiology and Infection* [online]. 2011, **17**(1), 69-79 [cit. 2019-02-02]. DOI:

10.1111/j.1469-0691.2010.03175.x. ISSN 1198743X. Dostupné z:  
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1198743X14609162>

12 STARCK, J. Matthias, Lisa MEHNERT, Anja BIGING, Juliana BJARSCH, Sandra FRANZ-GUESS, Daniel KLEEBERGER a Marie HÖRNIG. Morphological responses to feeding in ticks (*Ixodes ricinus*). *Zoological Letters* [online]. 2018, **4**(1) [cit. 2019-02-02]. DOI: 10.1186/s40851-018-0104-0. ISSN 2056-306X. Dostupné z:  
<https://zoologicalletters.biomedcentral.com/articles/10.1186/s40851-018-0104-0>

13 BHATIA, Bharti, Chad HILLMAN, Valentina CARRACOI, Britney N. CHEFF, Kit TILLY, Patricia A. ROSA a Jenifer COBURN. Infection history of the blood-meal host dictates pathogenic potential of the Lyme disease spirochete within the feeding tick vector. *PLOS Pathogens* [online]. 2018, **14**(4) [cit. 2019-02-02]. DOI: 10.1371/journal.ppat.1006959. ISSN 1553-7374. Dostupné z:  
<https://dx.plos.org/10.1371/journal.ppat.1006959>

14 ALKISHE, Abdelghafar A., A. Townsend PETERSON, Abdallah M. SAMY a R. Mark WOOTEN. Climate change influences on the potential geographic distribution of the disease vector tick *Ixodes ricinus*. *PLOS ONE* [online]. 2017, **12**(12) [cit. 2019-02-02]. DOI: 10.1371/journal.pone.0189092. ISSN 1932-6203. Dostupné z: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0189092>

15 PEREZ, Grégoire, Suzanne BASTIAN, Albert AGOULON, et al. Effect of landscape features on the relationship between *Ixodes ricinus* ticks and their small mammal hosts. *Parasites & Vectors* [online]. 2016, **9**(1) [cit. 2019-02-02]. DOI: 10.1186/s13071-016-1296-9. ISSN 1756-3305. Dostupné z:  
<http://www.parasitesandvectors.com/content/9/1/20>

16 BARTŮNĚK, Petr. *Lymeská borelióza*. 4., přeprac. a dopl. vyd. Praha: Grada, 2013. ISBN 978-80-247-4355-4.

17 BECKER, Noémie S., Gabriele MARGOS, Helmut BLUM, et al. Recurrent evolution of host and vector association in bacteria of the *Borrelia burgdorferi* sensu lato species complex. *BMC Genomics* [online]. 2016, **17**(1) [cit. 2019-02-02]. DOI: 10.1186/s12864-016-3016-4. ISSN 1471-2164.

Dostupné z: <http://bmcgenomics.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12864-016-3016-4>

18 RAMAMOORTHY, Nandhini, Sukanya NARASIMHAN, Utpal PAL, et al. The Lyme disease agent exploits a tick protein to infect the mammalian host. *Nature* [online]. 2005, **436**(7050), 573-577 [cit. 2019-02-02]. DOI: 10.1038/nature03812. ISSN 0028-0836. Dostupné z: <http://www.nature.com/articles/nature03812>

19 MANSFIELD, Karen L., Charlotte COOK, Richard J. ELLIS, Lesley BELL-SAKYI, Nicholas JOHNSON, Pilar ALBERDI, José DE LA FUENTE a Anthony R. FOOKS. Tick-borne pathogens induce differential expression of genes promoting cell survival and host resistance in *Ixodes ricinus* cells. *Parasites & Vectors* [online]. 2017, **10**(1) [cit. 2019-02-02]. DOI: 10.1186/s13071-017-2011-1. ISSN 1756-3305. Dostupné z: <http://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13071-017-2011-1>

20 URBANOVÁ, Veronika, Ondřej HAJDUŠEK, Radek ŠÍMA, et al. IrC2/Bf – A yeast and *Borrelia* responsive component of the complement system from the hard tick *Ixodes ricinus*. *Developmental & Comparative Immunology* [online]. 2018, **79**, 86-94 [cit. 2019-02-02]. DOI: 10.1016/j.dci.2017.10.012. ISSN 0145305X. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0145305X17304755>

## ZDROJE OBRÁZKŮ

1 [https://vignette.wikia.nocookie.net/mmg-233-2014-genetics-genomics/images/2/20/Borrelia\\_burgdorferi\\_.jpg/revision/latest?cb=20141117213339](https://vignette.wikia.nocookie.net/mmg-233-2014-genetics-genomics/images/2/20/Borrelia_burgdorferi_.jpg/revision/latest?cb=20141117213339)

2 <http://www.bristoluniversitytickid.uk/uploads/file/image/Ixodes-ricinus-female-dorsal-view-0.jpg>

3 [https://media.springernature.com/full/springer-static/image/art%3A10.1186%2Fs13071-014-0526-2/MediaObjects/13071\\_2014\\_526\\_Fig1\\_HTML.gif](https://media.springernature.com/full/springer-static/image/art%3A10.1186%2Fs13071-014-0526-2/MediaObjects/13071_2014_526_Fig1_HTML.gif)

4 <http://marbellalymeclinic.com/wp-content/uploads/2017/02/children-lyme-bullseye-rash.jpg>