

ZÁPADOČESKÁ UNIVERZITA V PLZNI
FAKULTA ZDRAVOTNICKÝCH STUDIÍ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2021

Lenka Dvořáková

FAKULTA ZDRAVOTNICKÝCH STUDIÍ

Studijní program: Specializace ve zdravotnictví

Lenka Dvořáková

Studijní obor: Zdravotní laborant 5345R020

**PRŮKAZ PŮVODCŮ LYMESKÉ BORELIÓZY
V KLÍŠŤATECH V OKOLÍ PLZNĚ**

Bakalářská práce

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

PLZEŇ 2021

ZÁPADOČESKÁ UNIVERZITA V PLZNI

Fakulta zdravotnických studií

Akademický rok: 2020/2021

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Lenka DVOŘÁKOVÁ**
Osobní číslo: **Z18B0127P**
Studijní program: **B5345 Specializace ve zdravotnictví**
Studijní obor: **Zdravotní laborant**
Téma práce: **Průkaz původců lymeské boreliózy v klíšťatech v okolí Plzně**
Zadávací katedra: **Katedra záchranářství, diagnostických oborů a veřejného zdravotnictví**

Zásady pro vypracování

- Zpracovat seznam odborné literatury
- Stanovit cíl kvalifikační práce
- Zpracovat teoretickou a praktickou část práce dle požadavků FZS
- Popsat metodiku praktické části
- Vypracovat diskuzi a závěr kvalifikační práce
- Dodržet formální úpravu kvalifikační práce dle požadavků FZS
- Dodržet citační normu

Rozsah bakalářské práce:
Rozsah grafických prací:
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

- BARTŮNĚK, Petr. Lymeská borelióza. 4., přeprac. a doplň. vydání. Praha: Grada, 2013. 168 s. ISBN 978-80-247-4355-4.
- VOTAVA, Miroslav. Lékařská mikrobiologie: vyšetřovací metody. 1. vyd. Brno: Neptun, 2010. 495 s. ISBN 978-80-86850-04-7.
- VOTAVA, Miroslav. Klinická mikrobiologie. 1. vyd. Brno: Masarykova univerzita, 2014. 168 s. ISBN 978-80-210-7503-0.
- GÖPFERTO VÁ, Dana. Epidemiologie. 2., přeprac. vyd. Praha: Karolinum, 2013. 223 s. ISBN 978-80-246-2223-1.
- GAYLE, A., RINGDAHL, E. Tick-borne diseases. American family physician, 2001. 63(3): 461-466, ISSN – 1532-0650.

Vedoucí bakalářské práce: **RNDr. Karel Fajfrlík, Ph.D.**
Katedra záchranářství, diagnostických oborů
a veřejného zdravotnictví

Datum zadání bakalářské práce: **1. června 2020**
Termín odevzdání bakalářské práce: **31. března 2021**



PhDr. Lukáš Štich, MBA
děkan



Mgr. Stanislava Reichertová
vedoucí katedry

Prohlášení

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

V Plzni dne 28. 3. 2021

.....

vlastnoruční podpis

Abstrakt

Příjmení a jméno: Dvořáková Lenka

Katedra: Katedra záchranářství, diagnostických oborů a veřejného zdravotnictví

Název práce: Průkaz původců lymeské boreliózy v klíšťatech v okolí Plzně

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

Počet stran – číslované: 38

Počet stran – nečíslované: 17

Počet příloh: 0

Počet titulů použité literatury: 28

Klíčová slova: lymeská borelióza, klíšťata, epidemiologie, klíště obecné, Plzeň a okolí, laboratorní vyšetření

Souhrn:

Hlavním cílem této kvalifikační práce bylo seznámení s metodikou vyšetřování klíšťat na přítomnost původců lymeské boreliózy. Dílčími cíli bylo shromáždit a zpracovat informace o tomto tématu, zvládnout metodiku laboratorního vyšetření, upozornit na rizika spojená s onemocněním a přinést aktuální informace o promořenosti klíšťat v okolí Plzně. Práce je členěna na praktickou a teoretickou část. K odchytu klíšťat jsem použila metodu vlajkování a k následnému vyšetření v laboratoři jsem využívala metodu pozorování borelií v temném poli. Vyšetřovaný soubor tvořilo sto pět mnou navlajkových klíšťat. Z tohoto počtu jich bylo celkem deset pozitivních na přítomnost borelie, která je původcem lymeské boreliózy.

Abstract

Surname and name: Dvořáková Lenka

Department: Department of Rescue, Diagnostics and Public Health

Title of thesis: Identification of Lyme borreliosis agents in ticks around Pilsen

Consultant: RNDr. Karel Fajfrlík, Ph.D.

Number of pages – numbered: 38

Number of pages – unnumbered: 17

Number of appendices: 0

Number of literature items used: 28

Keywords: Lyme borreliosis, ticks, epidemiology, Ixodes ricinus, Pilsen and surroundings, laboratory tests

Summary:

The main goal of this qualification work was to get acquainted with the methodics of ticks examination for Lyme disease agents. The secondary goals were to collect and process information for this topic, master the methodics of laboratory examination, draw attention to the risks associated with the disease and provide current information about the percentage of infected ticks in the Pilsen area. The work is divided into practical and theoretical part. I used the method of flagging to catch ticks. For the subsequent examination in the laboratory, I used the method of observing *Borrelia* in a dark field. The examined group consisted of one hundred and five ticks, which I collected. Of this number, ten were positive for the presence of *Borrelia*, which is the cause of Lyme borreliosis.

Předmluva

Tato bakalářská práce přináší informace o klíšťatech a onemocnění lymeská borelióza. Zaměřuje se na průkaz původců lymeské boreliózy. S tímto onemocněním jsem se setkala u svých přátel a také u člena rodiny. Proto jsem si toto téma vybrala. Dalším důvodem pro výběr byla stálá aktuálnost tématu a můj zájem o obor mikrobiologie.

Poděkování

Děkuji RNDr. Karlu Fajfrlíkovi, Ph.D. za odborné vedení práce, poskytování rad a materiálních podkladů. Dále děkuji svojí rodině a přátelům za podporu, které se mi při studiu dostávalo.

OBSAH

SEZNAM GRAFŮ	11
SEZNAM OBRÁZKŮ	12
SEZNAM TABULEK	13
SEZNAM ZKRATEK	14
ÚVOD.....	15
TEORETICKÁ ČÁST	16
1 KLÍŠŤATA.....	16
1.1 Klíště obecné	16
1.1.1 Morfologie	16
1.1.2 Životní cyklus	17
1.2 Další druhy klíšťat v ČR.....	18
1.2.1 Klíště ježčí – <i>Ixodes hexagonus</i>	18
1.2.2 Klíště luční – <i>Haemaphysalis concinna</i>	18
1.2.3 Piják lužní – <i>Dermacentor reticulatus</i>	18
2 LYMESKÁ BORELIÓZA	19
2.1 Historie	19
2.2 Původci onemocnění.....	20
2.3 Způsob přenosu lymeské boreliózy	20
2.4 Epidemiologie.....	21
2.5 Klinický průběh onemocnění.....	24
2.5.1 Časné lokalizované stádium	24
2.5.2 Časné diseminované stádium.....	25
2.5.3 Pozdní diseminované stádium	25
2.6 Léčba	25
3 LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA LYMESKÉ BORELIÓZY	27
3.1 Přímé metody.....	27
3.1.1 Kultivace.....	27
3.1.2 Histologické vyšetření	27
3.1.3 Elektronová mikroskopie.....	27
3.1.4 Metoda PCR	28
3.2 Metody nepřímé.....	28
3.2.1 ELISA.....	29
3.2.2 Western blot.....	29
3.2.3 Nepřímá imunofluorescence.....	29
3.3 Vyšetření samotných klíšťat.....	30

4	PREVENCE LYMESKÉ BORELIÓZY	31
4.1	Předpověď aktivity klíšťat	31
4.2	Očkování	32
4.3	Prevence proti přisátí klíštěte	32
4.4	Odstranění klíštěte	33
4.5	Prostředí klíšťat	33
	PRAKTICKÁ ČÁST	35
5	CÍL A ÚKOLY PRÁCE	35
5.1	Hlavní cíl	35
5.2	Dílčí cíle	35
6	VÝZKUMNÉ PROBLÉMY/OTÁZKY	36
7	CHARAKTERISTIKA SLEDOVANÉHO SOUBORU	37
8	METODIKA PRÁCE	38
8.1	Vlajkování klíšťat	38
8.1.1	Pomůcky	38
8.1.2	Princip metody	38
8.1.3	Postup	39
8.2	Laboratorní vyšetření klíšťat	39
8.2.1	Pomůcky	39
8.2.2	Postup	40
8.3	Vyšetřované lokality	40
8.3.1	Pod Sylvánem	41
8.3.2	Okolí řeky Radbuzy	41
8.3.3	Okolí zříceniny hradu Radyně	42
8.3.4	Okolí Velkého Boleveckého rybníku	43
8.4	Období sběru	43
9	ANALÝZA A INTERPRETACE VÝSLEDKŮ	44
9.1	Výsledky vlajkování klíšťat	44
9.2	Výsledky positivity klíšťat v jednotlivých lokalitách	46
	DISKUZE	49
	ZÁVĚR	52
	SEZNAM LITERATURY	53

SEZNAM GRAFŮ

Graf 1: Počty nakažených LB v ČR v letech 2009-2019	23
Graf 2: Vlajkování klíšťat v čase.....	45
Graf 3: Infikovaná klíšťata v jednotlivých lokalitách	46
Graf 4: Lokalita Sylván	47
Graf 5: Lokalita Radbuza	47
Graf 6: Lokalita Radyně	48
Graf 7: Lokalita Bolevecký rybník.....	48

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: Vývojové fáze klíšťat.....	17
Obrázek 2: <i>Borrelia burgdorferi</i> – mikroskopie v tmavém poli	20
Obrázek 3: Mapa procentuálního zastoupení nakažených klíšťat LB v ČR.....	23
Obrázek 4: EM.....	24
Obrázek 5: Stupeň aktivity klíšťat v ČR.....	31
Obrázek 6: Zkumavky s nachytnými klíšťaty.....	38
Obrázek 7: Pomůcky	40
Obrázek 8: Lokalita – Pod Sylvánem.....	41
Obrázek 9: Lokalita – okolí řeky Radbuzy.....	42
Obrázek 10: Lokalita – Radyně.....	42
Obrázek 11: Lokalita – Bolevecký rybník.....	43

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Výskyt LB v ČR v roce 2018	22
Tabulka 2: Počet navlajkových klíšťat celkem.....	44
Tabulka 3: Navlajkováná klíšťata podle lokalit	45
Tabulka 4: Pozitivita klíšťat v lokalitách	46

SEZNAM ZKRATEK

ACA	acrodermatitis chronica atrophicans.
ATB	antibiotika
BBSL	Borrelia burgdorferi sensu lato
cm.....	centimetr
CRP	C reaktivní protein
ČR	Česká republika
DNA.....	deoxyribonukleová kyselina
ELISA	Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
EM	erythema migrans
KHS	krajská hygienická stanice
LM	lymeská borelióza
MME.....	mnohočetný migrující erytém
MZP	ministerstvo životního prostředí
PCR.....	polymerázová řetězová reakce
SZÚ.....	Státní zdravotní ústav
WB.....	western blot
µm	mikro metr

ÚVOD

Ve své bakalářské práci jsem se zabývala klíšťaty a jedním z nejčastějších onemocnění, která klíšťata přenášejí. Tím je lymeská borelióza. Konkrétně jsem se zaměřila na infikovanost klíšťat původci lymeské boreliózy v Plzni a jejím blízkém okolí.

Klíšťata jsou pro nás stále jistým nebezpečím. Velká část laické veřejnosti si toto riziko bohužel neuvědomuje. Klíšťata přenášejí několik více či méně závažných onemocnění. Mezi nejznámější v České republice patří již zmíněná lymeská borelióza, ale také nebezpečnější klíšťová encefalitida. Riziko nákazy je aktuální pro všechny věkové skupiny, ovšem například starší lidé mají průběh onemocnění komplikovanější a těžší. V České republice jsou vhodné podmínky pro život klíšťat, proto je důležité o možnostech nákazy vědět. Toto téma je velmi aktuální, podle Státního zdravotního ústavu (SZÚ) každý rok roste počet nakažených.

Práce je členěna na teoretickou a praktickou část. V teoretické části se zabývám obecnými informacemi o klíšťatech, jejich morfologií, životním cyklem, klíštětem obecným a také dalšími druhy klíšťat. V další části se zabývám informacemi o lymeské borelióze, o její historii, původci onemocnění, způsobech přenosu, epidemiologickou situací, ale také průběhem onemocnění a jeho léčbou. Třetí část tvoří možnosti laboratorního vyšetření. A čtvrtá poslední teoretická část je věnována prevenci, na kterou se nesmí zapomínat. V praktické části jsem se věnovala metodice vylajkování klíšťat v mnou vybraných lokalitách a následným laboratorním vyšetřením navlajkovaných klíšťat. Na konci praktické části práce je zpracována infikovanost klíšťat v jednotlivých lokalitách. Posledními kapitolami v této kvalifikační práci jsou diskuse a závěr, kde jsem se věnovala vyhodnocením výsledků, které jsem získala.

Cílem práce bylo seznámit se s metodikou vyšetřování klíšťat na přítomnost původců lymeské boreliózy. Dílčími cíli bylo shromáždit a zpracovat informace o tématu, upozornit na možná rizika onemocnění a přinést aktuální informace o promořenosti klíšťat v okolí Plzně.

TEORETICKÁ ČÁST

1 KLÍŠŤATA

Klíšťata můžeme dělit na klíšťata (čeleď Klíšťatovití *Ixodidae*) a klíšťáky (čeleď klíšťákovití *Argasidae*). Klíšťáci na rozdíl od klíšťat nemají hřbetní štít z chitinu, takže se jim také říká klíšťata s měkkým tělem. (KIMMING, 2003)

1.1 Klíště obecné

Latinský název: *Ixodes Ricinus*

Systematické zařazení:

Říše: Živočichové (*Animalia*)

Kmen: Členovci (*Arthropoda*)

Podkmen: Klepítkatci (*Chelicerata*)

Třída: Pavoukovci (*Arachnida*)

Řád: Roztoči (*Acarina*)

Podřád: Klíšťata (*Ixodides*)

Čeleď: Klíšťatovití (*Ixodidae*)

Klíšťata jsou ektoparazité, které řadíme do řádu roztočů (*Acarina*), jedná se o velmi rozmanitý řád z morfologického hlediska. Ze zoologického hlediska přiřazujeme klíšťata k pavoukvcům. (SEDLÁK, 2003)

1.1.1 Morfologie

Klíště má dvě hlavní části: část hlavovou (gnathosoma) a zadní části těla (idiosoma). Hlavová část je tvořena zejména hypostomem, který slouží k průniku do kůže a k následnému uchycení. Po stranách najdeme chelicery, které proříznou kůži hostitele. Hypostom kryjí makadla, která se uplatňují ve vyhledání vhodného místa k přisátí. (BELLMANN, 2003)

U klíštěte obecného je velký pohlavní dimorfismus, ať už se jedná o vzhled nebo způsob života. Nymfy jsou dlouhé 1 mm a larvy 0,5 mm. Samci se dorůstají velikosti 2-3 mm. Přes celé tělo mají silný hřbetní štít, který obsahuje chitin. Tento štít je velmi dobře chrání před rozmáčknutím. Samice jsou o něco větší a jejich velikost je 3-4 mm. Na rozdíl od samců nemají štít po celém těle, ale nalezneme ho pouze v přední části těla (zbytek tvoří elastická

část). Tento fakt umožňuje zvětšení zadečku samice až na 10-15 mm, dochází k tomu po sání hostitelské krve. Rozdíl mezi samci a samicemi je také v barvě. Samec je hnědočervený, zatímco samice jsou spíše žlutohnědé a po nasátí šedé barvy. Dospělé klíště má 8 končetin, každá má 6 článků. Larvy mají pouze 6 končetin. Na předních nohách je Hallerův orgán, díky kterému dokáže klíště najít hostitele. Tento orgán umí zachytit mechanické tepelné a chemické podněty. Dále na končetinách nalezneme trny a ostny, které slouží opět pro lepší přichycení na hostiteli. (KIMMING, 2003)

1.1.2 Životní cyklus

Klíště obecné má tři vývojové fáze: Z vajíčka se líhne larva, z ní vznikne nymfa a poslední fází je dospělec, u kterého už můžeme rozlišovat pohlaví: Samec a samice. Klíště obecné se řadí mezi trojhostitelská klíšťata. To znamená, že potřebuje tři hostitele, aby dokončilo svůj vývoj. Nejdříve si larva hledá příhodného hostitele, kterým je často drobný hlodavec, po nasátí se pouští a zahrabe se do země, kde se svléká, následně se přemění v nymfu. Následuje další hledání vhodného (zpravidla většího) hostitele (zajáci, ježci, kočky, psi). Když už je dostatečně nasycena (3-5 dní), odpadá, aby se mohla znovu svléknout a stát se dospělcem. Ve fázi dospělce saje už pouze samice a napadá velkou zvěř, jakou jsou srnci, jeleni, divoká prasata či lišky. Samec oplodňuje samici, když je přichycena na hostiteli. Doba páření může být až jeden týden, po tomto úkonu samec umírá a samice se vrací zpátky na zem a hledá vhodné místo pro uvolnění vajíček. Když najde vhodné podmínky, zůstává zde 4-8 týdnů, vyprodukuje až 2000 vajec a poté umírá i samice. (European Centre for Disease and Control, 2020) Celý vývoj může být i velmi dlouhý a trvá 2-3 roky, ale klíšťata to zvládnou bez větších problémů, jelikož dokážou dlouho hladovět. (HUBÁLEK, 2007)

Obrázek 1: Vývojové fáze klíšťat



Zdroj: <https://www.researchgate.net/profile/Franc-Strle/publication>

1.2 Další druhy klíšťat v ČR

Mezi nejrozšířenější druh klíštěte v ČR, ale i v Evropě samozřejmě patří výše popsané klíště obecné. V české republice se ale mohou vyskytnout i další druhy, hlavně v jižnějších oblastech. (HUBÁLEK, 2007)

1.2.1 Klíště ježčí – *Ixodes hexagonus*

Mezi jeho hlavní působiště patří, Evropa a část severní Afriky. Můžeme ho ovšem nalézt i na území České republiky. Jak už název napovídá, mezi jeho hlavní hostitele patří ježci, ale také i šelmy. (HUBÁLEK, 2007)

1.2.2 Klíště luční – *Haemaphysalis concinna*

Tento druh klíštěte se vyskytuje v Evropě a Asii. V ČR především na Jižní Moravě. Mezi jeho přirozené prostředí patří smíšené a listnaté lesy, mýtiny a mokřady, kde je zajištěno teplé a vlhké ovzduší. Nejvíce aktivní jsou přes jarní a letní měsíce, zejména dospělci pak v červnu a červenci. Nižší vývojová stádia sají hlavně na drobných savcích a ptácích, dospělec na větších savcích. Klíště luční může také napadnout i člověka, hlavně samice a nymfy. Mohou na něj přenést například virus klíšťové encefalitidy. (HUBÁLEK, 2007)

1.2.3 Piják luční – *Dermacentor reticulatus*

Pijáka lučního nalezneme opět v Evropě a Asii. V České republice zejména v zátopových oblastech toku Dyje a Moravy. Člověka jako hostitele vyhledává málokdy, a tak se lidé mohou bát maximálně o své psy, jelikož piják luční může být přenašečem krevních parazitů domácích zvířat jako je například *Babesia*, *Nuttalia*, *Anaplasma*. (HUBÁLEK, 2007)

2 LYMESKÁ BORELIÓZA

Klíšťata přenášejí onemocnění, která označujeme jako antropozoonotická, dochází zde k transmisivnímu přenosu ze zvířete na člověka. K infikování dochází při přísátí klíštěte na kůži, kdy se do hostitele dostávají infekční mikroorganismy ve slinách klíštěte. (HUBÁLEK, 2007; HEJTMÁNEK, 1991)

Klíšťata patří mezi podstatné přenašeče infekčních chorob ve světě, ale i v České republice. Nejčastější onemocnění, která přenášejí, jsou lymeská borelióza (LM) a klíšťová encefalitida, méně často potom ehrlichioza a tularémie. (ROHÁČOVÁ, 2006)

2.1 Historie

O lymeské borelióze se poprvé zmínil německý dermatolog Alfred Buchwald v roce 1883, když popisoval kožní projev (dnes už známé boreliózy), který nazval *acrodermatitis chronica atrophicans*. Během dalších 19. let byly tyto projevy popsány také K. Hartmannem a K. Herxheimerem. V roce 1909 došlo k popsání erythema migrans (EM – taktéž kožní projev viz dále) švédským doktorem Arvidem Afzelieusem. V několika následujících letech bylo publikováno několik dalších teorií, ale bez významnějšího objasnění etiologie onemocnění. Jediný významnější názor v té době byl od Lenhoffera, který se domníval, že při kožních lézích typu EM a ACA mají spirochety svůj význam v etiologii onemocnění, avšak tento názor nebyl nikým podpořen, takže z něho sešla pozornost. (ROHÁČOVÁ, 2005)

Ke zlomové události ve výzkumu došlo roku 1975, kdy byla pozornost zaměřena na městečko Old Lyme ve státě Connecticut ve Spojených státech. V čele výzkumu stál americký revmatolog Alan Steere, který působil na univerzitě v Yale. Ve městě se vyskytlo poměrně velké množství lidí, kteří trpěli na kloubní obtíže, postižených bylo celkem 39 dětí a 12 dospělých. Pozornost lékařů připoutal kožní projev EM, který se vyskytl u 25 % nemocných. Onemocnění dostalo název lymeská nemoc, podle onoho města Old Lyme. Jako první, kdo poukázal na souvislost mezi klíštětem a EM byl Joe Dowhan. V roce 1982, došlo k významnému objevu, učinil ho vědec Burgdorfer, kterému se podařilo izolovat spirochétu (bakterie) z infikovaných klíšťat, a tak došlo k objevení agens vyvolávajícího lymeskou boreliózu. Bakterie byla později pojmenována jako *Borrelia burgdorferi*, podle svého objevitele. (ROHÁČOVÁ, 2005)

2.2 Původci onemocnění

Lymeskou boreliózu způsobuje komplex borelií, který nazýváme *Borrelia burgdorferi sensu lato* (BBSL). Mezi ně se řadí *B. burgdorferi sensu stricto*, *B. garinii* a *B. afzelii*. V Evropě žijí všechny patogenní druhy, ale v Americe byla prokázána zatím pouze *B. burgdorferi sensu stricto*. V následující části textu se budu věnovat zejména druhu *Borrelia burgdorferi*. (ROHÁČOVÁ, 2006)

Borelie řadíme mezi spirálovité gramnegativní mikroaerofilní spirální bakterie. Optimální teplota pro jejich vývoj je okolo 30-37 °C. Charakteristickým znakem je tenký spirálovitě stočený tvar, který dosahuje 4-30 µm na délku a 0,2 µm na šířku. Na obou koncích těla najdeme 7-9 bičků, které jsou uloženy pod zevní membránou v periplazmatickém prostoru a díky nim se pohybují. Počet bičků je u různých druhů borelií odlišný. K pohybu dochází dvěma způsoby, jedním příkladem je opakované smršťování a natahování těla, další možnost je rotace kolem podélné osy. Jejich rychlost může být až 2 mm za jednu minutu. Obal této bakterie tvoří zevní membrána, která je trojvrstevná. (BARTŮNĚK, 1996)

Obrázek 2: *Borrelia burgdorferi* – mikroskopie v tmavém poli



Zdroj: https://globetechcdn.com/labmedica/images/stories/articles/article_images/2016-11-16/RLJ-432.jpg

2.3 Způsob přenosu lymeské boreliózy

Ve vhodném prostředí klíště vyčkává na svého hostitele, kterého identifikuje díky Hallerovu orgánu. Na něm jsou umístěny receptory čichu, vlhkosti, tepla, oxidu uhličitého a

amoniaku. Klíště nás pozná hlavně díky amoniaku v potu a vydechovanému oxidu uhličitému, když nás zaregistruje, okamžitě roztáhne přední pár nohou a je nachystáno ke kontaktu, k přichycení dochází pomocí makadel. Ideální místo pro přisátí na těle hostitele může klíště hledat v rozsahu několika málo minut až po několik hodin. (JAULHAC, 2009) Nejvíce atraktivní části pokožky jsou takové, které jsou jemné a mají lehce zvýšenou vlhkost. Mezi ně patří například podpaží, třísla, podkolenní jamka, přední strana břicha nebo kůže za ušima, ale samozřejmě se může schovat úplně kdekoliv, třeba i na pokožce hlavy mezi vlasy. To se děje zejména u dětí. (KERLES, 2015)

Po přisátí klíštěte musí uběhnout poměrně dlouhá doba, aby došlo k přenosu borelií. Bartůněk (2006) uvádí, že v prvních 24-36 hodinách k přenosu většinou nedochází. Z toho vyplývá, že čím déle klíště saje, tím je nákaza pravděpodobnější (BARTŮNĚK, 2006)

Když klíště saje, dostávají se do hostitele jeho sliny, v kterých je obsaženo anestetikum a další chemické látky, které mají za úkol zabránit krvácení. Ranku na kůži začneme cítit až déle od kousnutí. To je důvod, proč dospělé klíště může v klidu bez našeho vědomí sát až deset dní. Jestliže je klíště infikované BBSL, spirochety jsou obsaženy v jeho střevě, následně se dostávají i do jeho slin, které potom vylučuje do hostitele. (ROHÁČOVÁ, 2005)

Větší riziko nákazy pro nás představují nymfy a larvy, protože díky jejich malým rozměrům je velká šance, že si jich nevšimneme a budou tak mít dostatek času na sání. (PROKEŠ, 2015)

2.4 Epidemiologie

Lymeská borelióza je zoonóza postihující domácí i volně žijící zvířata včetně člověka. Rezervoárem jsou různé druhy drobných, ale i středních savců. Na celém světě se klíště řadí mezi druhého nejčastějšího přenašeče infekčních onemocnění člověka. V ČR je ale přenašečem prvním nejčastějším. Jedná se o různé druhy, které jsou různě geograficky rozšířeny. V ČR je to *Ixodes ricinus*, v USA *I. dammini* a *I. pacificus*, v Asii *I. persulcatus*. (KIMMING, 2003)

Lymeská borelióza je nejčastějším onemocněním, kterým se můžeme od klíštěte nakazit. LB podléhá povinnému hlášení na KHS, takže epidemiologická situace v ČR je celkem dobře známa. Klíštěti se daří dobře pouze za určitých podmínek, tak je zřejmé, že počet nakažených není po celé republice rovnoměrný, ale v některých oblastech je výskyt větší. Jedná se hlavně

o oblasti okolo vodních toků a v nižší nadmořské výšce, ale samozřejmě to není podmínkou. (BARTŮNĚK, 2006)

Onemocnění má sezónní charakter. Zvýšený výskyt můžeme pozorovat od května do listopadu, přičemž vrcholu dosahuje v letních měsících. (BARTŮNĚK, 1996)

Tabulka 1: Výskyt LB v ČR v roce 2018

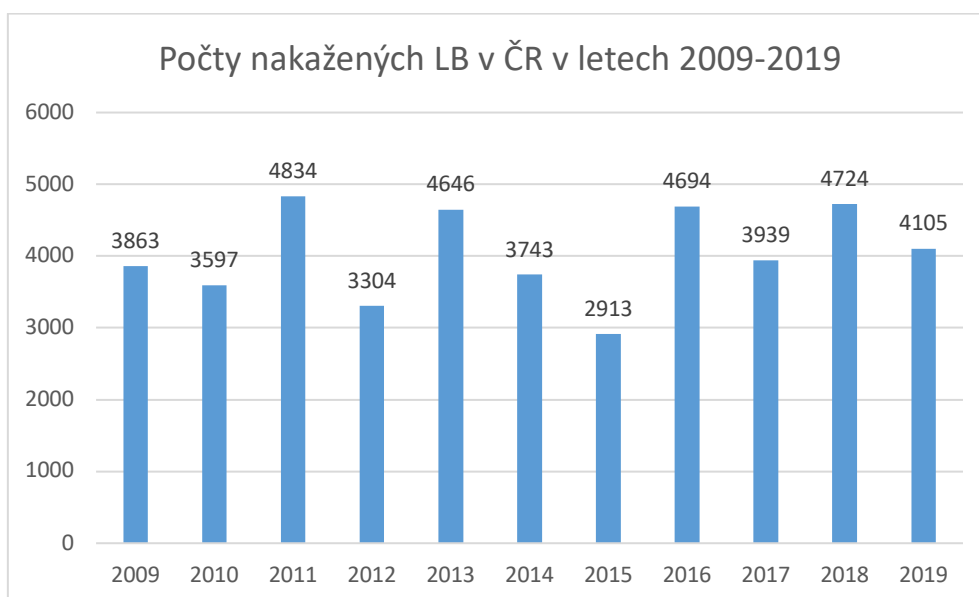
Kraj	Počet případů	Incidence/100 000
Praha	232	17,83
Středočeský kraj	427	31,37
Jihočeský kraj	473	73,80
Plzeňský kraj	222	38,10
Karlovarský kraj	61	20,66
Ústecký kraj	233	28,39
Liberecký kraj	291	65,90
Královehradecký kraj	262	47,58
Pardubický kraj	205	39,49
Kraj Vysočina	603	118,46
Jihomoravský kraj	304	25,66
Olomoucký kraj	587	92,80
Zlínský kraj	457	78,41
Moravskoslezský kraj	367	30,47

Zdroj: http://www.szu.cz/uploads/documents/CeM/Zpravy_EM/28_2019/06_cer-ven/226_CEM_6_19_vyskyt.pdf

V tabulce můžeme vidět počet výskytů LB v ČR v roce 2018. V tomto roce onemocnělo celkem 4724 osob, z toho 2152 mužů a 2572 žen. Z tabulky vyplývá, že nejvíce případů bylo na Vysočině a v Olomouckém kraji. Vrchol výskytu byl v srpnu, kdy bylo nahlášeno 943 případů. Nejpočetnější skupina nakažených byla ve věku 5-9 let, kde nemocnost na 100 000 obyvatel byla 68,88, hned za nimi je skupina obyvatel z druhé strany tabulky, a těmi jsou senioři ve věku 65-74 let. Naopak nejméně nakažených bylo samozřejmě ze skupiny novorozenců a potom mladých dospělých ve věku 20-24 let kde nemocnost na 100 000 obyvatel činila 19,88. ČR patří v Evropě mezi zemi s nejhojnějším počtem nemocných s LB. (ČÁSTKOVÁ J., 2019)

V následujícím grafu můžeme vidět srovnání nakažených LB v ČR v letech 2009-2019. Klíšťata nemají rádi velká vedra a sucha, ale podle grafu můžeme vidět, že i v roce 2018, kdy bylo největšího sucha, je dokonce druhý největší počet nakažených. Takže závislost počasí v průběhu roku nemá až tolik vypovídající charakter. (MZP)

Graf 1: Počty nakažených LB v ČR v letech 2009-2019



Zdroj: szu.cz

V následujícím obrázku můžeme vidět procentuální zastoupení nakažených klíšťat LB, která byla vyjmuta z kůže lidí a následně vyšetřena v laboratoři týmem Dr. Buryškové v letech 2006-2019. Data nelze brát jako statistická, jelikož geografické rozložení vzorků bylo náhodné, a tak má mapka pouze orientační charakter. (PROTEAN)

Podle Roháčové (2006) je průměrný počet infikovaných klíšťat LB v ČR 12 %. Jiný zdroj říká, že celorepublikově je boreliemi infikováno 10-20 % klíšťat. (DLOUHÝ P., 2011) Podle vývojového stádia, se v ČR uvádí 6 % infikovaných larev, 4-15 % nymf a 9-43 % dospělců. (BENEŠ, 2009)

Obrázek 3: Mapa procentuálního zastoupení nakažených klíšťat LB v ČR



Zdroj: <https://www.kliste.cz/cz/vse-o-klisťatech/clanek/mapy-vyskytu-infikovanych-klisťat-v-cr>

2.5 Klinický průběh onemocnění

Lymeská borelióza může mít rozmanitý klinický průběh. U některých klinických projevů je poměrně jednoduché stanovit diagnózu LB, zatímco u jiných atypických klinických projevů to zřejmě nemusí být. V tomto ohledu existují rozepře i mezi odborníky. Názory se liší v pohledu na počet typických stádií. Většina se přiklání k závěru, že dominantní jsou tři stadia LB, časné lokalizované, časné diseminované a pozdní diseminované. Celou situaci komplikuje fakt, že se jednotlivá stadia nemusí vždy projevit. (ROHÁČOVÁ, 2005)

2.5.1 Časné lokalizované stádium

Časné lokalizované stádium se projevuje od několika dní až týdnů od přisátí klíštětem. EM je typické pro první stádium, ale může se objevovat ve všech. Vzniká v místě přisátí klíštěte, jedná se o oválnou či kruhovitou skvrnu různé velikosti, může mít až několik desítek cm v průměru, minimální rozměr by ovšem měl být v průměru větší než 5 cm. Tento projev je diagnostikován přibližně u 50 % pacientů. EM není nijak bolestivý a většinou ani nesvědčí. Ke zmizení dochází spontánně nebo pomocí antibiotické léčby. EM mohou doprovázet chřipkové příznaky. (FINGERLE, 2011)

Obrázek 4: EM



Zdroj: <https://www.cdc.gov/dotw/lyme-disease/index.html>

2.5.2 Časné diseminované stádium

Časné diseminované stádium se projevuje týdny až měsíce po nákaze. Řadíme sem mnohočetné migrující erytémy (MME), boreliový lymfocytom, akutní neuroboreliózu, lymeskou artritidu a lymeskou karditidu. MME se projevuje mnohočetnými červenými skvrnami. Početně jich může být od dvou až po desítky. Vzhled mají stejný jako EM, ale jejich velikost je zpravidla menší. Boreliový lymfocytom se většinou nachází na ušním boltci, prsní bradavce, nose a skrotu. Léčí se stejně jako EM. Akutní neuroborelióza začíná 2-12 týdnů po nákaze a nejběžnější projevy jsou: aseptická meningitida a kraniální neuritidou. Při podezření se provádí lumbální punkce s následným laboratorním biochemickým a cytologickým vyšetřením. (DLOUHÝ P., 2011) Lymeská karditida je méně častým postižením při LB. Dochází zde k poruchám srdečního rytmu, myokarditidě a perikarditidě. (CHALUPA, 2006)

2.5.3 Pozdní diseminované stádium

Pozdní stádium se projeví měsíce až roky po nákaze a řadíme sem pozdní lymeskou artritidu, pozdní neuroboreliózu a Acrodermatitis chronica atrophicans. U pozdní lymeské artritidy je typické postižení kolenního kloubu, kde dochází ke zmnožení synoviální tekutiny. U pozdní neuroboreliózy může dojít k rozvoji chronické progresivní encefalomyelitidy, která se projevuje poruchami paměti, osobnosti, chování, spánku, demencí, parézami, nebo labilitou nálad. Další vyskytující se nemocí může být chronická polyradikulitida a polyneuritida, která se projevuje parézami, bolestmi či poruchou hybnosti končetin. Acrodermatitis chronica atrophicans je kožní onemocnění, které se objevuje až několik mnoho let po přísátí klíštěte. Nejčastěji se nachází na končetinách. (DLOUHÝ P., 2011)

Pozdní stádium LB rozlišujeme na tři fáze: mírná, střední a těžká. V některých výjimečných případech (nediagnostikovaná, neléčená LB) může způsobit vážné zdravotní problémy, nebo dokonce i smrt. (Lyme Disease Association of Australia, 2021)

2.6 Léčba

U velké části nemocných LB dochází k samouzdravení. Léčbu dělíme na kauzální (antibiotickou) a symptomatickou. Před zahájením terapie je potřeba onemocnění prokázat nejen klinicky, ale i laboratorně. Výjimkou, kdy není laboratorní diagnostika před zahájením léčby potřeba, jsou tyto případy: Nález EM, boreliového lymfocytomu nebo Bannwarthova syndromu. K vyšetření dochází až dodatečně po zahájení léčby. Při kauzální léčbě dochází k podávání antibiotik, nejčastěji se používá doxycyklin. Při výběru ATB se musí brát ohled na věk i hmotnost pacienta. (ROHÁČOVÁ, 2005)

Délka léčebné doby je v prvním stádiu 14 dní, ve druhém 3 týdny a v posledním třetím stádiu je to 4-6 týdnů. Dle doporučení infektologické společnosti by ale terapie neměla být delší než 3 týdny. K opakování ATB léčby dochází při recidivitě nebo relapsu. Po onemocnění dochází ještě k dalšímu sledování v průběhu 2 let po 3-6 měsících. (ROHÁČOVÁ, 2006)

3 LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA LYMESKÉ BORELI- ÓZY

U laboratorní diagnostiky LB rozlišujeme metody přímé a nepřímé. Biologický materiál, z kterého se vyšetření provádí, je například krev, mozkomíšni mok, punktát synoviální tekutiny a perikardiálního výpotku, biopsie kůže nebo srdeční tkáně. (LOBOVSKÁ, 2001)

Biochemické a hematologické vyšetření z krve a mozkomíšního moku je nespecifické. Zánětlivé parametry nejsou výrazně zvýšené. Diferenciální rozpočet je normální, v krevním obraze můžeme najít leukocytózu, ale někdy i leukopenii. Hodnota CRP je jen lehce zvýšená. (ROHÁČOVÁ, 2005)

3.1 Přímé metody

Mezi přímé metody řadíme kultivaci, mikroskopii, histologické vyšetření anebo polymerázovou řetězovou reakci (PCR). U přímých metod hledáme ve vzorku mikroba nebo jeho část. (BARTŮNĚK, 1996) Tyto metody jsou náročnější i nákladnější, používáme je zejména ve chvíli, kdy dochází k neúspěšné sérologické diagnostice. (VOTAVA, 2003)

3.1.1 Kultivace

Ke kultivaci používáme velmi obohacenou kultivační půdu se zvířecími séry. Jedná se například o tyto půdy: BSK II, BSK-H a Sigma. Význam výběru kultivační půdy je důležitý, neboť byly prokázány rozdílné výsledky u pacientů se stejnou fází LB na různých půdách. Při odběru vzorku na kultivační vyšetření je třeba dbát na přísné sterilní podmínky. Vhodný je likvor, biopsie z kůže, kde je záchyt borelií úspěšnější než například z krve, kde úspěšnost záchytu není vysoká. Kultivace se používá hlavně v pozdní či chronické fázi LB. Obecně se kultivace borelií z patientských materiálů rutinně neprovádí, protože je velmi náročná a má celou řadu možných úskalí. (ROHÁČOVÁ, 2005)

3.1.2 Histologické vyšetření

Histologický průkaz borelií se používá pouze zřídka. Bloky zalité do parafinu a následně ukrojené na mikrotomu se barví giemsou a toluidinovou modří nebo stříbřením. (ROHÁČOVÁ, 2005)

3.1.3 Elektronová mikroskopie

Pomocí elektronové mikroskopie je možné nejen zjišťovat přítomnost borelií v materiálu, ale i studovat morfologii borelií (rozměry, počet bičíků, cystické formy, stavba buněčné membrány). Pro lepší výsledek se používá imunisorbentní elektronová mikroskopie,

kteřá je založena na reakci antigenu (borelie) se specifickou protilátkou. (ROHÁČOVÁ, 2005) Díky této metodě lze infekci prokázat i u pacientů, kteří mají sérologické vyšetření negativní. Jako materiál mohou být využity ultrařezy, nebo buněčný sediment, získaný centrifugací. (BARTŮNĚK, 1996)

3.1.4 Metoda PCR

PCR je nejpoužívanější přímá metoda, hlavně pro její vysokou citlivost. Princip spočívá v cyklickém zmnožování cílové DNA. „Nejprve dochází k postupnému zmnožování DNA pomocí štěpení dvouřetězce, poté dochází k navázání oligopeptidů na známé krajové sekvence od sebe oddělených řetězců a syntetizuje se vlákno pomocí volně přítomných oligonukleotidů a opět se štěpí vzniklé dvouřetězce“. (ROHÁČOVÁ, 2005) Díky tomuto procesu získáme velké množství kopií, které jsou už vhodné pro gelovou elektroforézu. Vhodný biologický materiál pro tuhle metodu je: mozkomíšní mok, synoviální tekutina, moč, plovodivá voda a kožní léze. Krev lze také použít, ale její záchyt není moc úspěšný, neboť borelie dokáže rychle pronikat do tkání. Lze využít také metodu PCR-RT, která umožňuje kvantitativní analýzu. (ROHÁČOVÁ, 2005)

3.2 Metody nepřímé

Při nepřímé metodě neprokazujeme přímo původce onemocnění, jako tomu bylo u metody přímé, ale pouze přítomnost specifických protilátek. Jedná se o sérologické metody. Mezi nepřímé metody se řadí ELISA, Westernblot a imunofluorescenční metody. Tyto metody se v praxi používají více než metody přímé, neboť mají vyšší citlivost a jsou také většinou méně náročné jak pracovně, tak i finančně. (KIMMING, 2003)

I když jsou nepřímé metody nejčastěji využívány, také mají svoje omezení, s kterými se musí počítat. Protilátky se v ČR dají prokázat u 5-10 % zdravých lidí, v některých oblastech je to i více. K průkazu protilátek dochází až za 3-6 týdnů po nákaze. Lze je ovšem prokázat i několik let po nákaze, což ale neukazuje na probíhající onemocnění nebo neúspěšnou léčbu. Titr protilátek nemá význam provádět, neodpovídá vážnosti ani délce onemocnění. Další problém je, že dochází ke zkřížené reaktivitě borelií a jiných bakterií. Z toho vyplývá, že pouhá přítomnost protilátek nestačí k diagnostice LB, je potřeba přítomnost i specifických klinických projevů. Samozřejmě musíme počítat s možným výskytem falešně pozitivních a falešně negativních výsledků. (DLOUHÝ P., 2011)

3.2.1 ELISA

ELISA je nejpoužívanější sérologická imunologická metoda, slouží k průkazů IgG a IgM protilátek (v tomto případě specifických antiboreliových protilátek). ELISA je heterogenní – enzymová imunoanalýza na pevné fázi, rozlišujeme kompetitivní a nekompetitivní. Její princip je založen na specifické reakci antigenu a protilátky, ke značení protilátky se používá enzym, který katalyzuje přeměnu nebarevného substrátu v barevný produkt, intenzita zabarvení se měří spektrofotometricky, nebo lze hodnotit i vizuálně. Jako nosič antigenu se nejčastěji používá mikrotitrační destička. ELISA testy mají vysokou citlivost, a proto je možné prokázat protilátky i o nízké koncentraci. (LITZMAN, 2007)

Senzitivita ELISA metody je poměrně dobrá, ale i tak může docházet k falešně pozitivním i falešně negativním výsledkům. Na vině falešné positivity může být již zmíněná zkřížená reakce s jinými spirochetami, kterými mohou být leptospiry nebo treponemy. Těhotné ženy mohou být rovněž falešně pozitivní. K falešné negativitě může docházet při počátku infekce, kdy hladina protilátek nemusí být detekována, nebo se naopak ještě ani nevytvořily, proto je vhodné, aby k testování touto metodou docházelo až po dvou týdnech od začátku infekce. Tvorba imunokomplexů antigen-protilátka je také další možnou příčinou falešné negativity. Pozitivní výsledek je potřeba potvrdit jinou, více specifickou metodou, neboť se stále jedná o screeningovou metodu. ELISA je poměrně jednoduchá a rychlá metoda, co se provedení týče. K vyšetření se používá krev, mozkomíšní mok nebo synoviální tekutina. Vzhledem k výše zmíněným možným problémům je nutné, aby výsledek vždy interpretoval odborník. (ROHÁČOVÁ, 2005)

3.2.2 Western blot

Western blot (WB) je nejvhodnější sérologická metoda k testování LB. V případě positivity u ELISA dochází k ověření správnosti výsledku, právě pomocí WB. Princip této metody je podobný jako u ELISA, na technické provedení je ovšem náročnější WB. Při metodě dochází k úzce specifické protilátkové odpovědi, detekují se jednotlivé antigeny borelií, díky reakci s příslušnou protilátkou. WB je velmi citlivá metoda, při které je možné zachycení i velmi malého množství specifické protilátky ve vzorku. (BARTŮŇEK, 1996)

3.2.3 Nepřímá imunofluorescence

Tato metoda byla používána hlavně v začátcích, po objevení nemoci. V dnešní době už se používá zcela ojediněle, neboť její specifita i senzitivita je nižší než ostatní běžně používané metody. Velká nevýhoda je v nemožnosti automatizace a subjektivnímu hodnocení. Princip metody spočívá v reakci IgG a IgM protilátek s antigenem, který je nanesen na

sklíčko. Jako antigen se používají borelie nebo buňky infikované boreliemi. (BARTŮNĚK, 1996)

3.3 Vyšetření samotných klíšťat

Další možností, jak získat informaci o možné nákaze LB, je vyšetřit přímo klíště, které na člověku sálo. Klíště, které chceme takto vyšetřit, se usmrtí těsně před vyšetřením, nesmí být mrtvé déle. Je to z toho důvodu, že v mikroskopu pozorujeme živé spirochety, kterých si všimneme právě díky jejich pohybu. Jinak je velmi obtížné spirochétu zpozorovat. K vyšetření se používá mikroskopie v zástinu neboli temném poli.

Mikroskopie v temném poli, anglicky darkfield microscopy (DFM), je založena na tom, že „ze světelného kužele vycházejícího z kondenzoru vstupují do roviny objektu pouze okrajové, velmi šikmé paprsky (nikoli centrální paprsky).“ (HEJTMÁNEK, 1991) Tím dochází k tomu, že objekt je nasvícen pouze ze strany, paprsky se od něj odrážejí, lámou a ohýbají se. To má za výsledek záření objektu v temném poli, jelikož do objektivu vstupují pouze ty paprsky odražené objektivem. Na podložním sklíčku je fyziologický roztok, s vyškrábnutým obsahem zadečku klíštěte. (HEJTMÁNEK, 1991)

4 PREVENCE LYMESKÉ BORELIÓZY

S klíšťaty je třeba v přírodě počítat, proto je prevence při ochraně před klíšťaty velmi důležitá, neboť chceme, aby se riziko infekce snížilo na minimum. Důležité je vědět, kde se klíšťata vyskytují, v jakých měsících a jak jejich výskyt ovlivňuje počasí, abychom věděli, kdy si musíme dávat větší pozor na nežádaného parazita. (KERLES, 2015)

4.1 Předpověď aktivity klíšťat

Vhodným ukazatelem možného nebezpečí klíšťat je předpověď aktivity klíštěte obecného na území ČR. Předpověď vydává Český hydrometeorologický ústav ve spolupráci se Státním zdravotním ústavem. K vydávání předpovědi dochází vždy v pondělí a ve čtvrtek. Ve čtvrtek se jedná o upřesnění na pátek a víkend, kdy lidé vyhledávají výlety do přírody nejčastěji. Předpověď funguje většinou od dubna do října, záleží na aktuálním počasí. V ostatních měsících v průběhu roku je riziko minimální (ovšem ne nemožné), jestliže je sníh nebo mráz, je šance nulová. Termín „aktivita klíšťat“ můžeme popsat jako „podíl klíšťat, která jsou připravena k napadení hostitele, na celkové populaci klíštěte v dané lokalitě.“ (Český hydrometeorologický ústav, 2020) Stupeň aktivity se udává čísly od 1 do 10, kdy čím větší je číslo, tím větší je riziko napadení klíštětem. (Český hydrometeorologický ústav, 2020)

Obrázek 5: Stupeň aktivity klíšťat V ČR

Den v týdnu	pátek	sobota	neděle	pondělí
Datum	6.11.2020	7.11.2020	8.11.2020	9.11.2020
Stupeň aktivity	2	2	2	2

Stupně aktivity

- Stupeň **1 a 2** = malé riziko
 - Doporučení: Pro návštěvu listnatých a smíšených porostů a křovin s bylinnou vegetací zvolit oblečení z hladké světlé látky a občas prohlédnout, zejména kalhoty, a případně odstranit přichycená klíšťata (totéž i v dalších stupních rizika). Večer a ráno prohlídka těla, případně odstranění klíšťat.
- Stupeň **3 a 4** = mírné riziko
 - Doporučení: Použití repelentu, nesadat a nelehat v porostech. Večer a ráno prohlídka těla, případně odstranění klíšťat.
- Stupeň **5 a 6** = středně velké riziko
 - Doporučení: Použití repelentu, nesadat a nelehat v porostech, nevstupovat do křovin. Večer a ráno prohlídka těla, případně odstranění klíšťat.
- Stupeň **7 a 8** = velké riziko
 - Doporučení: Použití repelentu, nesadat a nelehat v porostech, nevstupovat do křovin a bylinné vegetace, zejména na okraji lesa, na okraji vodních toků a listnatého mláží. Večer a ráno prohlídka těla, případně odstranění klíšťat.
- Stupeň **9 a 10** = nejvyšší riziko
 - Doporučení: Použití repelentu. Nevstupovat volně do listnatých a smíšených lesů, pohyb pouze po zpevněných cestách. Večer a ráno prohlídka těla, případně odstranění klíšťat.

Zdroj: <https://www.chmi.cz/predpovedi/predpovedi-pocasi/ceska-republika/predpoved-aktivity-klisat>

4.2 Očkování

V ČR je možné nechat se očkovat proti klíšťové encefalitidě, ale proti LB nikoliv. Vakcína proti LB existovala například v USA, kde se poprvé objevila v roce 1998 a v roce 2002 se přestala vyrábět. Oficiálně kvůli nedostatečné poptávce, ale mluví se i o negativních účincích. Tato vakcína obsahuje očkovací protilátku proti *Borrelia burgdorferi*, což je pro USA dostačující, jelikož se tam jiný druh borelií nevyskytuje, ovšem v Evropě se vyskytuje hned několik druhů a *Borrelia burgdorferi* tvoří pouze 10 % boreliové fauny, takže tato vakcína by v Evropě měla nízkou účinnost. (KIMMING, 2003)

V současné době v ČR probíhají výzkumy pro vývoj vhodné vakcíny. Americká farmaceutická firma Sanofia vyvíjí očkovací látku, která vychází z původní USA vakcíny, o které jsem se zmínila výše. Došlo k vylepšení struktury a k vytvoření jádra molekuly, na kterém jsou navázané různé povrchové proteiny OspA. Velká výhoda této vakcíny je v tom, že funguje na všechny druhy borelií, na rozdíl od své předchůdkyně. Tato americká společnost pro testování vybrala vědce z Parazitologického ústavu Biologického centra akademie věd ČR. Klíště, které bylo pro testy použito, je *Ixodes ricinus*. Testování probíhalo zatím pouze na myších, u kterých byla prokázána stoprocentní účinnost. Ke klinickému testování zatím nedošlo, záleží na ochotě k financování ze strany farmaceutických firem. (ŘÍMANOVÁ, 2020)

4.3 Prevence proti přisátí klíštěte

Bezesporu nejúčinnější prevencí před LB je předcházet přisátí klíštěte. Tomu můžeme pomoci vhodným chováním v přírodě, které zahrnuje vhodné oblečení, ochranu pomocí repelentů, způsob, jak se člověk v přírodě pohybuje, ale také následnou kontrolu těla po návratu domů.

Důležité je vhodně zvolené oblečení, zejména pak kalhoty, které by měly být z hladké a světlé látky. Naopak tmavé oblečení s vlasem a texturou je velice nevhodné, neboť klíště na takovémto oděvu splyne a nevšimneme si ho. Vhodné je přiléhavé oblečení, dlouhé rukávy a nohavice, které se dají zastrčit do ponožek a jako boty gumové holínky. (DANIEL, 2017)

Při pobytu v přírodě nesmíme zapomínat na použití repelentů. Existují repelenty na kůži, na oblečení i kombinace obou. K nanesení na oblečení je vhodný Permetrin, který nastříkáme na nohavice kalhot přibližně do výšky jednoho metru. Repelent přímo na kůži je méně účinný. Nejlepší je použít kombinaci obou možností. (KIMMING, 2003)

V lokalitách, kde lze očekávat přítomnost klíšťat, je vhodné se vyvarovat různým činnostem. Není vhodné si sedat nebo lehat na zem, a to ani v případě použití nějaké deky nebo podložky. Další doporučení se týká pohybu po cestách (hlavně těch zpevněných), vstup do vyšší trávy, křoví či bylinné vegetace není ideální. (DANIEL, 2017)

Neméně důležitou činností je prohlídka celého těla po návratu domů z přírody. Nejdříve by mělo dojít ke kontrole oblečení, až poté je doporučeno oděv sundat a přejít ke kontrole pokožky. Vhodná je kontrola osob navzájem, hlavně u dětí je důležité prohlédnutí od dospělé osoby. Klíšťata se často schovávají na špatně přístupných místech, jako jsou třísla, podpaží, podkolenní jamka, intimní partie, pod prsy nebo prostor za ušima. Při prohlídce by se neměla opomenout ani pokožka hlavy. (KIMMING, 2003)

4.4 Odstranění klíštěte

U přisátého klíštěte je velice důležitý způsob jeho odstranění. I taková věc dokáže zabránit možné infekci. Nejdůležitější je odstranit klíště včas. Jak už jsem se zmínila výš, riziko přenosu infekce se s delší dobou přisátí značně zvyšuje. Čas tedy opravdu hraje roli. Než začneme klíště odstraňovat, je třeba použít dezinfekční prostředek, kterým místo přisátí vydezinfikujeme. Potom si navlhčíme nějakou textilii (například žínku) a tou pohybujeme ze strany na stranu, aby se klíště uvolnilo. Po 2-3 minutách by mělo být uvolněné, můžeme opatrně použít i měkkou pinzetu. V posledních letech se k odstranění osvědčují i umělohmotné karty, na kterých jsou zářezy podle vývojového stadia klíštěte (velikosti). Klíště se při odstraňování nesmí rozmáčknout ani jinak rozdrtit, mohlo by dojít k přenosu infekce. S klíštětem by se nemělo točit, v kůži by mohla zůstat přední část jeho těla, která by mohla způsobit další problémy (ztvrdlina, zánět). Při likvidaci odstraněného klíštěte by se mělo postupovat opatrně, jako kdyby bylo infekční. Vhodné je zabalit klíště do kousku novin a zapálit ho. Po jeho odstranění ránu opět vydezinfikujeme. V následujících dnech sledujeme, jestli se zarudlá skvrna v místě přichycení nezvětšuje a mizí. K vymizení dochází většinou do 2 až 3 dnů. (DANIEL, 2017)

Jestliže se nepodařilo klíště odstranit, je třeba vyhledat lékařskou pomoc.

4.5 Prostředí klíšťat

Výskyt klíšťat je ovlivněn několika faktory, jako nejvýznamnější se jeví teplota a vlhkost vzduchu. Klíšťata potřebují vlhkost vzduchu až 70 %. Proto se vyskytují zejména v lesech s nižším porostem, na okrajích lesů, v místech s kapradím a v křovinatých

oblastech. Dalším místem výskytu je také okolí řek, díky vysoké vlhkosti vzduchu. Informace, že se klíš'ata nevyskytují ve vyšších nadmořských výškách, je lživá. Vyskytují se i tam (konkrétně až do výšky dva tisíce metrů nad mořem), ale ovšem v nižší míře, jelikož ve vyšší nadmořské výšce je větší sucho. Různá vývojová stádia klíš'at se vyskytují v různých výškách od země. Larvy se drží nejbliže u země, přibližně tak do výšky deseti centimetrů. Důvod je prostý, potřebují nejvíce vlhkosti. Nymfy jsou o něco výše než larvy, vylézají na rostliny ve výšce deseti až padesáti centimetrů. Dospělci se vyskytují ze všech tří stádií nejvýše, vylézají až do výšky sto centimetrů. Klíš'ata se na stromech nevyskytují a neseskakují z nich na hostitele. Tato informace není pravdivá, a však je mezi veřejností hojně rozšířená. Jak už jsem zmínila výše, každé ze tří vývojových stádií parazituje na jiných hostitelích (larvy na drobné zvěři, dospělci na velké zvěři). Tento fakt má souvislost právě s výškou, kde se vyskytují. (KIMMING, 2003)

PRAKTICKÁ ČÁST

5 CÍL A ÚKOLY PRÁCE

5.1 Hlavní cíl

Hlavním cílem bylo seznámit se s metodikou vyšetřování klíšťat na přítomnost původců lymeské boreliózy.

5.2 Dílčí cíle

1. Shromáždit a zpracovat informace o daném tématu
2. Zvládnutí metodiky laboratorního vyšetření klíšťat
3. Upozornit na riziko lymeské boreliózy
4. Přinést aktuální informace o promořenosti klíšťat v některých lokalitách v okolí Plzně.

6 VÝZKUMNÉ PROBLÉMY/OTÁZKY

Vyskytují se původci lymeské boreliózy ve vyšetřovaných lokalitách?

V případě že ano, jaká je promořenost klíšťat v těchto lokalitách?

7 CHARAKTERISTIKA SLEDOVANÉHO SOUBORU

K vlajkování klíšťat byly náhodně vybrány čtyři lokality, na které mám vazby. Lokality: Pod Sylvánem, okolí řeky Radbuzy, okolí zříceniny hradu Radyně, okolí Velkého boleveckého rybníku. Ve vyšetřovaných lokalitách jsem se pravidelně vyskytovala i ve svém volném čase, proto mě výskyt nakažených klíšťat zajímal. Z těchto míst bylo navlajkováno sto pět klíšťat různých vývojových stádií – samice, nymfy.

8 METODIKA PRÁCE

8.1 Vlajkování klíšťat

Vlajkování klíšťat je metoda, pomocí které dochází k odchytu klíšťat z přírody pomocí „vlajky“.

8.1.1 Pomůcky

Na sběr klíšťat touto metodou byly použity následující pomůcky. Vlajka byla vytvořena z dlouhé tyče a na ni byla připevněna látka o rozměru 100 x 100 cm z bílého flanelu. Byla to ideální látka na sběr klíšťat, protože měla středně dlouhý vlas, na který se klíšťata dobře přichytila. Další použitou věcí byla úzká pinzeta na manipulaci s klíšťaty. A poslední věcí byly zkumavky s gumovým víčkem (viz obrázek č. 6), kde byla klíšťata uchovávána. S těmito třemi věcmi se vždy vyráželo do přírody, samozřejmě bylo také vhodné oblečení.

Obrázek 6: Zkumavky s nachytanými klíšťaty



Zdroj: vlastní

8.1.2 Princip metody

Vlajkování klíšťat je jednoduchá a finančně nenáročná metoda. Jedná se o nejstarší a nejpoužívanější metodu sběru klíšťat. (KIMMING, 2003) Princip spočívá v tom, že pomocí vlajky, kterou se smýká v trávě, dochází k napodobení srsti zvířat. Místo hostitele se klíště přichytí na onu vlajku.

8.1.3 Postup

Postup metody je velmi jednoduchý. Připravenou vlnkou bylo smýkáno po vegetaci. Každou půl minutu až minutu bylo kontrolováno, jestli se nějaké klíště přichytilo. Přichycená klíšťata byla pomocí pinzety opatrně přendána do zkumavky a zavřena gumovou zátkou. Ve zkumavce bylo připraveno pár stébel trávy kvůli vlhkosti. Klíšťata pro svoje přežití potřebují vlhkost, a právě pomocí trávy byla udržována, aby nedocházelo k úmrtí vlivem sucha. Lze použít i navlhčená vata. Po ukončení sběru byly zkumavky popsány datem a místem sběru. Zkumavky s klíšťaty byly uchovávány v lednici při přibližné teplotě 4 °C. Tráva ve zkumavkách byla pravidelně měněna, přibližně každý třetí až čtvrtý den. Vyšetřování nachytných klíšťat bylo prováděno nejčastěji do týdne od sběru, ale někdy až za 14 dní.

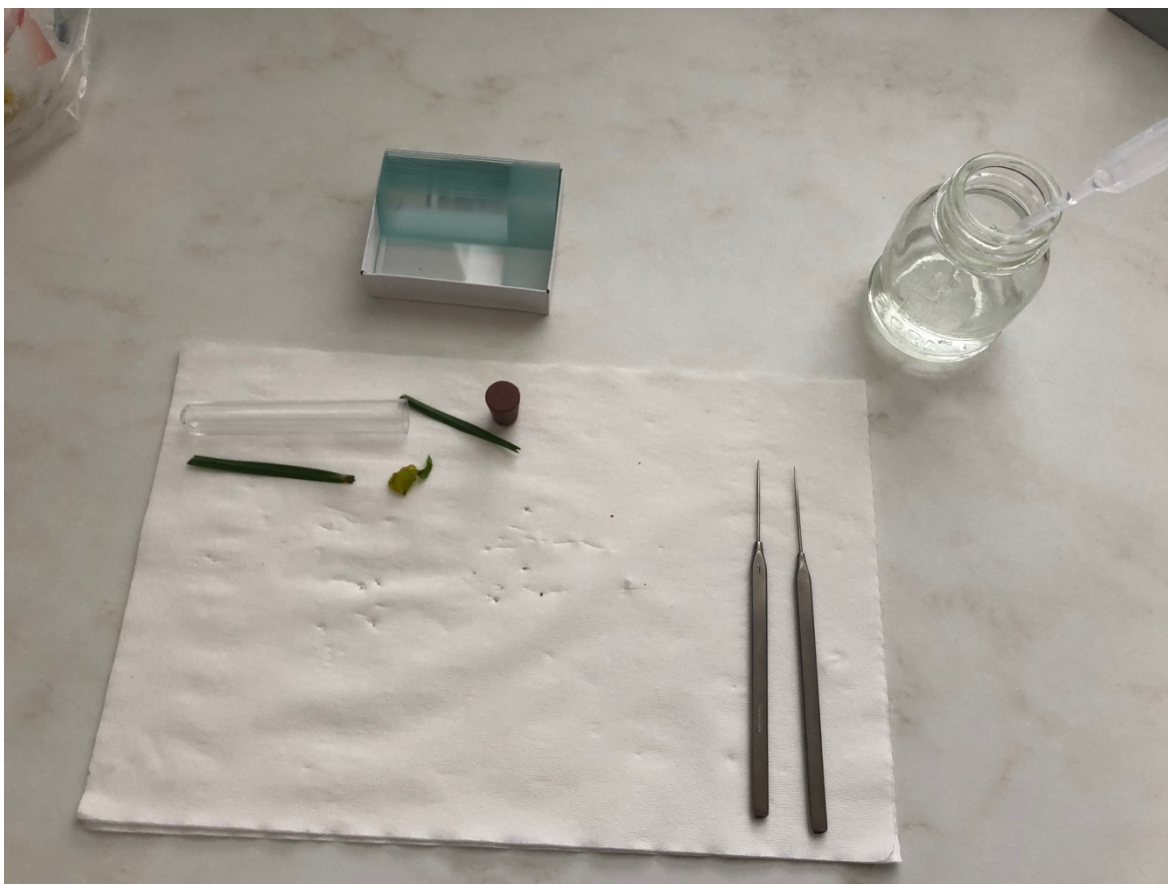
8.2 Laboratorní vyšetření klíšťat

Klíště, které bylo vyšetřované, muselo být těsně před vlastním vyšetřením ještě živé, aby byla živá i případně přítomná borelie. Princip vyšetření spočíval v tom, že v mikroskopu byla hledána spirochéta, která byla poznána právě díky svému typickému pohybu. Podrobnému principu vyšetření byla věnována kapitola 3.3.

8.2.1 Pomůcky

K laboratornímu vyšetření bylo potřeba následujících pomůcek. K přípravě klíštěte před vyšetřením byla používána buničina, dvě preparační jehly, podložní sklíčka a fyziologický roztok (viz obrázek č.7). K vlastnímu vyšetření v mikroskopu byl používán optický mikroskop s kondenzorem pro mikroskopii v temném poli a imerzní olej.

Obrázek 7: Pomůcky



Zdroj: vlastní

8.2.2 Postup

Bylo připraveno podložní sklíčko, na které se nakapala jedna až dvě kapky fyziologického roztoku. Pomocí preparační jehly bylo klíště vyndáno ze zkumavky a položeno na buničinu. Následně byly použity obě preparační jehly a vyškrabal se s nimi obsah těla klíštěte do fyziologického roztoku na sklíčku. Takto připravené sklíčko bylo možné mikroskopovat. Nejdříve byl použit imerzní olej, až potom se sklíčko položilo na stolek, bylo vybráno odpovídající zvětšení a začalo se mikroskopovat. Preparát byl pozorován nejdříve na okrajích, kde byla největší šance něco zachytit, když k nalezení borelie nedošlo, následně bylo hledáno i ve středu preparátu. Tento postup byl aplikován u všech klíšťat. Výsledky byly pečlivě zapisovány, vždy s uvedením data a vývojového stádia.

8.3 Vyšetřované lokality

Sběr probíhal ve čtyřech lokalitách v Plzni a jejím blízkém okolí. Každá lokalita byla vybrána záměrně z nějakého důvodu.

8.3.1 Pod Sylvánem

Tato lokalita se nachází na Vinicích, nazývá se „Pod Sylvánem“, můžeme mluvit i o okolí „Čertovo kazatelny“ nebo „U Zámečku“ (viz. obrázek č.8). Tato lokalita byla vybrána z důvodu častých procházek s přáteli. Toto místo také často vyhledávají rodiny s dětmi.

Jedná se lokalitu se smíšeným lesem. Prostředí je pro klíšťata vhodné, mají zde dostatečnou vlhkost, mohou se zde schovávat před vysokými teplotami.

Obrázek 8: Lokalita – Pod Sylvánem



Zdroj: <https://www.google.cz/maps/@49.7202102,13.3888077,632m/data=!3m1!1e3!5m1!1e3>

8.3.2 Okolí řeky Radbuzy

Další lokalitou bylo okolí řeky Radbuzy (dále jen Radbuza), nedaleko Škoda Sport parku, u soutoku s Úhlavou (viz. obrázek č. 9).

Nalezneme zde luční porost, nízké traviny do jednoho metru, ale i stromy a keře. Prostředí je pro klíšťata vhodné, mají zde dostatečnou vlhkost díky přilehlé řece. Ovšem v letních měsících zde může být problém s větším suchem, jelikož zde není mnoho místa, kde by klíšťata byla ve stínu a mohla se schovat před vysokými teplotami.

Obrázek 9: Lokalita – okolí řeky Radbuzy



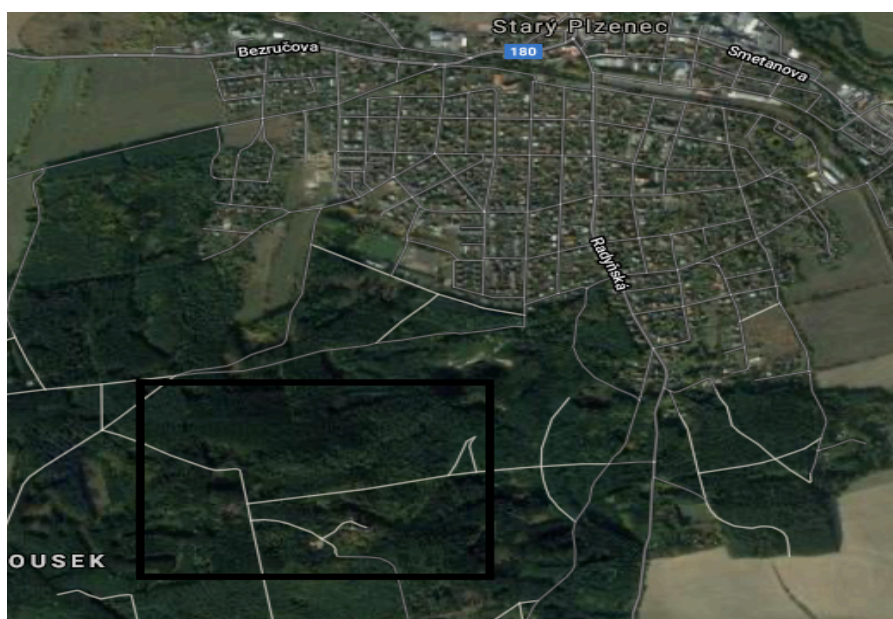
Zdroj: <https://www.google.cz/maps/@49.7202102,13.3888077,632m/data=!3m1!1e3!5m1!1e3>

8.3.3 Okolí zříceniny hradu Radyně

Třetí lokalita bylo okolí hradu Radyně (dále jen Radyně), nedaleko Starého Plzně (viz. obrázek č. 10). Jedná se o častý výletní cíl Plzeňanů, místo hojně navštěvují i rodiny s dětmi.

Jedná se o lokalitu se smíšeným lesem s převahou jehličnatých stromů.

Obrázek 10: Lokalita – Radyně

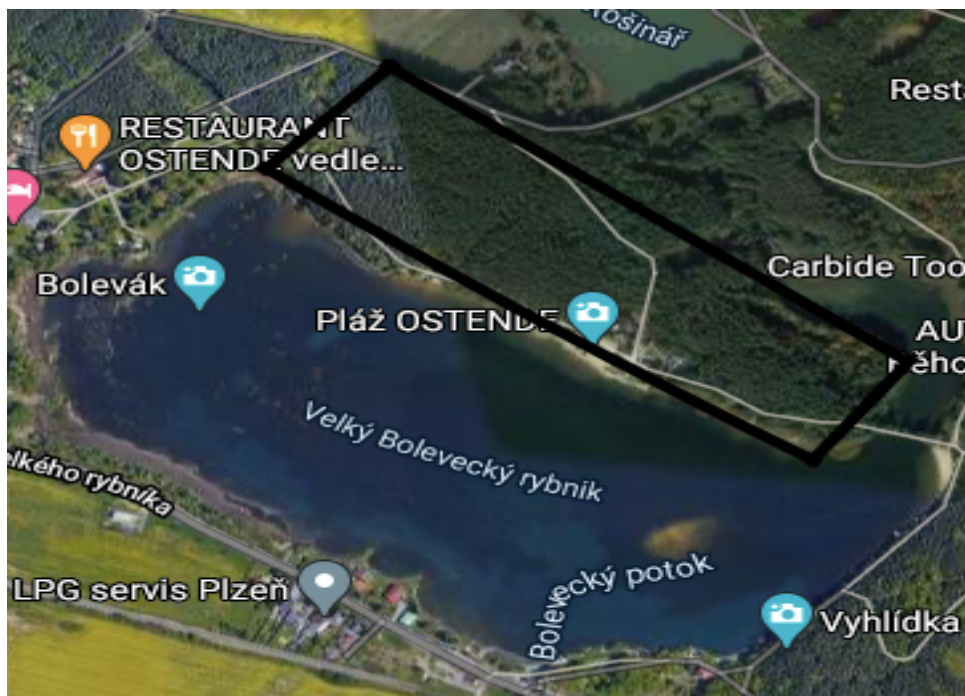


Zdroj: <https://www.google.cz/maps/@49.7202102,13.3888077,632m/data=!3m1!1e3!5m1!1e3>

8.3.4 Okolí Velkého Boleveckého rybníku

Jako poslední lokalita bylo vybráno okolí Velkého Boleveckého Rybníku (dále jen Bolevecký rybník) viz obrázek č. 11. Jedná se o místo, které je velmi často navštěvováno všemi věkovými skupinami, zejména v letním období.

Obrázek 11: Lokalita – Bolevecký rybník



Zdroj: <https://www.google.cz/maps/@49.7202102,13.3888077,632m/data=!3m1!1e3!5m1!1e3>

8.4 Období sběru

Kvůli epidemiologické situaci v ČR byla praktická část práce zpracovávána až od června 2020, i když původně byl v plánu již začátek sezony klíšťat, tedy květen 2020. První sběr byl proveden na začátku června. Další sběry probíhaly v průběhu následujících měsíců, konkrétně během června, července, srpna a poslední v měsíci září. Sběr probíhal přibližně ve stejnou denní dobu, a to v intervalu od 16. do 19. hodin, přibližně hodinu až hodinu a půl. Čas sběru závisel na aktuálním počasí. Jestliže byly vysoké teploty (zejména v srpnu), docházelo k vlajkování zejména v pozdějších hodinách, kdy už nebyly tak vysoké teploty a klíšťata už nebyla schovaná.

9 ANALÝZA A INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

9.1 Výsledky vlajkování klíšťat

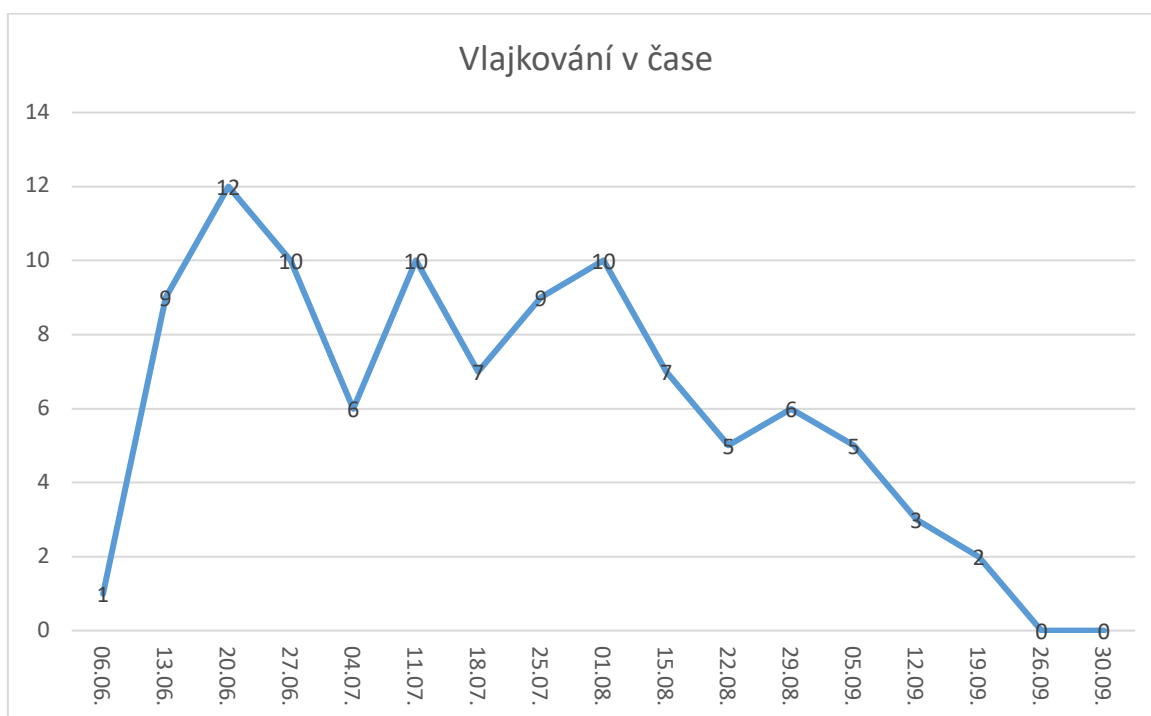
V následující tabulce jsou zpracována data z vlajkování klíšťat v přírodě, v závislosti na datu sběru a na vývojovém stádiu.

Tabulka 2: Počet navlajkových klíšťat celkem

Datum	Klíšťat celkem	Nymfy	Samice
06. 06.	1	0	1
13. 06.	9	4	5
20. 06.	12	8	4
27. 06.	10	8	2
04. 07.	6	5	1
11. 07.	10	7	3
18. 07.	7	6	1
25. 07.	9	7	2
01. 08.	10	6	4
15. 08.	7	6	1
22. 08.	5	5	0
29. 08.	9	7	2
05. 09.	5	4	1
12. 09.	3	3	0
19. 09.	2	2	0
26. 09.	0	0	0
30. 09.	0	0	0
Celkem:	105	78	27

Zdroj: vlastní

Graf 2: Vlajkování klíšťat v čase



Zdroj: vlastní

První vlajkování proběhlo 6. 6. 2020. Jak je z tabulky a grafu zřejmé, tento první pokus nebyl moc úspěšný, protože bylo nalezeno pouze jedno klíště, konkrétně samice. Důvodem neúspěšnosti byla špatně zvládnutá metodika vlajkování. Látka, z které jsem měla na tento první sběr vyrobenou vlajku, nebyla vhodná. Na další pokusy jsem připravila vlajku jinou, z vhodnější látky (flanel). Další sběry už probíhaly úspěšněji. Nejvíce nachytných klíšťat bylo 20. 6. Naopak nejméně klíšťat bylo nachytáno v září, polední dva týdny měsíce se mi nepodařilo navlajkovat už žádné klíště.

V následující tabulce jsou počty navlajkovaných klíšťat v jednotlivých lokalitách. Nejvíce klíšťat se podařilo zachytit v lokalitě Sylván, nejméně naopak v lokalitě Radyně.

Tabulka 3: Navlajkovaná klíšťata podle lokalit

Lokalita	Klíšťata celkem	Nymfy	Samice
Sylván	35	22	13
Radbuza	23	18	5
Radyně	26	19	7
Bolevecký rybník	21	19	2

Zdroj: vlastní

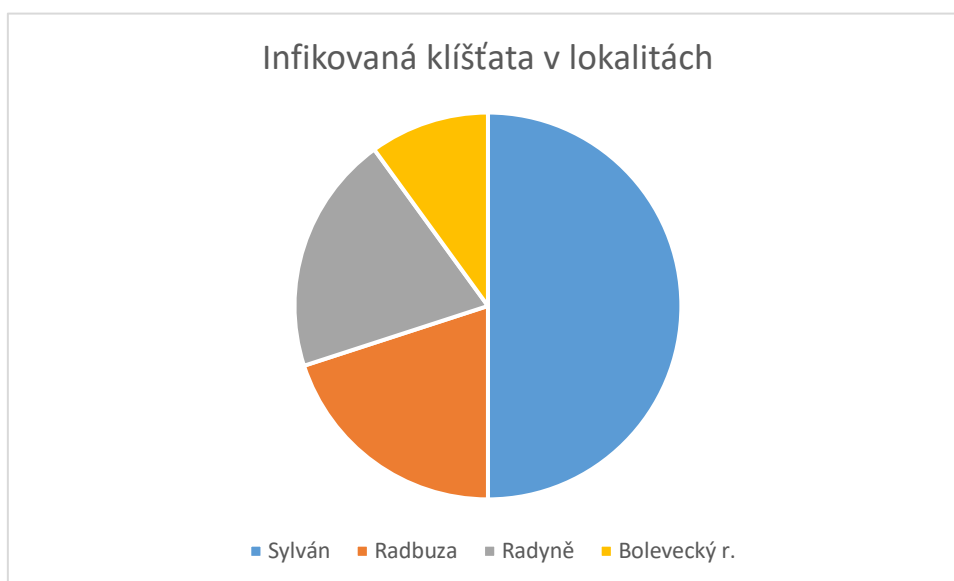
9.2 Výsledky positivity klíšťat v jednotlivých lokalitách

Tabulka 4: Pozitivita klíšťat v lokalitách

Lokalita	Klíšťat celkem	Pozitivita celkem	Pozitivita nymfy	Pozitivita samice	Pozitivita celkem v %
Sylván	35	5	3	2	14,29 %
Radbuza	23	2	1	1	8,70 %
Radyně	26	2	2	0	7,69 %
Bolevecký r.	21	1	1	0	4,76 %

Zdroj: vlastní

Graf 3: Infikovaná klíšťata v jednotlivých lokalitách

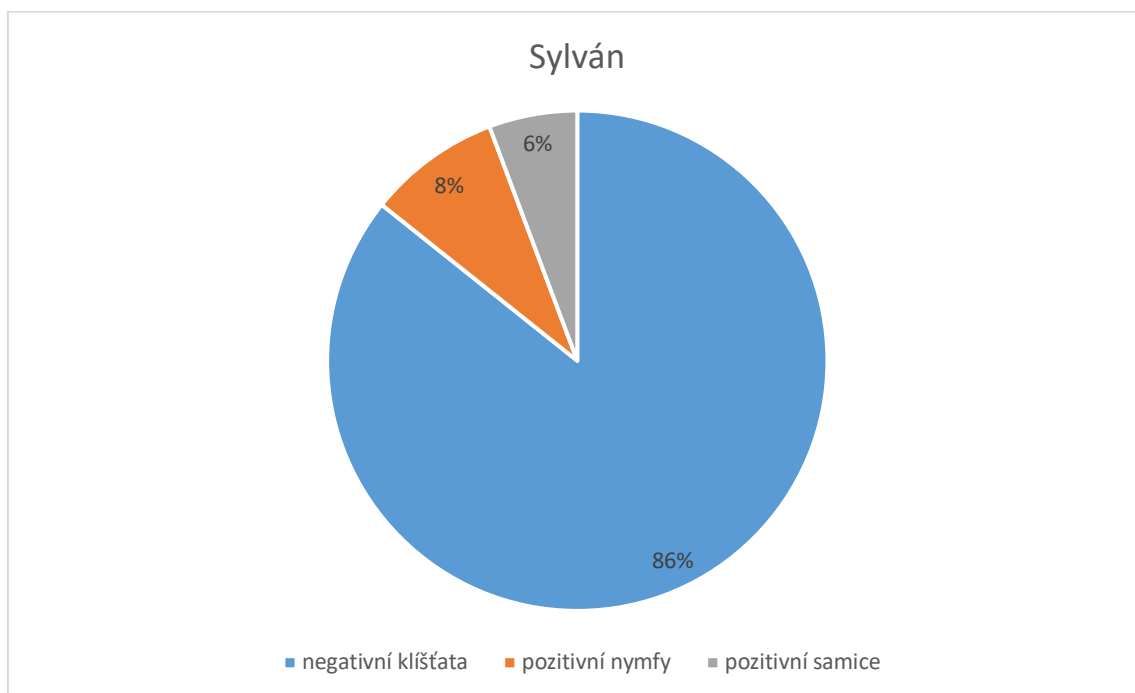


Zdroj: vlastní

Z předchozí tabulky a grafu je vidět, že nejvíce pozitivních klíšťat bylo v lokalitě „Pod Sylvánem“, a to nejen v počtu na kusy pozitivních klíšťat, ale i v procentech. Nejméně infikovaných klíšťat bylo v okolí Boleveckého rybníku, kde byla nalezena pouze jedna pozitivní nymfa.

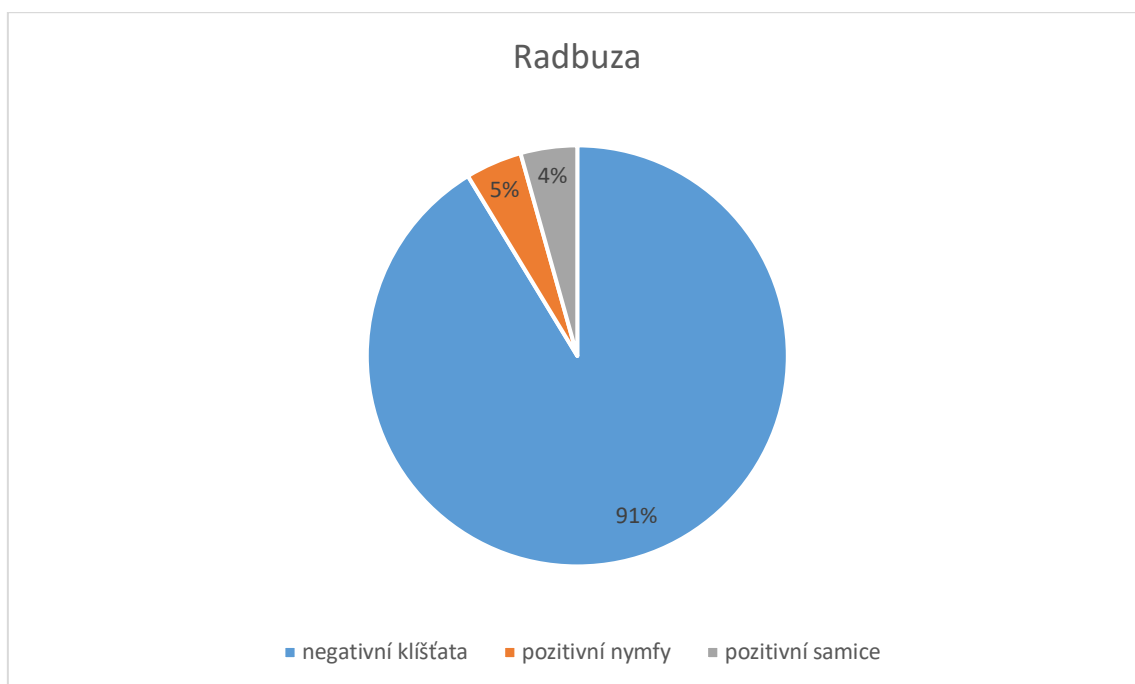
V následujících grafech je znázorněný počet negativních a pozitivních klíšťat rozdělených podle vývojového stádia. Každá lokalita jednotlivě.

Graf 4: Lokalita Sylván



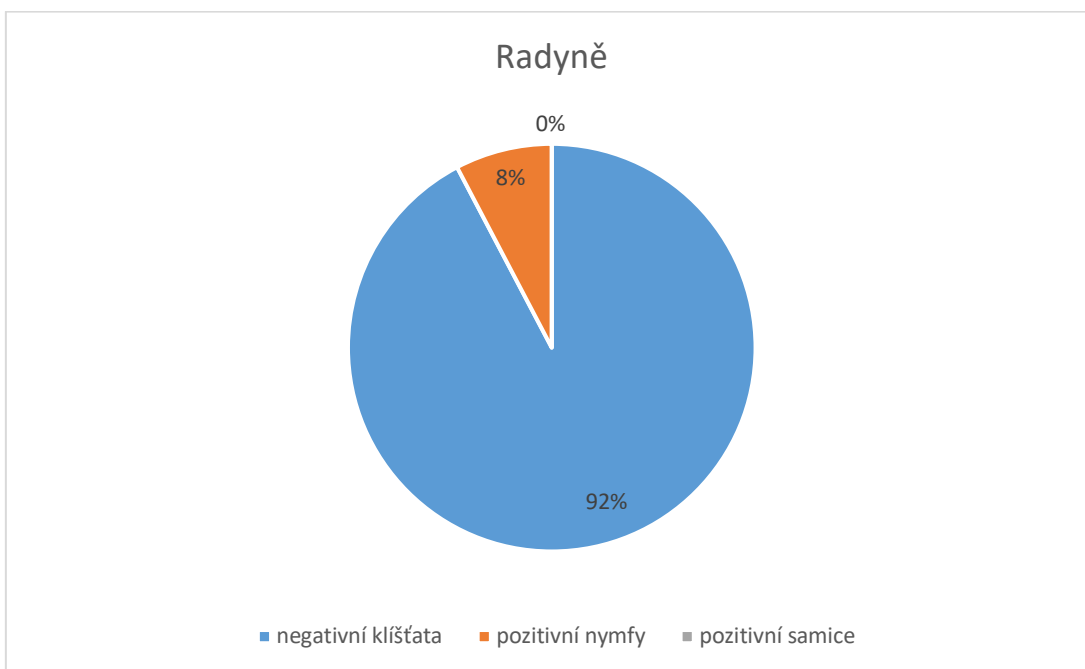
Zdroj: vlastní

Graf 5: Lokalita Radbuza



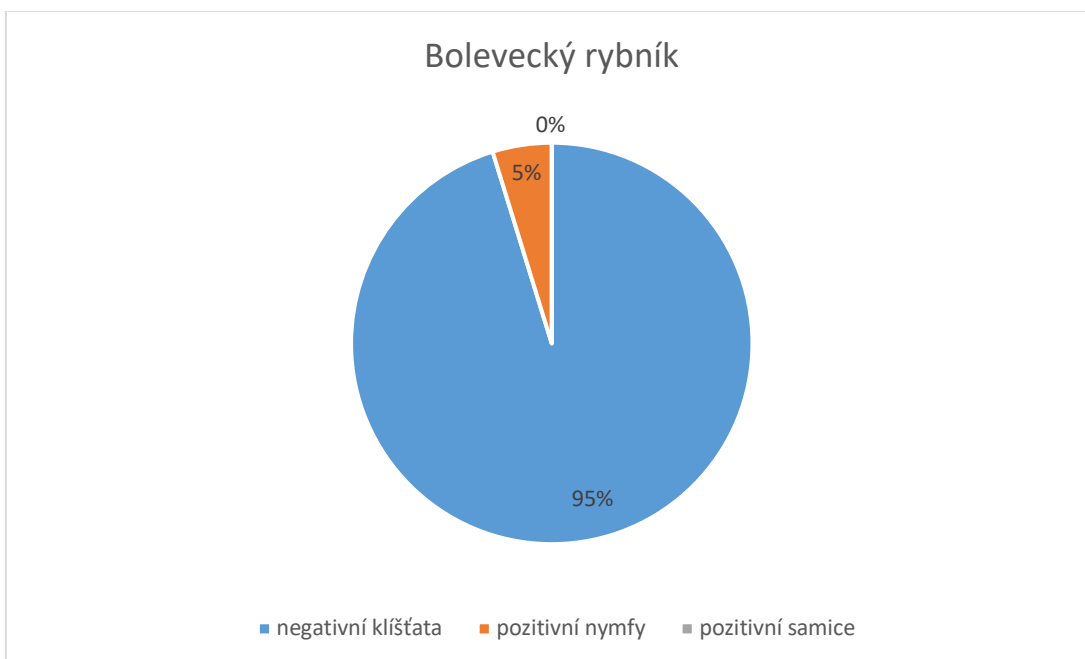
Zdroj: vlastní

Graf 6: Lokalita Radyně



Zdroj: vlastní

Graf 7: Lokalita Bolevecký rybník



Zdroj: vlastní

Z předešlých grafů vyplývá, že promořenost infikovaných klíšat je v jednotlivých lokalitách od necelých pěti do čtrnácti procent. Pouze v lokalitě Sylván byla promořenost nad deset procent (konkrétně 14,29 %).

DISKUZE

V mé bakalářské práci jsem se věnovala klíšťatům, jejich sběrem a následným vyšetřováním v mikroskopu. K práci jsem si vybrala postupně čtyři lokality v Plzni a jejím okolí. Z každé lokality jsem si dala za cíl nasbírat alespoň dvacet klíšťat. Sběr probíhal v období od června až do září, převážně v pozdějších odpoledních hodinách kvůli nižším teplotám a s tím souvisejícím menším suchem.

Pro sběr klíšťat jsem zvolila metodu vlajkování. Jedná se o starou, ale účinnou metodu, která je jednoduchá a nenáročná na vybavení. Celkem jsem navlajkovala sto pět klíšťat, z toho bylo sedmdesát osm nymf a dvacet sedm samic. Techniku jsem si rychle osvojila i přes počáteční nezdar. Úspěch závisí na vhodně zvolené látce k výrobě vlajky. Mě se osvědčil len se středně dlouhým chlupem, jak uvádí i většina autorů (například Bartůněk). Při sběru klíšťat jsem aplikovala různé preventivní a ochranné prostředky. Nejvíce se mi osvědčilo vhodné oblečení, které tvořily především dlouhé světlé kalhoty. Nejednou se mi stalo, že jsem klíště našla právě na nohou a díky světlé látce jsem ho včas objevila. Tímto chci připomenout důležitost prevence při pohybu v přírodě. Prevence je nejlepší způsob, jak předcházet onemocněním lymeskou boreliózou.

Pro vyšetřování navlajkovaných klíšťat jsem zvolila metodu mikroskopování v zástinu. Při této metodě dochází k prozáření struktur v preparátu. Nevýhodou ovšem je, že nesvítí pouze hledané borelie, ale například i vnitřnosti klíšťat. To je důsledkem poměrně velké nepřehlednosti mikroskopovaného pole. Tato metoda je poměrně jednoduchá na přístrojové vybavení i na provedení. Nevýhoda tkví v možném přehlédnutí hledaných borelií (z výše zmíněných důvodů). Další nevýhoda je potřeba živých borelií, a tedy i živých klíšťat. Důležitá je zde velká preciznost a znalost hledaného objektu, což pro mě ze začátku bylo obtížné, jelikož jsem se s touto problematikou setkala poprvé.

Jedna ze zkoumaných lokalit byla lokalita, která se nazývá „Pod Sylvánem“, leží v Plzni na Vinicích. Navlajkovala jsem zde celkem 35 klíšťat, což je nejvíce ze všech čtyř lokalit. Z uvedeného počtu klíšťat bylo třináct samic a dvacet dva nymf. Pozitivita se zde také těšila velkému úspěchu. Bylo zde hned několik pozitivních jedinců, konkrétně pět, z toho tři nymfy a dvě samice. Když to převedu na procenta, dostanu číslo 14,39 %, které vyjadřuje celkovou pozitivitu klíšťat infikovaných lymeskou boreliózou v lokalitě Sylván. Tato lokalita se ukázala jako vhodná pro život klíšťat, sběr zde probíhal snadno a rychle, klíšťata zde měla vhodné prostředí s dostatečnou vlhkostí, a proto bylo možné je zde lovit i při vyšších

letních teplotách. I když je tato lokalita stále ve městě, jedná se hlavně o les, kde se vyskytují různé druhy zvířat, dále zde tráví svůj volný čas obyvatelé z blízkého okolí, takže klíš'ata mají na výběr z velkého množství živočichů, na kterých mohou parazitovat. Proto je i při obyčejné procházce důležitá obezřetnost a na možné nebezpečí brát zřetel.

Další ze zkoumaných lokalit bylo okolí řeky Radbuzy nedaleko Škoda sport parku v Doudlevcích v Plzni. Navlajkovala jsem zde celkem dvacet tři klíš'at. Podle vývojového stádia to bylo pouze pět samic a osmnáct nymf. Pozitivita infikovaných klíš'at zde byla nižší než v předchozí lokalitě, ale i přes to byla druhá nejvyšší. Pozitivita se prokázala u dvou jedinců, jedna nymfa a jedna samice. V procentuálním vyjádření je to 8,70 %. V této lokalitě se mi klíš'ata sbírala obtížněji. Vlajkování zde trvalo déle a častěji, abych nasbírala alespoň oněch dvacet klíš'at. Jeden z důvodů mohl být nedostatek křovin, kde by se paraziti schovali při vysokých teplotách.

Mou třetí lokalitou bylo okolí zříceniny hradu Radyně nedaleko Starého Plzeňského kousek od Plzně. Navlajkovala jsem zde celkem dvacet šest klíš'at, z toho bylo devatenáct nymf a sedm samic. Počet klíš'at, u kterých se potvrdila přítomnost borelií, nebyl vysoký. Byly zde nalezeny dva pozitivní jedinci. V obou případech se jednalo o nymfy, infikovaná samice zde nebyla žádná. V procentech je to tedy 7,69 %. Je to druhý nejnižší počet. V této lokalitě se mi vlajkovalo poměrně bez problémů. Lokalitu tvořil smíšený les s převahou jehličnatých stromů. Byla zde dostatečná vlhkost, a i při vysokých letních teplotách tu byla příjemná teplota.

Poslední a čtvrtou lokalitou bylo okolí Velkého Boleveckého rybníku v Plzni v Bolevci. Navlajkovala jsem zde celkem dvacet jedna jedinců, z toho bylo devatenáct nymf a pouze dvě samice. Z této lokality bylo nasbíráno nejméně klíš'at. Přítomnost borelií se potvrdil pouze u jedné jediné nymfy, u ostatních jedinců jsem nic nenalezla. V procentech je to pouhých 4,76 %. Tento počet je úplně nejnižší ze všech čtyř lokalit. Prostředí pro klíš'ata zde bylo také vhodné. Dostatečná vlhkost díky blízkosti rybníka a přilehlé lesy tvořily dobré podmínky pro život klíš'at.

Podle různých autorů se promořenost infikovaných klíš'at v České republice pohybuje od deseti do dvaceti procent. Podle Roháčové (2006) je republikový průměr dvanáct procent. Moje výsledky se pohybují v hodnotách od necelých pěti do čtrnácti procent v jednotlivých lokalitách. Průměr ze všech mých lokalit dohromady je 10,5 %. Což odpovídá výše zmíněným číslům z literatury ostatních autorů. Nedochozí k výrazným rozdílům. Infikovaná

klíšťata jsem našla ve všech výše zmíněných lokalitách, v každé z lokalit bylo nalezeno alespoň jedno pozitivní klíště. Dalším faktorem je zhodnocení positivity v souvislosti s vývojovým stádiem. Beneš (2009) uvádí, že větší promořenost je u dospělců než u nymf. Důvod je jednoduchý, dospělec má větší počet sání, tím se riziko přenosu borelií zvyšuje. Z celkového počtu dvaceti sedmi samic byly pozitivní pouze tři, což je v procentech 11,11 %. Nymf bylo celkem sedmdesát osm a z toho pozitivních šest, to je 8,97 %. Takže mé výsledky jsou s tímto tvrzením v souladu.

Mnou získané výsledky jsou pouze velice orientační a nelze je zcela srovnávat s výsledky ostatních autorů, republikových průměrů a podobných údajů. Mnou sledovaný soubor jedinců byl příliš malý na to, abych dělala nějaké rozsáhlé výstupy. To ani nebyl cíl práce. Cíl práce byl seznámit se s metodikou vyšetřování klíšťat na přítomnost lymeské boreliózy. Tento cíl byl úspěšně splněn. Podařilo se mi klíšťata navlajkovat a následně i vyšetřit. Přinesla jsem obecné informace o promořenosti klíšťat v některých lokalitách v Plzni a okolí a tím jsem upozornila na riziko lymeské boreliózy. Ve všech mnou vyšetřovaných oblastech dochází k poměrně velkému pohybu osob, proto je důležité si připomínat rizika spojená s pohybem v přírodě v souvislosti s onemocněním lymeská borelióza.

Problematikou promořenosti infikovaných klíšťat původci LB se pravidelně zabývají jednotlivé krajské hygienické stanice, které vždy přináší aktuální čísla pro jednotlivé lokality. Takže tomuto tématu je věnována stále pozornost a v budoucnosti tomu nejspíš nebude jinak. Kromě hygienických stanic se této problematice z trochu jiného hlediska věnuje také Český hydrometeorologický ústav ve spolupráci se Státním zdravotním ústavem, kteří vydávají pravidelně předpověď aktivity klíšťat.

Myslím si, že tato problematika není zanedbatelná a je potřeba jí věnovat pozornost. Stále více lidí navštěvuje častěji přírodu. Hlavně v dnešní době a je potřeba si uvědomit rizika s tím spojená a dostatečně se chránit. Toto téma je stále aktuální.

ZÁVĚR

V roce 2020 jsem prováděla výzkum pro tuto bakalářskou práci. Zabývala jsem se průkazem původců lymeské boreliózy v Plzni a blízkém okolí. Klíšťata jsem sbírala metodou vlajkování, která se ukázala jako vhodná. K vyšetřování v laboratoři jsem použila metodu mikroskopování v temném poli, která se také osvědčila.

Celkem bylo navlajkováno sto pět klíšťat a z toho bylo pozitivních celkem deset. Navlajkovat se mi podařilo více nymf než samic. Vlajkování probíhalo ve čtyřech mnou vybraných lokalitách. V každé z lokalit jsem našla alespoň jedno klíště pozitivní na přítomnost borelií. Tímto jsem splnila pátý cíl této práce, a to přinést aktuální informace o přítomnosti borelií v klíšťatech a jejich proměnitelnosti v lokalitách v okolí Plzně. Ta se pochybuje v jednotlivých lokalitách od necelých pěti do čtrnácti procent.

Hlavním cílem práce bylo seznámit se s metodikou vyšetřování klíšťat na přítomnost lymeské boreliózy. Tento cíl jsme splnili zvládnutím metody vlajkováním a následným vyšetřováním klíšťat mikroskopováním v temném poli v laboratoři. Dalším cílem bylo shromáždit a zpracovat informace o daném tématu. V teoretické části této práce jsem přinesla obecné informace o klíšťatech, o jejich životním cyklu, morfologii, dalších druzích v ČR a podrobnější informace o nejvíce rozšířenému druhu u nás, klíštěti obecném. Následně jsem se zabývala přímo onemocněním LB, historií, původci, způsobem přenosu, epidemiologií, průběhem onemocnění a léčbě. Dalším tématem byla laboratorní diagnostika LB, kde jsem uvedla různé metody, které se při vyšetřování dají používat. A posledním neméně důležitým tématem byla prevence. Tímto jsme shromáždila a zpracovala informace o daném tématu a také upozornila na riziko lymeské boreliózy.

SEZNAM LITERATURY

CHALUPA, P. 2006. Zoonózy. [Online] 30. 01 2006. [Citace: 13. 01 2021.] dostupné z: <http://www1.lfl.cuni.cz/~hrozs/zoopch1.htm#Zoon>.

Český hydrometeorologický ústav. 2020. Předpověď aktivity klíštěte obecného (*Ixodes ricinus*) pro území České republiky. [Online] MZČR, 2020. [Citace: 26. 01 2021.] dostupné z: <https://www.chmi.cz/predpovedi/predpovedi-pocasi/ceska-republika/predpoved-aktivity-klisat>.

ČÁSTKOVÁ J., KYNČL J., LEXO VÁ P. 2019. Výskyt vektorem přenášených onemocnění v ČR v roce 2018 a předchozích deseti letech. *zprávy centra epidemiologie a mikrobiologie*. [Online] 2019. [Citace: 12. 01 2021.] Dostupné z: http://www.szu.cz/uploads/documents/CeM/Zpravy_EM/28_2019/06_cerven/226_CEM_6_19_vyskyt.pdf.

BARTŮNĚK, P. 2006. *Lymeská borelióza*. 3. vydání. Praha : Grada Publishing, 2006. str. 128 s. ISBN 80-247-1543-0.

—, 1996. *Lymeská borelióza*. Praha : Grada, 1996. ISBN 80-7169-242-5.

—, 1996. *Lymeská karditida*. Praha : Grada, 1996. str. 103 s. . ISBN 80-7169-357-X.

BELLMANN, H. 2003. *Pavoukovci a další bezobratlí*. [překl.] Antonín KŮRKA. 1. vyd. Praha : Balios; Euromedia Group - Knižní klub, 2003. str. 152. ISBN 80-242-1114-9.

BENEŠ, J. 2009. *Infekční lékařství*. 1. vydání. Praha : Galén, 2009. stránky 289-292. ISBN: 978-80-7262-644-1.

DANIEL, M. 2017. Jak se chránit před napadením klíšťaty. [Online] SZÚ, 4. 4 2017. [Citace: 3. 2 2021.] dostupné z: <http://www.szu.cz/tema/prevence/jak-se-chranit-pred-napadenim-klisaty>.

DLOUHÝ P., HONEGER K., KRBKOVÁ L., PÍCHA D., ROHÁČOVÁ H., ŠTRUNCOVÁ V. 2011. Infekce. *Lymeská borrelióza: Doporučený postup v diagnostice, léčbě a prevenci*. [Online] 05 2011. [Citace: 13. 01 2021.] dostupné z: <https://www.infekce.cz/DoporLB11.htm>.

European Centre for Disease and Control. 2020. Ixodes ricinus - factsheets for experts. [Online] ECDC, 07. 12 2020. [Citace: 11. 01 2021.] dostupné z: <https://www.ecdc.europa.eu/en/disease-vectors/facts/tick-factsheets/ixodes-ricinus>.

FINGERLE, V., HUNFELD K., STANEK, G. 2011. Lyme borreliosis: Clinical case definitions for diagnosis and management in Europe. *Clinical Microbiology and Infection*. [Online] 2011. [Citace: 13. 01 2021.] dostupné z: [https://www.clinicalmicrobiologyandinfection.com/article/S1198-743X\(14\)60916-2/fulltext](https://www.clinicalmicrobiologyandinfection.com/article/S1198-743X(14)60916-2/fulltext).

HEJTMÁNEK, M. 1991. *Úvod do světelné mikroskopie*. Olomouc : Univerzita Palackého, 1991. ISBN 80-7067-468-7.

HUBÁLEK, Z. 2007. *Mikrobiální zoonózy a sapronózy*. Brno : Masarykova univerzita, 2007. str. 176 s. ISBN 978-80-210-4460-9.

KERLES, M. 2015. *Člověk a klíště*. České Budějovice : Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, 2015. str. 23 s. ISBN 978-80-7394-515-2.

KIMMING, P. 2003. *Klíšťata, Nepatrné kousnutí s neblahými následky*. Praha : Pragma, 2003. str. 114. s. ISBN 80-7205-881-9.

LIPSKER, D. JAULHAC, B. 2009. *Lyme borreliosis: biological and clinical aspects*. Basel : Karger, 2009. ISBN: 978-3-8055-9114-0.

LITZMAN, J. 2007. *Základy vyšetření v klinické imunologii*. Brno : Masarykovo univerzita, 2007. stránky 21-24. ISBN 978-80-210-4227-8.

LOBOVSKÁ, A. 2001. *Infekční nemoci*. Praha : Karolinum, 2001. str. 132. ISBN 80-246-0116-8.

Lyme Disease Association of Australia. 2021. [Online] WordPress, 2021. [Citace: 14. 01 2021.] dostupné z: <https://lymedisease.org.au/our-work/chronology/>.

MZP. Český hydrometeorologický ústav. [Online] [Citace: 13. 01 2021.] dostupné z: <https://www.chmi.cz/historicka-data/pocasi/uzemni-teploty#>.

ŘÍMANOVÁ, R. 2020. Parazitologové AV ČR úspěšně otestovali vakcínu proti lymbské borelióze. [Online] AVČR, 27. 05 2020. [Citace: 27. 01 2021.] dostupné z:

<http://www.avcr.cz/cs/veda-a-vyzkum/biologicko-ekologicke-vedy/Vedci-AV-CR-uspesne-otestovali-vakcinu-proti-lymske-borelioze/>.

PROKEŠ, Z. 2015. Dermatologie pro praxi. *Lymeská borelióza*. [Online] 04. 02. 2015.

[Citace: 15. 01 2021.] dostupné z:

<https://www.dermatologiepropraxi.cz/pdfs/der/2015/01/08.pdf>.

PROTEAN. Klíště . [Online] [Citace: 13. 01 2021.] dostupné z:

<https://www.kliste.cz/cz/vse-o-klistatech/clanek/mapy-vyskytu-infikovanych-klizat-v-cr>.

ROHÁČOVÁ, H. 2005. *Lymeská borelióza*. Praha : Maxdorf, 2005. str. 76 s. ISBN 80-7345-071-2.

—. **2006.** Onemocnění přenášená klíšťaty. Olomouc : Solen, s.r.o., 6 2006. Sv. 8, stránky 280-282. ISSN 1803-5256.

SEDLÁK, E. 2003. *Nový přehled biologie*. Praha : Scientia, 2003. str. 797 s. . ISBN 80-718-3268-5.

VOTAVA, M. 2003. *Lékařská mikrobiologie speciální*. Brno : Neptun, 2003. ISBN 80-902896-6-5.