

UNIVERZITA PARDUBICE
FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁRSKA PRÁCA

2022

Monika Zajacová

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Imunologické aspekty lymfnej boreliózy

Monika Zajacová

Bakalárska práca
2022

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2021/2022

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Monika Zajacová**
Osobní číslo: **C21276**
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Zdravotní laborant**
Téma práce: **Imunologické aspekty lymsej boreliózy**
Téma práce anglicky: **Immunological Aspects Of Lyme Borreliosis**
Zadávající katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Zásady pro vypracování

- 1) Nastudujte pomocí odborné literatury problematiku týkající se onemocnění Lymeská borelióza, její patogeneze, klinické příznaky, metody diagnostiky (laboratorní metody, zobrazovací techniky, atd.), možnosti terapie - aktuální stav. Tyto informace stručně shrňte v úvodní kapitole teoretické části.
- 2) Detailněji popište, jak imunitní systém bojuje proti původci tohoto onemocnění, jaké složky imunitního systému se do boje proti této patogenní bakterii zapojují a jaké mechanismy tato bakterie vyvinula, aby imunitnímu dozoru unikala.
- 3) Zaměřte se na popis a zhodnocení vědeckých výsledků dosažených v posledních 10 – 15 letech.
- 4) Vypracujte literární rešerši o vývoji vakcíny proti tomuto onemocnění, o průběhu onemocnění, není-li infekce včas odhalena, jaká rizika s neléčenou chorobou souvisí. Jako zdroje informací používejte odborné články z hodnotných odborných časopisů českých i zahraničních (anglický jazyk).
- 5) Informace přehledně zpracujte, použijte obrázky, schémata a grafy.

Rozsah pracovní zprávy: **25 s.**
Rozsah grafických prací: **dle potřeby**
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Vedoucí bakalářské práce: **prof. RNDr. Zuzana Bílková, Ph.D.**
Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: **18. prosince 2021**

Termín odevzdání bakalářské práce: **1. července 2022**

L.S.

prof. Ing. Petr Kalenda, CSc. v.r.

děkan

prof. Mgr. Roman Kand'ár, Ph.D. v.r.

vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2022

Prehlasujem:

Prácu s názvom „**Imunologické aspekty lyskej boreliózy**“ som vypracovala samostatne. Všetky literárne pramene a informácie, ktoré som v práci využila, sú uvedené v zozname použitej literatúry.

Bola som zoznámená s tým, že sa na moju prácu vzťahujú práva a povinnosti vyplývajúce zo zákona č. 121/2000 Sb., o autorskom zákone, o právach súvisiace s právom autorským a o zmene niektorých zákonov (autorský zákon), v znení neskorších predpisov, hlavne so skutočnosťou, že Univerzita Pardubice má právo na uzatvorenie licenčnej zmluvy o použití tejto práce ako školského diela podľa § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tým, že pokiaľ dôjde k použitiu tejto práce mnou alebo bude poskytnutá licencia o použití inému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávnená odo mňa požadovať priemerný príspevok na úhradu nákladov, ktoré na vytvorenie diela vynaložila, a to podľa okolností až do ich skutočnej výšky.

Beriem na vedomie, že v súlade s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o zmene a doplnení ďalších zákonov (zákon o vysokých školách), v znení neskorších predpisov a smernice Univerzity Pardubice č. 7/2019 pravidla pre odovzdávanie, zverejňovanie a formálnu úpravu záverečných prací, v znení neskorších dodatkov, bude práca zverejnená prostredníctvom Digitálnej knižnice Univerzity Pardubice.

V Pardubiciach 1.7.2022

Monika Zajacová v. r.

PodĎakovanie

Rada by som poĎakovala prof. RNDr. Zuzane Bílkovej, Ph.D. za poskytnutie cenných rád potrebných pre písanie bakalárskej práce a za odborné vedenie. V neposlednej rade Ďakujem za ochotu a trpezlivosť, ktorou pri písaní bakalárskej práce nešetrila. PoĎakovanie patrí tiež mojej rodine, priateľovi a blízkym, ktorí mi po celú dobu štúdia na Univerzite Pardubice boli veľkou oporou.

ANOTÁCIA

Táto bakalárska práca je zameraná na tému lymská borelióza a jej imunologické aspekty. Literárny prehľad je zameraný na charakteristiku ochorenia lymskej boreliózy, patogenézu, rozpis jednotlivých štádií spojených s ich symptómami a možnosti liečby. V hlavnej časti práce sú základné informácie o imunitnom systéme a následne sú opísané interakcie baktérie s imunitným systémom a popis priebehu infekcie. V texte sú vysvetlené aj metódy priamej a nepriamej detekcie daného patogénu a vyhodnotenie ich výsledkov. Posledná časť rešerše je zameraná na históriu a problematiku vývoja vakcíny. Cieľom tejto bakalárskej práce je poukázať na vážnosť tejto bakteriálnej infekcie a popis hosťiteľovej imunitnej odpovede.

KLÚČOVÉ SLOVÁ

Lymská borelióza, *Borrelia burgdorferi*, špecifická imunita, spirochéty, erythema migrans,

TITTLE

Immunological aspects of Lyme borreliosis

ANNOTATION

This bachelor thesis focuses on the topic of Lyme disease and its immunological aspects. The literature review is focused on the characteristics of Lyme disease, pathogenesis, breakdown of the individual stages associated with its symptoms and treatment options. The main part of the thesis contains the basic information about the immune system and then describes the interaction of the bacteria with the immune system and a description of the course of infection. Furthermore, the methods of direct and indirect detection of the pathogen have been described as well as the evaluation of their results. The last part of the review is focused on the history and challenges of vaccine development. The aim of this bachelor thesis is to highlight the seriousness of this bacterial infection and to describe the host immune response.

KEYWORDS

Lyme borreliosis, *Borrelia burgdorferi*, specific immunity, spirochete, erythema migrans

Obsah

ÚVOD	13
1 LYMSKÁ BORELIÓZA	15
1.1 STRUČNÁ CHARAKTERISTIKA OCHORENIA	15
1.2 VZŤAH MEDZI BORÉLIU A KLIEŠŤOM	15
1.3 PATOGENÉZA OCHORENIA	15
1.4 KLINICKÉ PRÍZNAKY V JEDNOTLIVÝCH ŠTÁDIÁCH	18
1.4.1 Prvé štádium	18
1.4.2 Druhé štádium	19
1.4.3 Tretie štádium	22
1.5 LIEČBA OCHORENIA	23
2 LABORATÓRNA DIAGNOSTIKA	32
2.1 NEPRIAME METÓDY DŔKAZU BAKTERIÁLNEJ INFEKIE	32
2.1.1 Sérologické metódy	32
2.2 PRIAME METÓDY DŔKAZU BAKTERIÁLNEJ INFEKIE	37
2.2.1 Kultivácia borélie z klinických vzorkov	38
2.2.2 Elektrónová mikroskopia	38
2.2.3 Dôkaz bakteriálnej DNA metódou PCR	39
3 IMUNITNÝ SYSTÉM A LYMSKÁ BORELIÓZA	42
3.1 HLAVNÉ ZLOŽKY IMUNITNÉHO SYSTÉMU	42
3.2 VRODENÁ A ADAPTÍVNA IMUNITNÁ ODPOVEĎ	43
3.3 PRIEBEH BORÉLIOVEJ INFEKIE	44
3.4 IMUNITNÁ ODPOVEĎ HOSTITEĽA NA BORÉLIE	46
3.4.1 Zápalová odpoveď	46
3.4.2 Vznik symptómov lymskej boreliózy	47
3.4.3 Imunitné mechanizmy	48
3.5 HISTÓRIA VÝVOJA VAKCÍNY PROTI BORÉLII BURGDORFERI	48
4 ZÁVER	52
ZOZNAM POUŽITEJ LITERATÚRY	53

ZOZNAM SKRATIEK

LB	Lymská borelióza (z angl. Lyme borreliosis)
ACA	Acrodermatitis chronica atrophicans
EM	Erythema migrans
Bb	<i>Borrelia burgdorferi</i>
Bbsl	<i>Borrelia burgdorferi sensu lato</i>
WB	Western blot
NB	Neuroborelióza (z angl. Neuroborreliosis)
NS	Nervový systém (z angl. Nervous system)
LK	Lymská karditída (z angl. Lyme carditis)
IS	Imunitný systém (z angl. Immunity system)
Osp	Variabilný povrchový proteín (z angl. Outer surface protein)
Dbp	Proteín viažuci dekorín (z angl. Decorin binding protein)
NAD	Nikotínamidadenindinukleotid (z angl. Nikotinamidadenindinukleotid)
TLR	Receptory skupiny Toll (z angl. Toll like receptors)
NK	Prirodzené zabíjačské bunky (z angl. Natural killer cells)
VI _s E	Variabilný povrchový lipoproteín E (z angl. Variable major protein-like sequence E)
INF- γ	Interferon gama
IgM	Imunoglobín M
HLA	Hlavný ľudský antigén (z angl. Human leukocyte antigen)
PCR	Polymerázová reťazová reakcia (z angl. Polymerase chain reaction)
IL	Interleukín
TNF	Faktor nekrotizujúci nádory (z angl. Tumor necrosis factor)
IgG	Imunoglobín G
BSK	Barbour-Stoenner-Kelly médium

DNA	Deoxyribonukleová kyselina (z angl. Deoxyribonucleic acid)
CD	Diferenciačný antigén (z angl. Cluster of differentiation)
MALT	Slizničný imunitný systém (z angl. Mucosa-associated lymphoid tissue)
GALT	Črevné lymfatické tkanivo (z angl. Gut-Associated lymphoreticular tissue)
APC	Antigén prezentujúca bunka (z angl. Antigen- presenting cell)
MHC	Hlavný histokompatibilitný komplex (z angl. Major histocompatibility complex)
GAG	Glykoaminoglykán (z angl. Glycosaminoglycan)
MAC	Komplexy atakujúci membránu (z angl. Membrane attack complex)
CRASP	Doplňkový regulátor získavania povrchového proteínu (z angl. Complement regulator-acquiring surface protein)
Th	Pomocný T lymfocyt (z angl. Helper T-cell)
PAMP	Štruktúry charakteristické pre patogénne mikroorganizmy (z angl. Pathogen-associated molecular pattern)
CD	Diferenciačný antigén (z angl. Cluster of differentiation)
PRR	Pattern recognition receptors
TCR	Receptor T lymfocytov pre antigén (z angl. T-cell receptor)

ÚVOD

Medzi najčastejšie diagnostikované zoonotické ochorenia na svete, ktoré je prenášané kliešťami, patrí lymská borelióza. Toto ochorenie je spôsobené úzko príbuznými spirochétami (baktérie v tvare vývrčky). Do krvi sa spirochéty dostávajú so slinami rôznych druhov kliešťov a u hostiteľa dôjde k vyvolaniu imunitnej odpovede. Borélie sú schopné sa vyhýbať imunitnému systému. Na začiatku infekcie sa aktivuje prirodzená imunita pomocou antigénov. Dôležitú úlohu v borélii hrajú proteíny, ktoré sa naviažu na extracelulárny matrix a práve vďaka tomu dokážu prežívať a rozširovať sa ďalej do organizmu.

Toto multisystémové ochorenie postihuje kožu, srdce, oči, nervovú sústavu a kĺby. Príčina ochorenia je variabilita *Borrelia burgdorferi*, ktorá spôsobuje netypické príznaky, a preto je diagnostika veľmi komplikovaná. Lymská borelióza sa môže rozvinúť do chronického stavu, ktorý je doprevádzaný laboratórne preukázateľnými relapsami. Klinické prejavy sú rozdelené do troch štádií. V poslednom štádiu sa objavujú najzávažnejšie príznaky a to Acrodermatitis chronica atrophicans a lymská artritída. V tehotenstve je prítomnosť tejto choroby nebezpečná, pretože baktérie môžu byť prenesené z matky na plod a poškodiť ho. Patogény prechádzajúce cez placentu zapríčiňujú potrat alebo narodenie mŕtveho dieťaťa či rôzne vývojové vady. Najrizikovejšie je obdobie prvého trimestru. Liečba ochorenia je antibiotická a je veľmi účinná. Používajú sa rôzne typy antibiotík a dávkovanie sa u dospelých a detí líši. Spôsob podávania je perorálny alebo intravenózný, záleží na použítom lieku. V minulosti bola vyvinutá aj vakcína, ale kvôli nízkemu záujmu sa prestala vyrábať. No v súčasnosti sa vedci pustili opäť do testovania novej vakcíny, ktorá sa na testovaných myšiach javí úspešne.

Infekcia sa musí povinne hlásiť na príslušnú krajskú hygienickú stanicu, takže epidemiologická situácia je známa. Podľa dostupných čísel z Krajskej hygienickej stanice pre okres Kolín môžeme skonštatovať, že v tejto lokalite je najvyšší výskyt infekcie v období od júla do decembra. Celkový počet prípadov v Českej republike klesá a v roku 2020 bol najmenší za posledných päť rokov a nakazených ľudí v tom roku bolo 3710.

Lymskou boreliózou sú postihnutí častejšie muži než ženy, a to z dôvodu, že muži sa pohybujú v prírode častejšie, nielen za účelom rekreácie, ale aj kvôli náplni ich práce (lesníci, poľovníci, farmári). Čo sa týka vekového zastúpenia, tak najčastejšie zasiahnutými sú deti vo veku 10 – 15 rokov, následne obyvatelia v pred- a dôchodkovom veku. Práve tieto dve skupiny majú viacej voľného času a môžu ho tráviť pobytom na čerstvom vzduchu v prírode.

Kliešťom sa darí len za určitých podmienok, preto ich výskyt nie je rovnomerný. Vyššie percentá výskytu sú v prítomnosti vodných tokov, na okraji lesov, vo vysokých trávnatých

porastoch a v nižších nadmorských výškach okolo 1100 m n. m. až 1300 m n. m.. Preto je potrebné pri návšteve prírody dbať na preventívne opatrenia, aby sme predišli ochoreniu. Doporučuje sa nosiť dlhé nohavice a dlhý rukáv, voliť svetlé farby oblečenia, používať repelent, po návšteve lesa sa osprchovať a vizuálne skontrolovať celé telo. Repelenty by mali obsahovať látku DEET (N, N-diethyl-3-methylbenzamid), ktorá je najúčinnjšia. Hodinu po použití vykazuje 85 %-tnú efektivitu ochrany. Prípravky s obsahom KBR 3023 alebo na prírodnej báze s obsahom cesnaku, či eukalyptového oleja majú nižšiu účinnosť.

1 LYMSKÁ BORELIÓZA

1.1 Stručná charakteristika ochorenia

Borelióza je vážne infekčné ochorenie (Steere a kol., 2001). Jej pôvodca *Borrelia burgdorferi* v súčasnosti zahŕňa najmenej 20 genodruhov (Mead a kol., 2015). V Európe máme niekoľko patogénnych druhov a to: *B. burgdorferi*, *B. sensu stricto*, *B. afzelii*, *B. garinii*, z nich posledné dva druhy patria k najviac vyskytujúcim (Margos a kol., 2009). Všetky tieto patogénne genodruhy môžu spôsobiť erythemu migrans, ktorá sa prejavuje ako červený flák na koži, neuroboreliózu a artritídu zapríčiňuje *B. burgdorferi sensu stricto* a *B. garinii* je spojená s chronickým ochorením kože acrodermatitis chronica atrophicans (Vitorino a kol., 2008).

Borélie je možné klasifikovať aj podľa sekvencií vonkajšieho povrchového proteínu OspC (existuje 21 hlavných skupín OspC) (Qiu a kol., 2008). Vektormi, ktoré prenášajú Bb na človeka, sú predovšetkým kliešte *Ixodes ricinus* a *Ixodes persulcatus*. Boréliu môže kliešť získať pri kŕmení infikovaným hosťom alebo pri kŕmení v tesnej blízkosti infikovaného hostiteľa (Tsao a kol., 2009).

1.2 Vzťah medzi boréliou a kliešťom

Borélie sa do kliešťa dostanú už v larválnom štádiu pri cicaní a vydržia v ňom po celý životný cyklus. Nachádzajú sa prevažne v čreve, kde sa pomocou OspA uchytiť a tiež im to pomáha odolať obranným reakciám kliešťa (Neelakanta a kol., 2007).

Proces presunu borélie z čрева do slinných žliaz kliešťa a následne do hostiteľa trvá 2 až 2,5 dňa. Počas tejto migrácie dochádza k zmene génovej expície spirochét. Znižuje sa produkcia OspA, no naopak sa zvyšuje tvorba OspC, ktorý je nevyhnutný pre vznik infekcie u hostiteľa, pretože umožňuje baktériám prechod do slinných žliaz kliešťa (Fingerle a kol., 2007).

1.3 Patogenéza ochorenia

Keď sa kliešť vektora *Ixodes* začne živiť hosťom, nastáva zmena v prostredí čрева kliešťa, a to zmena teploty, pH, dostupnosti živín a expície protilátkam (Radolf, Samuels, 2021). V reakcii na meniace sa podmienky prostredia sa *B. Burgdorferi* delí v čreve počas kŕmenia, pričom sa počet borélií zvyšuje až o 300 % (De Silva, Fikrig, 1995). Spolu s touto

expanziou populácie prechádza Bb dramatickými zmenami v génovej expresii prostredníctvom regulačnej kaskády (Radolf, Samuels, 2021).

Keď sa kliešť s baktériami zavedie do dermis cicavčieho hostiteľa, musia sa deliť a šíriť, aby sa uľahčil cyklus, ktorý zachováva rod v prírode. Príjem živín transportérmi cytoplazmatickej membrány vyžaduje, aby živiny prenikali cez vonkajšiu membránu, pravdepodobne cez poriny (Ristow a kol., 2015). Bolo identifikovaných niekoľko výživových záchranných proteínov potrebných na prežitie v tkanive cicavcov. PncA, nikotínamidáza, ktorá premieňa nikotínamid na kyselinu nikotínovú, je potrebná na poskytnutie prekursora pre biosyntézu NAD (Purser a kol., 2003). AdeC, adenindeamináza, ktorá mení adenín na hypoxantín, a tým uľahčuje interkonverziu purínu (Jewett a kol., 2009). Purinové permeázy BBB22 a BBB23 sú dôležité pre príjem hypoxantínu, adenínu, guanínu a sú nevyhnutné pre infekciu myši *B. burgdorferi* (Jain a kol., 2015). OppAV, oligopeptidová permeázová zložka systému vychytávania oligopeptidov, je rozhodujúca pre perzistenciu Bb v hostiteľovi (Caimano a kol., 2019). Gény kódujúce väčšinu týchto proteínov sú umiestnené na genómových plazmidoch, čím sa posilňujú základné úlohy v cykle (Khajanchi, 2015).

Väčšina patogénnych mikroorganizmov si vyvinula mechanizmy na vyhýbanie sa vrodenným a adaptívnym imunitným odpovediam, čo umožňuje ich prežitie a proliferáciu v hostiteľskom prostredí (Chaconas a kol., 2020).

Ako spôsob neutralizácie infekčných agens využívajú hostitelia na svoju ochranu vrodené a adaptívne imunitné systémy. Veľká väčšina infekčných agens, ktoré spôsobujú infekciu u imunokompetentných hostiteľov, je vybavená tak, aby obchádzala tieto reakcie hostiteľa (Bourret a kol., 2016). Pre extracelulárne parazity a patogény je schopnosť neutralizovať vrodené mechanizmy zabíjania rozhodujúca (Ramsey a kol., 2017).

B. burgdorferi reaguje odlišne na oxidačný stres v porovnaní s väčšinou živých systémov, čiastočne v dôsledku zjavného nedostatku požiadavky na železo. Doteraz neboli identifikované žiadne enzýmy, ktoré by vyžadovali Fe ako kofaktor. Bb používa mangán ako kofaktor namiesto železa používaného inými baktériami (Radolf, Samuels, 2021). Nedostatok Fe zvyhodňuje Bb v porovnaní s inými patogénmi (Boylan a kol., 2008).

Bb nesyntetizujú vlastné mastné kyseliny, a preto sú závislé od hostiteľa, ktorého infikujú, aby poskytoval tieto esenciálne lipidové zložky. Začlenenie polynenasýtených mastných kyselín a lipidov z hostiteľov do lipidov Bb (Crowley a kol., 2013) vystavuje tieto štruktúry riziku oxidačného poškodenia a toxicity (Boylan a kol., 2008).

S cieľom identifikovať nové proteíny Bb zapojené do rezistencie na ROS a RNS sa použil neustranný skrining (Lin a kol., 2012). Z tejto analýzy bolo identifikovaných 66 génov, ktoré prispeli k RNS a ROS rezistencii (Bourret a kol., 2016).

Borélia musí byť schopná osídliť tráviaci trakt kliešťa a cez jeho slinné žľazy sa dostať do krvného obehu hostiteľa. V organizme môže dôjsť k napadnutiu rôznych tkaní (Richter a kol., 2013). Borélie sa v krvi nachádzajú len krátkodobo, pretože za krátky časový úsek dochádza k preniknutiu do buniek imunitného systému, teda do polymorfonukleárných leukocytov a monocytov. Prvou obrannou líniou proti spirochétam sú NK a T-bunky. Veľmi častá je aj väzba na nervové a gliové bunky mozgu zapríčinená prienikom cez hematoencefalickú bariéru. Borélia unikne imunitným mechanizmom hostiteľa pomocou presnej regulácie expresie povrchových proteínov Osp. Kliešťovi sa v tráviacom trakte na povrchu borélii vylučujú proteíny OspA a OspB, ktoré majú funkciu adhézných molekúl. V priebehu cicania klesá expresia týchto proteínov a stúpa tvorba OspC. Proteín OspC umožňuje baktériám prechod z tráviaceho traktu do slinných žliaz kliešťa, má schopnosť viazať imunoregulačný proteín, ktorý nájdeme v slinách kliešťa a borélia tak môže prečkať imunitnú reakciu v iniciačnej fáze infekcie hostiteľa. Následne dochádza k znižovaniu hodnôt OspC a začína sa na povrchu objavovať proteín VIsE, ktorý sa vyznačuje vysokou antigénnou variabilitou. Tvorbou VIsE borélia limituje rozvíjajúce sa špecifické imunitné odpovede, a tým sprostredkováva prechod do chronickej fázy. Proteíny OspE a OspF pomáhajú vyhýbaniu mechanizmom nešpecifickej imunity (Křupka a kol., 2008).

Choroba prebieha v troch fázach – včasne lokalizovaná, včasne diseminovaná a neskorá diseminovaná. Po vniknutí borélii do krvného obehu, prestupujú stenou ciev a objavujú sa v perivaskulárnom priestore a začína zápalová reakcia spojená s tvorbou IFN- γ a polarizáciou reakcie k typu Th1. V tejto fáze sa vyskytuje hlavne EM a prítomnosť protilátok triedy IgM. Môže dôjsť k spontánnemu vyliečeniu. Pokiaľ baktérie nevymiznú z imunitného systému a choroba sa nelieči, môžu sa borélie rozšíriť do ďalších orgánov a spôsobovať postihnutie nervového systému, pohybového aparátu, kožné prejavy, postihnutie srdca alebo môžu byť zasiahnuté oči. Existujú aj pacienti, u ktorých problémy pretrvávajú aj po liečbe antibiotikami. V tomto prípade sa rozvíjajú autoimunitné mechanizmy. Do súvislosti sa dáva výskyt protilátok anti-OspA a anti-OspB a trvanie prejavov artritídy hlavne u pacientov s fenotypom HLA-DR4. Predpokladá sa skřížená reaktivita medzi OspA a homológou kyselinou. To sa predpokladá aj pri reaktivite protilátok medzi inými antigénmi borélie.

1.4 Klinické príznaky v jednotlivých štádiách

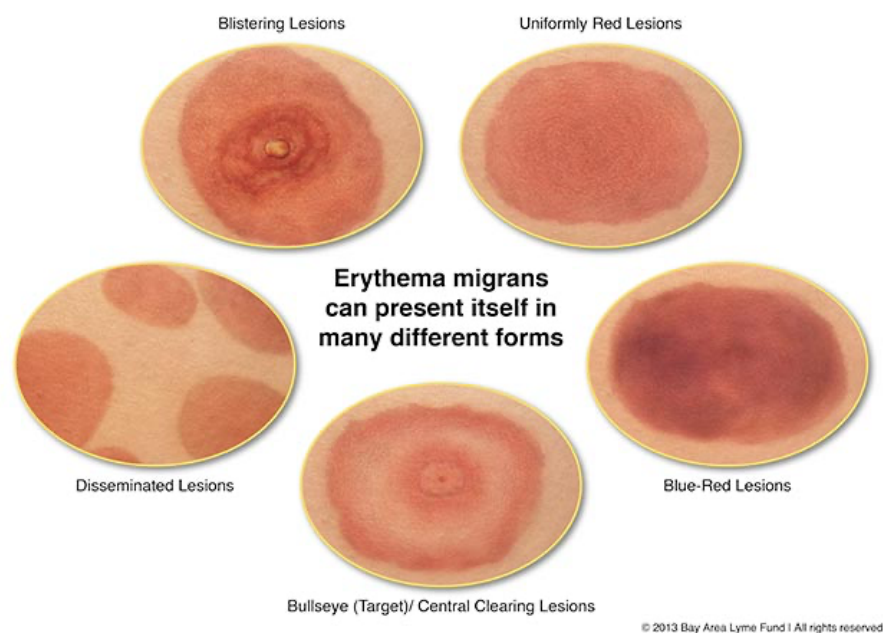
Steere a kolektív rozdelil v roku 1989 LB do troch hlavných štádií: akútna (prvá) fáza s najčastejším výskytom kožných lézií, druhá fáza s kĺbnymi a srdcovými postihnutiami a posledné tretia fáza s reumatickými, srdcovými a neurologickými prejavmi. Po prvom štádiu sa druhé dostavuje po niekoľkých dňoch alebo týždňoch, no tretie až s odstupom niekoľkých mesiacov alebo rokov.

1.4.1 Prvé štádium

Prvé štádium sa vyskytuje medzi 3 – 32 dňami od pohryznutia. Môže sa objaviť erythema migrans, ktorá sa postupne zväčšuje a môžu ju doprevádzať chrípkové symptómy ako napríklad: únava, vyčerpanosť, bolesť kĺbov, svalov, hlavy a horúčka (Stanek a kol., 2012). Kožné príznaky sa objavujú až u 80% pacientov postihnutých LB. U veľkej časti pacientov dochádza k prvej imunitnej reakcii práve v mieste vstupu spirochét do kože (Strle, 2009). Po prieniku kliešťa do organizmu sa tkanivami začnú šíriť borélie. Borélie narušujú cytoskelet, ktorý je náročné prekonať aj pre malé molekuly. Využívajú spôsob rozkladu štruktúry tkaniva a následne zabraňujú hojeniu a týmto si borélie zjednodušia transport do intracelulárneho priestoru medzi endotelovými bunkami (Stanek a kol., 2012). Celý tento proces nazývame ako transendoteliárna migrácia. Baktérie sa v endoteliárnych priestoroch zhromažďujú a začnú produkovať proteíny, ktoré sú potrebné pre spustenie infekcie (Buhner, 2014).

Pre prvé štádium je typická EM. Tento príznak sa považuje za najtypickejší pre LB. V mieste prisatia sa objaví červená oválna škvrna, ktorá sa môže zväčšovať až do veľkosti niekoľkých centimetrov a niekedy má svetlý stred (viz Obrázok č. 1) (Wormser a kol., 2016). Ložisko sa vo väčšine prípadov vyskytuje samostatne (Buhner, 2014). Pokiaľ nachádzame viacej ložísk, môžeme hovoriť, že ide o prechod do druhého štádia a označujeme to ako sekundárnu formu. EM má tri základné typy:

- **Erythema migrans anulare:** rozširuje sa do okolia, má červené ohraničenia a vyblednutý stred
- **Erythema migrans maculare:** stabilná, nemusí sa rozširovať do okolia, má hladký povrch a červené zafarbenie
- **Erythema migrans concentricum:** koncentrické usporiadanie viacerých kruhov (Wormser a kol., 2016)



Obrázok č.1: Formy erythemy migrans (zdroj: <https://www.bayarealyme.org/get-help/skin-rashes/>)

Diagnóza prebieha na základe anamnézy a vizuálnej kontroly lézie. Laboratórne vyšetrenie nie je potrebné, v prípade atypickej lézie sa odporúča sérologické vyšetrenie. Kultivácia alebo PCR zo vzorkov kožnej biopsie sú užitočné vo výskumných štúdiách, ale nie sú potrebné pre rutinnú klinickú prax (Aucott a kol., 2009). K liečbe EM sa nasadzuje 10-dňový cyklus liečby doxycyklínom (Stanek a kol., 2012).

1.4.2 Druhé štádium

Druhé štádium nastupuje po niekoľkých týždňoch a trvá okolo pol roka. Pre toto štádium sú charakteristické neurologické prejavy, najčastejšie bolesť hlavy, závraty, často je hlásená aj obrna líčneho nervu (Stanek a kol., 2012). Objavujú sa aj arytmie, dušnosť a opuch očných viečok. U detí sa často vyskytuje boréliový lymfocytom.

Boréliový lymfocytom má podobu modročerveného uzlíku, zvyčajne na ušnom laloku (viz Obrázok č. 2), bradavke alebo miešku. Sérologické testovanie je zvyčajne pozitívne, ak je výsledok negatívny, sérum sa otestuje v rekonvalescenčnej fáze 2 – 6 týždňov neskôr (Wormser a kol., 2016). Na vylúčenie novotvaru môže byť potrebná biopsia lézie. O liečbe je dostupných málo informácií, preto sa používajú rovnaké postupy ako pri liečbe EM (Stanek a kol., 2011).



Obrázok č.2: Boréliový lymfocytom na ušnom laloku (zdroj: <http://www.remedia.cz/Okruhy-temat/Mikrobiologie-a-infekcni-choroby/Lymska-borelioza-onemocneni-jiz-bez-otazek/8-1-c-bS.magarticle.aspx>)

Lymfská karditída (LK) označuje ochorenie srdca, ku ktorému dochádza najčastejšie medzi 2. týždňom až 5. mesiacom. Vyskytuje sa v prípade, keď baktérie lysmskej boreliózy vstúpia do tkaniva srdca. To môže interferovať s normálnym pohybom elektrických signálov. Zo štúdií vyplýva, že postihuje častejšie mužov ako ženy. Príznaky karditídy sú najčastejšie závraty, synkopy a dyspnoe (Wormser a kol., 2016). Preukázanie karditídy vyžaduje prítomnosť typických prejavov LB, napríklad NB či EM. V Európe trpí na LK približne len 4 % všetkých pacientov s LB, pre porovnanie v Severnej Amerike ich počet šplhá až k 10 %. Dôležitým dôkazom pre stanovenie diagnózy je sérologický dôkaz protilátok proti boréliam a nález boréliei v myokarde (Stanek a spol., 2018).

Pri postihnutí oka sú prejavy ochorenia rôzne. V endemických oblastiach je náročné odlíšiť očné prejavy LB od náhodnej koincidencie. Jeden z najčastejších prejavov tohto ochorenia je edém viečok (viz Obrázok č. 3). Spravidla sprevádza EM a objavuje sa pár dní po nej. Za pomerne dlhšiu dobu sa môže vyskytnúť u človeka epiteliálna keratitída (Mora, Carta, 2009). V tejto fáze sa predpisujú steroidy k lokálnemu použitiu a výsledok je uspokojivý, ale je potrebné dodržanie rád lekára, pretože pri časnóm vysadení liekov dochádza k častým recidívam (Wormser a kol., 2016). V miernej forme sa objavuje uveitída, pri ktorej sa podarilo preukázať prítomnosť Bb priamo v oku. Vzácné sa môže u ľudí rozvinúť Bellova obrna, pri ktorej človek nie je schopný žmurkať a zavrieť oči. To vysušuje rohovku a môže to mať za následok infekciu alebo dokonca diery v rohovke, ktorá vedie k ohrozeniu zraku, pokiaľ sa včas nelieči (Mora, Carta, 2009).



Obrázok č.3: Edém viečok (zdroj: [https://www.amjmed.com/article/S0002-9343\(16\)30092-4/fulltext#relatedArticles](https://www.amjmed.com/article/S0002-9343(16)30092-4/fulltext#relatedArticles))

Zhruba tretina pacientov s LB trpí neuroborreliózou (NB), ktorá postihuje nervový systém človeka. Prejavy NB sú rôznorodé. Vedie k poruche periférneho, vegetatívneho, ale aj centrálného nervového systému (Wormser a kol., 2016). Borélie, ktoré sa nachádzajú v krvi, prechádzajú hemoencefalickou membránou a vďaka tejto vlastnosti poškodzujú nervové bunky a neuroglie. Pri napadnutí NS je likvor abnormálny, sú zvýšené hladiny bielkovín alebo len gamaglobulínov, objaviť sa môže aj pleocytóza. Môže sa stať, že sa u pacienta vyskytne aj fyziologický likvor (Rauer a kol., 2020). Spirochéty okrem poškodzovania neuroglií vyvolávajú tiež imunitné a autoimunitné reakcie. Následok reakcie s imunokomplexmi je zápal ciev, ktorý zapríčiňuje trombózu a následne môže dochádzať k hypoxii mozgu. Dôležitú úlohu majú OspA a OspB. Autoimunitné reakcie majú za dôsledok poškodenie myelínových pošiev axónov (Stanek a kol., 2011). Zápal potom prechádza na mozgomiešne pleny a kapiláry, ktoré slúžia na výživu nervového systému. V tomto štádiu sú časté bolesti hlavy, poruchy spánku, straty pamäti (Bojar, 2013). Pre určenie správnej diagnózy je nutné zabezpečiť kvalitatívne vyšetrenie likvoru, ku ktorému by sme mali pridať aj sérologické vyšetrenie a vyšetrenie pomocou metódy PCR (Rauer a kol., 2020).

V 2.štádiu sa vyskytujú aj artralgie. Vyznačujú sa striedajúcou a migrujúcou bolesťou, ktorá postihuje najčastejšie kĺby, ale môže postihnúť aj svaly, kosti, väzy. Doba bolesti je od niekoľko hodín až po niekoľko týždňov. Môže sa striedať aj bolestivé obdobie s nebolestivým. Pacienti často uvádzajú pocit únavy a nočné potenie. Veľkú pozornosť musíme venovať únave, ktorá je pre LB najcharakteristickejší prejav a označujeme ju ako chronická únava.

1.4.3 Tretie štádium

Patria sem príznaky, ktoré trvajú dlhšie než pol roka a vyskytujú sa aj po antibiotickej liečbe. Medzi popredné príznaky patrí chronická únava, bolesť hlavy, podráždenosť, ospalosť a poruchy sústredenia. Prečo prechádza LB do chronicity napriek antibiotickej liečbe nie je známe. Niektorí odborníci si myslia, že opakujúce sa klinické prejavy sú spôsobené zápalovými a autoimunitnými reakciami. (Santos a kol, 2010). V tretej fáze sa objavujú aj acrodermatitis chronica atrophicans, chronická encefalomyelitída a artritída (Stanek a kol., 2011).

Lymfská artritída iným pojmom zápal kĺbov, často nastáva po artralgiách. Prejavuje sa opuchom a nahromadením tekutiny okolo ložísk kĺbov (Arvikar, Steere, 2015). Borélie sú schopné sa viazať na cukorné zložky keratansulfánu, proteoglykánů a kolagénu. Zmeny v kĺbe sú spôsobené stretnutím borélii s endotelovou bunkou a ich aktiváciou leukocytov (Puius, Kalish, 2008). Neskôr začnú borélie produkovať zápalové cytokíny a nastáva infiltrácia tkaniva. Synoviálne bunky, ktoré tvoria cytokíny (IL-1, TNF- α) sú aktivované, a preto je výsledkom poškodenie buniek kĺbnej chrupavky (Arvikar, Steere, 2015). Pri sérologickom vyšetrení sú prítomné vysoké koncentrácie špecifických sérových IgG protilátok (Aucott a kol., 2009).

Postboreliový syndróm sa vyznačuje únavou, bolesťou hlavy, poruchami spánku a horšou pracovnou výkonnosťou. Žiadny laboratórny test jednoznačne nediodnostikuje tento syndróm. Ani dlhodobá antibiotická liečba nemá pozitívny efekt (Stanek a kol, 2012).

Chronická encefalomyelitída nastáva častejšie v oslabenom organizme človeka. Borélie môžu pretrvávajúť v organizme mesiace až roky, prevažne vo väzivových štruktúrach. Choroba môže imitovať formy roztrúsenej sklerózy, ale v porovnaní s nimi sú prítomné špecifické protilátky v likvore a sére. Pre dosvedčenie sa používa metóda ELISA a imunoblot pozitívita v sére. Typické pre toto ochorenie je porucha kognitívnych a behaviorálnych funkcií. Prejavuje sa to zmätenosťou. Väčšinou chýbajú objektívne príznaky zápalu a preto k diagnóze napomáhajú MRI a SPECT (Gurčik, 2009).

Acrodermatitis chronica atrophicans sa prejavuje ako dlhotrvajúce červené alebo modročervené lézie, vyskytujúce sa na extenzorových povrchoch končatín (viz Obrázok č. 4). Na takýchto končatinách dochádza k tvorbe fibrotických uzlíkov (Vasdevan, Chatterjee, 2013). Na počiatku je opuch na dotyk mäkký, nakoniec sa stáva atrofickým a je možné stvrdnutie kože. Po mesiacoch trvania zápalu sa koža postupne začne meniť, prestáva byť pružná a vzhľadom pripomína cigaretový papier. (Stanek a kol., 2012). Spravidla sú pri sérologickom vyšetrení prítomné vysoké koncentrácie špecifických sérových IgG protilátok.

Detekcia *B. Burgdorferi sensu lato* kultiváciou alebo PCR z biopsie kože je užitočná len vo výskumných štúdiách (Stanek a kol., 2011).



Obrázok č.4: Fotka ruky postihnutej chorobou Acrodermatitis chronica atrophicans (zdroj: <https://dermnetnz.org/topics/acrodermatitis-chronica-atrophicans>)

1.5 Liečba ochorenia

Liečba LB je antibiotická a najúčinnějšía je na začiatku ochorenia (Stanek a kol., 2012). Voľba antibiotík závisí na anamnéze. Antibiotikum by malo byť schopné udržať efektívnu hladinu v priebehu terapie (Hunfeld a kol., 2000).

Antibiotika podávame buď spôsobom orálnym alebo ich zavádzame intravenózne. U perorálnych antibiotikách sa jedná o štandardnú liečbu raného štádia LB. Zvyčajne sa odporúča 14- až 21-dňová kúra (Wormser a kol., 2016). Intravenózne antibiotika môžu spôsobiť vedľajšie účinky, vrátane nižšieho počtu leukocytov, hnačky alebo infekcie inými organizmami odolnými voči antibiotikám, ktoré nesúvisia s lymskou boreliózou (Kowalski a kol., 2010).

V prvom štádiu ochorenia sa pacientovi s príznakom erythemy migrans, najbežnejšieho prejavu ranej LB, predpisujú antibiotika podľa tabuľky č.1. Tieto režimy môžu byť upravené v závislosti od veku osoby, anamnézy, stavu alergií, prípadne tehotenstva (Torbahn a kol., 2018).

Tabuľka č. 1: Liečba a dávkovanie jednotlivých liekov u EM v Českej republike (Basic a kol., 2000)

Veková kategória	Liek	Dávkovanie	Dĺžka liečby
Dospelý	Fenoxymethylpenicilín	1-1,5 mil. IU, 3-krát denne, perorálne	10 - 14 dní
	Cefuroxim-axetil	500 mg, 2-krát denne, perorálne	10 - 14 dní
	Azitromycín	1.deň: 500 mg, 2-krát denne, perorálne 2.-5. deň: 500 mg, 1-krát denne, perorálne	5 dní
	Klaritromycin	500 mg, 2-krát denne, perorálne	10 - 14 dní
Deti	Fenoxymethylpenicilín	80 - 100 tis. IU/kg, denne, perorálne	10 - 14 dní
	Cefuroxim-axetil	30 mg/kg, 1-krát denne, perorálne	10 - 14 dní
	Azitromycín	1.deň: 20 mg/kg, 1-krát denne, perorálne 2.-5. deň: 10 mg/kg, 1-krát denne, perorálne	5 dní
	Klaritromycin	15 mg/kg, 1-krát denne, perorálne	10 - 14 dní

Pre porovnanie v tabuľke č.2 je rozpísaná terapia EM, ktorá je doporučená v Spojených štátoch amerických.

Tabuľka č. 2: Terapia EM v Spojených štátoch amerických (Kowalski a kol., 2010)

Veková kategória	Liek	Dávkovanie	Dĺžka liečby
Dospelý	Doxycyklín	100 mg, 2-krát denne, orálne	10 – 14 dní
	Amoxicilín	500 mg, 3-krát denne, orálne	14 dní
	Cefuroxím	500 mg, 2-krát denne, orálne	14 dní
Deti	Doxycyklín	4,4 mg/kg denne, rozdelených do 2 dávok, orálne	10 – 14 dní
	Amoxicilín	50 mg/kg denne, rozdelených do 3 dávok, orálne	14 dní
	Cefuroxím	30 mg/kg denne, rozdelených do 2 dávok, orálne	14 dní

V druhom štádiu LB sa vyskytujú príznaky lyskej karditídy, boréliový lymfocytom, neuroborelióza. Doporučené liečby pre jednotlivé symptómy sú rozpísané v nasledujúcich tabuľkách.

Lyská karditída môže byť liečená perorálnymi alebo intravenóznymi antibiotikami v závislosti od závažnosti. Niektorí pacienti môžu potrebovať dočasný kardiostimulátor. Pacienti sa vo všeobecnosti zotavia v priebehu 1 – 6 týždňov (Afari a kol., 2016).

Tabuľka č. 3: Liečba lymfatickej karditídy v ČR (Stanek a kol., 2012)

Veková kategória	Liek	Dávkovanie	Dĺžka liečby
Dospelý	Doxycyklín	100 mg, 2-krát denne alebo 200 mg, 1-krát denne, perorálne	10 – 14 dní
	Amoxicilín	500 – 1000 mg, 3-krát denne, perorálne	10 – 14 dní
	Cefuroxim-axetil	500 mg, 2-krát denne, perorálne	10 – 14 dní
	Ceftriaxón	2 g, 1-krát denne, intravenózne	14 – 28 dní
	Cefotaxim	2 g, 3-krát denne, intravenózne	14 – 28 dní
Deti	Doxycyklín	4 mg/kg, 1-krát denne, perorálne	10 – 14 dní
	Amoxicilín	50 mg/kg, 1-krát denne, perorálne	10 – 14 dní
	Cefuroxim-axetil	30 mg/kg, 1-krát denne, perorálne	10 – 14 dní
	Ceftriaxón	50 – 75 mg/kg, 1-krát denne, intravenózne	14 – 28 dní
	Cefotaxim	150 – 200 mg/kg, 1-krát denne, intravenózne	14 – 28 dní

Tabuľka č. 4: Antibiotická liečba LK v Spojených štátoch amerických (Cunha a kol., 2018; Costello.a kol., 2009)

Veková kategória	Liek	Dávkovanie	Dĺžka liečby
Dospelý	Doxycyklín	100 mg, 2-krát denne, orálne	14 – 21 dní
	Amoxicilín	500 mg, 3-krát denne, orálne	14 – 21 dní
	Cefuroxím	500 mg, 2-krát denne, orálne	14 – 21 dní
	Cefriatox	2 g, raz denne, intravenózne	14 – 21 dní
Deti	Doxycyklín	4,4 mg/kg denne, rozdelených do 2 dávok, orálne	14 – 21 dní
	Amoxicilín	50 mg/kg denne, rozdelených do 3 dávok, orálne	14 – 21 dní
	Cefuroxím	30 mg/kg denne, rozdelených do 2 dávok, orálne	14 – 21 dní
	Cefriatox	50 – 75 mg/kg, raz denne, intravenózne	14 – 21 dní

Na liečbu NB je efektívny penicilín G a cefalosporíny v parentálnom režime. Ceftriaxón je uprednostňovaný, vďaka tomu, že sa podáva len 1-krát denne. Nevýhodou je jeho vedľajší účinok, kedy sa v žlčníku vytvárajú malé kryštály, ktoré môžu mať za následok kolikovitú bolesť a následnú cholecystitídu.

Tabuľka č. 5: Doporučená liečba NB v Českej republike (Halperin a kol., 2007)

Veková kategória	Liek	Dávkovanie	Dĺžka liečby
Dospelý	Doxycyklín	100 mg, 2-krát denne alebo 200 mg, 1-krát denne, perorálne	10 – 14 dní
	Cefriaxon	2 g, 1-krát denne, intravenózne	14 – 28 dní
	Cefotaxim	2 g, 3-krát denne, intravenózne	14 – 28 dní
	Benzylopenicilín (penicilín G)	4 – 5 mil. IU po 4-6 hodinách, intravenózne	14 – 28 dní
Deti	Doxycyklín	4 mg/kg, 1-krát denne, perorálne	10 – 14 dní
	Cefriaxon	50 – 75 mg/kg, 1-krát denne, intravenózne	14 – 28 dní
	Cefotaxim	150 – 200 mg/kg, 1-krát denne, intravenózne	14 – 28 dní
	Benzylopenicilín (penicilín G)	200 – 400 tis. IU/kg, denne, intravenózne	14 – 28 dní

Tabuľka č. 6: Popis liečby boréliového lymfocytomu v ČR (Stanek a kol., 2012)

Veková kategória	Liek	Dávkovanie	Dĺžka liečby
Dospelý	Fenoxymethylpenicilín	1-1,5 mil. IU, 3-krát denne, perorálne	10 – 14 dní
	Cefuroxim-axetil	500 mg, 2-krát denne, perorálne	10 – 14 dní
	Azitromycín	1.deň: 500 mg, 2-krát denne, perorálne 2.-5. deň: 500 mg, 1-krát denne, perorálne	5 dní
	Klaritromycin	500 mg, 2-krát denne, perorálne	10 – 14 dní
Deti	Fenoxymethylpenicilín	80 – 100 tis. IU/kg, denne, perorálne	10 – 14 dní
	Cefuroxim-axetil	30 mg/kg, 1-krát denne, perorálne	10 – 14 dní
	Azitromycín	1.deň: 20 mg/kg, 1-krát denne, perorálne 2.-5. deň: 10 mg/kg, 1-krát denne, perorálne	5 dní
	Klaritromycin	15 mg/kg, 1-krát denne, perorálne	10 – 14 dní

V 3. štádiu ochorenia, ktorý sa vyznačuje trvajúcimi klinickými prejavmi, sa vyskytujú symptómy ACA a lymská artritída. U takýchto pacientov a u pacientov so závažnými základnými ochoreniami (autoimunné ochorenia, imunosupresívna terapia) sa niekedy doporučuje liečbu predĺžiť z 21 dňoch na 28 dní.

Tabuľka č. 7: Liečba ACA v Českej republike (Stanek a kol., 2012)

Veková kategória	Liek	Dávkovanie	Dĺžka liečby
Dospelý	Cefriaxon	2 g, 1-krát denne, intravenózne	14 – 28 dní
	Cefotaxim	2 g, 3-krát denne, intravenózne	14 – 28 dní
Deti	Cefriaxon	50 – 75 mg/kg, 1- krát denne, intravenózne	14 – 28 dní
	Cefotaxim	150 – 200 mg/kg, 1- krát denne, intravenózne	14 – 28 dní

Tabuľka č. 8: Lymská artritída a jej rozpis liečby v ČR (Arvikar, Steere, 2015)

Veková kategória	Liek	Dávkovanie	Dĺžka liečby
Dospelý	Doxycyklín	100 mg, 2-krát denne, orálne	10 – 14 dní
	Amoxicilín	500 mg, 3-krát denne, orálne	10 – 14 dní
	Cefuroxim-axetil	500 mg, 2-krát denne, perorálne	10 – 14 dní
	Cefriaxon	2 g, 1-krát denne, intravenózne	14 – 28 dní
	Cefotaxim	2 g, 3-krát denne, intravenózne	14 – 28 dní
Deti	Doxycyklín	4,4 mg/kg denne, rozdelených do 2 dávk, orálne	10 – 14 dní
	Amoxicilín	50 mg/kg denne, rozdelených do 3 dávk, orálne	10 – 14 dní
	Cefuroxim-axetil	30 mg/kg, 1-krát denne, perorálne	10 – 14 dní
	Cefriaxon	50 – 75 mg/kg, 1- krát denne, intravenózne	14 – 28 dní
	Cefotaxim	150 – 200 mg/kg, 1- krát denne, intravenózne	14 – 28 dní

Tabuľka č. 9: Liečba lymfatickej artritídy v Spojených štátoch amerických (Dattwyller a kol., 2005, Tory a kol., 2010)

Veková kategória	Liek	Dávkovanie	Dĺžka liečby
Dospelý	Doxycyklín	100 mg, 2-krát denne, orálne	28 dní
	Amoxicilín	500 mg, 3-krát denne, orálne	28 dní
	Cefuroxím	500 mg, 2-krát denne, orálne	28 dní
	Cefriatox	2 g, denne, intravenózne	14 – 28 dní
Deti	Doxycyklín	4,4 mg/kg denne, rozdelených do 2 dávok, orálne	28 dní
	Amoxicilín	50 mg/kg denne, rozdelených do 3 dávok, orálne	28 dní
	Cefuroxím	30 mg/kg denne, rozdelených do 2 dávok, orálne	28 dní
	Cefriatox	50 – 75 mg/kg, raz denne, intravenózne	28 dní

Z porovnaní dĺžky liečby v USA a Českej republiky je patrné, že kratšia doba podávania antibiotík je účinkovo rovnaká ako dlhodobjšia liečba.

Terapeutický efekt antibiotickej liečby je hodnotený klinickým zmiernením symptómov alebo vymiznutím prejavov LB. Neexistuje test, ktorý by spoľahlivo dokazoval vyliečenie infekcie, pretože koncentrácia protilátok nie je hodnotením parametrom úspešnosti liečby. Signifikantný pokles protilátok je až o niekoľko mesiacov, niekedy aj rokov. U neskorších foriem LB klesajú hladiny protilátok veľmi pomaly a pretrvávajú aj po skončení antibiotickej terapie (Marzec a kol., 2017).

U infekcií, pri ktorých neustupujú všetky klinické prejavy infekcie do konca antibiotickej liečby, bolo dokázané, že ani prolongovaná, ani opakovaná antimikrobiálna liečba neprináša žiadny pozitívny dodatočný efekt a nie je ani doporučovaná (DeLong a kol., 2012).

2 LABORATÓRNA DIAGNOSTIKA

Základom k diagnostike LB sú klinické príznaky, najčastejšie z nich EM (Branda a kol., 2017). Veľmi významné pre diagnostiku je, ak si pacient pamätá na predchádzajúce prisatie kliešť'a, pretože toto uniká často pozornosti. K dôkazu Bb v organizme sa používa niekoľko metód, či už priame alebo nepriame metódy (Marques a kol., 2015).

K zahájeniu antibiotickej liečby je nutné zvážiť klinické i laboratórne nálezy. Častý je totiž výskyt pacientov so špecifickými protilátkami bez toho, aby mali nejaké prejavy ochorenia alebo naopak, výskyt pacientov bez protilátok, ktorí majú klinické obtiaže (Coulter a kol., 2005). Samostatný nález protilátok by teda nemal byť indikáciou k nasadeniu antibiotickej liečby. (Branda a kol., 2017).

2.1 Nepriame metódy dôkazu bakteriálnej infekcie

Nepriame metódy zisťujú imunitnú odpoveď hostiteľa na imunologické agens. Z nepriamych metód sa využíva detekcia tvorby protilátok s využitím metódy ELISA a následná metóda Western blot. Tieto metódy patria k vyšetreniam sérologickým (Coulter a kol., 2005). V pokročilejších fázach sa používa vyšetrenie likvoru pri podozrení na neuroboreliózu, vyšetrenie kĺbneho vzorku pri ochorení kĺbov, či elektrokardiografické vyšetrenie pri podozrení na karditídu. (Marques, 2015).

2.1.1 Sérologické metódy

Imunitný systém reaguje na prítomnosť borélii tvorbou IgM a neskôr tvorbou IgG, ale nemusia sa nikdy vytvoriť, ak sa u pacienta začne včas vhodná antimikrobiálna liečba (Schriefer, 2015). Hodnoty protilátok vyšetrujeme metódami ELISA, Western blot a nepriama fluorescencia. Tieto metódy sú zamerané na preukázanie špecifických protilátok IgM a IgG v sére, alebo v inom biologickom materiáli, ako je napríklad likvor a kĺbny punktát.

Ak sa infekcia nelieči, spirochéta sa môže šíriť krvou z miesta uhryznutia do rôznych tkanív. Bunkami aj protilátkami sa aktivuje imunita, ktorá v tomto štádiu zabíja spirochéty (Stanek a kol., 2012). Protilátková odpoveď imunoglobulínu M nastáva za 3 až 6 týždňov, po ktorej nasleduje silná IgG odpoveď. Laboratórne vyšetrenie má význam vykonať až po cca 4 týždňoch od prisatia.

IgM môže reagovať aj s inými antigénmi, ako sú tie, ktoré sú spojené s Bb, preto je test na IgM menej špecifický ako test na IgG.

Akonáhle je pacient exponovaný a dosiahne protilátkami sprostredkovanú odpoveď na spirochétu, protilátkový filter môže pretrvávajúť mesiace až roky, dokonca aj po úspešnej antibiotickej liečbe (Schriefer, 2015).

Napriek silnej sérii obranných mechanizmov imunitného systému môže neliečená infekcia Bb pretrvávajúť, pretože organizmus má veľa trikov, ako sa vyhnúť zničeniu. Môže znížiť svoju expresiu špecifických imunogénnych povrchovo exponovaných proteínov, zmeniť svoje antigénne vlastnosti prostredníctvom rekombinácie a viazať sa na proteíny extracelulárnej matrice pacienta, aby sa uľahčilo ďalšie šírenie (Stanek a kol., 2012).

Určité hostiteľsko-genetické faktory tiež zohrávajú úlohu v patogenéze lymskej choroby, ako je alela HLA-DR4, ktorá sa spája s artritídou súvisiacou s lymskou boreliózou odolnou voči antibiotikám (Hu, 2016).

2.1.1.1 Metóda ELISA

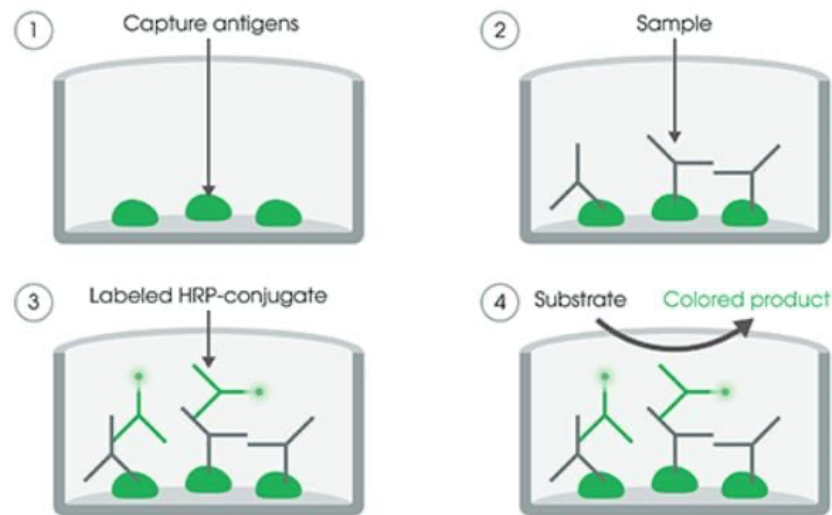
ELISA je známa ako EIA a je najpoužívateľnejším sérologickým testom. Najväčšou výhodou je jej nízka cena. Slúži k stanoveniu hladiny špecifických protilátok v triedach IgG a IgM. Metóda je založená na reakcii antigénu a špecifickej protilátky. Sandwichová ELISA obsahuje pevnú fázu v podobe mikrotitračnej doštičky, na ktorú sú naviazané antigény. Po pridaní vzorku do jamiek dochádza k reakcii antigén-protilátka.

V tejto metóde sa môžu používať vzorky punktátu, séra a likvoru.

Princíp testu

K vykonaní testu potrebujeme mikrotitračnú doštičku s naviazanými antigénmi v jednotlivých jamkách, kam sa pridáva vzorok od pacienta. Pokiaľ má tento vzorok špecifické protilátky, viažu sa na antigény a vytvárajú komplex antigén-protilátka. Na takto pripravený komplex sa následne naviaže pridaná zvieracia protilátka proti ľudskému séru, ktorá je konjugovaná s peroxidázou (viz Obrázok č. 5). Aktivita peroxidázy sa prejavuje po pridaní substrátu s TMB (tetramethylbenzidin). Pokiaľ je táto reakcia pozitívna, komplex má vďaka uvoľneniu TMB modrú farbu. V závere sa pridáva zastavovací roztok, ktorý celý proces ukončí. Kvôli zmene pH sa tak modrá farba mení na farbu žltú. Intenzita tohto zafarbenia sa meria fotometrom pri vlnovej dĺžke 450 nm a je úmerná koncentrácii špecifických protilátok IgG/IgM vo vzorku.

Keď sa stanovuje antiboreliová protilátka triedy IgG, využíva sa kombinácia antigénov *Borrelia burgdorferi s.l.*: VIsE, p83, p41i, p39, OspC a p17. V prípade testovania pomocou IgM, používajú sa antigény OspC, p41i a p39 (TEST LINE, návod diagnostického setu EIA IgG, 2017; TEST LINE, návod diagnostického setu EIA IgM, 2017).



Obrázok č.5: Princíp ELISA metódy (zdroj: <https://www.abcam.com/borrelia-burgdorferi-igg-elisa-kit-ab178635.html#1b>)

Vyhodnotenie výsledkov

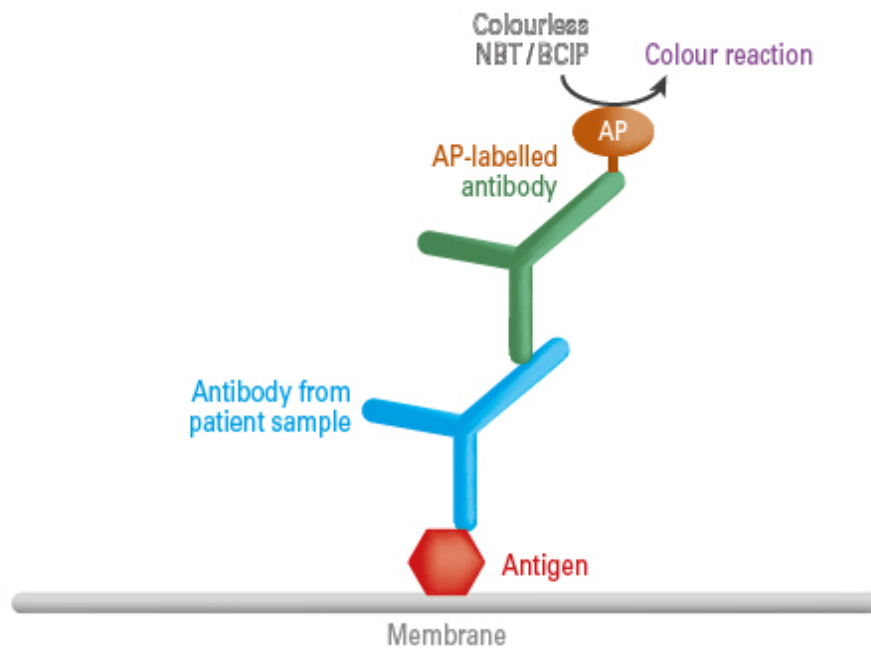
Výsledky sér a likvoru sa hodnotia pomocou indexu pozitivity (IP), ktorý vypočítame delením absorbancie testovaného vzorku priemernou absorbanciou Cut-off. Pokiaľ je index menší než 0,9, potom je výsledok negatívny. Hodnoty 0,9 – 1,1 sú hraničné a test sa opakuje za 3 – 6 týždňov. V prípade, že IP je vyššie než 1,1 hovoríme o pozitívnom výsledku (TEST LINE, návod diagnostického setu EIA IgG, 2017; TEST LINE, návod diagnostického setu EIA IgM, 2017).

2.1.1.2 Metóda Western blot

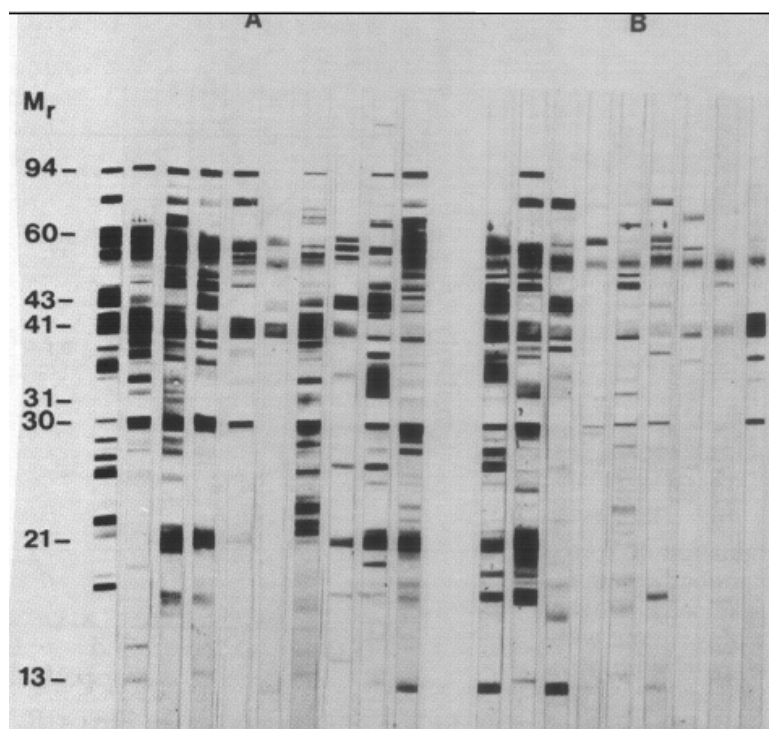
Western blot sa používa ku confirmácii výsledkov z metódy ELISA, ktorá slúži pre screening. Dokážeme stanoviť protilátky proti jednotlivým antigénom, a to aj v malých koncentráciách. Je to metóda náročnejšia, ale v súčasnosti sú dostupné aj komerčné sústavy, ktoré sú menej náročnejšie, ale sú finančne náročnejšie.

Princíp testu

Princípom je detekcia ľudských protilátok IgM/IgG namiereným proti antigénom borélie (viz Obrázok č. 6). Blotové stripy sa inkubujú spoločne s pacientovými vzorkami. Ak sa vo vzorkoch nachádzajú protilátky, dochádza k ich naviazaní na antigény umiestnených na stripoch. Pre zvýraznenie pozitívnej reakcie sa používa enzýmový konjugát s anti-ľudskými IgG/IgM, ktorý vyvolá farebnú zmenu pruhov (viz Obrázok č. 7) (EUROIMMUN, návod diagnostického setu IgM, 2017; EUROIMMUN, návod diagnostického setu IgG, 2017).



Obrázok č.6: Princíp imunoblotu (zdroj: <https://www.euroimmun.com/products/techniques/immunoblot/>)



Obrázok č.7: Stripy používané pri metóde Western blot (zdroj: <http://www.szu.cz/tema/prevence/diagnostika-lymeske-borreliozy-v-nrl-lb>)

Vyhodnotenie výsledkov

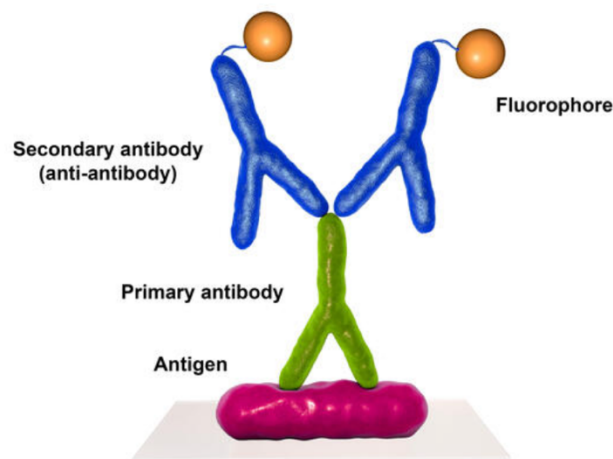
Výsledky sa hodnotia pomocou softwaru EUROLineScan. To, že test bol úspešný, poznáme podľa zafarbených kontrolných pruhov. Pokiaľ je test negatívny, test sa musí zopakovať (EUROIMMUN, návod diagnostického setu IgM, 2017; EUROIMMUN, návod diagnostického setu IgG, 2017).

2.1.1.3 Nepriama fluorescencia

Nepriama fluorescencia sa používala ako prvá metóda pri objavení ochorenia lyskej boreliózy. Využíva reakcie protilátok s antigénom borélie (viz Obrázok č. 8). Metóda má nižšiu senzitivitu, špecifiku a hodnotí sa subjektívne a práve preto sa v dnešnej dobe používa už len zriedka.

Princíp testu

Testuje sa zo vzorkov likvoru, kĺbneho punktátu a hlavne z krvi. Nepriama imunofluorescencia pozostáva z dvoch krokov. Najskôr sú spirochéty zafixované na podložné sklíčko a inkubované s ľudským sérom, ktorý je riedený raz alebo viackrát. Pri detekcii sa ľudské anti-*B. burgdorferi* protilátky viažu na spirochéty. Protilátka, ktorá je určená proti ľudskému imunoglobulínu je značená fluoresceínom. Po inkubácii je táto sekundárna protilátka vizualizovaná vo fluorescenčnom mikroskope.



Obrázok č. 8: Princíp nepriamej imunofluorescencie (zdroj:

<https://www.alamy.es/imagenes/inmunofluorescencia.html>)

Vyhodnotenie výsledkov

V prípade pozitívneho výsledku protilátky značené fluorescenčným farbivom vykazujú zelené sfarbenie, v prípade negativity majú farbu červenú.

2.2 Priame metódy dôkazu bakteriálnej infekcie

Tieto metódy sú založené na dôkaze prítomnosti pôvodcu v biologickom materiály. Biologický materiál vhodný k vyšetreniu je napríklad krv, moč, likvor a kĺbny maz. Odber takého vzorku musí byť vykonaný prísny aseptickým spôsobom. Z priamych metód sa uplatňujú metódy mikroskopické alebo kultivačné, ktoré neposkytujú až takú citlivosť. Ako dôvod označujeme nízku hustotu borélii v tkanivách. Na druhej strane kultivačné metódy vyžadujú použitie komplexného média a býva často neúspešná.

2.2.1 Kultivácia borélii z klinických vzorkov

Kultivácia borélii sa využíva prioritne pre výskumné účely, v klinickej praxi sa užíva k potvrdeniu diagnózy. Pre kultiváciu sa používajú vzorky kože, likvoru a synoviálnej tekutiny (Marquez, 2015).

Princíp testu

Pre kultiváciu borélii sa využíva viacero pôd, napríklad: BSK-2, Sigma, EMEM s pridaným zajačím alebo konským sérom a vitamínmi. Na začiatku je statická fáza, pri ktorej dochádza k veľkému nárastu kolónií baktérií a táto fáza trvá 2 týždne (viz Obrázok č. 9). Nasleduje kontinuálna fáza, kde sa namnožené borélie presunú na novú pôdu a tento proces sa opakuje každé štyri dni. Presuny musia prebiehať za prísne sterilných podmienok, aby nedošlo ku kontaminácii. Pre rast borélii musíme dodržať teplotu, ktorá by sa mala pohybovať v rozmedzí 34 – 35 °C, pH 7,5 a oxidoredukčný potenciál 0,1 – 0,2. Kultiváciou dokážeme prítomnosť živej borélie v tele pacienta (Oliver a kol., 2000).



Obrázok č.9: Kolónie *Borrelie burgdorferi* na kultivačnej miske (zdroj: <https://slideplayer.com/slide/6626097/>)

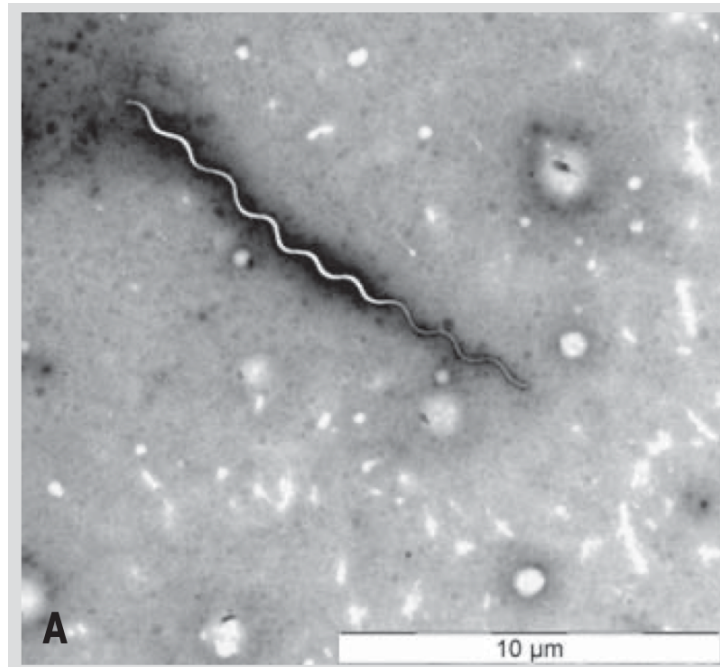
2.2.2 Elektrónová mikroskopia

Elektrónovým mikroskopom sa určuje morfológia baktérie. Tým sa myslí jej stavba, počet bičiek a stavba bunkovej membrány (viz Obrázok č. 10).

Vyšetrovaným materiálom sú kliešte dodané krajským hygienickým staniciam.

Princíp testu

Používajú sa tenké rezy a bunkový sediment, ktorý sa získal centrifugáciou. Rezy sa farbja 1% kyselinou fosfowolframovou alebo 8% uranylacetátom. Fixácia prebieha ako u klasických histologických preparátov (Buhner, 2014).



Obrázok č.10: Helikálna forma *Borrelie burgdorferi* pozorovaná na elektrónovom mikroskope (zdroj: <https://www.solen.cz/pdfs/der/2008/05/07.pdf>)

2.2.3 Dôkaz bakteriálnej DNA metódou PCR

Polymerázová reťazová reakcie – PCR je založená na opakovaní troch teplotne odlišných krokov, behom nich je DNA namnožená (Zajkowska a kol., 2008). Túto metódu je najvhodnejšie praktikovať vo včasnej fáze infekcie, kedy dochádza k prenosu baktérii po prisatí kliešťá, až do doby, kedy sa objavia protilátky proti bakteriálnym antigénom. V tejto ranej fáze slúži PCR metóda k potvrdeniu diagnózy, neskoršom môže zlepšiť laboratórnu diagnostiku. Pri výkone metódy je dôležitý predovšetkým výber materiálu, spôsob odberu a typ metódy PCR (Maraspin a kol., 2011).

Pozornosť by sa mala venovať vhodnému spôsobu odberu sondy pre PCR. Rozhodujúca je krátka doba skladovania materiálu a optimálna teplota by sa mala pohybovať okolo 4°C. Etanol, parafín, formalín sa používajú ako fixačné činidlá. Pri opakovanom zmrazovaní a rozmrazovaní materiálu môže dochádzať k fragmentácii alebo k úplnej degradácii DNA, preto je dôležité sa tomuto vyhýbať (Aguero-Rosenfeld a kol., 2005).

Kožná biopsia sa odoberá z EM lézií len 3 dni po uhryznutí. Brettschneider a kol. dokázali, že detekovateľnosť *B. burgdorferi* pomocou PCR je vyššia v čerstvo odobratých léziách v porovnaní s tkanivami, ktoré sú uložené v parafíne alebo fixované vo formalíne (Kondrusik a kol., 2007).

Pozitívny výsledok PCR v kĺbovej tekutine pacientov s lymskou artritídou môže potvrdiť diagnózu a dokazuje pretrvávajúcu infekciu.

Lumbálna punkcia je nevyhnutná pri podozrení na neuroboreliózu. Po odbere sa musí aseptický cerebrospinálny mok vyšetriť na produkciu intratekálnych protilátok. Pre nízky počet spirochét v moku a možnosť degradácie genetického materiálu infekciu nevyklučuje ani negatívna PCR (Maraspin a kol., 2011).

Najbežnejší materiál k detekcii DNA sa javí krv, pretože je k nej ľahký prístup. Výsledky vyšetrenia môžu negatívne ovplyvniť inhibítory ako napríklad: heparín, etanol, hemoglobín, ale tiež aj odber krvi. PCR testy z krvi sú relevantné vo včasnej fáze ochorenia, keď sa spirochéty šíria z kože do orgánov (Zajkowska a kol., 2008).

Najjednoduchším materiálom, ktorý sa dá pacientovi odobrať je moč. Kondrusik a kol. preukázali nedostatok DNA *B. burgdorferi* vo vzorkách, preto sa v súčasnosti moč pre metódu PCR z dôvodu nízkej špecificity amplifikácie nevykonáva (Maraspin a kol., 2011).

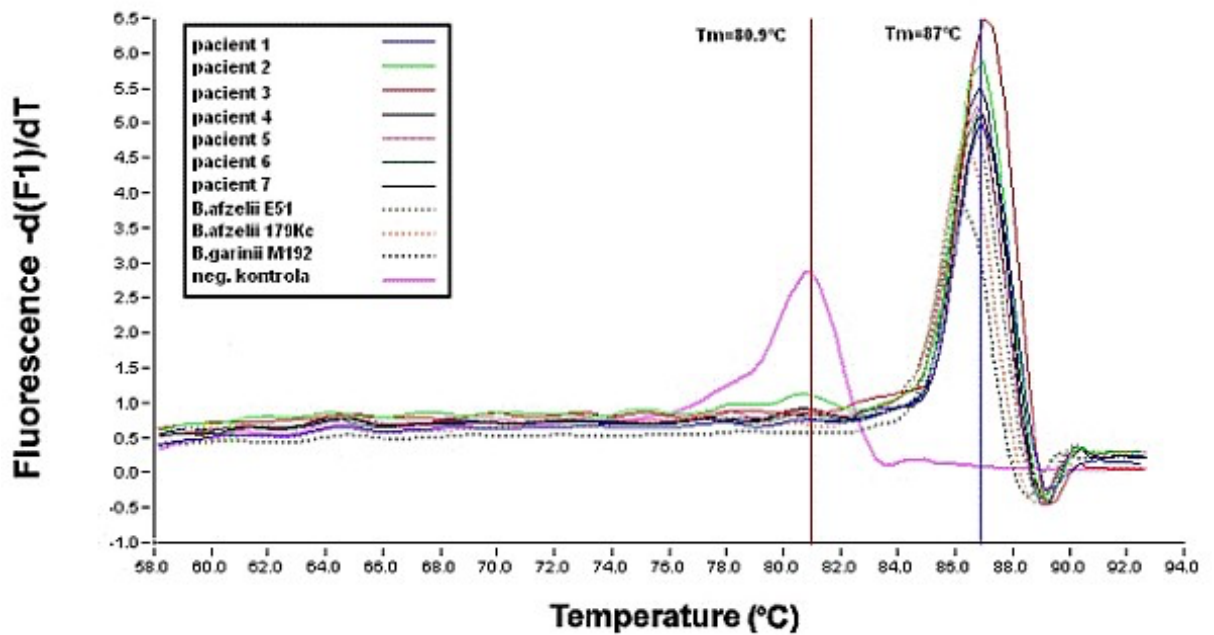
Pri detekcii sa proces extrakcie DNA, výber primérov a reakčné podmienky nelíšia od štandardných. V dnešnej dobe je najbežnejšie laboratórna metóda, ktorá slúži k detekcii borélii je RealTime PCR. Od klasickej PCR sa líši tým, že výsledky sa vyhodnocujú až po skončení reakcie. Metóda umožňuje monitorovať prírastky DNA behom každého cyklu, vďaka tomu je analýza rýchlejšia a jednoduchšia. Hranice detekcie borélii je pri tejto metóde zhruba od 10 borélii (Opel a kol., 2010).

Princíp testu

V metóde RealTime PCR sa používajú dva primery a sonda s fluorescenčnou značkou (nešpecifický SYBR green alebo špecifický TaqMan). K detekcii boréliovej DNA a internej kontroly sa využívajú značené sondy. Keď sa vo vzorku nachádza správny templát, v našom prípade boréliova DNA, dochádza k naviazaniu a uvoľneniu primerov a sond. So stúpajúcim množstvom DNA rastie aj počet naviazaných sond. Vzorek po ožiarení svetlom o určitej vlnovej dĺžke emituje žiarenie s inou vlnovou dĺžkou, ktorá je špecifická pre každú značku. Čím väčšie množstvo naamplifikovanej DNA, tým je sila fluorescencie vyššia. Výsledkom metódy RealTime PCR je amplifikačná krivka, ktorá znázorňuje závislosť fluorescencie na počte cyklov, ktoré prebehli (Opel a kol., 2010).

Vyhodnotenie výsledkov

U negatívnych vzorkoch nedochádza k amplifikácii, preto má krivka rovný priebeh na úrovni fluorescenčného pozadia. U pozitívnych vzorkoch dochádza pri dostatočnom namnožení ampikonu k prechodu krivky do exponenciálnej fázy. Tá je obvykle medzi 25. až 35. cyklom (viz Obrázok č. 11) (Jones a kol., 2006).



Obrázok č. 11: Dôkaz DNA borélie u pacientov pomocou RealTime PCR (zdroj: <http://www.szu.cz/tema/prevence/diagnostika-lymeske-borreliozy-v-nrl-lb>)

3 IMUNITNÝ SYSTÉM A LYMSKÁ BORELIÓZA

Imunitný systém patrí k hlavným mechanizmom organizmu. Tým, že imunitný systém vie rozdeliť škodlivé od neškodlivého zaisťuje udržiavanie integrity organizmu. Vďaka funkcii rozpoznávania škodlivých látok ochraňuje organizmus pred patogénmi. Imunitný systém má funkciu autotolerancie, čo znamená, že rozpoznáva vlastné tkanivá a udržiava toleranciu voči nim. Má funkciu aj ako imunitný dohľad, vďaka ktorému priebežne odstraňuje z tela staré a poškodené bunky. Imunitná reakcia je vyvolaná antigénmi a zabezpečuje ju vzájomná spolupráca prirodzeného a adaptívneho imunitného mechanizmu.

Bunkovú zložku vrodenej imunity zabezpečujú predovšetkým bunky, ktoré sú schopné fagocytózy. Patria sem granulocyty, monocyty, makrofágy a dentritické bunky. Rozpoznávajú a pohlcujú škodlivé látky, ktoré sú zničené enzymatickými procesmi.

Humorálnu zložku prirodzenej imunity predstavujú plazmatické bielkoviny. Z toho je dôležitý komplement, ktorý pri aktivácii vedie k tvorbe štepov s chemotaktickými vlastnosťami a k tvorbe membranolýtického komplexu.

3.1 Hlavné zložky imunitného systému

Imunitný systém pozostáva z mnohých častí, ktoré spolupracujú pri obrane tela pred útočníkmi. Primárne časti imunitného systému zahŕňajú kostnú dreň a týmus. Kostná dreň je mimoriadne dôležitá pre imunitný systém, pretože všetky krvné bunky tela (vrátane T a B lymfocytov) pochádzajú z kostnej drene (Marshall, 2004). B-lymfocyty zostávajú v dreni dozrieť, zatiaľ čo T-lymfocyty putujú do týmusu.

Týmus je dvojlaločná žľaza umiestnená nad srdcom, za hrudnou kosťou a medzi pľúcami (Klinker, Lundy, 2012). Brzlík je aktívny len do puberty, potom sa pomaly znižuje a je nahradený tukom a spojivovým tkanivom. Týmus je zodpovedný za produkciu hormónu tymozínu, ktorý zase pomáha pri produkcii T-buniek (Wernersson, Pejler, 2014). Zatiaľ čo v týmuse sa T-bunky množia, získavajú rôzne antigénne receptory a diferencujú sa na pomocné T-bunky a cytotoxické T-bunky. Na povrchu T-buniek sú exprimované rôzne proteíny (napríklad CD4 a CD8). Týmus bude produkovať všetky T-bunky, ktoré jednotlivec potrebuje do puberty (O'Leary a kol., 2006).

Po dozrení T a B lymfocytov v týmuse a kostnej dreni potom putujú do lymfatickým uzlín a sleziny, kde zostanú, kým sa neaktivuje imunitný systém (Klinker, Lundy, 2012). Lymfatické uzliny sa nachádzajú po celom tele. Slezina sa nachádza v ľavej hornej časti brucha,

za žalúdkom a pod bránicou (Marshall, 2004). Hlavnou úlohou sleziny je filtrácia krvi. Zdravé červené krvinky ľahko prechádzajú cez slezinu, poškodené červené krvinky rozkladajú makrofágy v slezine. Slezina slúži ako skladovacia jednotka pre krvné doštičky a biele krvinky, pomáha imunitnému systému identifikáciou mikroorganizmov, ktoré môžu spôsobiť infekciu (Gurish, Austen, 2012).

Okrem lymfatických uzlín a sleziny hrajú dôležitú úlohu v imunitnom systéme aj lymfoidné tkanivá spojené so sliznicou (MALT) a lymfoidné tkanivá spojené s črevami (GALT), hoci sa považujú za súčasť lymfatického systému. MALT sú lymfoidné tkanivá nachádzajúce sa v častiach tela, kde je prítomná sliznica, ako sú črevá, oči, nos, koža a ústa (Jost, Altfeld, 2013). Obsahujú makrofágy a lymfocyty, ktoré bránia patogénom, ktoré sa pokúšajú preniknúť zvonku do tela. GALT sú lymfoidné tkanivá nachádzajúce sa v sliznici a submukóze gastrointestinálneho traktu, mandliach, slepom čreve a Peyerových plátoch v tenkom čreve.

Mnohé bunky spolupracujú ako súčasť vrodeného a adaptívneho imunitného systému. Imunitné bunky nazývame ako biele krvinky alebo leukocyty (Marshall, 2004).

Granulocyty sú typom leukocytov, ktoré vo svojej cytoplazme obsahujú granuly obsahujúce enzýmy. Neutrofilý, bazofily a eozinofily sú typy granulocytov. Neutrofilý sa považujú za prvých reagujúcich na vrodený imunitný systém (Wernersson, Pejler, 2014), . Neutrofilý a makrofágy cirkulujú v krvi a nachádzajú sa v tkanivách a sledujú potenciálne problémy. Obe bunky môžu pohltiť baktérie a tiež komunikovať s inými imunitnými bunkami, ak sa vyskytne problém (Rothenberg, Hogan, 2006).

Bunky adaptívneho imunitného systému, inak nazývané imunitné efektorové bunky, vykonávajú imunitnú funkciu ako odpoveď na stimul. Prirodzené zabíjačské T-lymfocyty a B-lymfocyty sú príkladmi efektorových buniek (Gurish, Austen, 2012). Napríklad aktivované T-lymfocyty ničia patogény prostredníctvom bunkami sprostredkovanej reakcie. Aktivované B-bunky vylučujú protilátky, ktoré pomáhajú pri naštartovaní imunitnej odpovede. Efektorové bunky sa podieľajú na deštrukcii rakoviny (Wernersson, Pejler, 2014).

Neefektorové bunky sú bunky prezentujúce antigén (APC), ako sú dendritické bunky, regulačné T-bunky, makrofágy a supresorové bunky odvodené od myeloidu (Jost, Altfeld, 2013).

3.2 Vrodená a adaptívna imunitná odpoveď

Prvou líniou obrany proti vlastným patogénom je vrodená alebo nešpecifická imunitná odpoveď. Vrodená imunitná odpoveď pozostáva z fyzickej, chemickej a bunkovej obrany proti

patogénom. Hlavným účelom vrodenej imunitnej odpovede je okamžite zabrániť šíreniu a pohybu cudzích patogénov po tele (Janeway a kol., 2001).

Druhá línia obrany proti vlastným patogénom sa nazýva adaptívna imunitná odpoveď. Adaptívna imunita sa tiež označuje ako získaná alebo špecifická imunita a nachádza sa len u stavovcov (Cruse a kol., 2004). Adaptívna imunitná odpoveď je špecifická pre prezentovaný patogén. Adaptívna imunitná odpoveď je určená na útok na iné než vlastné patogény, ale niekedy môže robiť chyby a zaútočiť sama na seba. Keď k tomu dôjde, môžu sa vyvinúť autoimunitné ochorenia (Janeway a kol., 2001).

Charakteristickým znakom adaptívneho imunitného systému je klonálna expanzia lymfocytov. Klonálna expanzia je rýchly nárast T a B lymfocytov z jednej alebo niekoľkých buniek na milióny (Kurtz, 2005). Každý klon, ktorý pochádza z pôvodného T alebo B lymfocytu, má rovnaký antigénový receptor ako pôvodný a bojuje proti rovnakému patogénu.

Zatiaľ čo prirodzená imunitná odpoveď je okamžitá, adaptívna imunitná odpoveď nie je (Quintin a kol., 2014). Účinok adaptívnej imunitnej odpovede je však dlhodobý, vysoko špecifický a je dlhodobo udržiavaný pamäťovými T-bunkami.

V rámci adaptívneho imunitného systému existujú dva hlavné mechanizmy imunity – humorálny a bunkový (Janeway a kol., 2001).

Humorálna imunita sa tiež nazýva imunita sprostredkovaná protilátkami. S pomocou pomocných T-buniek sa B-bunky diferencujú na plazmatické B-bunky, ktoré môžu produkovať protilátky proti špecifickému antigénu. Humorálny imunitný systém sa zaoberá antigénmi alebo sú mimo infikovaných buniek (Cruse a kol. 2004). Protilátky produkované B-bunkami sa budú viazať na antigény, neutralizovať ich alebo spôsobovať lýzu alebo fagocytózu.

Bunková imunita sa vyskytuje vo vnútri infikovaných buniek a je sprostredkovaná T-lymfocytmi. Antigény patogénu sú exprimované na bunkovom povrchu alebo na bunke prezentujúcej antigén (Quintin a kol., 2014). Pomocné T-bunky uvoľňujú aktivovaným T-bunkám viazať sa na komplex MHC-antigén infikovaných buniek a diferencovať T-bunku na cytotoxické. Infikovaná bunka potom podlieha lýze (Kurtz, 2005).

3.3 Pribeh boréliovej infekcie

Pri cicaní kliešť poruší vrstvu epidermy, tým sa vytvorí rana, ktorá sa naleje krvou, tzv. feeding pool. Zo slinných žliaz kliešť uvoľňuje molekuly, ktoré mu pomáhajú pevne sa prichytiť pri cicaní, tiež mu pomáhajú pri samotnom saní a ochraňujú ho pred napadnutím imunitným systémom hostiteľa. Tento proces vrcholí silnou imunologickou odpoveďou. Kliešť

totižto aktivuje prirodzenú a špecifickú imunitnú reakciu. *B. burgdorferi* používa diferenciálnu génovú expresiu na prežitie v rôznych prostrediach kliešťového vektora a cicavčieho hostiteľa (Hovius a kol., 2007). Aj napriek antibiotickej liečbe sú schopné borélie prežívať v hostiteľovi aj niekoľko rokov, vďaka tomu, že si vyvinuli „schopnosť“, ktorá im umožňuje vyhýbať sa, či obmedziť účinky IS.

Podstatnú úlohu majú proteíny borélii, ktoré sa viažu na extracelulárny matrix. Vďaka tejto väzbe borélie prežívajú v počiatočnej fáze infekcie a tiež im pomáha pri rozšírení do organizmu. Sú to napríklad proteíny DbpA a DbpB. Bielkoviny ErpA, P, C pomáhajú pri prestupovaní endoteliárnej vrstvy a viažu sa na plasminogén. Väzba patogénov na plasminogén umožňuje baktériám poškodiť extracelulárny matrix, a tým sa dostanú do krvného obehu. Zaujímavosťou borélii je aj to, že obmedzili množstvo železa, ktoré potrebujú pre rast v hostiteľovom organizme. To im pomáha pri obchádzaní hraničného množstva železa, ktoré je pre iné patogény veľká prekážka. Týmto sa vyhnú napadnutiu hostiteľským systémom, pre ktorý sú enzýmy obsahujúce železo cieľom (Brissette et al., 2009).

Po prisatí kliešťa na hostiteľa stimulujú *B. burgdorferi* podnety z procesu odberu krvi kliešťom, ako je zvýšenie teploty, dostupnosť živín, zmeny napätia kyslíka a znížené pH (Radolf a kol., 2012). Stredné črevo kliešťa sa transformuje do stavu, v ktorom je pripravené na infekciu cicavca (Samuels, 2011). Táto transformácia vyžaduje na úrovni expresie génov komplexnú regulačnú sieť. Veľký počet génov, na ktoré sú ciele RpoS a BosR, kóduje povrchové lipoproteíny a pôsobia spoločne, aby podporili adaptáciu *Bb* na hostiteľa prostredníctvom transkripčnej aktivácie génov (Wang, 2013). Nahradenie OspA proteínom OspC je rozhodujúce pre vznik skorej infekcie u cicavca (Radolf a kol., 2012).

Usadenie sa infekcie *Bb* v hostiteľovi výrazne napomáha kliešť mechanickým aj biochemickým spôsobom. Prienik kliešťa do pokožky umožňuje prenos borélii hlboko do dermis. Proteíny v slinách kliešťa pomáhajú borélii vyvolať infekciu moduláciou aktivít hostiteľa, ako je koagulácia, fibrinolýza a imunitná odpoveď (Hovius a kol., 2008). Jedným z mechanizmov, ktorým OspC zvyšuje bakteriálnu kolonizáciu cicavčieho hostiteľa, je priamy nábor kliešťového slinného proteínu Salp15, molekuly s imunosupresívnymi vlastnosťami, na bakteriálny povrch (Ramamoorthi, 2005). Po uložení v koži sa *Bb* zvyčajne lokálne množí a potom sa šíri cez tkanivá a do krvného alebo lymfatického systému, čo uľahčuje migráciu na vzdialené miesta. Pohyblivosť a príľnavosť k hostiteľským molekulám sú kľúčom k tomu, aby sa *Bb* pohybovala krvou a tkanivami a vyhýbala sa imunitným reakciám. Mutantné baktérie, ktoré majú defekty v motilite alebo chemotaxii, sa nedokážu šíriť a sú rýchlo odstránené z miesta očkovania (Charon, 2012).

Mnohé z cicavčích fázovo špecifických povrchových lipoproteínov môžu priamo integrovať s hositeľskými makromolekulami, vrátane plazminogénu, komplementových regulačných proteínov a zložiek extracelulárnej matrice, ako je fibronektín, kolagén, laminín a glykozaminoglykány (Coburn a kol., 2013). Medzi týmito lipoproteínmi Bb existuje vysoký stupeň funkčnej redundancie, čo sťažuje zistenie in vivo významu každého proteínu. Výnimkou je proteín viažuci fibronektín BBK32, v ktorom sú doménam viažucim fibronektín a GAG pri interakcii Bb s vaskulatórou hositeľa priradené jedinečné a postupné úlohy (Moriarty, 2012).

Bb používa niekoľko stratégií na obchádzanie vrodeneho a adaptívneho imunitného systému hositeľa. Niekoľko lipoproteínov borélie, ktoré sú súhrne známe ako povrchové proteíny, získavajúce regulátory komplementu sa môžu viazať na hositeľský faktor H, proteín podobný faktoru H a proteíny súvisiace s faktorom H (Kraiczy, Stevenson, 2013), čo zabraňuje usmrcovaniu baktérie in vitro. Po vzniku infekcie sa strata baktericídnych protilátok stáva rozhodujúcim pre prežitie baktérií (de Taeye a kol., 2013). Na tento účel mení Bb lipoproteíny, ktoré sú exprimované na jej vonkajšom povrchu, nahradením OspC za VIsE. Na základe štrukturálnych podobností OspC a VIsE môžu tieto proteíny slúžiť podobnej fyziologickej funkcii. Na rozdiel od OspC však VIsE podlieha rozsiahlej antigénnej variácii, aby sa vyhla imunitnej odpovedi hositeľa (Kraiczy, Stevenson, 2013). Mutanty, ktoré exprimujú nepremennú VIsE, nie sú schopné reinfikovať zvieratá, ktoré boli predtým infikované Bb, zatiaľ čo baktérie, ktoré exprimujú variabilnú VIsE, môžu (Rogovsky a kol., 2013).

3.4 Imunitná odpoveď hositeľa na borélie

3.4.1 Zápalová odpoveď

Bunky, ktoré sú v epidermis a dermis, prichádzajú ako prvé do kontaktu s kliešťom. Tieto bunky vylučujú mediátory, ktoré odštartujú imunitnú reakciu a spôsobujú aj to, že do miesta cicania privolajú ďalšie bunky. Toto označujeme ako lokálnu zápalovú odpoveď, za ktorú sú predovšetkým zodpovedné neutrofily. Neutrofily sú v prvej obrannej línii prirodzenej imunity. Ich povinnosťou je likvidácia škodlivých mikroorganizmov, produkcia cytokínov a chemoatraktantov, ktoré zodpovedajú za prítomnosť ďalších buniek pri ranej fázy infekcie (Francischetti et al., 2009).

Napriek expresii CRASP a antigénnej variácii povrchových lipoproteínov Bb, ktoré umožňujú baktériám vyhýbať sa imunitnej obrane hositeľa je borélia rozpoznávaná a zabíjaná vrodеныmi aj adaptívnymi imunitnými odpoveďami. Keďže Bb neprodukuje toxíny ani

proteázy degradujúce extracelulárnu maticu, väčšina prejavov ľudskej lymfskej boreliózy v každom z troch štádií ochorenia je výsledkom zápalu generovaného týmito imunitnými odpoveďami.

V prvom štádiu (u ľudí známa ako erythema migrans) sa odoberajú biopsie počas prvých dní infekcie a tie môžu dokazovať papilárny dermálny edém a zmiešaný infiltrát, ktorý sa skladá prevažne z T-buniek, neutrofilov, dendritických buniek a monocytov alebo makrofágy (Salazar, 2003). Expresia cytokínov je prevažne prozápalová a zahŕňa zvýšené hladiny tumor nekrotizujúceho faktora (TNF), IL-2, IL-6 a interferónov typu I (IFN). Hladiny chemokínov, ktoré priťahujú neutrofile, makrofágy a T-bunky sú tiež zvýšené v léziách EM (Müllegger, 2007). V štúdiách na zvieratách aj na ľuďoch neutrofile, ktoré sú vysoko účinné pri zabíjaní Bb, výrazne chýbajú, keďže vyrážka EM progreduje za posledných 24 hodín, zatiaľ čo T-bunky, dendritické bunky a monocytov zostávajú (Xu a kol., 2007). EM sa v priebehu dní vyvíja, progreduje do hustých perivaskulárnych a intersticiálnych infiltrátov, ktoré pozostávajú z lymfocytov, plazmatických buniek a príležitostne žírnych buniek. V takýchto léziách môžeme nájsť protizápalový cytokín IL-10 a vyššie hladiny IL-10 sú spojené s menším počtom systémových symptómov LB (Sjöwall, 2011).

3.4.2 Vznik symptómov lymfskej boreliózy

Zdá sa, že veľká časť počiatočnej zápalovej reakcie hostiteľa je sprostredkovaná molekulovými vzormi spojenými s patogénom (PAMP) (Salazar, 2009), ktoré sú detegované receptormi na rozpoznávanie vzorov, ako sú Toll-like receptory (TLR) a cytosolický proteín viažuci oligomerizačnú doménu (NOD) (Shin a kol., 2008). Rôzne TLR môžu rozpoznať rôzne PAMP Bb, vrátane, ale nie výlučne lipoproteínov, bičíka, RNA a miest CpG v DNA (Petzke a kol., 2009). Zdá sa však, že odpovede na lipoproteíny borélie sú hlavným stimulom spôsobujúcim indukciu hostiteľských enzýmov, ktorých výsledkom je trávenie proteínov extracelulárnej matrice, čo umožňuje baktériám pohyb v tkanivách a uvoľňovanie zápalových cytokínov, čo vedie k symptómom lymfskej boreliózy (Shin a kol., 2008).

Všetky postihnuté tkanivá vykazujú infiltráty mononukleárných buniek, najmä CD4+ a CD8+ T-bunky a vaskulárne abnormality, čo naznačuje, že spirochéty sa nachádzali v krvných cievach alebo okolo nich (Steere a kol., 2004). V treťom štádiu u pacientov s lymfskou artritídou odolnou voči antibiotikám vykazujú hypertrofiu synoviálnych buniek, vaskulárnu proliferáciu a niekedy obliteratívne mikrovaskulárne lézie, okrem

mononukleárných bunkových infiltrátov, ktoré primárne pozostávajú z CD4+ a CS8+ T-buniek a makrofágov, často s veľkým počtom plazmatických buniek (Strle a kol., 2012).

3.4.3 Imunitné mechanizmy

V štúdiách *in vitro* môžu fagocytujúce bunky, vrátane makrofágov, monocytov, neutrofilov, dendritických buniek a mikroglií, účinne zabíjať borélie. Diacylglycerol glykolipid vo vonkajšej membráne spirochéty môže priamo aktivovať invariantné NKT bunky, ktoré majú dôležitú úlohu pri kontrole infekcie a zvyšovaní fagocytózy (Kinjo a kol., 2006).

B-bunky sú rozhodujúce pre kontrolu infekcie. V slezine produkujú B-bunky marginálnej zóny protilátky proti antigénom nezávislým od T-buniek a sú zdrojom protilátok IgM špecifických pre Bb počas prvého štádia ochorenia (Radolf a kol., 2012). Následný vývoj protilátok IgG špecifických pre Bb koreluje so znížením počtu spirochetálnych buniek u myši a pasívne podávané protilátky IgG môžu zabrániť vzniku infekcie na zvieracích modeloch. Pravdepodobne v dôsledku variability proteínov medzi kmeňmi Bb je veľa protilátok proti špecifickým proteínom schopných zabrániť infekcii iba v ozogénnych kmeňoch (Kinjo a kol., 2006).

V priebehu niekoľkých týždňov až mesiacov dokážu vrodene a adaptívne imunitné mechanizmy znížiť počet baktérií tak, že aj bez antibiotickej liečby systémové symptómy LB ustúpia (Radolf a kol., 2012). Spirochéty môžu prežiť v lokalizovaných výklenkoch u neliečených pacientov ešte niekoľko rokov, čo môže v niektorých prípadoch spôsobiť pretrvávajúce symptómy (Kinjo a kol., 2006). U ľudí však všetky zápalové prejavy ochorenia, možno s výnimkou ACA, nakoniec vymiznú aj bez antibiotickej liečby.

3.5 História vývoja vakcíny proti borélii burgdorferi

Vakcinácia alebo inak nazvané očkovanie je proces vpravenia vakcíny do organizmu. Hlavným dôvodom podania vakcíny je vytvorenie imunitnej odpovedi. Pojmy očkovanie a imunizácia sa veľmi často zamieňajú a pritom každé z nich znamená niečo iné. Očkovanie sa rozumie ako proces vpravenia vakcíny do organizmu. Vakcíny aplikujeme najčastejšie do svalu a do ďalších miest ako napríklad pod kožu, do kože alebo na sliznicu. Pri aktívnej imunizácii sa do organizmu dostane antigén, na ktorý sa v imunitnom systéme človeka vytvára imunitná odpoveď. Prvé reakcie sa prejavujú väčšinou v mieste aplikácie. Približne po týždni dôjde ku komunikácii medzi uzlinou a slezinou pri ďalšej produkcii špecifickej imunitnej odpovedi.

Z toho vyplýva, že nie každé očkovanie imunizuje. Pri pasívnej imunizácii sa do organizmu vnášajú už vytvorené homológne alebo heterológne protilátky. Ochrana proti infekcii trvá len po dobu prítomnosti protilátok, ktorá najčastejšie trvá 3 – 6 týždňov.

Požiadavkou pre vznik imunitnej odpovedi na očkovanie je rozpoznanie antigénu. To sa uskutočňuje pomocou buniek prezentujúcich antigén (APC). K stimulácii sú potrebné aj bunky prezentujúce antigén, ktoré vytesňujú na svojom povrchu komplexy obsahujúce molekuly komplexu HLA II. triedy a antigénu. Bunky, ktoré sú schopné po vytlačení molekúl aktivovať T-bunky sú bunky dendritické. Tieto bunky sú umiestnené v tkanivách, ktoré sú na rozhraní organizmu a okolného prostredia. Ich úlohou je vychytávanie antigénov pomocou endocytózy a pinocytózy. Po prvom kontakte s antigénom ich počet stúpa a migrujú do lymfatických uzlín. Počas tohto presunu navodzujú styk s ligandami a chemokínmi. V lymfatickej uzline sa menia na bunky, ktoré ovplyvňujú T-lymfocyty.

Existujú štyri signály charakteristické imunologickú synapsiu. Signál 0 vzniká na APC, kde sú aktivované receptory PRR (pattern recognition receptors) nebezpečnými vzormi PAMP (pathogen-associated molecular patterns) vedúcich k dozrievaniu buniek. Signál I sa tvorí, keď je lymfocytárny T-receptor aktivovaný pri styku s komplexom HLA a naviazaným antigénnym peptidom, ktorý je na povrchu APC. Signál II je druhým stimulom vyžadovaným od lymfocytov pre plnú aktiváciu proti antigénu. Signál je prenášaný do jadra. Signál III je vytváraný cytokínmi a slúži k diferenciacii T-lymfocytu na Th1 alebo Th2.

Hoci je na svete dostupných niekoľko vakcín proti lymsej borelióze na použitie u zvierat, ľudské vakcíny zatiaľ nie sú dostupné (Töpfer a kol., 2007). V 90. rokoch boli vyvinuté 2 vakcíny, ktoré boli založené na vonkajšom povrchovom proteíne A (OspA) Bb (Thanassi a Schoen, 2000). Podobné kompozície boli testované aj na psoch a ukázali, že očkovanie znížilo riziko LB, z toho vyplýva, že imunizácia je silným intervenčným nástrojom. Aj napriek tomu boli tieto vakcíny stiahnuté z obehu. Jeden z hlavných dôvodov boli vysoké náklady, potreba preočkovania a obava, že vakcína môže spustiť autoimunitnú artritídu (Aronowitz, 2012). Napriek dopytu po vakcíne proti lymsej borelióze a tomu, že očkovanie je nákladovo efektívne vo vysoko rizikových oblastiach, farmaceutické spoločnosti sa následne zdráhali testovať a uvádzať na trh vakcíny pre ľudí (Poland, 2011).

Predmetom skúmania boli modifikované vakcíny na báze OspA, iné vakcíny na báze spirochetálnych proteínov a nové stratégie podávania. Štúdie fázy I a fázy II s modifikovanou multivalentnou vakcínou (Schuijt a kol., 2011) na báze OspA, ktorej chýbal epitop T-buniek, o ktorom sa povodne predpokladalo, že má autoreaktívny potenciál, potvrdili, že očkovanie je

bezpečné a má za následok silné protilátkové reakcie. Zapojená farmaceutická spoločnosť v súčasnosti nepokračuje v ďalšom testovaní tejto vakcíny (Wressnigg, 2013).

Alternatívnou vakcinačnou stratégiou na prevenciu LB a potenciálne iných chorôb, ktoré prenáša ten istý kliešť, by bolo očkovanie proti kliešťovým proteínom (Töpfer a kol., 2007). Tento prístup je založený na pozorovaní, že u niektorých laboratórnych zvierat, sa pri opakovanom infikovaní kliešťami vyvinie imunitná odpoveď proti kliešťovým proteínom, čo vedie k čiastočnej ochrane proti Bb (Schuijt a kol., 2011). Na prenose Bb z kliešťa na hostiteľa sa podieľa viacero proteínov zo slín kliešťa a zacielené takýchto proteínov očkovaním prinieslo čiastočný úspech v experimentálnych podmienkach (Plotkin, 2016).

Mnohé kmene Bb sa udržiavajú v populáciách infikovaných myší, kliešťov a reakcie hostiteľa na jeden kmeň neochráni pred infekciou iného kmeňu. Zistilo sa aj to, že krv séropozitívneho hostiteľa výrazne oslabuje infekčnosť homológnych baktérií vo vektore kliešťov bez toho, aby ich zabila, čím sa predchádza superinfekcii a uľahčuje prenos heterológnych kmeňov Bb (Bhatia, Hillman a kol., 2018).

Ďalšia vhodná cesta k vytvoreniu novej vakcíny bol povrchový proteín OspC, ktorý bol objavený v roku 1992. OspC sa dlho považoval za „kandidáta“ na vakcínu proti LB. Protilátkou sprostredkovaná imunita voči OspC môže zabrániť šírenie homológnej Bb do hostiteľa počas ranej infekcie, no kvôli OspC diverzite je táto ochrana kmeňovo špecifická. Duálny vakcinačný antigén zložený z OspC a OspA bol schválený na prevenciu klinických prejavov u psov. Účinnosť OspC vakcín ešte nebola testovaná na ľuďoch. Viazuci dekorín A (DbpA) a lipoproteín viažuci fibronektín (BBK32) boli testované v kombináciách obsahujúcich jednu variantu OspC. Táto kombinácia sa ukázala ako čiastočne účinná proti naočkovanej Bb u myší (Brown a kol., 2005). OspC je u Bb polymorfný, takže jeho využitie pre vakcínu, ktorá by bola účinná vo viacerých oblastiach je značne problematické, pretože by dokázal vytvoriť imunitu len proti kmeňom, ktoré by vykazovali rovnaký sérotyp (Křupka a kol., 2011).

V roku 1998 bola schválená prvá vakcína proti lymskej borelióze v Spojených štátoch amerických. Vakcína pod názvom LYMERix bola na trhu dostupná len 4 roky a pre nízky predaj bola v roku 2002 stiahnutá z predaja. Na európsky trh nebola táto vakcína uvedená z dôvodu, že bola cielená proti *B. Burgdorferi s.s.*, ktorá sa v Európe vyskytovala len málo a preto táto vakcína by nebola dostatočne účinná (Embers a kol., 2013). Kvôli variabilite povrchových proteínov borélii vývoj vakcíny stagnuje. Existovala ešte jedna vakcína podobná LYMERix-u pod menom ImuLyme, ale nikdy sa nedostala na trh, pretože jej výrobca nezažiadala ani o schválenie (Křupka a kol., 2008).

Živé mutantné vakcíny sa ukázali ako účinné pri imunizácii proti niekoľkým nákazlivým infekčným chorobám. U infekcie Bb môžu u myši vyvolať čiastočnú alebo plnohodnotnú imunitu. Mutanty sú účinnejšie ako usmrtené baktérie, ale nie sú schopné vyvolať infekciu v cicavcoch, preto je veľmi nepravdepodobné použitie tejto varianty na ľudskú populáciu. Využitie týchto vakcín je len na vývoj zvieracích typov vakcín (Hanh a kol, 2016).

Za prelom vývoja vakcíny proti LB sa považuje rok 2020, kde poprední vedci z farmaceutickej firmy Sanofi v spolupráci s českými odborníkmi z Parazitologického ústavu Biologického centra AV ČR testovali vakcínu, ktorej vývoj nadväzuje na skoršiu americkú vakcínu (Kamp a kol., 2020). Vakcína sa testovala na európskom kliešťovi *Ixodes ricinus*. Nová vakcína nadväzuje na predchádzajúcu americkú vakcínu. V súčasnosti je známych 21 druhov baktérií *Borrelia* (Šíma, 2020). Majú rôzne povrchové proteíny, ktoré sa menia, keď sa baktérie presunú z kliešťa do tela. Spoločnosť Sanofi zlepšila štruktúru vakcíny vytvorením jadra molekuly, na ktorú sa môžu viazať rôzne povrchové proteíny OspA. Vďaka tejto štruktúre môže imunitný systém rýchlo rozpoznať cudzorodú látku v tele a vytvoriť proti nej protilátky (Šíma, 2020). Účinkuje veľmi rýchlo a to hneď, ako prejdú borélie z kliešťa na človeka. Vakcína je zameraná na všetky typy borélii. Analýza v laboratóriách Parazitologického ústavu BCAV ČR zaznamenala 100% účinnosť vakcíny na kliešťa *Ixodes ricinus*. Tím výskumníkov testoval látku na laboratórnych myšiach. Teraz sa to bude odvíjať od farmaceutickej spoločnosti, či sa rozhodne zainvestovať do klinickej štúdie skúšania vakcíny na ľuďoch. Následne by mohla byť vakcína pripravená na trh (Kamp a kol., 2020).

4 ZÁVER

Cieľom tejto práce bolo popísať reakciu imunitného systému pri ochorení lymfskou boreliózou. Lymfská borelióza je multisystémové ochorenie vyvolané baktériou *Borrelia burgdorferi s.l.* vektorom prenosu je kliešť rodu *Ixodes ricinus*. Borélia je veľmi dobre adaptovaná na vnútorné prostredie človeka. Má schopnosť prežívať v tkanivách vďaka tomu, že modifikuje povrchové antigény. Toto jej zaručuje prežiť nepriaznivé obdobie. Po prieniku do kože sa borélia rozširuje do organizmu. Má schopnosť viazať sa na hostiteľské enzýmy a to jej zaručuje prejsť endotelom krvných ciev. V skorej fáze ochorenia je možné sa ešte spontánne uzdraviť, no neliečená alebo neúspešná liečba infekcie môže viesť k tomu, že sa borélia usadí v niektorom orgáne a vyvolá tak chronické štádium infekcie.

Doposiaľ sa lymfská borelióza lieči formou podávania antibiotík. Dôležitú úlohu pri výbere správnej antibiotickej liečby hrá vek pacienta a jeho anamnéza. Bohužiaľ, aj po viacerých pokusoch z minulosti dnes ešte nemáme účinnú vakcínu, ktorá by nás pred týmto ochorením dostatočne chránila. Jej vývoj totižto komplikuje variabilita povrchových proteínov borélie.

ZOZNAM POUŽITEJ LITERATÚRY

AFARI M, MARMOUSH F, REHMAN M, et al. Lyme carditis an interesting trip to third-degree heart block and backexternal icon. *Case Rep Cardiol.* 2016; 2016: 5454160 [cit. 2021-10-21]. DOI: 10.1155/2016/5454160

AGUERO-ROSENFELD M, WANG G, SCHWARTZ I, WORMSER G. Diagnosis of Lyme Borreliosis. *Clin Microbiol Rev.* 2005; 18(3); 484-509 [cit. 2022-6-24] DOI: 10.1128/CMR.18.3.484-509.2005

ARONOWITZ R. The rise and fall of the Lyme disease vaccines: a cautionary tale for risk interventions in American medicine and public health. *Milbank Q.* **90**, 2012, 250–277 [cit. 2022-2-17]. DOI: 10.1111/j.1468-0009.2012.00663.x

ARVIKAR S, STEERE A. Diagnosis and Treatment of Lyme Arthritis. *Infect Dis Clin Norths Am.* 2015, 269-280 [cit. 2022-4-19] DOI: 10.1016/j.idc.2015.02.004

AUCOTT J, MORRISON C, MUNOZ B, ROWE P, SCHWARZWALDER A, WEST S. Diagnostic challenges of early Lyme disease: lessons from a community case series. *BMC Infect Dis* 2009; 9: 79 [cit. 2022-3-3]. DOI: 10.1186/1471-2334-9-79

BHATIA B, HILLMAN C, CARRACO V, CHEFF B, KIT T, ROSA P. Infection history of the blood-meal host dictates pathogenic potencial of the Lyme disease spirochete within the feeding tick vector. *PLoS Pathog.* 2018; 5: 14(4) [cit. 2022-3-6] DOI: 10.1371/journal.ppat.1006959

BOURRET T, LAWRENCE K, SHAW J, LIN T, NORRIS S, GHERARDINI F. The nucleotide excision repair pathway protects *Borrelia burgdorferi* from nitrosative stress in *Ixodes scapularis* ticks. *Front Microbiol* 2016; 7: 1397 [cit. 2021-12-7]. DOI: 10.3389/fmicb.2016.01397

BOYLAN J, LAWRENCE K, DOWNEY J, GHERARDINI F. *Borrelia burgdorferi* membranes are the primary targets of reactive oxygen species. *Mol Microbiol* 2008; 68: 786–799 [cit. 2021-2-5]. DOI: 10.1111/j.1365-2958.2008.06204.x

BRANDA J, BODY B, BOYLE J, et al. Advances in serodiagnostic testing for Lyme disease are at hand. *Clin Infect Dis* 2017; 66: 1133–39 [cit. 2021-4-23]. DOI: 10.1093/cid/cix943

BRISSETTE C, GAULTNEY R. That’s my story I’m sticking to it — an update on *B burgdorferi* adhesins. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2014; 4: 41 [cit. 2021-4-15]. DOI: 10.3389/fcimb.2014.00041

BUHNER S. Borelióza: přírodní prevence a bylinná léčba lymeské boreliózy a jejích koinfekcí. vyd. 1. Praha: Triton, 2014. s. 232. ISBN 978-80-7387-780-4.

CAIMANO M, GROSHONG A, BELLERON A, MAO J, HAWLEY K, LUTHRA A, GRAHAM D, EARNHART C, MARCONI R, BOCKENSTEDT L, et al. The RpoS Gatekeeper in *Borrelia burgdorferi*: An Invariant Regulatory Scheme That Promotes Spirochete Persistence in Reservoir Hosts and Niche Diversity. *Front Microbiol* 2019; 10: 1923 [cit. 2021-11-13]. DOI: 10.3389/fmicb.2019.01923

COBURN J, LEONG J, CHACONAS G. Illuminating the roles of the *Borrelia burgdorferi* adhesins. *Trends Microbiol* 2013; 21: 372–379 [cit. 2021-12-21]. DOI: 10.1016/j.tim.2013.06.005

COSTELLO J, ALEXANDER M, GRECO K, et al. Lyme carditis in children: presentation, predictive factors, and clinical course. *Pediatrics* 2009; 123: 835-41 [cit. 2022-5-11]. DOI: 10.1542/peds.2008-3058

COULTER P, LEMA C, FLAYHART D, et al. Two-year evaluation of *Borrelia burgdorferi* culture and supplemental tests for definitive diagnosis of Lyme disease. *J Clin Microbiol* 2005; 43: 5080–4 [cit. 2022-4-4]. DOI: 10.1128/JCM.43.10.5080-5084.2005

CROWLEY J, TOLEDO A, LAROCCA T, COLEMAN J, LONDON E, BENACH J. Lipid exchange between *Borrelia burgdorferi* and host cells. *PLoS Pathog* 2013; 9: 1003109 [cit. 2022-2-14]. DOI: 10.1371/journal.ppat.1003109

CUNHA B, ELYASI M, SINGH P, JIMADA I. Lyme carditis with isolated left bundle branch block and myokarditis successfully treated with oral doxycykline. *IDCases.* 2018; 11: 48-50 [cit. 2022-3-21]. DOI: 10.1016/j.idcr.2017.12.006

- DAIKH B, EMERSON F, SMITH R, LUCAS F, MCCARTHY C. Lyme arthritis: a comparison of presentation, synovial fluid analysis, and treatment course in children and adults. *Arthritis Care Res (Hoboken)* 2013; 65: 1986-1990 [cit. 2022-1-4]. DOI: 10.1002/acr.22086
- DATTWYLER R, WORMSER G, RUSH T, et al. A comparison of two treatment regimens of ceftriaxone in late Lyme disease. *Wien Klin Wochenschr* 2005; 117(11-12):393-397 [cit. 2022-5-4]. DOI: 10.1007/s00508-005-0361-8
- DE SILVA A, FIKRIG E. Growth and migration of *Borrelia burgdorferi* in *Ixodes* ticks during blood feeding. *Am J Trop Med Hyg.* 1995; 53(4): 397-404 [cit. 2022-2-17] DOI: 10.4269/ajtmh.1995.53.397
- EMBERS M, NARASIMHAN S. Vaccination against Lyme disease: past, present, and future. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2013; [cit. 2022-2-5] DOI: 10.3389/fcimb.2013.00006
- FINGERLE V, GOETTNER G, GERN L, WILSKE B, SCHULTE-SPECHTEL U, Complementation of a *Borrelia afzelii* OspC mutant highlights the crucial role of OspC for dissemination of *Borrelia afzelii* in *Ixodes ricinus*. *Int J Med Microbiol.* 2007; 297(2): 97-107 [cit. 2022-3-12]. DOI: 10.1016/j.ijmm.2006.11.003
- GURČÍK L. Súčasný trendy v diagnostike a liečbe neuroboreliózy. *Neurol. Prax* 2009; 10(3): 170-176 [cit. 2022-3-17]
- GURISH M, AUSTEN K. Developmental origin and functional specialization of mast cell subsets. *Immunity.* 2012; 37(1): 25–33 [cit. 2022-3-22]. DOI: 10.1016/j.immuni.2012.07.003
- HALPERIN J. Nervous system Lyme disease: diagnosis and treatment. *Curr Treat Options Neurol.* 2013; 15(4): 454-464 [cit. 2021-12-29]. DOI: 10.1007/s11940-013-0240-y
- HOVIUS J, LEVI M, FIKRIG E. Salivating for knowledge: potential pharmacological agents in tick saliva. *PLoS Med.* 2008; 5: e43 [cit. 2022-1-9]. DOI: 10.1371/journal.pmed.0050043
- HU L, Lyme disease. *Ann Intern Med* 2016; 164(9): ITC65-ITC80 [cit. 2021-11-9]. DOI: 10.7326/AITC201605030

CHACONAS G, CASTELLANOS M, VERHEY T. Changing of the guard: How the Lyme disease spirochete subverts the host immune response. *The Journal of biological chemistry* 2020; 295: 301–313 [cit. 2022-2-6]. DOI: 10.1074/jbc.REV119.008583

CHARON N, et al. The unique paradigm of spirochete motility and chemotaxis. *Annu. Rev. Microbiol.* 2012; 66: 349–370 [cit. 2022-1-11]. DOI: 10.1146/annurev-micro-092611-150145

JAIN S, SHOWMAN A, JEWETT M. Molecular dissection of a *Borrelia burgdorferi* in vivo essential purine transport system. *Infection and immunity* 2015; 83: 2224–2233 [cit. 2022-1-11]. DOI: 10.1128/IAI.02859-14

JANEWAY C. How the immune system protects the host from infection. *Microbes and Infection* 2001; 1167-1171 [cit. 2022-3-14] DOI: 10.1016/S1286-4579(01)01477-0

JEWETT M, LAWRENCE K, BESTOR A, BYRAM R, GHERARDINI F, ROSA P. GuaA and GuaB are essential for *Borrelia burgdorferi* survival in the tick-mouse infection cycle. *Journal of bacteriology* 2009; 191: 6231–6241 [cit. 2022-3-25]. DOI: 10.1128/JB.00450

KAMP H, SWANSON K, WEI R, DHAL P, DHARANIPRAGADA R, KERN A, SHARMA B, SIMA R, HAJDUSEK O, HU L, WEI C, NABEL G. Design of a broadly reactive Lyme disease vaccine. *Npj Vaccines* 2020; 33 [cit. 2022-1-11] DOI: 10.1038/s41541-020-0183-8

KHAJANCHI B, ODEH E, GAO L, JACOBS M, PHILIPP M, LIN T, NORRIS S. Phosphoenolpyruvate Phosphotransferase System Components Modulate Gene Transcription and Virulence of *Borrelia burgdorferi*. *Infect Immun* 2015; 84: 754–764 [cit. 2022-3-17]. DOI: 10.1128/IAI.00917-15

KINJO Y, et al. Natural killer T cells recognize diacylglycerol antigens from pathogenic bacteria. *Nat. Immunol.* 2006; 7: 978–986 [cit. 2022-1-5]. DOI: 10.1038/ni1380

KLINKER M, LUNDY S. Multiple mechanisms of immune suppression by B lymphocytes. *Mol Med.* 2012; 18(1): 123-37 [cit. 2022-3-17] DOI: 10.2119/molmed.2011.00333

KONDRUSIK M, GRYGORCZUK S, SKOTARCZAK B, WODECKA B. Molecular and serological diagnosis of *Borrelia burgdorferi* infection among patients with diagnosed Erythema migrans. *Annals of agricultural and environmental medicine* 2008; 14(2): 209-13 [cit. 2022-3-17]

KOWALSKI T, TATA S, BERTH W, et al. Antibiotic treatment duration and long-term outcomes of patients with early Lyme disease from a Lyme disease-hyperendemic area. *Clin Infect Dis*. 2010; 50(4): 512–20 [cit. 2022-4-5]. DOI: 10.1086/649920

KOWALSKI T, BERTH W, MATHIASON M, et al. Oral antibiotic treatment and long-term outcomes of Lyme facial nerve palsy. 2011; 39(3): 239-45 [cit. 2022-3-19]. DOI: 10.1007/s15010-011-0107-7

KRAICZY P, STEVENSON B. Complement regulator-acquiring surface proteins of *Borrelia burgdorferi*: structure, function and regulation of gene expression. *Ticks Tick Borne. Dis*. 2013; 4: 26–34 [cit. 2022-3-19]. DOI: 10.1016/j.ttbdis.2012.10.039

KŘUPKA M, WEIGL E, RAŠKA M. Lymská borelióza – biologie, patogeneze, diagnostika a léčba. *Dermatol. Praxis* 2008; 2(5): 236-239 [cit. 2022-1-11]

KURTZ J. Specific memory within innate immune systems. *Trends Immunol*. 2005; 26: 186 [cit. 2022-3-19]. DOI: 10.1016/j.it.2005.02.001

LOPEZ S, CAMPFIELD B, NOWALK A. Oral management for pediatric Lyme meningitis. *Pediatric Infect Dis Soc*.2019; 8(3): 272-275 [cit. 2022-3-19]. DOI: 10.1093/jpids/piy072

MARASPIN V, OGRINC K, RUZIC-SABLJIĆ E, ET AL. Isolation od *Borrelia burgdorferi* sensu lato from blood of adult patients with borrelial lymphocytoma, Lyme neuroborreliosis, Lyme arthritis and acrodermatitis chronica atropicans. *Infection* 2011; 39: 35-40 [cit. 2022-6-24]. DOI: 10.1007/s15010-010-0062-8

MARGOS G, VOLLMER S, CORNET M, GARNIER M, FINGRLE V, WILSKÉ B, et al. A new *Borrelia* species defined by multilocus sequence analysis of housekeeping genes. *Appl Environ Microbiol*. 2009; 75(16): 5410-6 [cit. 2022-4-3]. DOI: 10.1128/AEM.00116-09

MARQUES A. Laboratory diagnosis of Lyme disease: advances and challenges. *Infect Dis Clin North Am* 2015; 29: 295–307 [cit. 2022-2-13]. DOI: 10.1016/j.idc.2015.02.005

MARSHALL J. Mast-cell responses to pathogens. *Nat Rev Immunol*. 2004; 4(10): 787–99 [cit. 2022-2-26]. DOI: 10.1038/nri1460

MARZEC L, WANG J, SHAH N, CHAN P, TING H, GOSCH K, HSU J, MADDOX T. Influence of Direct Oral Anticoagulants on Rates of Oral Anticoagulation for Atrial Fibrillation. *J Am Coll Cardiol.* 2017; 69: 2475-2484 [cit. 2022-3-17] DOI: 10.1016/j.jacc.2017.03.540

MEAD P. Epidemiology of Lyme disease. *Infect. Dis. Clin. North Am.* 2015; 29: 187–210 [cit. 2022-4-13]. DOI: 10.1016/j.idc.2015.02.010

MOHAN K, PAI S, RAO R, SRIPATHI H, PRABHU S. Techniques of immunofluorescence and their significance. *Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology* 2008; 74: 415-419 [cit. 2022-3-22]. DOI: 10.4103/0378-6323.42898

MORIARTY T, et al. Vascular binding of a pathogen under shear force through mechanistically distinct sequential interactions with host macromolecules. *Mol. Microbiol.* 2012; 86: 1116–1131 [cit. 2022-2-17]. DOI: 10.1111/mmi.12045

MÜLLEGGER R, et al. Chemokine signatures in the skin disorders of Lyme borreliosis in Europe: predominance of CXCL9 and CXCL10 in erythema migrans and acrodermatitis and CXCL13 in lymphocytoma. *Infect. Immun.* 2007; 75: 4621–4628 [cit. 2022-1-4]. DOI: 10.1128/IAI.00263-07

NEELAKANTA G, LI X, PAL U, LIU X, BECK D, DEPONTE K, FISH D, KANTOR F, FIKRIG E, Outer surface protein B is critical for *Borrelia burgdorferi* adherence and survival within *Ixodes* ticks. *PLoS Pathog* 2007; 3(3): e33 [cit. 2022-2-13]. DOI: 10.1371/journal.ppat.0030033

ODELL I, COOK D. Immunofluorescence Techniques. *Journal of Investigative Dermatology* 2013; 133(1): e4 [cit. 2022-5-20]. DOI: 10.1038/jid.2012.455

O’LEARY J, GOODARZI M, DRAYTON D, VON ANDRIAN U. T cell- and B cell-independent adaptive immunity mediated by natural killer cells. *Nat Immunol.* 2006; 7(5): 507–16 [cit. 2022-3-20]. DOI: 10.1038/ni1332

OLIVER J, LIN T, GAO L, CLARK K, BANKS C, DURDEN L, JAMES A, CHANDLER F. An enzootic transmission cycle of Lyme borreliosis spirochetes in the southeastern United States. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100: 11642-11645 [cit. 2022-3-17] DOI: 10.1073/pnas.1434553100

OPEL K, CHUNG D, MCCORD B. A study of PCR inhibition mechanism using real time PCR. *J Forensic Sci* 2010; 55: 25-33 [cit. 2022-3-17] DOI: 10.1111/j.1556-4029.2009.01245.x

PETZKE M, BROOKS A, KRUPNA M, MORDUE D, SCHWARTZ I. Recognition of *Borrelia burgdorferi*, the Lyme disease spirochete, by TLR7 and TLR9 induces a type I IFN response by human immune cells. *J. Immunol.* 2009; 183: 5279–5292 [cit. 2022-2-18]. DOI: 10.4049/jimmunol.0901390

PUIUS Y, KALISH R. Lyme arthritis: pathogenesis, clinical presentation, and management. *Infect Dis Clin North Am* 2008; 22: 289-300 [cit. 2022-3-17] DOI: 10.1016/j.idc.2007.12.014

PLOTKIN S. Need for a new Lyme disease vaccine. *N. Engl. J. Med.* 2016; **375**: 911–913 [cit. 2022-4-28]. DOI: 10.1056/NEJMp1607146

POLAND G. Vaccines against Lyme disease: what happened and what lessons can we learn? *Clin. Infect. Dis.* 2011; **52**: 253–s258 [cit. 2022-5-3]. DOI: 10.1093/cid/ciq116

PURSER J, LAWRENZ M, CAIMANO M, HOWELL J, RADOLF J, NORRIS S. A plasmid-encoded nicotinamidase (PncA) is essential for infectivity of *Borrelia burgdorferi* in a mammalian host. *Mol Microbiol* 2003; 48: 753–764 [cit. 2022-1-29]. DOI: 10.1046/j.1365-2958.2003.03452.x

QIU W, BRUNO J, MCCAIG W, XU Y, LIVEY I, SCHRIEFER M, et al. Wide distribution of a high-virulence *Borrelia burgdorferi* clone in Europe and North America. *Emerging Infect Dis.* 2008;14(7):1097-104 [cit. 2021-12-29]. DOI: 10.3201/eid1407.070880

QUINTIN J, CHENG S, VAN DER MEER J, NETEA M. Innate immune memory: towards a better understanding of host defense mechanisms. *Curr Opin Immunol.* 2014; 29: 1 [cit. 2022-3-14]. DOI: 10.1016/j.coi.2014.02.006

RADOLF J, CAIMANO M, STEVENSON B, HU L. Of ticks, mice and men: understanding the dual-host lifestyle of Lyme disease spirochaetes. *Nat. Rev. Microbiol.* 2012; 10: 87–99 [cit. 2022-1-14] DOI: 10.1038/nrmicro2714

RADOLF J, SAMUELS D. Lyme Disease and Relapsing Fever Spirochetes: Genomics, Molecular Biology, Host Interactions and Disease Pathogenesis 2021; [cit. 2022-1-14] DOI: 10.21775/9781913652616

RAMAMOORTHI N, et al. The Lyme disease agent exploits a tick protein to infect the mammalian host. *Nature*. 2005; 436: 573–577 [cit. 2022-1-25] DOI: 10.1038/nature03812

RAMSEY M, HYDE J, MEDINA-PEREZ D, LIN T, GAO L, LUNDT M, LI X, NORRIS S, SKARE J, HU L. A high-throughput genetic screen identifies previously uncharacterized *Borrelia burgdorferi* genes important for resistance against reactive oxygen and nitrogen species. *PLoS Pathog* 2017; 13(2):e1006225 [cit. 2022-4-25] DOI: 10.1371/journal.ppat.1006225

RAUER S, KASTENBAUER S, HAFMANN H, FINGERLE V, HUPPERTZ H, HUNFELD K, KRAUSE A, RUF B, DERSCH R. Guidelines for diagnosis and treatment in neurology – Lyme neuroborreliosis. *Ger Med Sci* 2020; 18: doc3 [cit. 2022-3-17] DOI: 10.3205/000279

RICHTER D, MATUSCHKA F, SPIELMAN A, MAHADEVAN L. How ticks get under your skin: insertion mechanics of the feeding apparatus of *Ixodes ricinus* ticks. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 2013; 280: 1 – 6 e1006225 [cit. 2022-3-3] DOI: 10.1098/rspb.2013.1758

RISTOW L, BONDE M, LIN Y, SATO H, CURTIS M, WESLEY E, HAHN B, FANG J, WILCOX D, LEONG J, et al. Integrin binding by *Borrelia burgdorferi* P66 facilitates dissemination but is not required for infectivity. *Cellular Microbiology* 2015; 17: 1021–1036. [cit. 2022-3-19] DOI: 10.1111/cmi.12418

ROGOVSKYY A, BANKHEAD T. Variable VlsE is critical for host reinfection by the Lyme disease spirochete. *PLoS ONE*. 2013; 8: e61226 [cit. 2022-3-3] DOI: 10.1371/journal.pone.0061226

ROTHENBERG M, HOGAN S. The eosinophil. *Annu Rev Immunol*. 2006; 24: 147–74 [cit. 2022-3-3] DOI: 10.1146/annurev.immunol.24.021605.090720

SAHAY B, et al. CD14 signaling restrains chronic inflammation through induction of p38-MAPK/SOCS-dependent tolerance. *PLoS Pathog*. 2009; 5: e1000687 [cit. 2022-2-6] DOI: 10.1371/journal.ppat.1000687

SALAZAR J, et al. Coevolution of markers of innate and adaptive immunity in skin and peripheral blood of patients with erythema migrans. *J. Immunol.* 2003; 171: 2660–2670 [cit. 2022-4-11] DOI: 10.4049/jimmunol.171.5.2660

SANTOS M, JÚNIOR V, RODRIGUES R, TALHARI S. Lyme borreliosis. *An Bras Dermatol* 2010; 85(6) [cit. 2022-3-17] DOI: 10.1590/S0365-05962010000600029

SAMUELS D. Gene regulation in *Borrelia burgdorferi*. *Annu. Rev. Microbiol.* 2011; 65: 479–499 [cit. 2022-3-3] DOI: 10.1146/annurev.micro.112408.134040

SHIN O, et al. Distinct roles for MyD88 and Toll-like receptors 2, 5, and 9 in phagocytosis of *Borrelia burgdorferi* and cytokine induction. *Infect. Immun.* 2008; 76: 2341–2351 [cit. 2022-4-19] DOI: 10.1128/IAI.01600-07

SJÖWALL J, FRYLAND L, NORDBERG M, SJÖGREN F, GARPMO U, JANSSON C, ET AL. Decreased Th1-Type Inflammatory Cytokine expression in the skin is associated with persisting symptoms after treatment of erythema migrans. *PLoS ONE* 2011; 6:e18220 [cit. 2022-3-17] DOI: 10.1371/journal.pone.0018220

SHOWMAN A, ARANJUEZ G, ADAMS P, JEWETT M. Gene bb0318 Is Critical for the Oxidative Stress Response and Infectivity of *Borrelia burgdorferi*. *Infection and immunity* 2016; 84: 3141–3151 [cit. 2022-4-21] DOI: 10.1128/IAI.00430-16

SCHRIEFER M. Lyme Disease Diagnosis: Serology. *Clin Lab Med* 2015; 35: 797-814 [cit. 2022-3-17] DOI: 10.1016/j.cll.2015.08.001

SCHUIJT T, HOVIUS J, VAN DER POOL T, VAN DAM A, FIKRIG E. Lyme borreliosis vaccination: the facts, the challenge, the future. *Trends Parasitol.* 2011; 27: 40–47 [cit. 2022-5-4] DOI: 10.1016/j.pt.2010.06.006

STANEK G, FINGRLE V, HUNFELD K, et al. Lyme borreliosis: Clinical case definitions for diagnosis and management in Europe. *Clin Microbiol Infect* 2011; 17: 69–79 [cit. 2022-2-24] DOI: 10.1111/j.1469-0691.2010.03175.x

STANEK G, WORMSER G, GRAY J, STRLE F. Lyme borreliosis. *Lancet* 2012; 379: 461-73 [cit. 2022-3-17] DOI: 10.1016/S0140-6736(11)60103-7

STEERE A, GLICKSTEIN L. Elucidation of Lyme arthritis. *Nat. Rev. Immunol.* 2004; 4: 143–152 [cit. 2021-12-13] DOI: 10.1038/nri1267

STEERE A. Lyme disease. *N. Engl. J. Med.* 2001; 345: 115–125 [cit. 2021-11-14] DOI: 10.1056/NEJM198908313210906

STRLE K, SHIN J, GLICKSTEIN L, STEERE A. Association of a Toll-like receptor 1 polymorphism with heightened Th1 inflammatory responses and antibiotic-refractory Lyme arthritis. *Arthritis Rheum.* 2012; 64: 1497–1507 [cit. 2022-1-7] DOI: 10.1002/art.34383

STRLE F, STANEK G. Clinical manifestations and diagnosis of Lyme borreliosis. *Curr Probl Dermatol* 2009; **37**: 51–110 [cit. 2022-3-4] DOI: 10.1159/000213070

THANASSI W, SCHOEN R. The Lyme disease vaccine: conception, development, and implementation. *Ann Intern Med* 2000; 132: 661-8 [cit. 2022-3-17] DOI: 10.7326/0003-4819-132-8-200004180-00009

TÖPFER K, STRAUBINGER R. Characterization of the humoral immune response in dogs after vaccination against the Lyme borreliosis agent A study with five commercial vaccines using two different vaccination schedules. *Vaccine* 2007; **25**: 314–326 [cit. 2022-4-7] DOI: 10.1016/j.vaccine.2006.07.031

TORBAHN G, HOFMANN H, RUCKER G, et al. Efficacy and safety of antibiotic therapy in early cutaneous Lyme borreliosis. *JAMA Dermatology* 2018; 154(11): 1292-1303 [cit. 2022-2-22] DOI: 10.1001/jamadermatol.2018.3186

TORY H, ZURAKOWSKI D, SUNDEL R. Outcomes of children treated for Lyme arthritis: results of a large pediatric cohort. *J Rheumatol.* 2010; 37(5): 1049-1055 [cit. 2022-3-8] DOI: 10.3899/jrheum.090711

TSAO J. Reviewing molecular adaptations of Lyme borreliosis spirochetes in the context of reproductive fitness in natural transmission cycles. *Vet Res.* 2009; 40(2): 36 [cit. 2022-1-23] DOI: 10.1051/vetres/2009019

VASUDEVAN B, CHATTERJEE M. Lyme borreliosis and skin. *Indian J Dermatol* 2013; 58: 167-74 [cit. 2022-3-17] DOI: 10.4103/0019-5154.110822

VITORINO L, MARGOS G, FEIL E, COLLARES-PEREIRA M, ZÉ-ZÉ L, KURTENBACH K. Fine-scale phylogeographic structure of *Borrelia lusitaniae* revealed by multilocus sequence typing. *PLoS One*. 2008; 3(12): e4002 [cit. 2022-2-14] DOI: 10.1371/journal.pone.0004002

VOROU R, PAPAVALASSIOU V, TSIODRAS S. Emerging zoonoses and vector-borne infections affecting humans in Europe. *Epidemiol Infect*. 2007; 135(8): 1231-47 [cit. 2022-3-8] DOI: 10.1017/S0950268807008527

WANG P, et al. *Borrelia burgdorferi* oxidative stress regulator BosR directly represses lipoproteins primarily expressed in the tick during mammalian infection. *Mol. Microbiol*. 2013; 89: 1140–1153 [cit. 2022-2-11] DOI: 10.1111/mmi.12337

WERNERSSON S, PEJLER G. Mast cell secretory granules: armed for battle. *Nat Rev Immunol*. 2014; 14(7): 478–94 [cit. 2022-3-28] DOI: 10.1038/nri3690

WORMSER G, DATTWYLER R, SHAPIRO E, et al. The clinical assessment, treatment, and prevention of Lyme disease, human granulocytic anaplasmosis, and babesiosis: clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*. 2006; 43(9): 1089–1134 [cit. 2022-4-26] DOI: 10.1086/508667

WRESSNIGG N. et al. Safety and immunogenicity of a novel multivalent OspA vaccine against Lyme borreliosis in healthy adults: a double-blind, randomised, dose-escalation phase 1/2 trial. *Lancet Infect. Dis*. 2013; **13**: 680–689 [cit. 2022-4-26] DOI: 10.1016/S1473-3099(13)70110-5

XU Q, SEEMANAPALLI S, REIF K, BROWN C, LIANG F. Increasing the recruitment of neutrophils to the site of infection dramatically attenuates *Borrelia burgdorferi* infectivity. *J. Immunol*. 2007; 178: 5109–5115 [cit. 2022-1-28] DOI: 10.4049/jimmunol.178.8.5109

ZAJKOWSKA J, PANCEWICZ S, GRYGORCZUK S ET AL. Neuroborelioza-wybrane aspekty patogenezy, diagnostyki i leczenia. *Pol Merk Lek* 2008; 24(143): 453-457 [cit. 2022-6-24] DOI: 10.15374/fz2013042