

Univerzita Karlova v Praze

2. lékařská fakulta

Studijní program: Preventivní medicína



MUDr. Daniela Vaňousová

Dermatologické projevy infekce
Borrelia burgdorferi sensu lato a *Anaplasma phagocytophilum*

Dermatological manifestations of infection by *Borrelia burgdorferi* sensu lato
and *Anaplasma phagocytophilum*

Disertační práce

Vedoucí závěrečné práce:

Prof. MUDr. Jana Hercogová, CSc.

Konzultant:

Doc. MUDr. Ladislav Machala, Ph.D.

Praha, 2014

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem řádně uvedla a citovala všechny použité prameny a literaturu. Současně prohlašuji, že práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

Souhlasím s trvalým uložením elektronické verze mé práce v databázi systému meziuniverzitního projektu Theses.cz za účelem soustavné kontroly podobnosti kvalifikačních prací.

V Praze, 28.03.2014

MUDr. DANIELA VAŇOUSOVÁ

Podpis:

Identifikační záznam:

VAŇOUSOVÁ, Daniela. Dermatologické projevy infekce *Borrelia Burgdorferi* sensu lato a *Anaplasma phagocytophilum*. [*Dermatological manifestations of infection by Borrelia burgdorferi sensu lato and Anaplasma phagocytophilum*]. Praha 2014. Počet stran: 124. Disertační práce (Ph.D.). Univerzita Karlova v Praze, 2. lékařská fakulta, Dermatovenerologická klinika. Vedoucí závěrečné práce Prof. MUDr. Hercogová, Jana, CSc.

Poděkování

Ráda bych poděkovala především Prof. MUDr. Janě Hercogové, CSc. za návrh a uvedení do problematiky lymeské borreliózy, za umožnění studie, cenné rady, zkušenosti a pomoc při realizaci studie a psaní disertační práce. Mé velké poděkování patří také infektologovi Doc. MUDr. Ladislavu Machalovi, Ph.D., který mi byl oporou, učitelem a rádcem v oblasti dalších infekčních onemocnění přenášených klíšťaty a zejména při sepisování disertační práce. Ráda bych poděkovala svým spolupracovníkům Dermatovenerologické kliniky 2. LF UK a Nemocnice Na Bulovce MUDr. Nadě Knotové, MUDr. Alexandře Němcové, MUDr. Radmile Konkořové a dalším lékařům, kteří se podíleli na vyšetřování a péči o pacienty. Zvláštní poděkování patří sestřám naší kliniky za jejich spolupráci a pochopení během studie a také za péči o pacienty. Významné poděkování patří kolegům z NRL pro LB ve SZÚ za jejich spolupráci, provedená vyšetření a fotodokumentaci, a to zejména RNDr. Dagmar Hulínské, CSc., Mgr. Kateřině Langerové, panu Jaroslavu Votýpkovi a ostatním zaměstnancům laboratoře. Děkuji Doc. MUDr. Lubomíru Pockovi, CSc., za precizní histopatologická vyšetření. Ráda bych také poděkovala mnoha dalším kolegům a přátelům, kteří mi byli nápomocni radou či korekturou finálního textu disertační práce. Zvláště pak děkuji MUDr. Pavlu Dryákovi a MUDr. Šárce Lásikové z mikrobiologického oddělení Nemocnice Na Bulovce.

Moje největší poděkování však patří mé rodině, která mi tuto práci umožnila, po celou dobu mě podporovala a chápavě tolerovala mou práci. Zvláštní poděkování patří mému manželovi.

Abstrakt:

Lymeská borrelióza (LB) a lidská granulocytární anaplasmóza (LGA) patří mezi antropozoonózy, které se vyskytují ve stejných geografických oblastech a na člověka jsou přenášeny stejným druhem klíštěte rodu *Ixodes*. Zatímco patogenem LB je extracelulární spirochéta *Borrelia burgdorferi* a symptomy, průběh, diagnostika a léčba onemocnění je dobře známá, LGA patří mezi nová a méně známá onemocnění. LGA způsobuje obligátní intracelulární bakterie *Anaplasma phagocytophilum* a onemocnění probíhá nejčastěji jako horečnaté onemocnění doprovázené dalšími nespecifickými příznaky, mezi které patří třesavka, únava, bolesti svalů, kloubů a hlavy. V průběhu neléčené infekce může dojít k orgánovému poškození, zejména respiračního systému, gastrointestinálního traktu a nervového systému. Mezi laboratorní známky infekce patří změny v krevním obrazu – leukopenie, anémie, trombocytopenie, a elevace jaterních enzymů. V Severní Americe se vyskytuje větší počet symptomatických a závažných případů, které mohou mít ve výjimečných případech i fatální průběh. V Evropě jsou průběhy LGA mírné až asymptomatické. Promořenost klíšťat anaplasmovou DNA v Evropě je vysoká, vysoká je i prevalence anaplasmových protilátek u divokých zvířat. Séroprevalence zejména v rizikové populaci je u nás i v Evropě vysoká. V souvislosti s LB můžeme anaplasmovou infekci, vzhledem k inkubační době a průběhu obou onemocnění, nejvíce předpokládat jako koinfekci v případě EM. Koinfekce anaplasmat byla prokázána u 29,5 % pacientů našeho souboru, nejčastěji u pacientů s erythema migrans. Průběh anaplasmózy byl mírný až asymptomatický.

Borrelie hrají důležitou etiopatogenetickou úlohu nejen u kožních projevů LB ale i u příbuzných dermatóz. Borreliovou infekci se podařilo prokázat přímými metodami u 70 % nemocných s erythema migrans, u 70 % s acrodermatitis chronica atrophicans, dále u 75 % s granuloma annulare a u 50 % se sclerodermia circumscripta. Koinfekce různými druhy borrelií je možná. Podíl anaplasmat na etiopatogenezi ostatních dermatóz granuloma annulare, sclerodermia circumscripta a lichen sclerosus et atrophicus je pouze náhodným nálezem.

Klíčová slova ČJ: *Lymeská borrelióza, Borrelia burgdorferi, Anaplasmóza, Anaplasma phagocytophilum, koinfekce, dermatózy*

Abstract:

Lyme disease (LD) and human granulocytic anaplasmosis (HGA) are anthrozooses that occur in the same geographical areas and are transmitted to humans by the same species of ticks of the genus *Ixodes*. While the extracellular pathogen of LD, spirochete *Borrelia burgdorferi*, and symptoms, course, diagnosis and treatment of the disease are well known, the HGA is one of the new and less known diseases. HGA is caused by an obligate intracellular bacterium *Anaplasma phagocytophilum* and the disease most often presents as a febrile illness accompanied by other nonspecific symptoms, including chills, fatigue, muscle pain, joint pain and headaches. An untreated infection can cause organ involvement, particularly of respiratory, gastrointestinal and the nervous system. Laboratory signs of infection include changes in the blood count - leucopenia, anemia, thrombocytopenia, and elevated liver enzymes. Among cases reported from North America, there is a higher portion of symptomatic and severe cases, with some reported deaths. In Europe, the course of HGA tends to be mild or asymptomatic. The percentage of ticks containing anaplasma DNA in Europe is high, there is also a high prevalence of anaplasma antibodies in wild animals. Seroprevalence especially in the high-risk population in our country and in Europe is high. In connection with LB anaplasma infection can be expected as a co-infection in the case of EM, due to the incubation period and the course of both diseases. *Anaplasma* coinfection was found in 29.5% of patients from the entire population, mostly in patients with erythema migrans. The course of anaplasmosis was mild to asymptomatic.

Borrelia burgdorferi plays an important etiopathological role not only in skin manifestations of LD but also in related dermatoses. *Borrelia* infection has been proven by direct methods in 70% of patients with erythema migrans, 70% with acrodermatitis chronica atrophicans, followed by 75% with granuloma annulare and 50% with sclerodermia circumscripta. Coinfection with different *Borrelia* species is possible. *Anaplasma* influence in the pathogenesis of other dermatoses such as granuloma annulare, sclerodermia circumscripta and lichen sclerosus et atrophicus is only an incidental finding.

Key words: *Lyme disease, Borrelia burgdorferi, Anaplasmosis, Anaplasma phagocytophilum, coinfection, dermatosis*

Obsah:

1. Úvod	9
2. Literární přehled problematiky	10
2.1. Lymeská borrelióza	10
2.1.1. Historie	10
2.1.2. Etiologie.....	13
2.1.3. Epidemiologie.....	18
2.1.4. Etiopatogeneze	18
2.1.5. Klinické projevy	26
2.1.5.1. Kožní projevy	26
2.1.5.2. Postižení nervového systému	30
2.1.5.3. Postižení muskuloskeletálního systému	30
2.1.5.4. Postižení srdce	31
2.1.5.5. Postižení očí	33
2.1.6. Diagnostika	33
2.1.7. Léčba	36
2.1.8. Specifika v graviditě	40
2.1.9. Specifika u dětí	41
2.1.10. Prevence.....	41
2.1.11. Prognóza	42
2.2. Lidská granulocytární anaplasmóza	42
2.2.1. Historie	43
2.2.2. Etiologie.....	44
2.2.3. Epidemiologie	45
2.2.4. Etiopatogeneze.....	46
2.2.5. Klinické projevy	47
2.2.6. Diagnostika.....	48

2.2.7. Diferenciální diagnostika.....	49
2.2.8. Léčba	49
2.2.9. Specifika v graviditě.....	49
2.2.10. Prevence.....	49
2.2.11. Prognóza	49
2.3. Další nemoci přenášené klíšťaty.....	50
2.3.1. Ostatní ehrlichiozy.....	50
2.3.2. Klíšťová encefalitida	51
2.3.3. Rickettsiozy	52
2.3.4. Babesioza.....	54
2.3.5. Bartenolóza.....	55
2.4. Ostatní dermatózy	55
2.4.1. Granuloma annulare	55
2.4.2. Lichen sclerosus et atrophicus.....	57
2.4.3. Scleroderma circumscripta	58
2.5. Koinfekce.....	59
3. Cíle práce	62
4. Soubor pacientů a metody zpracování.....	62
5. Přehled výsledků.....	66
6. Diskuze	100
7. Závěry a zhodnocení cílů práce	107
8. Souhrn	110
9. Seznam zkratk	111
10. Seznam obrázků.....	112
11. Literatura.....	113

1. Úvod

Kožní onemocnění se v populaci vyskytují často a infekční původ patří mezi nejčastější příčinu kožních projevů. Etiologickými agens jsou nejrůznější bakterie, viry, paraziti a plísně. Souvislost mezi některými již dlouho známými kožními projevy a mikrobiologickým agens však bylo objeveno teprve nedávno. Jedná se o zoonózy, onemocnění, která jsou přenášena vektory. Nejčastějšími vektory jsou komáři a klíšťata. Klíšťata jsou roztoči s celosvětovým výskytem, kteří se živí sáním na rezervoárových hostitelích ve volné přírodě, při kterém se mohou infikovat. Sáním na lidském hostiteli pak mohou na člověka přenést řadu bakteriálních i virových onemocnění. Mezi tyto nákazy patří lymeská borrelióza, klíšťová encefalitida, ehrlichioza, dále babesioza, tularémie, horečka Skalických hor a další. V našich podmínkách jsou klíšťata často infikována právě borreliemi a anaplasmaty, mnohdy současně. Oba patogeny se při přenosu na člověka mohou klinicky manifestovat kožními projevy. *Borrelia burgdorferi* způsobuje multisystémové onemocnění nazývané lymeská borrelióza, které se nejčastěji projevuje kožními příznaky, má však výraznou afinitu také k nervové tkáni, kloubnímu vazivu a srdečnímu svalu. Neléčená infekce vede ke komplikacím a chronickému onemocnění. Borrelie se podle některých autorů mohou podílet na rozvoji ostatních dermatóz, jako je granuloma annulare, lichen sclerosus et atrophicus a sclerodermia circumscripta. Potvrzení infekčního agens a antibiotická léčba předejde komplikacím neléčené borreliové infekce.

Anaplasma phagocytophilum je původcem lidské granulocytární anaplasmózy, která se manifestuje jako horečnaté onemocnění s laboratorními změnami, které jsou dány postižením granulocytů. Onemocnění bylo objeveno koncem 20. století a ukazuje se, že infekce je rozšířena globálně. Počet případů přibývá, v některých oblastech světa jsou hlášeny i fatální průběhy onemocnění.

Problematika zoonóz a současně se vyskytujících nákaz (koinfekcí) nabývá v současné době na aktuálnosti vzhledem ke změně klimatu, který souvisí s celkovým globálním oteplováním, a s prodlužováním délky slunečního svitu, jehož následkem dochází k větší aktivitě nejen vektorů, ale i rezervoárových zvířat. Do kontaktu s vektorovými nákazami se lidé dostávají také při cestování do ohniskových oblastí ve světě, čímž se zvyšuje riziko nákazy i méně známými zoonózami. Přenos infekce je závislý na mnoha faktorech – na přítomnosti osoby v rizikových lokalitách, délce přisátí infikovaného klíštěte, na virulenci patogenu, velikosti infekční dávky, vývojové formě agens a imunitním stavu organismu.

2. Literální přehled problematiky

2.1. Lymeská borrelióza

Lymeská borrelióza (LB), (kód diagnózy: A69.2 dle Mezinárodní statistické klasifikace nemocí a přidružených zdravotních problémů MKN–10) je multisystémové onemocnění, jejímž původcem je *Borrelia burgdorferi*, bakterie ze skupiny spirochét. Onemocnění patří mezi nejčastější bakteriální zoonózy s přírodní ohniskovostí. Počet hlášených případů v posledních letech v České republice (ČR) kolísá mezi 3243 (v roce 2004) a 4834 (v roce 2011) případů ročně [1]. Reálný výskyt onemocnění je však zcela jistě mnohem vyšší vzhledem k podhlášenosti případů. Rezervoárovými hostiteli jsou obvykle savci a divocí ptáci, v Evropě pak hlodavci a jeleni [2-5]. Vektorem je klíště. Onemocnění postihuje nejčastěji kůži s typickými projevy časného i pozdního stadia. Symptomatika onemocnění je dále dána postižením dalších orgánů, kterými jsou nejčastěji centrální nervová soustava [6], kloubní aparát [7] a srdeční sval [8]. Neléčená infekce může vést k chronickému onemocnění, které výrazně ovlivňuje kvalitu života postižené osoby. Diagnostika kožní formy LB je klinická, histologická a laboratorní. Léčba je antibiotická podávaná po dostatečně dlouhou dobu.

2.1.1. Historie

Historie onemocnění nazývané lymeská borrelióza je velmi bohatá a přesahuje více než jedno století. První zmínky o klinických projevech LB jsou popisovány již od konce 19. století, avšak teprve v roce 1987 byla oficiálně stanovena nosologická jednotka lymeská borrelióza, která zahrnuje všechny klinické projevy tohoto infekčního onemocnění [9]. Choroba byla pojmenována podle městečka Old Lyme ve státě Old Connecticut v USA, kde na sebe onemocnění v roce 1975 upozornilo epidemií artritidy, a bylo v podstatě historickým mezníkem, jež vedlo ke zjištění přenosu patogenu klíštětem a následně k objevu patogenu samotného.

Nejdochovanější zmínka související s LB je z roku 1883, kdy německý dermatolog A. Buchwald popsal kožní projev „difúzní idiopatické kožní atrofie“ [10]. Popis odpovídá dnes používanému termínu acrodermatitis chronica atrophicans (ACA), projevu pozdního stadia LB. Ale termín ACA poprvé použili K. Herxheimer a K. Hartman až v roce 1902 [11]. V roce 1894 popsal E. Spiegler borreliový lymfocytom [12] a v roce 1909 byl švédským dermatologem A. Afzeliem poprvé prezentován erytém připomínající terč, který byl Afzeliem popsán jako erythema migrans [13]. Své pozorování však publikoval až o mnoho let později,

a to v roce 1921, kdy dal do souvislosti přisátí klíštěte a vznik erytému v daném místě. Nezávisle na jeho pozorování v roce 1913 popsal kožní erytém jako erythema chronicum migrans rakouský dermatolog B. Lipschütz [14]. V roce 1911 švýcarský patolog J. Burckhardt poprvé histologicky popsal solitární kožní lézi tvořenou folikuly, které se nacházejí v uzlinách, a odlišil projev od lymfomu [15], termín lymphadenosis cutis benigna pak stanovil B. Bärfverstadt v roce 1943 [16].

Začátkem 20. století byly publikovány případy kožních projevů související s postižením jiných orgánů. Případ ACA s artralgiemi publikoval M. Jessner v roce 1921 [17], případ nejasného erytému s meningoradikulo-neuritidou popsali francouzští neurologové C. Garin a A. Bujadoux v roce 1922 a neurologický projev nazvali klíšťovou paralýzou [18]. Později S. Hellerström prezentoval případ kožního projevu s meningitidou, resp. meningoencefalitidou [19]. V roce 1934 německý zubař R. Stadelmann popsal 6 klinických případů EM, mezi kterými byl zařazen i případ pacienta s artralgiemi, únavou a myalgiemi [20]. V roce 1941 mnichovský neurolog A. Bannwarth popsal případy meningoradikulo-neuritidy, které se objevily po přisátí klíštěte a následném rozvoji kožního erytému [21]. V roce 1946 byla ACA úspěšně léčena penicilinem u 2 pacientů [22], v roce 1949 již byl publikován celý soubor 57 úspěšně léčených pacientů s ACA [23]. Lenhoff sice v roce 1948 upozornil na možnou souvislost spirochét a kožních projevů zjištěnou na základě vyšetření tkáně v zástinovém mikroskopu, ale tato teorie nebyla ostatními odborníky přijata. Efekt léčby EM a meningitidy penicilinem pozoroval v roce 1951 E. Hollström [24]. Infekční etiologii onemocnění prokázal v roce 1955 E. Binder a spol., který excidoval kůži z projevu EM a přenesl ji na dobrovolníky, včetně sebe. Za 1–3 týdny se u nich rozvinul erytém, který zregredoval po podání penicilinu [25]. Podobným způsobem byla ten samý rok prokázána infekční etiologie ACA mnichovským dermatologem H. Götzem [26]. V 50. letech byl postupně zjištěn dobrý terapeutický efekt také po podání chloramfenikolu, tetracyklinu, erytromycinu a streptomycinu [27-29]. Etiologie však zůstávala stále neznámá. V 60. a 70. letech bylo kolektivem kolem W. Hausera zjištěno, že EM je systémové onemocnění [30].

Zatímco v Evropě se vyskytovaly projevy kožní a neurologické, v Severní Americe, resp. v USA, byly popisovány kloubní obtíže nejasné etiologie, většinou považované za artritidu. První případ publikovaného EM v USA, který vznikl v místě přisátého klíštěte s přítomností radikulárních bolestí, který odezněl po terapii benzathin penicilinem, byl publikován v roce 1970 [31].

Významným historickým mezníkem byl rok 1975, kdy se objevil výskyt artritidy kolenního kloubu u 39 dětí a 12 dospělých v endemické oblasti Old Lyme v Connecticut

v USA. U postižených byl retrospektivně zjištěn společný anamnestický údaj o výskytu kožního erytému. Revmatolog A. Steer, který výzkum vedl spolu s S. Malawistou, nazvali tento typ artritidy lymeskou artritidou [32, 33]. Etiologické agens bylo stále neznámé, ale již v té době bylo vysloveno podezření, že se může vzhledem k významnějšímu výskytu klíšťat *Ixodes dammini* v dané oblasti jednat o zoonózu. Teprve o několik let později byl jako vektor potvrzen *Ixodes scapularis* [34]. V roce 1980 publikoval A. Steere případy kardiálního postižení při LB [8].

Původce onemocnění, bakterie *Borrelia burgdorferi*, byl objeven v oblasti řeky Connecticut v roce 1982 W. Burgdorferem, který izoloval bakterii morfologicky podobnou rodu *Treponema* z trávicího traktu klíštěte druhu *I. dammini* [35]. Dále zjistil, že tato spirochéta reaguje při nepřímé imunofluorescenci se séry pacientů s lymeskou nemocí a označil ji za původce této choroby. Ještě v témže roce se podařilo A. Barbourovi borrelii izolovat [35]. Následoval přímý průkaz borrelií a průkaz antiborreliových protilátek v krvi pacientů s klinickými projevy LB v roce 1983 J. Benachem [36]. Spirochety byly následně izolovány z krve, kůže i mozkomíšního moku [13, 37, 38].

Na základě analýzy DNA borrelií byla v roce 1984 spirochéta zařazena mezi rod *Borrelia* a bakterie byla pojmenovaná po svém objeviteli *Borrelia burgdorferi* [39]. Onemocnění bylo označováno jako Lymeská nemoc „Lyme disease“. V ČR se používal název klíšťová borrelióza nebo lymeská nemoc [40, 41]. Na mezinárodní konferenci o lymeské nemoci v roce 1985 ve Vídni a následně na III. mezinárodní konferenci v New Yorku v roce 1987 byl doporučen termín Lymeská borrelióza.

V České republice onemocnění LB vzbudilo také značnou pozornost. V 50. a 60. letech se LB, a zejména jejímu výskytu a léčbě EM, věnoval MUDr. Sedláček [42, 43]. Zjištění epidemiologické situace, výskytu LB u dětí a variabilitě klinických projevů LB se pak věnoval především prof. MUDr. Stanislav Doutlík, DrSc, přednosta Infekční kliniky Nemocnice Na Bulovce v 90. letech [40, 44, 45]. Velkým přispěním bylo vytvoření Národní referenční laboratoře pro diagnózu lymeské borreliózy v Praze, jejíž vedoucí RNDr. Dagmar Hulínková, CSc., se věnovala laboratornímu průkazu borrelií, zejména kultivaci [46], a zavedla diagnostické metody průkazu borrelií metodou PCR a elektronovou mikroskopií kombinovanou se specificky značenou monoklonální protilátkou [47-49]. Ve spolupráci s dalšími klinickými odborníky prokázali a publikovali řadu vědeckých publikací týkající se tohoto onemocnění. Kožní formou LB s její klinickou variabilitou, sérologickým nálezům v populaci, pacientkám s LB v graviditě a léčbou se zabývá dermatoložka Prof. MUDr. J. Hercogová, CSc. [50-52]. Revmatoložka Doc. MUDr. M. Valešová, CSc. se zabývá

kloubními projevy LB a ve spolupráci s RNDr. D. Hulínskou, CSc. prokázaly borrelie v synoviální tkáni [41, 53]. Internista Doc. MUDr. P. Bartůnek, CSc., se věnuje pacientům s kardiálním postižením LB [54]. Neuroborrelióze se věnuje neurolog Doc. MUDr. M. Bojar, CSc. [55], dále neurolog a infektolog Doc. MUDr. D. Pícha, CSc. [56] a léčbě LB dále infektoložka MUDr. H. Roháčová, Ph.D. [57].

2.1.2. Etiologie

Původcem onemocnění je mikroaerofilní vláknitá bakterie čeledi *Spirochetaceae*, rodu *Borrelia*, skupiny *Borrelia burgdorferi* sensu lato (*B. b. s. l.*). Borrelie jsou tenké spirálovité gramnegativní tyčky vel. 0,2 μm x 4–30 μm s bičíky.

Obr. 1 *Borrelia burgdorferi* v krvi - elektronová mikroskopie



Foto: D. Hulínská

Tab. 1 Taxonomie *Borrelia burgdorferi*

Říše *Bacteria* (bakteria)

- Kmen *Spirochaetae* (spirochéty)
 - Třída *Spirochaetes*
 - Řád *Spirochaetales*
 - Rod *Borrelia*

Jejich spirálovitý průběh je dán pravidelnými 4–15 závity ve vzdálenosti 2,2 μm . Morfologicky se liší od ostatních spirochét charakterem, počtem a vzdáleností závitů a také počtem bičíků. *Borrelie* mají charakteristický rychlý pohyb, který umožňuje 7–9 periplasmatických bičíků vycházejících z bazálních disků v cytoplasmatické membráně na koncích těla. Tyto bičíky obtáčí tělo bakterie pod vnější buněčnou stěnou, a tím umožňují spirochétám rotaci kolem podélné osy, pohyb vpřed, smršťování, natahování a ohýbání. Jsou schopné pronikat do obtížně dosažitelných míst, pronikat placentou i hematoencefalickou bariérou. Buněčná stěna se skládá ze 3 vrstev, povrchová vrstva je lipoproteinová, střední lipopolysacharidová a vnitřní lipoproteinová. Mezi buněčnou stěnou a cytoplasmatickou membránou je periplasmatický prostor. V cytoplasmě se nachází 1 lineární chromozom a 20 různých cirkulárních a lineárních plasmidů. Plasmidy nesou genetickou informaci pro tvorbu vnějších povrchových antigenů – Outer surface protein (Osp). Jednotlivé subtypy *borrelií* se pak liší ve složení a hmotnosti vnějších povrchových antigenů, které se značí OspA, OspB, OspC, OspD, Osp F, P14. Přítomnost těchto proteinových a neproteinových antigenů určuje virulenci *borrelií*, které se vyznačují vysokou schopností měnit svou antigenní strukturu v závislosti na imunitní odpovědi hostitelského organismu, a tím jí aktivně unikají.

Borrelie patří mezi bakterie s pomalým růstem, jejich generační doba *in vitro* je 12–14 hodin, *in vivo* není známa. Dělí se příčným nebo podélným dělením. Tyto mikroaerofilní organismy je možné kultivovat *in vitro*. Vyžadují však specifické, vysoce obohacené médium, Barbour-Stoenner-Kellyho půdu neboli BSK médium [58-60] a dále teplotu 34–37 °C. Za nevhodných *in vitro* či *in vivo* (antibiotická léčba) podmínek dochází k vytváření aberantních forem spirochét, které jsou popisovány jako cysty či vezikuly. Tyto formy jsou pak detekovatelné i v biologickém materiálu, např. krvi či mozkomíšním moku. *Borrelie* se dále vyznačují schopností transformovat se za příhodných podmínek jak *in vitro*, tak *in vivo* zpět v aktivní bakterie [61].

Obr. 2 *Borrelia burgdorferi* s bičíky – elektronová mikroskopie

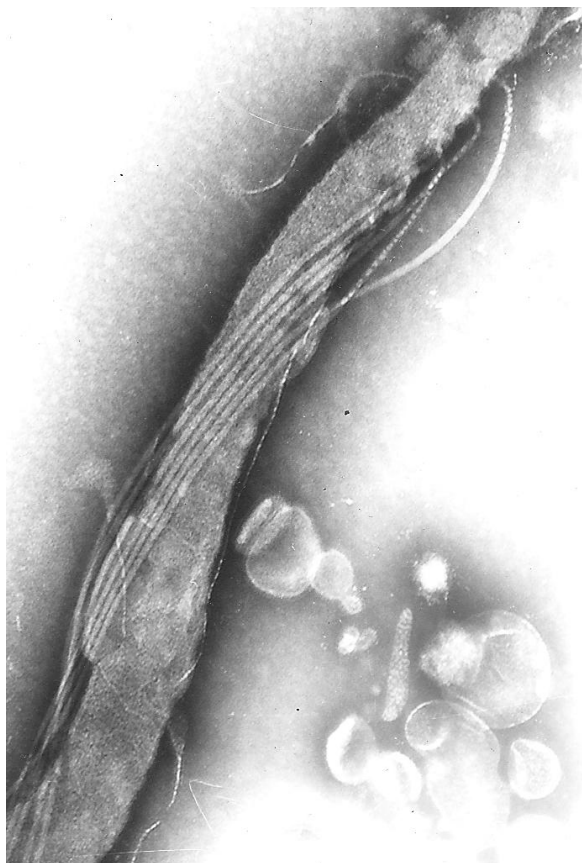


Foto: D. Hulínská

Obr. 3 Dělení *B. burgdorferi*

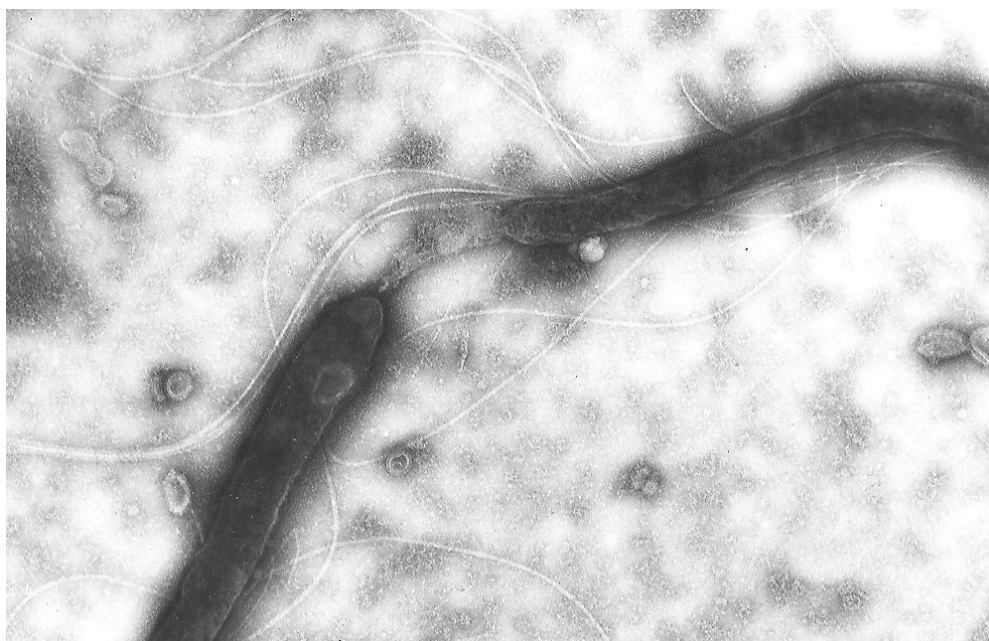


Foto: D. Hulínská

Druh *B. burgdorferi* zahrnuje v současnosti celkem 19 známých subtypů bakterií, viz tabulka č. 1. Prokazatelně patogenní borrelie jsou *B. afzelii*, *B. bavariensis*, *B. burgdorferi*, *B. garinii*, *B. spielmanni*. Mezi možné humánní patogeny patří *B. valaisiana*, *B. bissettii*, *B. lusitaniae*. Ostatní druhy borrelií byly izolovány z klíštěte.

Obr. 4 Tvorba cyst *Borrelie burgdorferi*

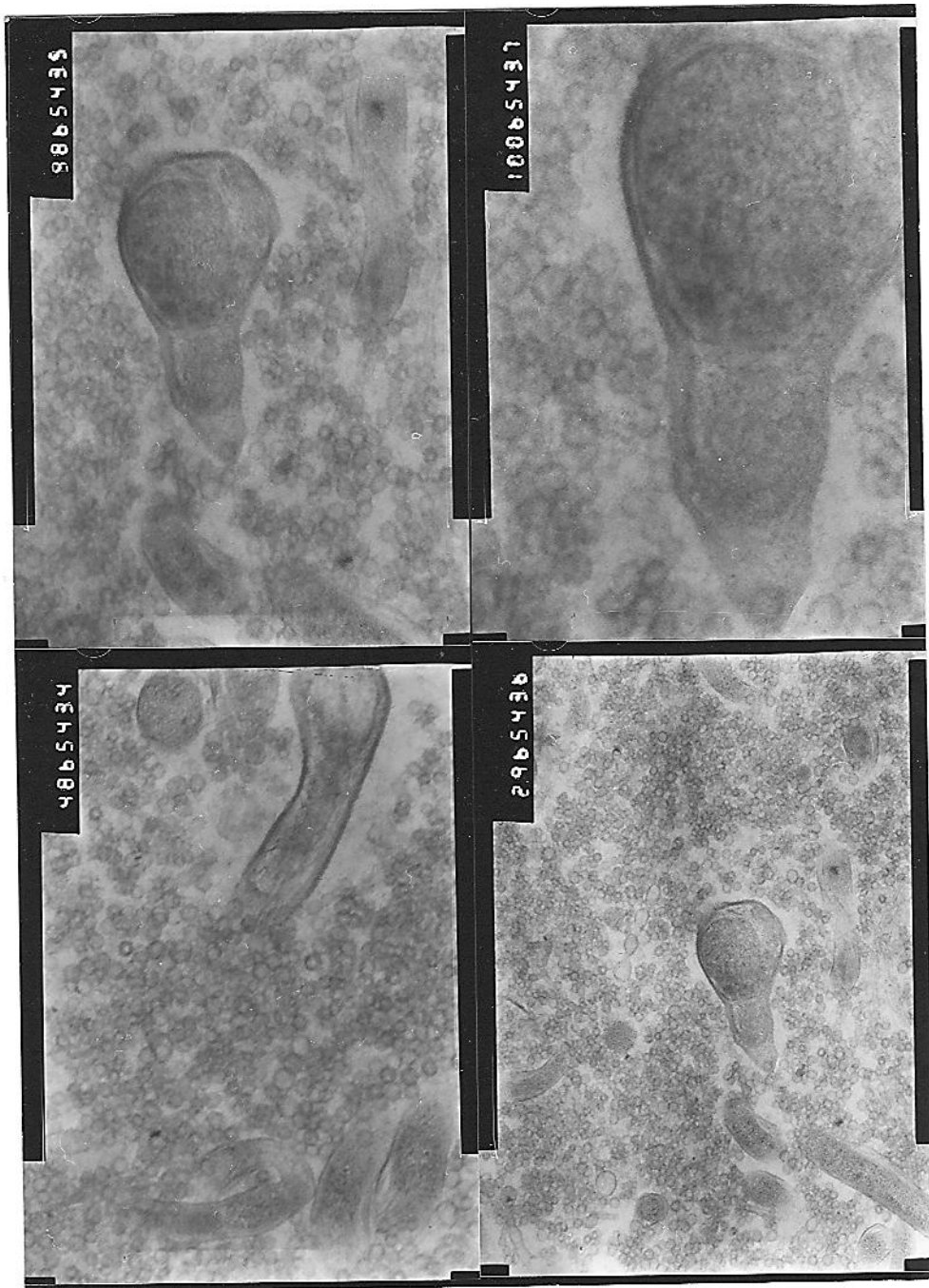


Foto: D. Hulínská

Tab. 2 *Borrelia burgdorferi* sensu lato genospecies, převzato z www.eucalb.com [62]

Genospecies	Geografický výskyt	Autor a rok průkazu	Reference
<i>B. afzelii</i>	Evropa	Canica et al. 1993	Scand J Infect Dis., 25:441–8
<i>B. americana</i>	USA	Rudenko et al. 2009	J Clin Microbiol. 47:3875–3880
<i>B. andersonii</i>	USA	Marconi et al. 1995	J Clin Microbiol. 33:2427–34
<i>B. bavariensis</i>	Evropa	Margos et al. 2009	Appl Environ Microbiol. 75:5410–6.
<i>B. bissettii</i>	Evropa, USA	Postic et al. 1998	J Clin Microbiol. 36:3497–504
<i>B. burgdorferi</i>	Evropa, USA	Baranton et al. 1992	Int J Syst Bacteriol. 42:378–83
<i>B. californiensis</i>	USA	Postic et al. 1997	Int J Med Microbiol. 297:263–271
<i>B. carolinensis</i>	USA	Rudenko et al. 2009	J Clin Microbiol. 47:134–141
<i>B. finlandensis</i>	Evropa	Casjens et al. 2011	J Bacteriol. 193(6):1489–90
<i>B. garinii</i>	Evropa, Asie	Baranton et al. 1992	Int J Syst Bacteriol. 42:378–83
<i>B. kurtenbachii</i>	USA	Margos et al. 2011	Ticks Tick Borne Dis. 1:151–158
<i>B. lusitaniae</i>	Evropa	Le Fleche et al. 1997	Int J Syst Bacteriol. 47:921–5
<i>B. japonica</i>	Japonsko	Kawabata et al. 1993	Microbiol Immunol 37:843–8
<i>B. sinica</i>	Čína	Masuzawa et al. 2001	Int J Syst Evol Microbiol. 51:1817–24
<i>B. spielmanii</i>	Evropa	Richter et al. 2006	Int J Syst Evol Microbiol. 56:873–81
<i>B. tanukii</i>	Japonsko	Fukunaga et al. 1996	Microbiol Immunol 40:877–81
<i>B. turdi</i>	Japonsko	Fukunaga et al. 1996	Microbiol Immunol 40:877–81
<i>B. valaisiana</i>	Evropa Asie	Wang et al. 1997	Int J Syst Bacteriol. 47:926–32
<i>B. yangtze</i>	Asie	Chu et al. 2011	J Bacteriol. Mar; 193(6):1489–90

Výskyt borrelií se liší na různých místech světa. Zatímco v Severní Americe převažuje *B. burgdorferi* sensu stricto (*B. burgdorferi* s. s.), v Asii se vyskytují *B. afzelii*, *B. garinii* a *B. burgdorferi* s. s., v Evropě se nejčastěji vyskytují *B. garinii*, *B. afzelii* a *B. burgdorferi* sensu stricto. Vyšetřením klíšťat na našem území byly izolovány následující druhy borrelií – *B. garinii* (40 %), *B. afzelii* (36,3 %), *B. burgdorferi* s. s. (12,9 %), *B. valaisiana* (3,5 %), *B. lusitaniae* (0,8 %), *B. bissettii* (0,5 %) a *B. miyamotoi-like* (0,5 %), a *B. lonestari*, nejčastějšími původci onemocnění jsou pak *B. garinii* a *B. afzelii*, méně často *B. burgdorferi* s. s. [63, 64].

Tab. 3 Geografický výskyt patogenních borrelií

Kontinent	Druh borrelií
Evropa	<i>B. garinii</i> , <i>B. afzelii</i> , <i>B. burgdorferi</i> sensu stricto, <i>B. luisitaniae</i> , <i>B. valaisiana</i> a <i>B. bissettii</i>
Asie	<i>B. garinii</i> , <i>B. afzelii</i> , <i>B. burgdorferi</i> sensu stricto, <i>B. valaisiana</i> , <i>B. turdi</i> , <i>B. tanakii</i> , <i>B. japonica</i>
Amerika	<i>B. burgdorferi</i> sensu stricto, <i>B. andersonii</i> , <i>B. bissettii</i>

2.1.3. Epidemiologie

LB je onemocnění rozšířené v mírném pásmu na všech kontinentech světa. Patří mezi nejčastější klíšťaty přenášená onemocnění a její výskyt ve světě se zvyšuje. Průměrná celosvětová incidence LB je 50–100 případů na 100 000 obyvatel. V USA se v posledních letech výskyt onemocnění zdvojnásobil [65]. Česká republika patří mezi endemické oblasti, výskyt onemocnění podléhá hlášení a dokumentovaná incidence se pohybuje mezi 31,5–46,3 v průběhu posledních 10 let [66]. V roce 2011 bylo hlášeno 4 834 nových případů. Je to nejvyšší výskyt za posledních 10 let, v roce 2012 byl počet případů nižší 3 304 případů [1]. Vzhledem k podhlášenosti případů se výskyt předpokládá výrazně vyšší. Nejčastěji bývají postiženy malé děti a starší osoby, ženy častěji než muži.

2.1.4. Etiopatogeneze

Borreliie cirkulují mezi divoce žijícími zvířaty (rezervoáry) v geografických oblastech, která se nazývají ohniska. Jejich hlavním vektorem jsou různé druhy klíšťat.

Tab. 4 Taxonomie klíšťat

<p>Říše <i>Animalia</i></p> <ul style="list-style-type: none"> ● Podříše <i>Metazoa</i> <ul style="list-style-type: none"> ● Kmen <i>Arthropoda</i> <ul style="list-style-type: none"> ● Podkmen <i>Chelicerata</i> <ul style="list-style-type: none"> ● Třída <i>Acari</i> (roztoči) <ul style="list-style-type: none"> ● Řád <i>Parasitiformes</i> (čmelíkovití) <ul style="list-style-type: none"> ● Podřád <i>Ixodida</i> (klíšťata) <ul style="list-style-type: none"> ● Čeleď <i>Ixodidae</i> (klíšťkovití)
--

Klíšťata jsou roztoči, patří do čeledi klíšťatovití (*Ixodidae*), a jejich výskyt je celosvětový. Živí se sáním krve na savcích, ptácích a plazech, během kterého se mohou infikovat a následně mezi hostiteli přenášet patogeny (bakterie, viry, protozoa a toxiny). Klíště je tak hlavním vektorem pro přenos chorob, jako je lymeská borrelióza, klíšťová encefalitida, ehrlichioza, babesioza, tularémie, bartonelóza a rickettsioza. V Evropě LB přenáší klíště rodu *Ixodes ricinus*, ve východní části Evropy *I. persulcatus*, v Asii oba uvedené druhy a v Severní Americe *Ixodes scapularis* a *Ixodes pacificus*. V naší republice je výskyt klíštěte častý. Klíšťata se nejčastěji nacházejí ve vysoké trávě, na vlhkých loukách, v křovinách, na okrajích lesů a v lesích, dále v oblastech s nižší nadmořskou výškou. Vzhledem ke globální změně klimatu a oteplování se výskyt klíšťat posouvá do vyšších nadmořských výšek, klíšťata se v ČR vyskytují do 1065–1270 m n. m. [67].

Tělo klíštěte se skládá z hlavové části (gnathosoma) a vlastního těla (idiosoma). Gnathosoma tvoří hypostom – dopředu směřující sosák hustě pokrytý zpětnými háčky, které umožňují klíštěti průnik do kůže a jeho uchycení v kůži. Po stranách hypostomu se nacházejí párová ostrá kusadla (chelicery), kterými klíště po přisátí prořízne kůži hostitele. V klidovém stavu je hypostom zakrytý tykadly (makadly). Larva klíštěte má 3 páry, nymfy a dospělci mají 4 páry končetin. Na předním páru nohou se nachází smyslový orgán, tzv. Hallerův orgán, který detekuje přítomnost CO₂, a tím vyhledává hostitele.

Tělo samce je kryto chitinovým hřbetním štítem, který u samičky pokrývá jen třetinu těla. Zbytek těla samičky tvoří kožovitý vak, který dokáže zvětšit svůj objem po sání krve až 300 x. Podobnost nasáté samičky s ricinovým bobem přineslo klíštěti vědecké pojmenování. Na břišní straně těla se nachází pohlavní a řitní otvor.

Vývojové stadium klíštěte trvá 1–2 roky, zahrnuje období larvy (0,5 mm), které se líhnou z vajíček nakladených samičkou po páření do půdy. Larvy se po sání mění v nymfy (1,5 mm), které se po druhém sání mění v dospělé jedince. Dospělý samec (2,5–3,5 mm) již nepřijímá potravu, pouze vyhledává zvířata, na kterých hledá samičky k páření. Dospělá samice (3,5–4,5 mm) nasátá krví dosahuje velikosti až 14 mm. Klíště tedy prochází vývojovým cyklem, během kterého vystřídá 3 různé hostitele. Borreliemi mohou být infikovaná všechna vývojová stadia klíšťat, larvy se mohou infikovat také transovariálně. Infikovanost larev však nepřevyšuje 5 % [68], u nymf a dospělců se pohybuje mezi 20–30 % v endemických oblastech při hustotě až 200–300 klíšťat na 100 m². Riziko přenosu infekce z klíštěte na člověka je 5 % [69]. Mezi oblasti s nejvyšší infikovaností klíšťat patří Středočeský, Jihomoravský a Moravskoslezský kraj [70]. Vrcholy maximální aktivity klíšťat

v přírodě, a tedy rizika napadení infikovaným klíštětem, jsou dlouhodobě vyšší v jarních a v podzimních měsících [70].

Borrelie byly prokázány i u řady dalších druhů klíšťat, jako jsou *Dermacentor reticulatus* a *Haemophysalis concinnal* [71] dalších druhů hematofágního hmyzu – komárů (*Culicidae*), blech (*Aphaniptera*), muchničků (*Simulium*), ovádů (*Tabanidae*) a dalších. Exaktní průkaz o jejich roli přenašečů borreliózy nebyl jednoznačně potvrzen. Nejspíše hrají roli při udržování cirkulace borrelií mezi zvířaty v přírodě.

Obr. 5 Přísáté klíště



Hostitelé *B. burgdorferi*

B. burgdorferi je bakterie patogenní pro člověka i jiná zvířata. Nakažena mohou být domácí i divoká zvířata, zvířata malá i velká. Nejčastějšími rezervoárovými zvířaty jsou hlodavci, vysoká zvěř a ptáci. Sérologickým testováním zvířat v naší republice byl zjištěn výskyt nákazy nejčastěji u hlodavců, drobných savců, zpěvných a dalších ptáků (kormorán, bažant a racek) [70]. Domácí zvířata, zejména psi, jsou častým koncovým hostitelem a představují pro člověka riziko nákazy LB při špatné manipulaci s infikovaným klíštětem při jeho odstraňování [72].

Tab. 5 Mikroorganismy přenášené klíšťaty

Druh klíštěte	Mikroorganismy
<i>Ixodes ricinus</i> (<i>Haemaphysalis punctata</i>)	Bakterie: <i>B. burgdorferi sensu lato</i> <i>Anaplasma phagocytophilum</i> <i>Francisella tularensis</i> <i>Coxiella burnetti</i> <i>Rickettsia sp.</i> <i>Bartonella henselae</i> Viry: evropská klíšťová encefalitida omská hemoragická horečka ruská jaro-letní encefalitida, louping ill nemoc kyasanurského lesa, horečka Powasan Bunyaviry: Hantaan, Seoul, Pumala, Dobrava-Belgrad, Moravia, Ťahyňa Nairovirus: krymsko-konžská hemoragická horečka REOviry (Respiratory Enteral Orphans): <i>Coltivirus</i> (Colorado Tick fever), Orbivirus Tribeč aj. Paraziti: <i>Babesia sp.</i>
Další druhy <i>Ixodes</i> <i>I. hexagonus</i> , <i>I. trianguliceps</i>	<i>B. burgdorferi sensu lato</i> <i>Anaplasma phagocytophilum</i> ruská jaro-letní encefalitida
<i>Ixodes persulcatus</i>	<i>B. burgdorferi sensu lato</i> <i>Anaplasma phagocytophilum</i> <i>Francisella tularensis</i>
<i>Dermacentor reticulatus</i>	<i>Francisella tularensis</i> <i>Coxiella burnetti</i> <i>Rickettsia sp.</i> evropská klíšťová encefalitida omská hemoragická horečka
<i>Dermacentor marginatus</i>	evropská klíšťová encefalitida Nairovirus: krymsko-konžská hemoragická horečka Bunyavirus Bhandža <i>Babesia sp.</i>
<i>Haemaphysalis concinna</i>	<i>Francisella tularensis</i> evropská klíšťová encefalitida
<i>Haemaphysalis dermis</i>	evropská klíšťová encefalitida <i>Rickettsia connori</i> (Marseileská horečka)
<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	<i>Coxiella burnetti</i>
<i>Amblyomma americanum</i> (Lone Star tick)	<i>Ehrlichia chafeensis</i> <i>Coxiella burnetti</i> <i>Francisella tularensis</i>
<i>Hyalomma marginatum</i>	Nairovirus: krymsko-konžská hemoragická horečka

Patogeneze

Klíště se infikuje borreliemi během sání na infikovaných zvířatech, v průběhu kterého se borrelie dostávají do jeho trávicího traktu. S přibývajícím množstvím krve v trávicím traktu se borrelie dostávají do slinných žláz. Zásadní roli v adaptaci borrelií uvnitř hostitelských organismů jak vektorů, tak hostitelů (obratlovců) hrají lipoproteiny zevní buněčné membrány, tzv. povrchové antigeny – Outer surface protein (Osp). Tyto proteiny se označují Osp A, B, C, D, E. Mezi povrchové antigeny patří také Decodin binding protein – DbpA nebo Variable major protein like sequence expressed – VlsE. Nejlépe popsány jsou antigeny OspA (celkem 7 typů) a OspC. Expze těchto antigenů je regulována během přenosu z klíštěte na hostitele. Vzhledem k rozdílné tělesné teplotě hostitelů (37 °C) a klíštěte (23 °C) dochází na povrchu borrelií ke změnám, které umožňují borreliím adaptovat se na změnu teploty prostředí. Borrelie mají na svém povrchu vesikula s OspA antigenem, který se ve střevě klíštěte vlivem přítomnosti nasáté krve z povrchu bakterie odloučí a místo nich se začnou na povrchu borrelií tvořit antigeny teplotního šoku OspC. Antigeny OspC jsou nutné k přestupu do teplokrevného hostitele. Borrelie, které nejsou připravené na změnu teploty, zahynou, anebo se promění v cesty. Celý proces je řízen regulačními geny.

Přisátá klíšťata uvolňují do rány látky, které jim pomáhají zůstat pevně přichycené k hostiteli, a dále imunomodulační, antikoagulační, imunosupresivní a protizánětlivé látky, které zajistí klíštěti sání krve bez povšimnutí hostitele [73]. Po 24–48 hod od přisátí začne infikované klíště uvolňovat do rány sliny s obsahem borrelií, a tím dochází k přenosu infekce. V místě přenosu se borrelie množí a šíří kůží za vzniku typických kožních projevů. Lymfatickými cestami se borrelie dostávají do lymfatických uzlin, kde vzniká první specifická imunitní reakce. Krví dochází k diseminaci infekce za doprovodu celkových příznaků a možnému poškození dalších orgánů. Kromě vlastní genové regulace jsou borrelie schopné navodit expresi savčích proteinů, které usnadňují bakteriální diseminaci skrze hostitelské tkáně. Pomocí specifického glykoproteinu na svém povrchu borrelie adherují ke kolektinovým receptorům hostitelských buněk, zejména k fibroblastům a Langerhansovým buňkám kůže. Borrelie vykazují i schopnost přímého průniku do buněk pomocí tzv. „coiling“ fagocytózy [74]. Schopnost intracelulární perzistence borrelií sehrává roli při selhání léčby, latentním průběhu infekce a u některých orgánových projevu LB. Virulence borrelií je dána povrchovými antigeny, lipoproteiny a bičkovými proteiny na povrchu buněčné membrány bakterií. Afinita borrelií k jednotlivým orgánům je dána sérotypy povrchových antigenů. Nejčastěji je postižena kůže, CNS, kloubní synovie, srdce, vzácně ledviny, játra, oko, postižen však může být jakýkoliv orgán. Borrelie vzhledem k antigenní struktuře ve své buněčné stěně

nevyvolávají zánětlivý proces, indukují však tvorbu protilátek. Liposacharidová komponenta v buněčné stěně borrelií vede k uvolnění interleukinu z monocytů, jehož následkem dojde k poškození tkání a klinické manifestaci onemocnění. Tkáně jsou poškozovány nejen samotnou přítomností bakterií, ale též imunitní odpovědí organismu, kdy dochází k tvorbě imunokomplexů, podílet se může i zkřížená reakce buněčné a humorální imunity proti povrchovým antigenům borrelií a neuronům (gangliosidy), myelinových pochev a zánětem poškozených cévních stěn [74]. V průběhu infekce dochází k proliferaci T-lymfocytů v periferní krvi, dle postižení dalších systémů též v mozkomíšním moku a kloubní tekutině.

Borreliová infekce vytváří imunitní odpověď organismu tvorbou protilátek. Specifické protilátky třídy IgM se začínají tvořit nejdříve 3 týdny po infekci, maxima dosahují 6–8 týdnů po infekci. Tvorba protilátek začíná nejdříve proti bičíkovému antigenu, při přetrvávání IgM odpovědi pokračuje tvorba protilátek i proti Osp antigenům. Protilátky třídy IgG se tvoří za 2–3 měsíce po infekci. IgM protilátky odeznívají řádově v týdnech, tvorba IgG protilátek může přetrvávat ve vysokých titrech po řadu let jak v případě léčené, tak i neléčené infekce, anebo jejich tvorba postupně vyhasne. Pokud dojde k neuroinfekci, zjišťujeme přítomnost protilátek také v mozkomíšním moku.

Všechny druhy borrelií vedou na počátku infekce ke kožnímu projevu erythema migrans (EM). Klinicky však není možné dle charakteru červené skvrny rozlišit ani odhadnout, který typ borrelií infekci způsobil. Neléčené EM během několika týdnů vymizí a neléčená infekce podle druhu patogenu a jeho afinitě k dalším orgánům způsobí následné postižení. *B. burgdorferi s. s.* může vést k postižení pohybového aparátu, *B. garinii* nervového systému a *B. afzelii* kůže s projevem ACA [75]. Nejvíce virulentními a prozánětlivými kmeny jsou *B. burgdorferi s. s.*, zatímco *B. afzelii* a *B. garinii* více odolávají imunitní odpovědi organismu a mají tendenci perzistovat ve tkáních kůže a nervového systému. Geografický výskyt jednotlivých typů *B. burgdorferi* ve světě je odlišný. V Severní Americe se téměř výlučně vyskytuje *B. burgdorferi s. s.*, proto se LB projevuje jako EM a oligoartritida. V Evropě se vyskytují všechny subtypy borrelií, a proto klinická manifestace onemocnění je velmi pestrá. v Asii, kde je nejčastější výskyt *B. garinii* a *B. afzelii*, se vyskytují kožní a neurologické projevy. Karditida je vzácným projevem LB celosvětově, stejně tak oční postižení. Asymptomatické průběhy lymeské borreliózy jsou časté.

Vliv *B. burgdorferi* na etiopatogenezi dalších dermatóz

Vzhledem k histopatologickým znakům LB, které jsou dány postižením cévních a kolagenních struktur postižených tkání, jež progredují do změn připomínajících sklerodermii, a přítomnosti plasmatických a zánětlivých onnipotentních buněk se zvažuje podíl borreliové infekce na vzniku dalších dermatóz. Řada prací prokazuje přítomnost DNA borrelií nebo nález samotných borrelií v kožních lézích anebo současný sérologický průkaz borreliových protilátek. Borreliová infekce je tak dávána do souvislosti s projevy lichen sclerosus et atrophicus, circumscripční sklerodermií neboli morfeou [76-80]. Do souvislosti s borreliovou infekcí jsou dávány i další dermatózy – granuloma annulare [81-84], idiopatická atrophoderma Pasini–Pierini, anetoderma, progresivní faciaální hemiatrofie, cutis laxa [85], kožní sarkoidóza, necrobiosis lipoidica, nekrobiotický xantogranulom [86]. Někteří autoři však infekci *B. burgdorferi* do příčinné souvislosti s dermatózami GA, morfea a LSA nedávají [87, 88].

Klinicky se rozlišují 3 stadia onemocnění

- Časně lokalizované stadium je charakterizováno množением bakterií v kůži a rozvojem imunologické reakce v místě přenosu, která se projeví vznikem dermatitidy.
- V průběhu dalších týdnů dochází k časně diseminaci infekce, při které se borrelie šíří hematogenně do různých orgánů, ve kterých vyvolávají akutní zánětlivou reakci za doprovodu celkových příznaků.
- S latencí několika měsíců až let může dojít k pozdní diseminaci infekce a vzniku chronického zánětu v cílovém orgánu, často s následným vznikem ireverzibilních změn.

Tab. 6 Stadia lymeské borreliózy převzato z Doporučeného postupu pro lymeskou borreliózu [89]

Časná lymeská borrelióza	stadium časně lokalizované (dny až týdny po nákaze)	Erythema migrans
	stadium časně diseminované (týdny až měsíce po nákaze)	Mnohočetné erythema migrans Borreliový lymfocytom Akutní neuroborrelióza <ul style="list-style-type: none"> - kraniální neuritida: paréza n. VII a jiných hlavových nervů - aseptická meningitida, encefalitida - Garin-Bujadoux-Bannwarthův syndrom Lymeská artritida <ul style="list-style-type: none"> - artralgie a migrující artritidy Lymeská kardiitida <ul style="list-style-type: none"> - dysrytmie, myokarditida, perikarditida
Pozdní lymeská borrelióza	stadium pozdní diseminované (měsíce až roky po nákaze)	Acrodermatitis chronica atrophicans Pozdní neuroborrelióza <ul style="list-style-type: none"> - chronická progresivní encefalitida, encefalomyelitida - chronická polyneuritida Pozdní lymeská artritida

2.1.5. Klinické projevy

2.1.5.1. Kožní projevy

Erythema migrans (EM), dříve erythema chronicum migrans, je typickým projevem časného lokalizovaného stadia a projevuje se jako červená skvrna velikosti od 3 cm do několika desítek cm, s průměrnou velikostí 10–15 cm. Objevuje se v místě přisátí klíštěte s odstupem 3–180 dní, v průměru za 7–14 dní. Nejčastější lokalitou jsou vzhledem ke způsobu přenosu dolní končetiny, trup, méně často obličej. Charakteristickým rysem primárního EM je výskyt pouze jednoho projevu většího než 5 cm, který progreduje v čase, centrálně bledne a jeho přítomnost většinou není doprovázena subjektivními příznaky, proto je mnoho projevů přehlédnuto. Výjimečně může projev svědit, bolet, být citlivý na dotek a palpačně teplejší než okolní kůže, nebo může pálit. Celkové nespecifické příznaky s dominující únavou, bolestí hlavy a kloubů nebývají vždy přítomné.

Intenzita erytému se pohybuje v široké škále od velmi diskrétní narůžovělé barvy po sytě rudou až tmavě lividní. Podle charakteru erytému se rozlišují klinické typy EM. Nejčastější formou je forma anulární charakterizovaná přítomností anulárního prstence, který se postupně šíří do okolí, zatímco centrum projevu má barvu zdravé kůže. V některých případech může v místě vpichu přetrvávat červená makula až papula, tím kožní projev získává obraz terče. Tento typ velmi často dosahuje rozměrů až několika desítek centimetrů. Okraj může být velmi diskrétní, projev tak často bývá vedlejším nálezem, variantou je okraj elevovaný. Méně častou formou je EM maculare, homogenní makula sytě červené barvy, většinou symetrického tvaru, dále EM concentricum, projev, který je tvořen soustřednými kruhy různé intenzity červené barvy. Neléčené primární EM spontánně zregreduje během několika týdnů až měsíců, léčené vymizí během 2–3 týdnů. EM se u pacientů vyvine jen asi v 50 % případů. Anamnézu přisátého klíštěte udává jen 30–50 % pacientů.

Ve stadiu časné diseminace infekce, které následuje v odstupu asi 1 týdne po spontánním zhojení primárního projevu, se kdekoliv na kůži mohou objevit sekundární EM, mnohočetné makuly menšího průměru než je primární EM. Sekundární EM se vyskytuje častěji v Severní Americe, v Evropě je výskyt vzácný.

Diferenciální diagnostika EM je široká a zahrnuje zejména plísňové onemocnění – tinea corporis, bakteriální infekci – erysipel, stav po poštípání hmyzem, alergickou reakci – urticaria acuta, fixní lékový exantém, dermatitis irritativa, erythema annulare centrifugum, morfeu.

Obr. 6 Erythema migrans annulare u pacientky ze studie



Obr. 7 Erythema migrans maculare u pacientky ze studie



Obr. 8 Erythema migrans concentricum u pacienta ze studie



Tab. 7 Klasifikace kožních forem lymeské borreliózy

Erythema migrans	annulare	
	maculare	
	concentricum	
Erythema migrans secundaria		
Lymphocytoma borreliensis	papulare	
	infiltratum	
Acrodermatitis chronica atrophicans	inflammatoria	maculare
		oedematosa
		fibromatosa
	atrophicans	teleangiectatica
		atrophicans
		sensu strictiori

Borreliový lymfocytom (BL) je papula, uzlík nebo plak červené až lividní barvy s hladkým povrchem velikosti od několika milimetrů do 3–5 cm. Typickou lokalizací je ušní lalůček, špička nosu, dvorec prsní bradavky a skrotum. BL je rovněž projevem časného lokalizovaného stadia a vyskytuje se častěji u dětí [90]. Objevuje se několik týdnů po infekci a bez léčby přetrvává několik měsíců, někdy i více než rok.

Diferenciálně diagnosticky je nutno odlišit maligní lymfom, alergickou reakci, histiocytom či jiný kožní tumor.

Acrodermatitis chronica atrophicans (ACA) je projevem pozdního diseminovaného stadia a vzniká s latencí několika měsíců až let po infekci. Klinicky se nejčastěji prezentuje jednostranným lokalizovaným zarudnutím akrálních částí horních nebo dolních končetin, vyskytovat se však může kdekoliv na těle. Predilekčně postihuje extenzorové části končetin – nártý, bérce, kolena, lokty a hřbety rukou. Projev prochází vývojem od zánětlivé až k atrofické formě. Zánětlivá forma se projevuje nejasně ohraničeným erytematolividním zarudnutím a prosáknutím až těstovitou konzistencí v dané oblasti. Současně se mohou tvořit tuhé papuly a uzly barvy kůže. V průběhu měsíců přechází zánětlivá fáze ve fázi atrofickou, kdy kůže nabývá vzhledu cigaretového papíru, atrofují adnexa, mizí elastická vlákna a dochází k dilataci cév. U poloviny nemocných jsou postiženy klouby a periferní nervy [91].

Diferenciálně diagnosticky je nutno odlišit dermatitis varicosa, atrophia cutis senilis, lichen sclerosus et atrophicus a sklerodermii. Po léčbě dochází k vymizení zánětlivých změn, zastavení progresu, atrofické změny jsou však ireverzibilní.

Ačkoliv se onemocnění LB vyskytuje celosvětově, klinické projevy mají svá specifika. Zatímco výskyt EM je celosvětový, LB a ACA jsou typickými projevy v Evropě [92].

2.1.5.2. Postižení nervového systému

Neurologické postižení při borreliové infekci je časté, postihuje okolo 14 % nemocných LB, některé evropské studie uvádí až 40% výskyt. Borrelie mají schopnost pronikat přes hematoencefalickou bariéru do centrálního nervového systému, a tím postihovat jak periferní, tak centrální nervový systém.

V akutním stadiu vzniká encefalitida a meningoencefalitida, které bývají často doprovázené obrnou lícního nervu, vzácněji i jiných hlavových nervů (n. abducens, n. trochlearis, n. statoacusticus a n. oculomotorius). Charakteristickou jednotkou je Garinův-Bujadouxův-Bannwarthův syndrom. Jedná se o meningoradikulitidu projevující se chabými periferními parézami, aseptickým likvorovým nálezem a krutými radikulárními bolestmi. Méně časté je postižení periferního nervstva manifestující se jako polyneuropatie. V chronické fázi vzniká často polyneuritida, která vede k oslabení svalové síly a poruchám cití. Postižení CNS v chronické fázi je vzácnější a může se projevit jako diseminovaná encefalitida, někdy s obrazem demyelinizačních lézí imitujících roztroušenou sklerózu. U některých osob s chronickou neuroborreliózou se objevují i psychiatrické poruchy typu poruchy paměti či chování. Vzácným a jediným příznakem může být i náhlá ztráta sluchu či paralytický strabismus. U pacientů s neuroborreliózou byly popsány i případy striatonigrální degenerace s klinickým rozvojem parkinsonismu.

2.1.5.3. Postižení muskuloskeletálního systému

Postižení muskuloskeletálního systému může mít formu artritidy, ale i burzitidy, myozitidy, tenditidy, tendovaginitidy či entezitidy. Postižení těchto struktur může probíhat samostatně např. jako syndrom karpálního tunelu, nebo současně s postižením kloubu. V časně diseminované fázi se objevují artritidy drobných kloubů, záněty svalů, šlach a jejich obalů. Ve fázi pozdní diseminace bývají postiženy velké klouby. Postižení bývá mono- či oligoartrikulární, migrující a asymetrické. Nejčastěji bývá postižen kolenní, ramenní a loketní

kloub. U části pacientů symptomy nemizí ani po standardní terapii antibiotiky. I přes eradikaci spirochét přetrvává chronický zánět kloubů, pravděpodobně udržovaný činností T lymfocytů. V USA se u 10 % pacientů s Lymeskou artritidou vyvíjí perzistující synovitida [93].

2.1.5.4. Kardiální postižení

Postižení srdce se v USA odhaduje přibližně na 4–10 %, v Evropě je výskyt nižší než 4 % nemocných s LB. Častěji jsou postiženi muži než ženy, a to v poměru 3:1, v naší republice je poměr obrácený [94]. Lymeská karditida se objevuje nejčastěji v rámci časné diseminace infekce a kardiální projevy vznikají následkem postižení převodního systému, srdečního svalu a osrdečníku. Klinické projevy zahrnují různé stupně atrioventrikulárních bloků, tachyarytmie, myoperikarditidy a dilatační kardiomyopatie [54], které se mohou projevovat až městnavým srdečním selháním. Vzácně se může vyvinout i endokarditida s vegetacemi, které nemusí být vždy rozeznány a mohou být příčinou některých srdečních šelestů. Variabilita závažnosti projevů je velmi široká od minimálních příznaků až po fatální průběh.

2.1.5.5. Oční postižení

Oční postižení je vzácné, akutně se projevuje jako folikulární konjunktivitida, iridocyklitida, retinální vaskulitida, chorioiditida či episkleritida. Do obrazu chronického postižení patří keratitida, častá je i uveitida jako projev imunopatologického postižení [95]. Postižen může být i optický nerv projevující se edémem papily, ischemickou neuropatií optiku a retrobulbární neuritidou [95]. Nově byla popsána i orbitální myozitida [96].

Postižení ledvin – byl popsán případ pacienta s postinfekční glomerulonefritidou a multisystémovou manifestací LB [97].

2.1.6. Diagnostika

Diagnostika tohoto infekčního onemocnění je založena na průkazu infekce přímými a nepřímými metodami. Mezi metody přímé patří vyšetření v zástinovém mikroskopu, elektronová mikroskopie, kultivace a detekce borreliové DNA metodou PCR (polymerase chain reaction). Mezi metody nepřímé řadíme průkaz protilátek nepřímou imunofluorescencí, ELISA testem a Western blottingem. Biochemická a hematologická vyšetření krve a tkáňového moku jsou pro diagnostiku borreliové infekce nespecifická. I přesto, že se jedná o bakteriální infekci, zánětlivé parametry bývají v mezích normy, nebo jen minimálně

zvýšené, v krevním obrazu může být přítomna leukopenie, v biochemii elevace transamináz. Nález v mozkomíšním moku odpovídá nálezu při aseptickém zánětu, nález v kloubním punktátu je zánětlivý s vysokým počtem buněk a neutrofilii až 70 %.

Přímé metody

Vyšetření v zástinu pomocí světelného mikroskopu

Mikroskopické vyšetření v zástinu umožní průkaz živých spirochét s jejich charakteristickým pohybem. V rutinní praxi se toto vyšetření nevyužívá.

Elektronová mikroskopie

Výhodou elektronové mikroskopie je získání detailní struktury spirochét a jejich povrchových antigenů, a tak určení velikosti mikroba, počtu bičíků, cystických forem, charakteristiky povrchových membrán, které mohou místy vytvářet výchlípky, tzv. „blebs“. Pro větší citlivost lze využít imunisorbentní elektronovou mikroskopii, která je založena na reakci antigenu se specifickou protilátkou [47]. Vzhledem k náročnosti a dostupnosti se jedná o metodu využívanou pro výzkum.

Obr. 9 *Borrelia burgdorferi* – membrána, bičíky



Foto: D. Hulínská

Kultivace

Borrelie jsou náročné mikroorganismy vyžadující specifické podmínky k růstu in vitro. K jejich kultivaci se využívá půda obohacená o vitaminy, enzymy, růstové faktory

a esenciální soli, nejčastěji půda BSK I a komerčně dostupné BSK-H médium obohacené 6% králičím sérem. Generační doba růstu borrelií v médiu je 12 hod., typickým nálezem je nesynchronní populace neboli současný nález mladých i starších jedinců, včetně cystických forem. Obdobný vývoj probíhá i v tkáních a krvi lidského těla. Kultivace borrelií probíhá při 34 °C po dobu 6–14 dní. Nejúspěšnější je kultivace z kůže s projevem akutní infekce, kultivace krve je úspěšná v 15–22 % při opakovaném odběru a v 8–10 % z likvoru [98]. Kultivace borrelií nebyla doposud úspěšná ze synovie a synoviální tekutiny.

Polymerázová řetězová reakce (PCR) metoda

PCR je molekulárně genetická metoda, která je v současnosti nejčastěji využívanou přímou metodou k detekci spirochét. Je založena na cyklickém zmnožení pro mikroba specifického úseku nukleové kyseliny. Jedná se o rychlou a citlivou metodu, avšak v diagnostice borreliózy s řadou metodických problémů. Velká variabilita borreliového genomu, zkřížená reaktivita sekvencí DNA borrelií s jinými bakteriemi i nízká koncentrace borrelií v tělních tekutinách jsou nejčastější příčinou falešně pozitivních či falešně negativních výsledků vyšetření. Jedním z klíčových faktorů, který je rozhodující pro výsledek PCR reakce, je vyhledání vhodných sekvencí cílového amplifikovaného úseku a primerů. Do současnosti však nebylo publikováno srovnání všech dosud používaných primerů a ani nebyly žádné v diagnostice obecně přijaty. Pokud prokazovaný úsek je částí chromozomálního genu, dosahuje PCR reakce vyšší specifity a nižší citlivosti oproti průkazu části genu plasmidového. Vzhledem k tomu je stále doporučováno používat i v rutinních laboratořích při diagnostice LB nejméně dvou PCR systémů současně. Dalším faktorem je výběr samotné metodiky provedení. Nejjednodušší a nejlevnější metodou je PCR reakce s detekcí produktů gelovou elektroforézou. Pro zvýšení citlivosti a specifity je lepší provádět dvoustupňovou „nested“ PCR, kde probíhají dvě PCR reakce za sebou nejprve se sadou vnějších primerů (ohraničujících vnější delší sekvenci cílového místa), a poté se sadou vnitřních primerů (ohraničujících kratší sekvenci uvnitř cílového místa). Řada laboratoří má v současné době již možnost provádět PCR v reálném čase, která umožňuje kvantitativní analýzu syntetizovaných kopií v čase. Přístroje pro real time PCR (LightCycler, SmartCycler, RotorGene atd.) využívají převážně velmi specifických TaqMan fluorescenčních detekčních sond. Metodou PCR je možné vyšetřit řadu biologických materiálů – mozkomíšní mok, synoviální tekutinu, plodovou vodu, tkáň (srdeční sval, kožní biopsie, placentu a další) [99]. Nejvyšší průkaz borreliové DNA je z kůže a synoviální tekutiny (50–70 %), nejnižší z krve a moči vzhledem k nízkému výskytu mikroba v tělních tekutinách a jeho rychlému průniku do tkání [56]. Při

interpretaci výsledků vyšetření je třeba vzít v úvahu, že průkazem borreliové DNA detekujeme pouze jejich přítomnost, metoda neumožní odlišit živé a mrtvé bakterie. Pozitivní výsledek PCR však neznamená, že má pacient aktivně probíhající onemocnění, a naopak – PCR negativní výsledek LB nevylučuje. Proto je PCR techniku nutné používat ve spojení v jinými diagnostickými metodami i v kontextu s klinickými příznaky a epidemiologickou anamnézou.

Obr. 10 Identifikace borrelií metodou PCR

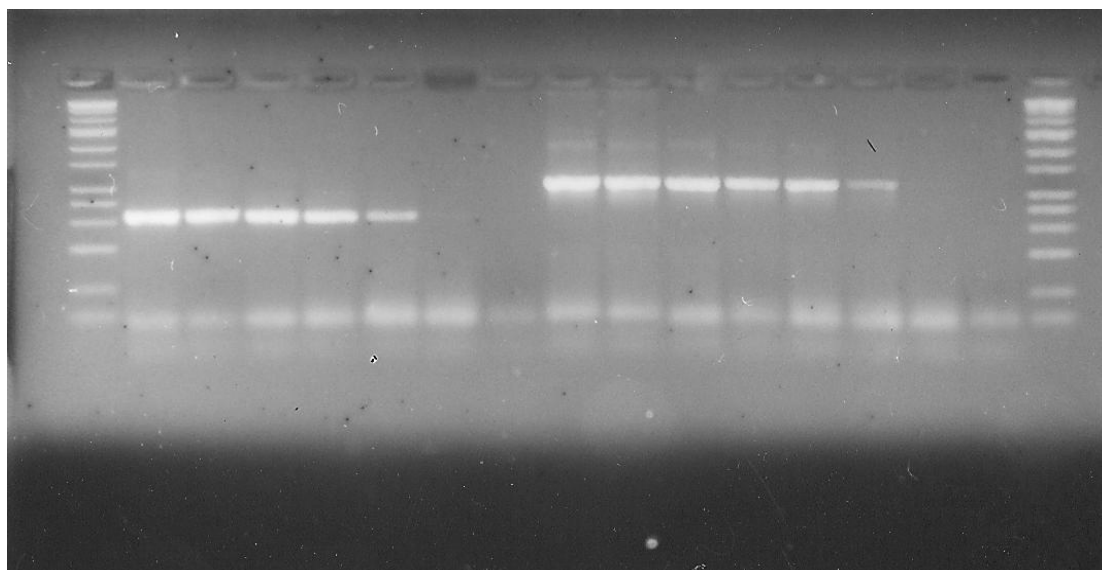


Foto: D. Hulínská

Histologické vyšetření

Histologické vyšetření kůže se provádí v případě diferenciatně diagnostických rozpaků u EM a vždy k potvrzení diagnózy BL a ACA.

Histologický nález u EM je nespecifický, odpovídá obrazu superficiální či hluboké perivaskulární dermatitis s perivaskulárními infiltráty lymfocytů a možnou příměsí plasmocytů.

V histologickém obrazu BL se nachází lymfocytární infiltrace zejména polyklonálními B-lymfocyty většinou s patrnými zárodečnými centry. Charakteristickým rysem ACA je přítomnost perivaskulárního infiltrátu s přítomností plasmocytů, atrofie epidermis a ztráta adnex, přítomen může být edém v dermis.

Nepřímé metody

Nepřímá imunofluorescence (IFA)

Jedná se o nejstarší metodu využívanou v diagnostice LB, která se dnes používá již jen zřídka. IFA je založena na reakci protilátek třídy IgM nebo IgG se substrátem na sklíčku. Jako substrát se používají celé mikroorganismy *B. b. s. l.* anebo buňky borreliemi infikované. Metoda umožňuje ředěním sér určit titer protilátek, a tím sledovat aktivitu onemocnění.

Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA) a Western blotting (WB)

Patří mezi metody první volby při podezření na borreliovou infekci. ELISA je imunoenzymový test ke zjištění protilátek typu IgM a IgG. K vyšetření se používá směs endemických antigenů povrchových (OspA 31, 32, 32,5 kDa, OspB 34 kDa, OspC 22, 23, 93 kDa a další) a dále např. protein periplasmatického prostoru (83–93 kDa), glykosamidový receptor P39 a řada dalších.

ELISA C6 využívá k testování povrchový lipoprotein VlsE, který hraje významnou úlohu v imunitní odpovědi organismu. Peptid je vhodným markerem pro diagnostiku, je vysoce senzitivní a specifický.

Western blot (WB) a Immunoblotting využívá k testování místo buněčných lyzátů jednotlivé rekombinantní antigeny borrelií – p100, p58, p41i, BMP, VLsE, OspC, DbpA. Nejvíce senzitivním antigenem pro detekci IgM je OspC, pro IgG VlsE. Detekovatelnost protilátek v I. stadiu infekce je 20–50 %, ve II. stadiu 70–90 % a ve III. stadiu téměř 100 % [100]. V ČR se k ELISA a WB testům používají antigeny *B. garinii*, *B. burgdorferi s. s.* a *B. afzelii*. Antigeny se získávají kultivací z celobuněčných kultur, následným rozbitím metodou ultrazvuku a vyčištěním filtrací [70].

Dle doporučeného postupu pro lymeskou borreliózu ČLS JEP se doporučuje provedení skriningového testu ELISA, teprve při pozitivitě testu potvrzení specifickou metodou WB vyšetřením [89]. IgM protilátky jsou protilátky nespecifické, IgG protilátky mohou ukazovat na již proběhlou infekci bez akutní exacerbace. Při interpretaci výsledků je nutné komplexní hodnocení: důležitá je anamnéza přisátého klíštěte či výskyt osoby v endemické oblasti, klinické známky lymeské borreliózy a výsledky sérologických testů. Na paměti je nutno mít pomalou tvorbu protilátek v časném stadiu, nespecifitu IgM protilátek, ovlivnění sérokonverze předchozím užíváním antibiotik, graviditou či imunodeficitem. Falešně pozitivní výsledky mohou naopak vzniknout vlivem jiných, zejména infekčních (leptospiry, treponemata, nepatogenní spirochéta v dutině ústní), systémových a autoimunitních onemocnění, či polyklonální aktivací jiné etiologie. Je známo, že u 5–10 % zdravých osob je

zachycena pozitivita protilátek v obou třídách. Naopak séronegativita nevylučuje onemocnění LB [101].

Klíšťata, která sála na osobách, je možné vyšetřit na přítomnost borrelií a určit riziko infekce. Klíšťata se vyšetřují živá, odstraněná z pokožky bez použití chemických prostředků. Vyšetření se provádí v temném poli světelného mikroskopu, možné je též vyšetření kultivační a metodou PCR, poslední dvě jmenované se provádějí v rámci vědecko-výzkumných a epidemiologických důvodů.

2.1.7. Léčba

Lymeská borrelióza se léčí antibiotiky. Včas zahájená terapie vede k vyléčení symptomatických projevů infekce, zabrání šíření bakterie organismem a vzniku komplikací, předejde přechodu infekce do pokročilejšího stadia nemoci. K léčbě LB se doporučují tetracyklinová, betalaktamová a makrolidová antibiotika. Kmeny *B. burgdorferi* jsou in vitro citlivé na doxycyklin, amoxicilin, azitromycin, cefuroxim axetil a benzylpenicilin [102-104]. Vzhledem k možné chronicitě onemocnění, dokumentovanému selhání léčby a přetrvávání klinických obtíží po léčbě může být léčba lymeské borreliózy problematická. Způsob podání, dávkování i délka antibiotické léčby závisí na stadiu onemocnění a klinické manifestaci viz Tab. 4 [9, 89].

Obr. 11 Vliv antibiotik na borrelii

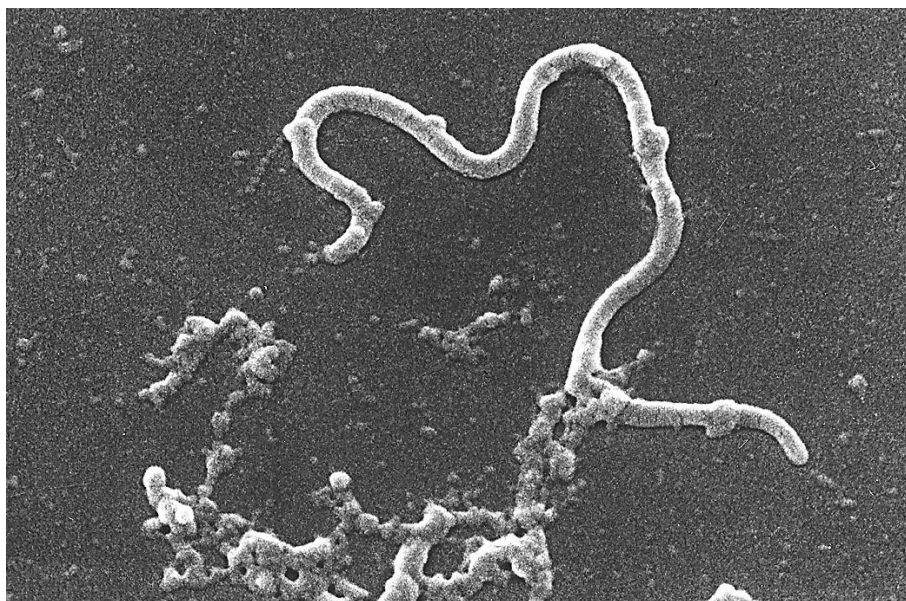


Foto: D. Hulínská

Doxycyklin je širokospektré semisyntetické bakteriostatické antibiotikum tetracyklinové řady, které působí na bakterie nacházející se intra- i extracelulárně inhibicí proteosyntézy. Doxycyklin se podává perorálně a vykazuje dobrou prostupnost do tkání, avšak nízkou prostupnost do CNS. Vzhledem k průniku doxycyklinu placentou s vysokým rizikem poškozením plodu a jeho přestupu do mléka je kontraindikovaný v graviditě a během laktace. Ze zažívacího traktu se rychle absorbuje, metabolizuje se v játrech, vylučuje se ledvinami. Biologický poločas doxycyklinu je 16 hodin. Mezi nejčastější nežádoucí účinky patří zažívací obtíže jako nauzea, zvracení a průjem následkem iritace sliznice a potlačení přirozené střevní flóry. Fototoxicita je závislá od dávky. Pro jeho ukládání do kostí a ovlivnění kostního růstu, poškození zubní skloviny a dyskoloraci zubů je kontraindikováno podání dětem mladších 8 let. Doxycyklin je velmi efektivní v časných stádiích a v prevenci chronického stadia LB.

Peniciliny jsou širokospektrální betalaktamová antibiotika, jejichž baktericidní účinek spočívá v inhibici syntézy buněčné stěny. Podávají se perorálně či parenterálně. Ve tkáních působí pouze extracelulárně a hematoencefalickou bariérou prostupují jen za přítomnosti zánětlivého procesu na meningách, prostupují též do mateřského mléka. Mají krátký biologický poločas – 1 hodinu, vylučují se močí. Peniciliny jsou málo toxické, největším rizikem jejich podávání je vznik alergické reakce až rozvoj anafylaktického šoku (riziko je 0,05 %). Peniciliny patří mezi dobře tolerovaná antibiotika. Podle stadia se z penicilinů používají amoxicilin a benzylpenicilin.

Amoxicilin podávaný perorálně dosahuje v tkáních vysokých koncentrací díky dobré absorpci a v léčbě LB se doporučuje v časných stádiích LB.

Benzylpenicilin G je vodný roztok draselné soli krystalického benzylpenicilinu podávaný intravenózně. Při podání vyšších dávek draselné soli penicilinu G může dojít k hyperkalémii, která se klinicky projeví křečemi, kómatem až zástavou srdeční činnosti. Indikován je při léčbě neuroborreliózy.

Cefalosporiny jsou betalaktamová antibiotika s baktericidním účinkem, který je dán inhibicí syntézy buněčné stěny. Dobře pronikají do tkání a tekutin, hematoencefalickou bariérou a placentou, vykazují malou toxicitu a jsou málo alergenní. Jejich podání je bezpečné v graviditě. V léčbě LB se doporučují cefalosporiny II. a III. generace.

Ceftriaxon, (cefalosporin III. generace) má delší biologický poločas, výhodou je podání jedenkrát za den. Ceftriaxon se doporučuje pro neurologické, kardiální a kloubní manifestace druhého a třetího stadia LB. V léčbě LB se dále doporučuje cefotaxim (cefalosporin III. generace).

Cefuroxime axetil (cefalosporin II. generace). Hypoprotrombinémie a alkoholová intolerance jsou nejčastějšími nežádoucími účinky.

Azitromycin patří mezi azalidy, makrolidová, bakteriostatická antibiotika, která ve vysokých koncentracích mohou působit i baktericidně. Mechanismus účinku spočívá v inhibici syntézy bílkovin. Do tkání a sekretů proniká velmi dobře, nejlépe ze všech makrolidů, tkáňové koncentrace dosahuje vyšších hodnot než plasmatické hladiny a vzhledem k dlouhému biologickému poločasu trvá vysoká tkáňová koncentrace ještě 4 dny po posledním podání. Prostupuje placentou, do plodu i mateřského mléka, průnik do CNS je však nízký. K absorpci dochází v zažívacím traktu, vylučuje se ledvinami. Nežádoucími účinky jsou gastrointestinální obtíže (nauzea, zvracení, průjem). Studie však vykazují větší riziko selhání léčby ve srovnání s amoxicilinem [105].

Principy léčby LB

Pro léčbu LB jsou ve světě doporučována různá léčebná schémata [106]. V ČR byl vytvořen v roce 2011 Infektologickou společností Doporučený léčebný postup pro léčbu LB [89]. Při výběru vhodného antibiotika je důležité vzít v úvahu stadium onemocnění, délku trvání projevů, přítomnost neurologických symptomů, věk, alergie, těhotenství. Dále je potřeba zvážit mechanismus účinku antibiotika, nežádoucí účinky, způsob podání (u dětí i chuť antibiotik) a délku podávání, ovlivnění bakteriální rezistence a cenu léčby. V případě neurologických, kardiálních či kloubních obtíží by léčbu měl řídit odborník dané oblasti. Ke zmírnění nežádoucích gastrointestinálních obtíží při podávání je vhodné současné podávání probiotik [107]. U 15 % pacientů se může na začátku léčby po podání antibiotik vyskytnout Jarisch-Herxheimerova reakce, častěji po parenterálním způsobu podání. Tato reakce se objevuje následkem rozpadu borrelií do 24 hodin po zahájení antibiotické léčby. Klinicky se projeví horečkou, třesavkou, slabostí, bolestí hlavy a myalgiemi.

Léčba kožních projevů LB

EM je projevem patognomickým pro LB, léčbu zahajujeme proto ihned na základě klinického obrazu. Lékem volby je perorálně podávaný doxycyklin, v letních měsících pro riziko fotoalergické reakce volíme perorálně podávaný amoxicilin, antibiotikem druhé volby je azitromycin. Doba podávání antibiotik se liší, od 10 dnů až po 3 týdny. Léčbu EM je vhodné prodloužit, pokud projev nevymizí do 14 dnů a pokud jsou přítomné i další extrakutánní projevy LB. Dále je nutné vzít v úvahu hematogenní diseminaci infekce bez absence symptomů [108]. Pacient s neurologickými příznaky ve stadiu EM by měl být léčen intravenózními antibiotiky benzylpenicilinem či ceftriaxonem. Borreliový lymfocytom je doporučeno léčit 14–21 dní, dle European concerted action on Lyme borreliosis (EUCALB)

až 30 dní [62]. K léčbě BL se nedoporučuje azitromycin [109]. Regrese BL i přes účinnou antibiotickou léčbu je pomalá. Léčba mnohočetných EM odpovídá léčbě solitárního EM [62]. Lékem volby ACA je doxycyklin, v případě alergie amoxicilin (po dobu 3–4 týdnů). V případě kožních projevů a neurologických komplikací se doporučuje podání cefalosporinů po dobu 2–4 týdnů. Efekt léčby je vhodné posoudit s odstupem 6 měsíců a v některých případech je nutné léčbu kvůli neúspěchu opakovat.

Tab č. 8 Léčba lymeské borreliózy dle Doporučeného postupu ČLS JEP [89]

<p>Časná LB lokalizovaná</p>	<p>Erythema migrans</p> <ul style="list-style-type: none"> • doxycyklin 200 mg denně (v jedné nebo ve dvou denních dávkách) p.o. (nad 8 let věku 4 mg/kg a den*) • amoxicilin 3 x 500 mg až 1 g p.o. (50 mg/kg a den*) • cefuroxim-axetil 2 x 500 mg p.o. (30 mg/kg a den*) • phenoxymethylpenicilin 3 x 1-1,5 mil. j. p.o. (100.000 j./kg a den*) • azitromycin** 1 x 500mg p.o. (10 mg/kg a den*), první den dvojnásobná dávka • claritromycin** 2 x 500mg p.o. (7,5 mg/kg a den*) <p>Délka léčby 14 dnů. Podávání doxycyklinu lze zkrátit na 10 dnů, azitromycinu na 5-10 dnů.</p>
<p>Časná LB diseminovaná</p>	<p>Časná neuroborrelióza, lymeská karditida, oční formy LB</p> <ul style="list-style-type: none"> • ceftriaxon 1 x 2 g i.v., i.m. (50-75 mg/kg a den*) • cefotaxim 3 x 2 g i.v. (150-200 mg/kg a den*) • penicilin G 4 x 5 mil. j. (200.000-400.000 j./kg a den*) • doxycyklin*** 200-400 mg denně p.o. (u dětí nad 8 let 4-8 mg/kg a den*) <p>Délka léčby 14-21 dnů.</p> <p>Borreliový lymfocytom Jako léčba erythema migrans.</p>
	<p>Pozdní lymeská artritida</p> <ul style="list-style-type: none"> • doxycyklin 200 mg denně (v jedné nebo ve dvou denních dávkách) p.o. (nad 8 let věku 4 mg/kg a den*) • amoxicilin 3 x 500 mg až 1 g p.o. (50 mg/kg a den*) • cefuroxim-axetil 2 x 500 mg p.o. (30 mg/kg a den*) • azitromycin** 1 x 500mg p.o. (10 mg/kg a den*) • claritromycin** 2 x 500mg p.o. (7,5 mg/kg a den*) <p>Délka léčby 28 dnů.</p>

	<p>Pozdní neuroborrelióza</p> <ul style="list-style-type: none"> • ceftriaxon 1 × 2 g i.v., i.m. (50-75 mg/kg a den*) • cefotaxim 3 × 2 g i.v. (150-200 mg/kg a den*) • penicilin G 4 × 5 mil. j. (200.000-400.000 j./kg a den*) • doxycyklin*** 200–400 mg denně p.o. (u dětí nad 8 let 4–8 mg/kg a den*) <p>Délka léčby 14 – 28 dnů.</p> <p>Acrodermatitis chronica atrophicans</p> <ul style="list-style-type: none"> • doxycyklin 200 mg denně (v jedné nebo ve dvou denních dávkách) p.o. (nad 8 let věku 4 mg/kg a den*) • amoxicilin 3 × 500 mg až 1 g p.o. (50 mg/kg a den*) • cefuroxim-axetil 2 x 500 mg p.o. (30 mg/kg a den*) • ceftriaxon 1 × 2 g i.v., i.m. (50–75 mg/kg a den*) • cefotaxim 3 × 2 g i.v. (150–200 mg/kg a den*) <p>Délka léčby 21 dnů.</p>
<p>Poznámky</p> <p>* Dávky pro děti jsou uvedeny v závorkách, maximální dětské dávky se rovnají běžným dávkám doporučeným pro dospělé.</p> <p>** Pouze pacientům, kteří nemohou užívat doxycyklin, amoxicilin, cefuroxim-axetil či penicilin.</p> <p>*** Zejména při alergii na betalaktamová antibiotika nebo nevhodnosti nitrožilní aplikace. Také u periferní parézy n. facialis s normálním likvorovým nálezem.</p> <p>Doxycyklin způsobuje fotosensibilizaci, pacient se během užívání musí vyhnout pobytu na slunci či jiným zdrojům UV záření. Doxycyklin je třeba zapít dostatečným množstvím tekutin a požit s jídlem nebo po jídle ke zlepšení gastrointestinální tolerance.</p> <p>Dávkování antibiotik je nutné upravit dle obecných pravidel a platných SPC s ohledem na hmotnost pacienta a funkci ledvin a jater.</p>	

2.1.8. Specifika v graviditě

Borreliová infekce během těhotenství byla považována za nebezpečnou, avšak nedávné studie tyto obavy nepotvrzují. První případ matky s diseminovanou formou LB v těhotenství, která nebyla léčena a jejíž dítě zemřelo, byl publikován P. Schlesingerem v roce 1985 [110]. Vzhledem k taxonomické příbuznosti borrelií a treponemat, která způsobují kongenitální syfilis s těžkým poškozením plodu v případě neléčené recentní infekce matky v graviditě, se začala ve světě věnovat pozornost tomuto možnému teratogennímu působení borrelií na lidský plod [50]. Kauzální asociace s borreliovou infekcí nebyla prokázána u žádného z novorozenců narozených 105 matkám s EM během těhotenství, avšak byly

pozorovány 2 potraty a 6 předčasně narozených dětí, včetně 1 dítěte se srdeční abnormalitou a 2 úmrtími těsně po porodu [111]. V roce 1999 byl publikován případ parézy lícního nervu způsobené borreliovou infekcí v těhotenství s dvojčaty [112].

Gravidní ženu s anamnézou přisátého klíštěte je nutné sledovat a v případě klinických projevů se doporučuje řádná antibiotická léčba dle doporučení s výjimkou doxycyklinu, který je v graviditě kontraindikován, a zvýšený dohled nad těhotenstvím. V případě výskytu LB v prvním trimestru gravidity doporučují někteří autoři parenterální léčbu benzylpenicilinem nebo ceftriaxonem po dobu 14 dní [50, 113].

2.1.9. Specifika u dětí

Diagnostické problémy borreliové infekce u dětí jsou dány necharakteristickým průběhem onemocnění, častou absencí EM, negativní anamnézou přisátí klíštěte, nepřítomností dalších příznaků a složitou interpretací výsledků sérologických testů. Jediným příznakem LB u dětí může být paréza lícního nervu [114].

2.1.10. Prevence

Nákazou jsou nejvíce ohroženi lidé, kteří často a dlouhou dobu tráví v oblastech s výskytem infikovaných klíšťat, tedy v lukách, křovinatých a lesních porostech, zejména v listnatých lesích. Nejvíce ohroženi jsou lesní dělníci, chataři, houbaři, turisté a děti na prázdninových táborech [115].

Důležitá je znalost oblastí s endemickým výskytem infikovaných klíšťat a adekvátní ochrana při pobytu v přírodě, kdy se doporučuje volba oblečení světlé barvy, na kterém jsou zachycená klíšťata dobře přehledná, dlouhé kalhoty zastrčené do ponožek, dlouhý rukáv, klobouk, vysoká obuv (holínky) a používání repelentů. Bezprostředně po návratu z přírody se doporučuje převlečení a vytřepání oblečení, důkladná a opakovaná prohlídka povrchu těla a odstranění klíšťat. Důležitá je pravidelná kontrola domácích zvířat a odstraňování přítomných klíšťat bezpečným postupem jako u lidí. Klíště odstraňujeme co nejdříve, riziko přenosu infekce roste s délkou přisátí klíštěte. Po dezinfekci kůže, nejlépe jodovými preparáty, se pomocí pinzety klíště jemně uchopí u hlavičky a odstraní z kůže. Klíště se nedoporučuje mačkat ani potírat olejem, protože dochází k vytlačení střevního obsahu klíštěte do rány i s přítomnými mikroby. Po vytažení klíštěte z kůže je nutné ránu znovu vydezinfikovat. Při manipulaci s klíštětem je nutné se vyvarovat potřísnění prstů a spojivek obsahem z klíštěte. Klíště se doporučuje bezpečně zlikvidovat. Místo po přisátém klíštěti

je nutné sledovat po dostatečně dlouhou dobu. V místě přisátí můžeme často pozorovat alergickou nebo zánětlivou reakci, která do několika dní spontánně odezní. V případě progredujícího erytému či přetrvávajícího zánětlivého projevu je nutné vyloučit borreliovou infekci. V Severní Americe se doporučuje při zvýšeném riziku onemocnění jednorázové perorální podání doxycyclinu v dávce 200 mg [116], tato profylaxe se v Evropě nedoporučuje.

Výzkum a vývoj v oblasti prevence LB trvá již řadu let, výsledkem byla vakcína, která byla uvedena koncem 90. let na trh v USA, kde vzhledem k výskytu pouze kmene *B. burgdorferi s. s.* není antigenní variabilita vysoká. Vakcína obsahovala membránový lipoprotein OspA *B. burgdorferi s. s.*, obchodní název byl Lymerix. Pro nežádoucí účinky, z nichž nejvýznamnější byly neurologické komplikace (ischémie mozku, neuritida optiku), byl zájem o vakcínu malý, a proto byla vakcína v roce 2002 stažena z trhu [117]. Vzhledem k vysoké antigenní variabilitě borrelií není v současné době možné zajistit dostatečnou účinnost vakcíny. Dokud tedy nebude dostupná dostatečně účinná a bezpečná vakcína, jedinou prevencí borreliózy zůstává ochrana před napadením vektorem, tedy klíštětem.

2.1.11. Prognóza

Prognóza infekčního onemocnění LB při včasné diagnóze a adekvátní antibiotické terapii po dostatečně dlouhou dobu je obvykle příznivá. S délkou trvání onemocnění se zvyšuje riziko diseminace infekce a multiorgánového postižení s ireverzibilními změnami. Imunitní systém vytváří protilátky, které organismus nechrání před další infekcí. Nákazou lze tedy onemocnět opakovaně.

2.2. Lidská granulocytární anaplasmóza

Lidská granulocytární anaplasmóza (LGA) (MKN-10:A 79.8) je onemocnění přenášené klíšťaty, které způsobuje *Anaplasma phagocytophilum*, bakterie z řádu *Rickettsiales*, čeledi *Anaplasmataceae*. *A. phagocytophilum* byla dlouho známa pouze jako veterinární patogen, který způsobuje klíšťovou horečku u přežvýkavců, koňskou anaplasmózu a těžké horečnaté onemocnění u psů a koček. U lidí způsobuje akutní horečnaté onemocnění, patogen napadá periferní buňky bílé řady, vede k jejich depleci a neléčená infekce může vést k multiorgánovému postižení, oportunním infekcím a v některých oblastech světa i k fatálnímu konci člověka. *A. phagocytophilum* se vyskytuje v USA, Evropě i Asii. Vektorem je klíště. Onemocnění LGA byla poprvé popsána v roce 1990 v USA a od té doby počet případů

výrazně vzrůstá. Pozitivní sérologické nálezy naznačují, že se jedná o rozšířené onemocnění, které je často nepoznané. Počet případů z různých míst světa přibývá, po USA je nejvíce případů hlášeno z Evropy. Onemocnění postihuje děti i dospělé a zejména v určitých endemických oblastech může mít závažný průběh. Onemocnění se může klinicky prezentovat také kožním erytémem podobným EM.

2.2.1. Historie

Ehrlichie jsou bakterie známé od roku 1932 jako veterinární patogen způsobující onemocnění různých druhů zvířat. Pojmenovány byly na počest německého mikrobiologa Paula Ehrlicha, který se však na jejich objevu nepodílel. *Anaplasma phagocytophilum*, dříve nazývaná *Ehrlichia phagocytophila*, byla objevena v roce 1932 ve Skotsku a popsána jako původce horečnatého onemocnění zvířat, které se přenáší klíštětem. O několik let později, v roce 1940, byla potvrzena jako etiologické agens klíšťové horečky u dobytka, ovcí a koz [118], další práce v následujících letech potvrdily výskyt toto onemocnění u dobytka a ovcí i na jiných místech Anglie [119]. Postupně bylo onemocnění hlášeno i z dalších míst, např. ze Skandinávie [120]. U koňů bylo onemocnění koňskou granulocytárií ehrlichiozou, resp. koňskou granulocytární anaplasmózou popsáno v roce 1969 v Kalifornii, jako původce byla označena *Ehrlichia equi* [121].

LGA byla poprvé popsána v roce 1990 u pacienta ve Wisconsinu v USA, který zemřel na febrilie 2 týdny po kousnutí klíštětem [122]. V krevním nátěru tohoto a následujících případů byly nalezeny drobné inkluse v neutrofilech. Přibývajících případy právě z oblasti Wisconsinu a východní Minnesoty, kromě charakteristického krevního nálezu s inklusemi doprovázené leukocytopénií a trombocytopénií, měly společné klinické projevy – horečku, cefaleu, únavu, myalgie a dále elevaci jaterních testů v krevním biochemismu [123]. Zjištění v roce 1994, že patogenem LGA je *Ehrlichia phagocytophilum*, patogen blízký patogenu způsobující vektorem přenášené horečnaté onemocnění u přežvýkavců a koňů, vzbudilo velký zájem [122]. V roce 2001 byla provedena reklasifikace rodu ehrlichii, které byly zařazeny do řádu *Rickettsiales*, a poté, co bylo identifikováno, že druhy *E. phagocytophila* a *E. quii* jsou synonymem, byly sloučeny do nového druhu *Anaplasma phagocytophilum* [124].

První případ sérologického průkazu LGA v Evropě byl hlášen ze Švýcarska v roce 1995 [125]. První publikovaný klinický případ pak pochází ze Slovinska z roku 1997 [126]. Od té doby následují další publikované případy i z ostatních evropských zemí – Itálie [127], Rusko [128], Německo [129], Španělsko [130], Polsko [131], Slovensko [132], Rakousko [133].

Publikace prvního případu detekce ehrlichii v klíštěti *I. persulcatus* v endemických oblastech LB v Asii z roku 2000 je důkazem, že se jedná o nákazu s globálním výskytem [134].

Následné studie na zvířatech prokázaly další druhy ehrlichiových nálezů u zvířat, a tím upozornily na riziko možného výskytu onemocnění také u lidí, které se následně potvrdilo. Psí granulocytární anaplasmóza způsobená *Ehrlichia ewingii* byla popsána v USA v roce 1982 [135], onemocnění byl u zvířat potvrzena i na jiných místech USA a následně také v Evropě. V roce 1999 pak byl publikován první případ ehrlichové infekce *E. ewingii* u lidí. Lidská monocytární ehrlichioza (LME) je vyvolána *Ehrlichia chaffeensis*. Klinický případ LME byl poprvé popsán v roce 1987, vyvolavatel *Ehrlichia chaffeensis* byl však identifikován až v roce 1999 [136].

V ČR byla LGA poprvé popsána v roce 1996 Humlem a spol. u psů [137]. První identifikaci patogenu *A. phagocytophilum* byla provedena Hulínskou a spol. v roce 2004 u koní a krav [138].

Zatímco v Evropě se z lidských „ehrlichiových“ onemocnění vyskytují pouze případy LGA, v USA se kromě LGA vyskytují také lidská monocytární ehrlichioza a ehrlichioza Ewingii.

2.2.2. Etiologie

Anaplasma phagocytophilum jsou malé obligátně intracelulární Gram-negativní koky nebo kokobacily velké jen 1,2–1,3 μm , které se nacházejí ve vakuolách ohraničených membránou. V hostiteli napadají granulocyty, ve kterých se dělí uvnitř fagolysosomů a vytvářejí v nich charakteristické intracytoplazmatické vakuolární mikrokolonie, tzv. moruly [139]. V jedné buňce může být přítomna jen jedna, nebo i více morul.

Tab. 9 Taxonomie *Anaplasma phagocytophilum*

Říše <i>Bacteria</i> (bakteria)
• Kmen <i>Proteobacteria</i>
• Třída <i>Alpha Proteobacteria</i>
• Řád <i>Rickettsiales</i>
• Čeleď <i>Anaplasmataceae</i>
• Rod <i>Anaplasma</i>
• Druh <i>Anaplasma phagocytophilum</i>

Obr. 12 Mikrokolonie *Anaplasma phagocytophilum* v leukocytu

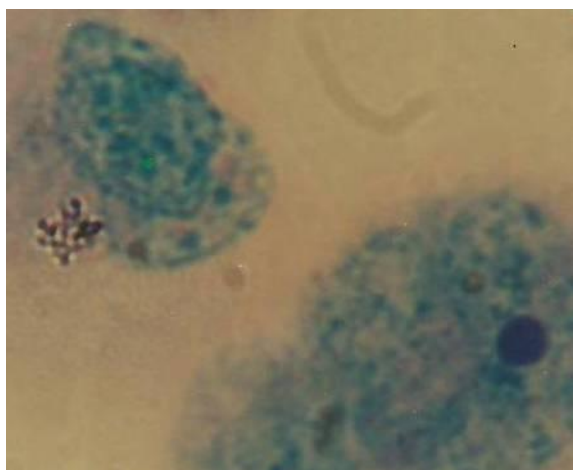


Foto: D. Hulínská

2.2.3. Epidemiologie

LGA je přírodně ohnisková nákaza, jejíž původce *A. phagocytophilum* je přenášen mezi hostiteli prostřednictvím vektorů, kterými jsou klíšťata. LGA se vyskytuje zejména ve středozápadní a severovýchodní části USA a v Evropě. Zatímco v USA se počet případů v posledních letech zvyšuje, v roce 2000 bylo hlášeno 348 případů, v roce 2010 to bylo již 1761 případů, incidence vzrostla z 1,4 % v roce 2000 na 6,1 % v roce 2010 [140] a onemocnění od roku 1999 podléhá hlášení. V Evropě statistiky neexistují a počty případů se mohou jen odhadovat z publikovaných případů. Z dlouhodobého sledování v USA vyplývá, že počet případů výskytu LGA se v jednotlivých letech liší, nejvyšší výskyt je v posledních letech [140]. Stejně jako LB, vykazuje i LGA sezonní charakter výskytu, a kopíruje tak sezonní aktivitu klíšťat a jejich rezervoárových hostitelů v závislosti na klimatických podmínkách a aktivitě lidí v endemických oblastech. Nejvyšší výskyt je v letních měsících, více než 50 % onemocnění je hlášeno v měsících červen–červenec, nižší v podzimních a zimních měsících [140].

Vektorem *A. phagocytophilum* v Evropě je klíště *I. ricinus*, v Asii *I. persulcatus*, v USA pak klíště *I. scapularis* a *I. pacificus* na západním pobřeží [141]. Klíště se infikuje sáním infikované krve na hostiteli a bakterie perzistují v organismu klíštěte v průběhu jednotlivých stadií. V USA se infikovanost klíšťat *I. scapularis* v endemických oblastech pohybuje mezi 10–50 % [141, 142]. Séroprevalence protilátek proti *A. phagocytophilum* v populaci v endemických oblastech USA dosahuje 15–36 % [143, 144]. Postižení jsou častěji muži nad 40 let, nejvíce však ve věkové skupině nad 60 let [145]. V Evropě se

promořenost klíšťat *A. phagocytophilum* se pohybuje mezi 0,6–7,8 % [146, 147]. Séroprevalence protilátek proti *A. phagocytophilum* v populaci v Evropě je vysoká, dosahuje až 15,4 % [148]. V ČR jsou protilátky proti anaplasmatům častěji detekovány u žen [137, 149].

V USA jsou rezervoárovými zvířaty jelen běloocasý (*Odocoileus virginianus*), los a volně žijící hlodavci, zejména křeček bělonohý (*Peromyscus leucopus*) [150]. Jeleni mají perzistující subklinickou infekci, křečci mají 1–4 týdny trvající bakteriémií. V Evropě jsou hlavním rezervoárem *A. phagocytophilum* drobní hlodavci (rejsek obecný, myšice lesní a norník rudý), dále domácí zvířata (psi, kočky, koně, ovce, kozy) a ptáci [151]. V ČR jsou nejčastějším rezervoárem drobní savci, myšice křovinná (*Apodemus sylvaticus*), norník rudý (*Clethrionomys glareolus*), rejsek obecný (*Sorex araneus*), srnec (*Capreolus capreolus*), liška (*Vulpes vulpes*), divoká prasata (*Sus scrofa*), dále koně, dobytek, ovce a psi [138, 152, 153]. *A. phagocytophilum* je schopná persistující infekce u obratlovců a klíšťat, kteří se stávají rezervoárem infekce.

Klíště se infikuje vždy sáním na nemocném zvířeti. Infekce se přenáší mezi vývojovými stadii klíštěte: z larvy na nymfu, z nymfy na dospělého jedince), transovariální přenos nebyl prokázán [124]. Onemocnění přenáší zejména nymfy a dospělé samičky klíštěte během sání krve na dalším hostiteli [153, 154]. Při sání na infikovaném hostiteli se anaplasmata dostávají do trávicího traktu, kde se množí v buňkách epiteliální výstelky. Poté se anaplasmata aktivně přesunují, podobně jako spirochéty, do slinných žláz klíštěte, kde opět perzistují v epiteliích. Při sání na dalším hostiteli se bakterie přenáší do hostitelského organismu. Doba nutná k přenosu infekce byla u amerického vektoru *I. scapularis* zjištěna kratší než u borreliové infekce, v laboratorních podmínkách došlo k přenosu v době kratší než 24 hod. [69, 155]. Suspektní přenos LGA mezi lidmi následkem nosokomiálního přenosu kontaktem s krví při fatálním krvácení či s respiračním sekretem při endotracheální intubaci je hlášen z Číny [156], dále je dokumentovaný případ přenosu LGA krevní transfuzí [157].

2.2.4. Etiopatogeneze

Anaplasmata po infestaci organismu je možné detekovat v periferní krvi, kostní dřeni, mozkomíšním moku a tkáních. V granulocytech se dělí do doby, než buňka zanikne, anebo se z buňky uvolňují ve formě inkluzních tělísek, která se šíří organismem a napadají další buňky. *A. phagocytophilum* vede k poruše funkce granulocytů, důsledkem infekce je lymfocytopenie. Ve tkáních dochází k perivaskulárním zánětlivým lymfocytárním

infiltrátům, zejména v jaterní tkáni. Postiženými orgány jsou dále srdce, ledviny, CNS a kloubní synovie. Přítomnost bakterie aktivuje imunitní systém, dochází k tvorbě cytokinů, které následně ničí tkáně. Tato odpověď je spjata zejména s tvorbou interferonu-gama (IFN-gama) a interleukinu 10 (IL-10) a snížení hladin TNF alfa, IL-1beta, IL-4 a IL-8, které hrají úlohu při aktivaci makrofágů. Následkem cytokinové odpovědi dochází k poruše funkce hostitelských buněk, tkání a orgánů. Postupně dochází ke zhoršování funkce imunitního systému.

2.2.5. Klinické projevy

LGA se manifestuje nespecifickými příznaky, které jsou velmi podobné obtížím při běžném virovém infektu [158]. Inkubační doba je 7–21 dní. Obtíže se objeví asi 5–10 dní po přísátí klíštěte. Vyhodnocením 10 studií ze Severní Ameriky a Evropy, které zahrnovaly celkem 685 pacientů, vyplývá, že LGA se manifestuje nevolností (94 %), náhle vzniklou horečkou (92 %), myalgiemi (77 %), cefaleou (75 %), méně časté jsou artralgie a gastrointestinální příznaky – nauzea, zvracení a průjem, respirační příznaky – kašel, plicní infiltráty a syndrom respirační tísně (respirátory distress syndrom ARDS), postižení CNS a postižení jater (hepatomegalie) [158-161]. Intenzita příznaků může být rozdílná. Laboratorní změny byly přítomné celkem u 329 pacientů a zahrnovaly trombocytopenii (71 %), leukopenii (49 %), anémii (37 %), typická je lymfopenie, v prvních dnech onemocnění doprovázená neutrofilii, a elevace jaterních transamináz (71 %) [158, 159]. Makulózní, makulopapulózní anebo petechiální exantém se objevuje u 2–6 % postižených [162, 163]. Anaplasmata nebyla samostatně prokázána v kožním erytému typickém pro LB, pouze jako koinfekce s borreliovou infekcí [63, 164-166]. Neléčená infekce může vést ke komplikacím a progredovat do akutního renálního selhání, diseminované intravaskulární koagulace, respiračního selhání, pankreatitidy, rhabdomyolýzy a dále neurologických komplikací – demyelinizační polyneuropatie a nervové parézy [167]. Infekce se může projevovat též jako syndrom toxického šoku s horečkou, hypotenzí, kožními projevy a multiorgánovým selháním [163]. Následkem cytopenie a porušené funkce neutrofilů dochází k oportunním infekcím různé etiologie [168]. Průběh infekce je dán imunitním stavem pacienta, může být asymptomatický nebo závažný s orgánovými komplikacemi, které vyžadují hospitalizaci. Imunosuprese a malignity, chronická onemocnění, splenektomie, stav po transplantaci, vyšší věk a délka trvání neléčené infekce průběh zhoršují [159, 169]. Těžký průběh LGA může vést k nutnosti hospitalizace a fatálnímu konci následkem rozvoje oportunních infekcí a krvácení. Fatální průběhy jsou hlášeny z USA, jejich incidence se pohybuje mezi 0,5–1 % [140].

Symptomy jsou stejné v Americe i v Evropě, odlišnost je však v průběhu onemocnění. V Evropě je průběh LGA mírnější s rychlejším ústupem symptomů i v případě neléčené infekce, která odezní většinou do 30 dnů [170–172].

2.2.6. Diagnostika

Diagnostika anaplasmóz je založena na průkazu přímými a nepřímými metodami.

Přímé metody

Mezi přímé metody patří krevní nátěr periferní krve barvený dle Giemsy-Wrighta, velmi jednoduchá a rychlá metoda. Mikroskopické vyšetření krevního nátěru, možné též mozkomíšního moku, prokáže přítomnost bakterií ve formě morul v cytoplasmě granulocytů v případě LGA až v 60–80 % [158, 168]. Moruly jsou přítomné v krvi v prvním týdnu infekce. I přesto, že se jedná o nespecifickou metodu, vyšetření by měl provádět zkušený lékař. Nepřítomnost morul v nátěru však infekci nevylučuje. Přímý průkaz anaplasmat je možný též vyšetřením v elektronové mikroskopii s průkazem oválných tělísek v intracytoplazmatických vezikulách leukocytů v postižených tkáních [153]. Kultivace na tkáňových kulturách se provádí jen na specializovaných pracovištích. Z dalších metod je možný průkaz pomocí PCR v reálném čase s využitím primerů z genu pro 16S rRNA *A. phagocytophilum* [158].

Nepřímé metody

Z nepřímých metod se nejvíce využívá IFA, která detekuje protilátky třídy IgM a IgG od 2. týdne infekce. Čtyřnásobný vzestup titru protilátek v rekonvalescenčním séru potvrzuje infekci. Protilátky IgG obvykle přetrvávají dlouhodobě, možno až 2,5 roku po akutní infekci. Při hodnocení výsledků je nutné vzít v úvahu zkříženou reaktivitu s jinými organismy. Dalšími sérologickými metodami jsou ELISA s rekombinačními antigeny rHGE a WB.

Laboratorní vyšetření krve

V krevním obraze je typický nález leukopenie, trombocytopenie a anémie, v biochemismu krve elevace hladin sérových transamináz.

Diagnóza je stanovena na základě klinických projevů, laboratorního vyšetření (leukopenie, trombocytopenie a elevace jaterních enzymů) a epidemiologických údajů – anamnestický údaj o kontaktu s vektorem anebo pohybu v ohnisku výskytu klíšťat. V praxi se doporučuje potvrzení diagnózy provedením krevního nátěru, IFA a ev. PCR metodou.

2.2.7. Diferenciální diagnostika

Aseptické meningitidy virového původu, babezióza, LB, LME, malárie a horečka Skalistých hor jsou onemocnění, která by měla být zařazena do diferenciální diagnostiky horečnatých stavů. Důležitá je epidemiologická anamnéza s údaji o cestování.

2.2.8. Léčba

Lékem volby je doxycyklin. Podává se perorálně v dávce 2 x 100 mg po dobu 10–14 dní [173], u komplikovaných případů intravenózně. U dětí starších 8 let se doporučuje dávkování 3 mg/kg à 12 hod. K léčbě malých dětí, gravidních a osob alergických na tetracykliny je vhodné zvolit rifampicin po dobu 7–10 dnů [174, 175]. V USA bylo Americkou akademií pediatrií v případě ehrlichiové infekce u dětí mladších 8 let doporučen doxycyklin jako lék volby [176]. Zjistilo se, že riziko diskolorace stálých zubů při krátkodobém podávání doxycyklinu dětem mladších 8 let není vyšší než u dětí, které nikdy nebyly doxycyklinem léčeny [177]. Minimální délka antibiotické léčby je 5 dní nebo po dobu 3 dnů po poklesu horečky či zlepšení klinického stavu [178]. K poklesu horečky dochází většinou do 24–72 hodin po podání antibiotik, k normalizaci krevního obrazu a jaterních testů dochází do týdne. Týdny až měsíce v závislosti na celkovém stavu organismu může přetrvávat únava. Anaplasmata jsou rezistentní k penicilinům, makrolidům i aminoglykosidům, efekt chinolinů není jednoznačný [179].

2.2.9. Specifika v graviditě

Horowitz et al. publikovali případy pacientek léčených v graviditě pro LGA a dále případ perinatálního přenosu LGA, kdy dítě bylo úspěšně léčeno [180]. Na druhou stranu jsou známé zamklé porody a potraty následkem infekce *A. phagocytophilum* u ovcí a dobytka [181].

2.2.10. Prevence

Prevencí je stejně jako u LB omezení rizika kontaktu s vektorem a preventivní opatření v případě vstupu do ohniskových oblastí.

2.2.11. Prognóza

Prognóza včas a správně diagnostikovaného a léčeného onemocnění je dobrá.

2.3. Další nemoci přenášené klíšťaty

2.3.1. Ostatní ehrlichiozy

Lidská monocytární ehrlichioza, jejímž původcem je *Ehrlichia chaffeensis*, byla popsána jako první lidská ehrlichioza v roce 1986 u pacienta ve státě Arkansas v USA. *E. chaffeensis* je endemický patogen v jihovýchodní a jižní centrální části USA, Brazílii, Koreji a Japonsku [182-184], rezervoárem jsou divoká zvířata (zejména jelen běloocasý) i domácí zvířata, zejména psi, vektorem je klíště *Amblyomma americanum* (*Lone-star tick*) a *Dermacentor*. Infikovanost klíšťat *E. chaffeensis* se pohybuje mezi 5–10 % [185]. V USA je hlášeno 700–900 případů LME ročně [186], největší výskyt onemocnění je v období nejvyšší aktivity klíšťat. Počet případů je však nižší než LGA. LME postihuje nejčastěji osoby ve věku 50 let, muži jsou postiženi častěji [145]. Bakterie napadají buňky bílé řady – monocyty, méně často granulocyty. Onemocnění se projevuje podobně jako LGA nespecifickými příznaky podobné virové nákaze, které jsou doprovázené horečkou, cefaleou a únavou. Častý je výskyt vyrážky makulózního až papulózního charakteru, častěji na končetinách a v obličeji. Průběh může být komplikován meningoencefalitidou, renálním selháním a jaterním poškozením. Těžší průběh onemocnění končí v USA ve 2–3 % fatálně. V Evropě, stejně tak jako v České republice, se vyskytují pouze importované případy LME [149, 187].

Nejméně častou ehrlichiozou je Lidská ehrlichiosis ewingii (LEE) (Human ewingii ehrlichiosis), jejímž vyvolavatelem je *Ehrlichia ewingii*, kterou přenáší klíště *Amblyomma americanum* a *Dermacentor*. Postihuje pacienty immunosuprimované následkem celkové léčby či jiných onemocnění, jako je infekce HIV, pacienty po splenektomii či transplantaci.

Všechny 3 formy lidských ehrlichioz mají podobný průběh. Odlišují se druhem postižení buněk bílé řady, u LGA jsou postiženy granulocyty, u LME monocyty, méně časté je postižení granulocytů a u LEE neutrofilů. Těžší průběhy jsou častější u LME, u kterých je také častější úmrtnost.

Tab. 10 Přehled lidských ehrlichióz, upraveno dle Cunha et al. [188]

	Lidská granulocytární anaplasmóza	Lidská monocytární ehrlichióza	Lidská ehrlichióza ewingii
Typ postižených buněk	Granulocyty	monocyty	neutrofilly
Patogen	<i>Anaplasma phagocytophilum</i>	<i>Ehrlichia chaffeensis</i>	<i>Ehrlichia ewingii</i>
Vektor	<i>I. ricinus</i> (Evropa), <i>I. scapularis</i> a <i>I. pacificus</i> (Amerika), <i>I. persulcatus</i> (Asie)	<i>Amblyomma americanum</i> (Lone Star tick)	<i>Amblyomma americanum</i> , <i>Dermacentor</i>
Výskyt	Evropa, USA, Asie	Jihovýchodní a jižní část USA	USA
Klinické příznaky	horečka, nevolnost, myalgie, cefalea, artralgie, exantém, GIT a respirační příznaky	horečka cefalea nevolnost anorexie bolesti břicha lymfadenopatie exantém žloutenka komplikace respirační, jaterní, CNS	Horečka cefalea myalgie nevolnost
Exantém	30 % dospělých 60 % dětí	vzácný	-
Průkaz patogena	krevní nátěr krevní obraz jaterní testy IFA PCR (kultivace)	krevní nátěr krevní obraz jaterní testy IFA PCR	krevní nátěr krevní obraz jaterní testy PCR
Typické nálezy	moruly v granulocytech trombocytopenie leukopenie elevace jaterních testů	zřídka nález morul trombocytopenie leukopenie elevace AST	trombocytopenie leukopenie elevace jaterních testů
Léčba	doxycyklin p.o. 2 x 100 mg 7–10 dní	doxycyklin p.o. 2 x 100 mg 7–10 dní	doxycyklin p.o. 2 x 100 mg 7–10 dní
Prognóza	< 1% úmrtnost	~3% úmrtnost	-

2.3.2. Klíšťová encefalitida

Klíšťová encefalitida je virové onemocnění postihující nervovou soustavu způsobené virem klíšťové encefalitidy rodu *Flavivirus* z čeledi *Flaviviridae*. Virus koluje mezi rezervoárovými zvířaty, kterými jsou drobní hlodavci, divoká i domácí zvířata, zejména srnci, kozy, ovce a skot, a vektorem onemocnění, kterým je klíště *Ixodes ricinus*. Virus subklinicky perzistuje v organismech zvířat, u klíšťat je pasážován transstadiálně i transovariálně. Člověk se nakazí při pobytu v přírodě přisátím infikovaného klíště, přenos je však také možný nepasterizovaným mlékem. Výskyt je sezonní, odpovídá aktivitě klíštěte a klimatickým podmínkám. Výskyt je většinou dvouvrcholový, nejvyšší výskyt je na jaře (duben–červen) a na podzim (září – říjen). V ČR je každoročně hlášeno 500 – 1000 případů za rok, v roce 2011 bylo hlášeno 861, v roce 2012 pak 573 případů [1]. Inkubační doba je 3 dny až 3 týdny. Virus diseminuje lymfatickou a hematogenní cestou, napadá mozkovou tkáň, ve které dochází k replikaci viru. Průběh onemocnění je často asymptomatický, při symptomatickém průběhu dominují „chřipkovité“ příznaky s bolestí hlavy, horečkou, únavou, artralgiemi a myalgiemi. Tyto příznaky během několika dní odezní, nebo se stav zhoršuje a progreduje do obrazu meningoencefalitidy či encefalitidy s trvajícím febriliemi, výraznější cefalgií, meningeálním syndromem za doprovodu dalších neurologických komplikací, jako jsou závratě, parézy, třesy až porucha vědomí, která může přejít v kóma. Velmi závažné formy klíšťové encefalitidy mohou mít v méně než 1 % fatální průběh. Diagnóza je založena na klinických projevech, anamnestických údajích a laboratorních nálezech, zejména pozitivním sérologickém nálezu a nálezu pleocytózy a proteinorachie v mozkomíšním moku.

Terapie klíšťové encefalitidy je symptomatická, zejména léčba otoku mozku, kauzální léčba neexistuje. Důležitá jsou režimová opatření. Onemocnění často zanechává následky v podobě motorických poruch, zejména spastických paréz a kognitivních poruch, dále poruchy spánku, koncentrace, emoční labilitu a únavnost.

2.3.3. Rickettsiózy

Rickettsie jsou velmi drobné gram-negativní koky nebo tyčinky, které se vyskytují celosvětově. Zdrojem nákazy jsou zvířata ve volné přírodě, od kterých se onemocnění přenáší v endemických oblastech vektory na lidi, u kterých způsobují závažná až smrtelná onemocnění. Rickettsie napadají endotelie, ve kterých se množí, narušují buněčnou membránu, následkem dochází k poruše permeability a dochází k rozpadu buňky. Bakterie se šíří organismem a napadají další orgány – oči, ledviny, játra, nadledvinky, kůži, srdce i CNS.

Onemocnění může vést k srdečnímu selhání, poruše vědomí a k šoku. Predilekčními orgány jsou kůže, gonády a adrenální žlázy. K poškození orgánů dochází na podkladě vaskulitidy, která vede k rozvoji klinických projevů. Většina rickettsióz se projevuje horečkou, enantémy, postižením cév a srdce. Vektorem jsou roztoči, klíšťata, vši, blechy a štěnice. Mezi onemocnění, která přenášejí klíšťata, patří horečka Skalistých hor, jejímž původcem je *Rickettsia rickettsii* a Q-horečka, kterou způsobuje *Coxiella burnetii*.

Horečka Skalistých hor se vyskytuje v Severní, Střední i Jižní Americe, nejvíce případů je hlášeno z východní části USA, kde po lymeské borrelióze je druhou nejrozšířenější infekcí přenášenou klíštětem. Onemocnění je známé od 19. století. Incidence onemocnění v USA se pohybuje kolem 7 případů na 1 mil. obyvatel. Postiženi jsou častěji muži, děti jsou ohroženy více než dospělí. Mortalita je nevyšší u mužů nad 50 let. Rezervoárem jsou obratlovci, zejména hlodavci a ptáci, vektorem je klíště *Amblyomma americanum* a *Dermacentor variabilis*. Nejčastější výskyt onemocnění je v době nejvyšší aktivity klíšťat od dubna do září. Inkubační doba je 2–8 dní. Charakteristická je trvalá a intenzivní cefalea s febriliemi dosahujícími 39–41 °C doprovázená myalgiemi, zmateností a makulózním exantémem. Exantém je patognomický, vyskytuje se u 80–90 % případů a začíná jako blednoucí makulózní léze, která se mění v erytémový makulózní nebo petechiální exantém na zápěstí a v oblasti kotníků, a šíří se centripetálně, typické je postižení dlaní a plosek. Vyrážka se objevuje 2–3 dny po nástupu horečky. Stav může doprovázet nauzea, zvracení a bolesti břicha. Přítomná může být hepatomegalie a splenomegalie. Pokud není včas zahájena léčba, průběh onemocnění je těžký. Komplikacemi je meningoencefalitida, srdeční selhání, poškození ledvin, plic, sleziny a jater. Letalita v endemických oblastech dosahuje až 2 % u dětí a až 9 % u starších osob [189]. Prognóza onemocnění závisí na včasnosti zahájení léčby.

Q–Horečka je způsobena *Coxiellou burnetii* (dříve nazývanou *Rickettsia burnetii*). Toto onemocnění se vyskytuje celosvětově, nejvíce případů je hlášeno z jižní Francie a Austrálie, onemocnění se nevyskytuje na Novém Zélandu. Zdrojem jsou hlodavci, ovce, skot, kočky, psi a ptáci, vektorem je klíště. Přenos na člověka se děje klíštětem, ale také přímým kontaktem s nemocným zvířetem, jeho sekrety anebo produkty nakažených zvířat. Klinicky se projevuje akutním horečnatým onemocněním s výraznou cefaleou, později dochází k atypické pneumonii, která se projevuje suchým kašlem a bolestmi na hrudi s významným rtg. nálezem. Dochází k elevaci jaterních testů.

Diagnostika je založena na pozitivních sérologických výsledcích metod IFA a PCR. Doporučená je léčba antibiotiky tetracyklinové řady, doporučuje se podání doxycyklinu

perorálně v dávce 2 x100 mg, u dětí v dávce 2,2 mg/kg 2x denně po dobu 7–14 dní. Důležité je zahájení léčby do 4 dnů od začátku symptomů.

2.3.4 Babesióza

Babesióza je jednou z nejčastější, celosvětově rozšířenou infekcí zvířat, která postihuje hlavně drobné hlodavce, dobytek a šelmy. Patří mezi onemocnění ze skupiny vektorových nákaz. Tato humánní infekce se vyskytuje endemicky v USA. Původcem onemocnění je prvek rodu *Babesia*, malý intracelulární parazit (1–5 µm), který v mikroskopickém nátěru připomíná plasmodium, původce malárie. V USA je nejčastějším patogenem *Babesia microti*, parazit hlodavců, v Evropě je onemocnění vzácné, jedná se o importované případy. Nejčastějším importovaným patogenem v Evropě je *B. divergens*, parazit dobytka. Prvok napadá červené krvinky divokých a domácích zvířat, zejména skotu. V erythrocytech se dělí a způsobuje hemolýzu. U zvířat i u lidí způsobuje horečku, hemolýzu, ev. hemoglobinurii. Bakterii přenáší na člověka klíště, které se infikuje sáním na nemocném zvířeti, přenos je možný též transfuzí [190]. Inkubační doba je 1–3 týdny. Babesiózou jsou ohroženy zejména osoby po splenektomii a osoby imunodeficientní, zvláště oslabené infekcí HIV. Klinické příznaky jsou nespecifické od mírného až po závažnější průběh, kdy dominuje horečka, třesavka a ikterus, stav doprovází bolesti břicha, hepatomegalie, únava, nechutenství, artralgie, myalgie, emoční labilita, přítomen může být i kašel a respirační příznaky. Onemocnění připomíná malárii. Na chorobu upozorní tmavá moč. Stav může progredovat do sepse a vést k orgánovému selhání následkem hemolýzy. Diagnosticky významný je průkaz prvoka v krevním nátěru po barvení Giemsou a sérologický průkaz specifických protilátek, průkaz je možný též PCR metodou. V krevním obraze nacházíme hemolytickou anémii, cytopénii a trombocytopenii, v krevním séru elevaci jaterních transamináz, laktátdehydrogenázu a bilirubinu, v močovém sedimentu hemoglobinurii a proteinurii [191]. Neléčené onemocnění může mít letální průběh, ohroženy jsou osoby po splenektomii, u kterých je až 50% letalita [192].

Terapie se doporučuje kombinovaná antibioticko-antiparazitická, nejlépe kombinace klindamycin a chinin, nebo azitromycin a atovaquon.

V ČR se jedná o onemocnění vzácné, většinou se jedná o importovanou nákazu [193]. Na onemocnění je však třeba myslet, pokud se osoba pohybovala v endemické oblasti, anamnesticky udává přisátí klíštěte, nebo dostala krevní transfuzi a dominujícími symptomy jsou přetrvávající horečka a hemolytická anémie.

2.3.5 Bartonelóza

Bartonelóza (felinóza) neboli nemoc kočičího škrábnutí způsobuje v České republice bakterie *Bartonella hensellae*. Patogen se na člověka přenáší klíšťaty, možný je i přenos blechami z koček a psů, či poraněním od domácích nebo divoce žijících koček. Nejčastěji bývají postiženi chovatelé koček, polymorbidní a imunosuprimovaní jedinci, dále osoby s nízkým hygienickým standardem. Inkubační doba je 5–10 dní po přisátí klíštěte nebo škrábnutí kočkou, kdy se v daném místě může objevit zánětlivá papulopustula krytá krustou nebo vráidek. Klinicky se onemocnění projevuje jen u části nemocných, v 10–20 % případů probíhá pod obrazem uzlinového syndromu. Mírně bolestivá lymfadenopatie postihuje krční a šijové uzliny, uzliny kolikvují u 10 % případů [194]. Doprovodnými celkovými příznaky je únava, malátnost, cefalea a subfebrilie, dále bolesti svalů a kloubů. Onemocnění má také oční formu, prezentující se jako akutní jednostranná nebo recidivující granulomatózní uveitida nebo akutní chorioretinitida. Vzácné bývá postižení CNS, kůže (vaskulitida), kloubů či dalších orgánů – pneumonie, myokarditida nebo hepatitida. Onemocnění může mít závažnější průběh u imunosuprimovaných jedinců. U imunokompetentních obtíže spontánně vymizí do 2 měsíců s rizikem přechodu do chronického stadia.

Bartonella hensellae způsobuje kromě nemoci z kočičího škrábnutí ještě, zvláště u oslabených jedinců, bacilární angiomatózu, kdy se tvoří hemangiomům podobné léze na kůži a v orgánech, a bacilární peliózu jater s tvorbou cyst vyplněných kví v játrech. Vznik lézí je dán schopností bartonel stimulovat angiogenezi. U bezdomovců se popisují případy perzistentní bakteriémie [195].

Diagnóza se stanoví sérologicky imunofluorescenční metodou nebo metodou PCR. V krevním obraze nacházíme leukocytózu, trombocytopenii, v séru zvýšenou alkalickou fosfatázu. Léčba je antibiotická, volíme tetracykliny, azitromycin nebo rifampicin.

2.4 Ostatní dermatózy

2.4.4 Granuloma annulare

Granuloma annulare (GA) je benigní projev s častým výskytem zejména u dětí a mladých osob do 30 let věku, ženy jsou postiženy 2x častěji než muži. Příčina dermatózy je neznámá, uvádí se trauma, poštípání hmyzem, sluneční expozice, PUVA terapie, dále virové infekce. GA je dáváno do souvislosti s výskytem diabetes mellitus (DM), který se vyskytuje

až u 12 % pacientů s GA. GA může být též paraneoplastickým projevem. Projevy byly poprvé popsány na prstech rukou v roce 1895 Calcottem Foxem, onemocnění pojmenoval Radcliff Crocker v roce 1902 .

Na počátku onemocnění se objevuje papule barvy kůže, někdy světle růžová, hladkého povrchu, která se postupem zvětšuje, centrum vklesává a projev se šíří navalitym okrajem do okolí. Solitární papule s centrální vkleslinou je také častá. Následkem tohoto vývoje vzniká anulární až serpignózní ložisko, jehož okraj tvoří val, někdy seskupený z drobných tuhých papulek barvy kůže. Velikost ložisek se pohybuje do několika centimetrů. Projevy progredují pomalu, mohou stacionárně přetrvávat léta, často spontánně zregredují. Místem postižení jsou většinou extenzorové plochy končetin, velmi častá je lokalizace nad kloubními prominencemi. Nejtypičtější projevem je anulární plak lokalizovaný na končetinách. Projevy se nacházejí v 60 % na horních končetinách – na rukou a pažích, ve 20 % na nohou, v 7 % současně na horních i dolních končetinách, v 5 % na trupu a v 5 % současně na trupu a jinde na těle [196]. Lokalizace v obličeji je vzácná.

Existují různé formy GA:

1. Drobnopapulózní forma je charakterizovaná výsevem solitárních tuhých hladkých papul barvy kůže na extenzorových částech končetin. Ložisková forma zahrnuje dobře ohraničená, lehce infiltrovaná plošná ložiska narůžovělé barvy nebo barvy kůže. Nodulární forma se vyskytuje často u dětí ve věku 5–6 let, manifestuje se jako nebolestivé, kulovité, tuhé rezistence hmatné v kůži nad dlouhými kostmi (tibie) nebo v oblasti kloubů, méně často ve křtici, dlaních a na hýždích. Až u 50 % pacientů se vyskytuje současně klasická forma GA.
2. Generalizovaná (disseminovaná) forma postihuje 15 % postižených, nejčastěji ženy středního věku, běžná je souvislost s DM [196]. Výsev papul barvy kůže až růžovofialových je symetrický, nejvíce postiženými oblastmi jsou zápěstí, předloktí, stehna a horní část trupu. Papuly mohou splývat v menší anulární plaky.
3. Perforující forma (granuloma annulare perforans) je vzácná, postiženo je do 5 % pacientů s GA. Vyskytuje se na prstech a dorsech rukou, vytvářejí se papule, které exulcerují a vykazují exsudaci sklovité tekutiny s obsahem zdegenerovaného kolagenu.

4. Patch forma se prezentuje jako pruhovitý erytém na trupu či končetinách, projevy mohou být mnohočetné, léze jsou symetrické. Diagnóza je stanovena na základě typického histologického obrazu nekrobiózy.

Histologický obraz GA vykazuje ložiskovou nekrobiózu vaziva horního a středního koría, která je ohraničená palisádovitě uspořádanými histiocyty, častá je přítomnost mucinu a redukce elastických vláken. Nekrobiotický proces je proces degenerace kolagenu s fragmentací a náhradou za granulární a fibrilární materiál.

Diferenciální diagnostika zahrnuje verrucae planae, lichen planus. Nodulární projevy je nutno odlišit od reakce po poštípání hmyzem, xantomů, revmatoidních a juxtaartikulárních nodulů. U projevů generalizované formy je nutno vzít v úvahu lichen planus, sarkoidózu, tuberkulosu a papulonodulární syfilis.

Diagnóza je stanovena na základě klinických projevů a histologického vyšetření.

K léčbě se doporučuje lokální aplikace potentních kortikosteroidů, nebo intralezionální aplikace kortikoidů, kryalizace, účinná může být i PUVA terapie nebo CO₂ laser. Celková léčba se doporučuje u diseminované formy, zahrnuje celkově podávané kortikoidy, sulfony, antimalarika a isotretinoin. Spontánní regrese je častá do 2 let v 50 % případů, avšak s rizikem recidivy [196].

Prevence neexistuje, prognóza onemocnění je dobrá.

2.4.5 Lichen sclerosus et atrophicus

Jedná se o dermatózu, která nepatří mezi časté. Prevalence není známá. Lichen sclerosus je zánětlivým onemocněním vrchní části dermis, která vede k bělavé atrofii. Charakteristické jsou folikulární keratózy, méně často eroze a vznik hemoragických bul. V 85 % případů bývá postižena anogenitální oblast. Onemocnění postihuje obě pohlaví, ženy jsou postiženy častěji. V ložiscích LSA je zvýšené riziko vzniku spinocelulárního karcinomu. První historické zprávy o této dermatóze pocházejí od Françoise Henri Hallopeau's z roku 1887.

Genitální LSA je velmi často doprovázen suchostí, úporným svěděním a dle lokalizace může vést kvůli atrofii a jizvení k poruchám funkce, u žen vede k zúžení introitu, k dysurii, dyspareunii, u mužů může být příčinou rekurentní balanitidy a vést k následné fimóze, může být příčinou bolestivé erekce, při postižení parauretrální oblasti vede k zúžení uretry, dysurii a močové obstrukci. U obou pohlaví může být příčinou bolestivé defekace.

Extragenitální lokalizace projevů je častá na trupu a horních končetinách, predilekční je oblast krku, ramen a flexorová část zápěstí. Extragenitální lokalizace projevů bývá většinou asymptomatická, možný je však pruritus a suchost ložisek. Ložiska v počáteční fázi jsou lehce elevované erytematózní plochy, mohou být erodované. Postupně následkem atrofie se jeví jako bělavá jizevnatá ložiska rozsahu od gutátních projevů po splývající ložiska, měkká až zřasená.

Diferenciálně diagnosticky je nutno vyloučit sklerodermii a vitiligo. Histologický nálezn je specifický, v počáteční fázi onemocnění dominuje edém horního koria, atrofie epidermis a folikulární hyperkeratóza s vakuolární degenerací základní vrstvy.

Léčba je lokální kortikoidními externy, kalcineurinovými inhibitory, deriváty vitamínu D, topickými hormonálními přípravky. V celkové léčbě se využívají imunospresiva – kortikoidy a methotrexát, dále deriváty vitamínu A – retinoidy. Svě místo má fototerapie, fotochemoterapie a fyzioterapie.

2.4.6 Sclerodermia circumscripta

Cirkumskriptní sklerodermie, neboli morfea, je onemocnění nejasné etiologie, které je charakterizované vznikem tuhého ložiska kdekoli na těle, které zůstává lokalizované a nepostihuje vnitřní orgány. Incidence je neznámá, ženy bývají postiženy 3–4x častěji než muži. Na vzniku onemocnění se podílejí vlivy zevního prostředí, imunologické faktory, infekce.

Všechna ložiska procházejí stejnými fázemi onemocnění, které postupně zahrnují fázi zánětlivou, sklerotickou a atrofickou. Pro ohraničené tuhé ložisko v zánětlivé fázi je typický edém koria, zvýraznění folikulárních ústí, charakteristický je tzv. lilac ring, lividní okraj ložiska. S postupující sklerotizací ložiska se barva projevu mění v porcelánově bílou, povrch je hladký, lesklý, ložisko je tuhé, nelze zřasit a není posunlivé oproti spodině. Sklerotický proces postihuje nejen kůži, ale též podkoží, vzácně i svalovou a kostní tkáň. S přechodem do atrofické fáze ubývá indurace, dochází k šedohnědé pigmentaci, ložiska jsou měkká a oproti okolní kůži vpadlá.

Rozeznáváme formu gutátní, ložiskovou, lineární, které se liší velikostí a tvarem ložisek, a dále bulózní formu. Při výskytu vícečetných ložisek hovoříme o diseminované formě, splýváním ložisek v plochy o formě generalizované. Lineární ložiska v oblasti kloubů vedou ke kontrakturám, u dětí mohou vést i ke zpomalení či zástavě růstu. Rozsáhlá ložiska na trupu mohou být příčinou omezení dýchacích pohybů a polykacích obtíží.

K atypickým formám cirkumskriptní sklerodermie dále patří atrophoderma idiopathica et progressiva Pasini–Pierini, abortivní forma atrofické formy morfey. Hemiatrophia progressiva faciei je lineární forma sklerodermie v obličeji s atrofií měkkých tkání, vzácně i kostí. U formy Morphea profunda jsou zánětlivým procesem postiženy všechny vrstvy kůže až po tukovou tkáň, která procesem sklerotizace vede ke kontrakturám a zanechává po sobě vkleslá místa v kůži. Možnými komplikacemi mohou být syndrom karpálního tunelu, snížení difúzní kapacity plic, známky plicní fibrózy či hypomotilita jícnu. Variantou hluboké morfey je fasciitis eosinophila postihující fascie a okolní tkáň nejčastěji na končetinách.

Diferenciálně diagnosticky je nutné vyloučit lichen sclerosus et atrophicus, pseudosklerodermické stavy, systémovou sklerodermii a lipoatrofii.

Histologický obraz zahrnuje dermální edém, perivaskulární lymfocytární infiltrát, později dochází k fibróze koria a atrofii epidermis, k zániku adnex, sklerotické vazivo se rozšiřuje do tukové tkáně. U povrchové varianty je skleróza limitována na horní korium.

Diagnóza je založena na klinickém a histologickém obraze.

Terapie lokální spočívá v aplikaci lokálních kortikosteroidních extern, pravidelném promazávání ložisek a masáží. Z celkové terapie se doporučuje aplikace vitamínu E. Fyzioterapie je prevencí vzniku kontraktur spolu s masáží. Při celkové léčbě se doporučují kortikoidy a antimalarika. Léčebnou variantou je fototerapie.

Prognóza onemocnění je dobrá, projevy mají tendenci ke spontánnímu zhojení, recidivy jsou časté. Delší průběhy s více komplikacemi jsou pozorovány u hlubokých forem morfey, které mohou vést i k invalidizaci, ojediněle k úmrtí.

2.5 Koinfekce borrelií a anaplasmat

Objevy dalších patogenů přenášených klíšťaty, které způsobují lidská onemocnění, přináší riziko přenosu více patogenů během jednoho zákusu klíštěte. Ve světě obecně počty případů klíštětem přenášených onemocnění i koinfekcí – LB, LGA a babeziózy a dalších narůstá, zejména Severní Amerika hlásí vysoké počty [159, 178, 197]. Jednotlivé nemoci se liší svou inkubační dobou, příznaky se mohou překrývat, onemocnění mohou mít kvůli koinfekcím odlišný průběh a v neposlední řadě antibiotická léčba zjištěného onemocnění nemusí být terapeutickou volbou souběžné koinfekce. V posledních letech probíhají intenzivněji studie, které zjišťují přítomnost nejčastějších patogenů v rezervoárových zvířatech, v klíšťatech a u lidí, ke zjištění znalosti rizika nálezů, prevalence a incidence těchto nemocí. V Evropě patří mezi nejčastěji uváděné klíštětem přenášené nemoci LB a klíšťová

encefalitida [198, 199], případy této duální infekce jsou publikovány [200]. Studie na klíšťatech však ukazují vysokou promořenost i dalšími patogeny a různou incidenci patogenů v závislosti na oblastech. Studie z Německa identifikovala koinfekce rickettsií s *B. burgdorferi* v 9,1 % (99/1089) a s *A. phagocytophilum* v 2,8 % (11/391), koinfekce rickettsií, *B. burgdorferi* a *A. phagocytophilum* byla přítomna u 1,3 % (5/1089) klíšťat [146]. Studie ze Švýcarska zjistila infikovanost klíšťat *I. ricinus* aspoň jedním patogenem ve 34 %, infekce *B. burgdorferi* byla prokázána ve 22,5 %, rickettsiemi v 10,2 % a *A. phagocytophilum* v 1,5 % případů [201]. V Polsku provedli studii, kde zjišťovali infikovanost klíšťat v endemických oblastech a sérologicky vyšetřili lesní dělníky z dané oblasti a porovnali s kontrolní skupinou. Zjistilo se, že z celkového počtu 406 vyšetřených klíšťat byla zjištěna prevalence *B. burgdorferi* u 11,5 % klíšťat (v 55,3 % se jednalo o *B. burgdorferi* sensu stricto a v 38,3 % *B. afzelii*), ze 115 vyšetřených klíšťat byla zjištěna přítomnost DNA *A. phagocytophilum* u 6,1 % klíšťat. U 113 vyšetřených lesních dělníků byla zjištěna séroprevalence *B. burgdorferi* u 40,7 % a *A. phagocytophilum* u 17,7 % [202]. Další studie provedená v Polsku na ohrožené skupině osob prokázala jednoznačný průkaz koinfekcí, zachyceny byly koinfekce 2, 3 i 4 patogenů, z nichž nejčastější byly koinfekce *B. burgdorferi* a *Bartonella* spp. a *B. burgdorferi* a *A. phagocytophilum* [115]. Další studie u osob v endemických oblastech se záchytem koinfekcí ve 41 % případů tyto nálezy jen potvrzují [203].

Situace v ČR kopíruje stav v Evropě, studie ukazují na vysokou promořenost divokých i domácích zvířat patogeny *B. burgdorferi* a *A. phagocytophilum*. Studie zaměřená na krávy, koně a psy a přítomnost obou bakterií ukázala, že psi byli více infikováni *A. phagocytophilum* a méně *B. garinii* [70]. Promořenost klíšťat patogeny může v jednotlivých letech kolísat [137]. Klíště však může být infikováno také více než jedním druhem borrelií, potvrzené jsou dvou- i čtyřnásobné koinfekce. V ČR jsou klíšťata nejčastěji současně infikována *B. garinii* a *B. afzelii* [67]. Studie na klíšťatech *I. ricinus* provedená skupinou Hulínská a spol. v Praze prokázala měnící se promořenost klíšťat původcem lymeské borreliózy v jednotlivých letech. V roce 2007 bylo 9,7 % klíšťat pozitivních na přítomnost borrelií v zástinové mikroskopii a 13 % bylo prokázáno metodou PCR, zatímco v roce 2008 bylo zjištěno 14 % pozitivních v temném poli a 20 % pomocí PCR. Studie dále zjistila u 11,3–11,8 % klíšťat přítomnost bakterií *Anaplasma phagocytophilum*, *Bartonella* sp., *Rickettsia* sp., u 7,4 % samic *I. ricinus* byla zjištěna nákaza *Babesií*. Z 200 vyšetřených klíšťat, která byla sejmuta z pokožky lidí, bylo 7 % klíšťat infikováno, borrelie byly zjištěny v 6,5 %, anaplasmata v 1,5 % [204]. V jiné studii byly pozitivní antiborreliové protilátky prokázány u 42,4 %, ehrlichiové u 21,8 % pacientů s podezřením na LB [137], v další skupině pacientů s anamnézou přisátého klíštěte

se prokázala přítomnost specifických protilátek na přítomnost patogenu LGA u 28 % vyšetřených, z toho u 11 % byl nález *A. phagocytophilum* potvrzen metodou PCR [149]. Publikována byla i řada případů pacientů s probíhající aktivní infekcí LB a současně zjištěnou klinicky probíhající LGA nebo sérologicky potvrzenou infekcí [197, 205] [206].

Zdrojem informací pro zjištění rizika koinfekcí *B. burgdorferi* a *A. phagocytophilum* u lidí může být vyšetření těchto koinfekcí u zvířat [72, 207]. Některé další práce upozorňují na koinfekce a jejich vliv na etiopatogenezi některých z výše uvedených dermatóz [153, 206]. Pozornost je v současné době věnována zejména lidské granulocytární ehrlichioze, která byla prokázána u pacientů s projevy LB [205, 208].

Po přenosu infekce *B. burgdorferi* do kůže se v první linii imunitní odpovědi proti patogenu uplatňují leukocyty. Densní infiltráty leukocytů jsou prokázány již přímo v místě přisátí klíštěte a borrelie jsou leukocyty fagocytovány tzv. „coiling“ fagocytózou a eliminovány [209]. Na druhou stranu *A. phagocytophilum* je striktně intracelulární organismus, který napadá a množí se v granulocytech. Při probíhající borreliové infekci mohou na současnou koinfekci LGA upozornit příznaky, které nejsou pro LB typické a to zejména přítomnost horečky a dále laboratorní změny — trombocytopenie, leukopenie a elevace jaterních testů. Koinfekce obou patogenů může tedy ovlivňovat klinickou manifestaci onemocnění a dále vzhledem k širšímu spektru možné antibiotické léčby LB, též odpověď na léčbu v závislosti na zvoleném antibiotiku.

3 Cíle práce

1. Zhodnocení přítomnosti infekce *B. burgdorferi* a *A. phagocytophilum* v kožních projevech Lymeské boreliózy (erythema migrans, borreliový lymfocytom a acrodermatitis chronica atrophicans) a dalších dermatózách (sclerodermia circumscripta, granuloma annulare a lichen sclerosus et atrophicus) pomocí přímých a nepřímých laboratorních metod, detekce genodruhů borrelií a anaplasmat.
2. Zhodnocení infekce nebo koinfekce borrelií a anaplasmat u kožních projevů těchto dermatóz, posouzení možné etiopatogenetické role těchto organismů a doporučení správného diagnostického a léčebného postupu.

4 Soubor pacientů a metodika

Do studie bylo zařazeno celkem 95 pacientů s kožními projevy lymeské boreliózy a dalšími dermatózami. Studii dokončilo 88 pacientů (EM – 64, ACA – 10, BL – 1, LSA – 1, GA – 8 a SC – 4). Při zařazení pacienta do studie byla odebrána anamnestická a epidemiologická data, sepsány informované souhlasy, pořízena fotodokumentace a provedeny laboratorní odběry. Laboratorní odběry zahrnovaly odběr krve k sérologickým vyšetřením a metodám přímého průkazu patogenů izolací, mikroskopií a elektronovou mikroskopií. Byl proveden bioptický odběr z kožního projevu k histopatologické verifikaci (pokud nebyla provedena již dříve) a přímému průkazu borreliové a anaplasmové infekce kultivací a elektronovou mikroskopií. V případě EM byla zahájena antibiotická terapie ihned, u ostatních diagnóz až po potvrzení diagnózy laboratorními testy. Pacienti byli v průběhu antibiotické terapie pravidelně sledováni a v pravidelných intervalech se prováděla kontrolní krevní vyšetření. Harmonogram odběrů k jednotlivým vyšetřením je uveden v tabulce 11. Po ukončení studie jsou pacienti nadále dispenzarizováni na Dermatovenerologické klinice 2. LF UK a Nemocnice Na Bulovce.

Tab. 11 Harmonogram jednotlivých vyšetření

Vyšetření	Před léčbou	1 měsíc po léčbě	3 měsíce po léčbě
Klinické vyšetření	+	+	+
Laboratorní vyšetření krve: KO+ diff, AST, ALT, ALP, GMT, LD, CRP	+	-	-
Histologické vyšetření	+	-	-
Elektronová mikroskopie kůže <i>B. b.</i>	+	-	-
Elektronová mikroskopie krve <i>B. b.</i>	+	+	+
Specifické protilátky ELISA <i>B. b.</i>	+	+	+
Western blot <i>B. b.</i>	+	+	+
PCR krve <i>B. b.</i> , <i>A. p.</i>	+	+	+
PCR kůže <i>B. b.</i> , <i>A. p.</i>	+	-	-
Krevní nátěr <i>A. p.</i>	+	+	+
IFA <i>A. p.</i>	+	+	+
Kultivace kůže <i>B. b.</i> , <i>A. p.</i>	+	-	-

Vysvětlivka: *Borrelia burgdorferi* (*B. b.*), *Anaplasma phagocytophilum* (*A. p.*)

Laboratorní vyšetření krve bylo provedeno na Oddělení hematologie a biochemie Nemocnice Na Bulovce, ostatní vyšetření provedla Národní referenční laboratoř pro lymeskou borreliózu ve Státním zdravotním ústavu (NRL pro LB ve SZÚ).

Žilní krev pacientů byla odebírána do plastových odběrových zkumavek s citrátem nebo EDTA a do zkumavek bez antikoagulancia. Krev byla zpracována po odběru do 24 hod., nebo zamražena na -20 °C a uchována pro další zpracování. Jako zdroj leukocytů byla použita čerstvá nesrážlivá krev k získání původce z periferních buněk. Krevní nátěr byl proveden při vstupních odběrech.

Vzorky kůže byly odebrány z okraje ložisek, po dezinfekci Cutaseptem v lokální anestézii 2 ml 4% Supracainu, průbojníkem vel. 5 mm. Odebrány byly 2 vzorky kůže, které byly oba rozděleny na 2 části. Jedna část byla vložena do roztoku glutaraldehydu a určena pro elektronovou mikroskopii, druhá do fyziologického roztoku k izolaci DNA patogenu a jeho

průkazu pomocí metody PCR. Další vzorek byl rozdělen také na dva vzorky, jedna část byla odeslána v roztoku formaldehydu k histologickému vyšetření, druhá část byla vložena do transportního BSK média ke kultivaci.

Sérum pacientů ke stanovení titru specifických sérových protilátek třídy IgM a IgG proti *B. burgdorferi* bylo vyšetřeno metodou ELISA diagnostickými soupravami (Test-Line Ltd, CR), některá séra dále metodou ELISA C6 (Immunitics QuickELISA C6 Borrelia kit) za standardních podmínek dle návodu výrobce. Anti-C6 protilátkový titr v rozsahu 0,12–0,6 byl považován za slabě pozitivní, 0,61–1,2 za pozitivní a >1,2–2,4 za silně pozitivní.

K sérologickému vyšetření metodou Western blot byly použity komerční soupravy *B. garinii* Western blot IgG a IgM (Biowestern Ltd, CR) nebo soupravy připravené v laboratoři NRL pro LB ve SZÚ. Sonifikované spirochéty z izolovaných druhů byly inkubovány v pufru s 0,01 dithiotreitem a rozděleny na gradientové polyakrylamidové elektroforéze (SDS PAGE). Proteiny byly přeneseny z gelu na nitrocelulóзовou membránu pomocí Transblot Semi-dry transfer cells (Bio Rad, USA) a inkubovány se séry pacientů a s panelem monoklonálních protilátek (Mab), které byly získány od prof. Lufta, SUNY, USA. Séra ředěná 1 : 100 pro detekci specifických protilátek třídy IgG a 1 : 50 pro séra třídy IgM byla inkubována s proteiny známých antigenů navázaných na membráně. V případě přítomnosti specifických protilátek došlo k vazbě protilátky na protein o určité molekulové váze. Po promytí membrány a inkubaci s konjugátem značeným peroxidázou došlo k jeho vazbě na IgM nebo IgG. Specifické borreliové antigeny byly vizualizované po inkubaci se substrátem.

Přítomnost protilátek třídy IgM a IgG proti *A. phagocytophilum* byla vyšetřena metodou nepřímé imunofluorescence IFA (Focus Diagnostics, Cypress, California, USA). Ředěná séra pacientů se nakapala na antigen fixovaný na sklíčku. Po inkubaci a promytí se přidal konjugát značený fluoresceinem. Sérum pacientů se pro vyšetření protilátek třídy IgM ředilo 1 : 20, pro IgG 1 : 64. V případě pozitivního výsledku byly v zorném poli imunofluorescenčního mikroskopu viditelné typické fluoreskující buňky původce.

Sklíčka s nátěry leukocytárních frakcí byly po fixaci obarvené dle Wrighta a mikroskopovány při zvětšení 500x a 1000x k průkazu morul, typických útvarů *A. phagocytophilum* uložených v granulocytech.

Molekulární metody identifikace DNA extrahované pomocí DNA easy tissue kit (Qiagen, Hilden, Germany) nebo pomocí High Pure PCR template preparation kit (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) ze vzorků krve a kůže byly prováděny dle návodu výrobce. Amplifikace bakteriální DNA byla použita jako skriningový test, který amplifikoval

16S rRNA gen a dle druhu borrelií specifické OspA primery. Real time PCR (RT-PCR) s *recA* primery byl používán ke konfirmaci různých genodruhů borrelií. Kvantifikace patogenů byla určována pomocí Light Cycler a standardizovaný protokol pomocí Lightcycler FastStart DNA Master SYBR Green I kit (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany). Externí standard pro *B. burgdorferi* B31 – specifická *recA* /Bbs-*recA*) byla připravena následovně: Koncentrace *recA* (množství kopií na mikrolitr) byl stanoven z velikosti genomu 1,5 Mbp a z obsahu 1 kopie *recA* na genom. Templátová DNA obsahuje 10^2 až 10^5 kopií *recA* borrelií, které jsou obsaženy v každé qPCR.

Vzorky *Anaplasma* sp. byly vyšetřeny RT-PCR pomocí primerů Ehr 521–790 a G3–G4. U některých PCR pozitivních vzorků byla provedena přímá sekvence genu pro OspA a sekvence ampliconů po amplifikaci s primery G3–G4 pomocí dideoxy terminačních sekvencí pomocí sekvestoru CEQ 2000XL.

Pro kultivaci borrelií z kůže byl vzorek kůže přenesen z transportního do kompletního BSK-H média (Sigma Aldrich, St. Luis, Missouri, USA) s 10% koňským nebo králičím sérem, 20% albuminem hovězího séra, 1,5% želatinou a několika kousky tkáňové kultury HL-60. Vzorky byly inkubovány při teplotě 33 °C po dobu 14 dní.

Pro kultivaci borrelií a anaplasmat z krve byla krev nejdříve centrifugována (1,500 x g) po dobu 8 minut a získaná frakce leukocytů byla promyta sterilním fosfátovým pufrém. Část frakce byla resuspendována do BSK-H média pro kultivaci borrelií. Další část byla resuspendována do 4 ml RPMI 1640 média (Sigma), obohaceného 20% fetálním hovězím sérem, pyruvátem a 2 mM glutaminu. Resuspendované vzorky z frakce leukocytů v RPMI médiu byly použity k infikování tkáňové linie HL-60 buněk ECACC linie leukemických buněk (European Collection of Cell Cultures, CAMR, Salisbury, Wiltshire, UK), byly kultivovány v RPMI médiu při 37 °C v 5% oxidu uhličitém. Po 4 dnech byla provedena pasáž kultivovaných vzorků. Byla provedena kvantifikace, inkubace a PCR konfirmace DNA *A. phagocytophilum*.

Kontrolní kmen *A. phagocytophilum* (HGA, 148G4) v HLA 60 buňkách byl kultivován ze zmrazené kultury uchovávané v tekutém dusíku. Kontrolní kmene *B. burgdorferi* sensu stricto B31 a *B. garinii* M192 byly udržovány ve zmrazené formě při -80 °C.

Krev a kůže byly vyšetřeny v elektronové mikroskopii technikou negativního barvení a imunoabsorpční elektronovou mikroskopií. Vzorky tkáně byly fixovány ve 4% paraformaldehydu s 1,5% glutaraldehydem v ústojném 0,1 M kakodylátovém roztoku po dobu 5 hodin při pokojové teplotě, následně 3x oprána v kakodylátovém ústojném roztoku a poté fixována v 1% kyselině osmičelé. Fixovaná tkáň byla dehydratována ve stoupající

alkoholové řadě v intervalu 3×5 minut od 60% do absolutního alkoholu a poté prosyceny ve směsi alkoholu – Epon 812 v poměru 3 : 1, 1 : 1, 1 : 3. V čisté pryskyřici Epon 812 byla tkáň polymerizována při teplotě 60–76 °C po dobu 4 dní. Ultramikrotomem LKB 812 byly krájeny polosilné a ultratenké řezy, které byly barveny uranylacetátem a citrátem olova. Preparáty byly prohlíženy ve světelném mikroskopu (Leitz) a v elektronovém mikroskopu (Jeol 200CX).

Četnost charakteristických klinických znaků a laboratorních výsledků u pacientů zařazených do studie byla vyhodnocena pomocí popisné statistické metody. Data uvádíme v absolutní a relativní (tj. %) četnosti.

5. Výsledky studie

Do studie bylo zařazeno celkem 95 pacientů. Pacienti s projevy ECM byli zařazeni na základě klinického obrazu, pacienti s ostatními projevy byli zařazeni na základě histologického potvrzení diagnózy. Z celkového počtu 95 pacientů bylo na konci studie 7 pacientů vyřazeno. Tito pacienti studii nedokončili, nebo se nepodařilo získat všechna potřebná data. Hodnocení bylo provedeno u 88 pacientů. V tabulce 12 je uvedeno složení pacientů podle diagnóz a pohlaví. Největší skupina zahrnovala nemocné s EM. Ženy převažovaly, tvořily 69 % souboru, muži 30 %, děti 1 %.

Tab. 12 Soubor pacientů

Klinické projevy	Ženy	Muži	Celkem
Erythema chronicum migrant	44	20	64
Acrodermatitis chronica atrophicans	5	5	10
Lymphocytopoma borreliensis	1	0	1
Granuloma annulare	7	1	8
Lichen sclerosus et atrophicus	1	0	1
Sclerodermia circumscripta	3	1	4
Celkem	61	27	88

Věkové rozložení souboru pacientů bylo široké, nejmladšímu pacientovi bylo 9 let, nejstaršímu 87 let. Většina pacientů byla ve věkové hranici mezi 30 až 75 lety, nejčetnější byla skupina pacientů ve věku mezi 46 a 60 lety.

Tab. 13 Věkové rozložení souboru

Věk (roky)	Ženy	Muži	Celkem
5–15	1	0	1
16–30	7	4	11
31–45	14	4	18
46–60	19	9	28
61–75	16	8	24
75 a více	4	2	6
Celkem	61	27	88

Anamnesticky udalo kontakt s klíštětem 76 % pacientů, 22 % pacientů udalo, že nikdy klíště nemělo. Jeden pacient udal kontakt se stovkami klíšťat za život.

Tab. 14 Kontakt s klíšťaty

Počet klíšťat za rok	Ženy	Muži	Celkem
Žádné	16	3	19
Několik za život	3	1	4
1–3 ročně	16	9	25
4–8 ročně	23	10	33
8–15 ročně	3	1	4
Desítky ročně	0	1	1
Neví	1	0	1
Chybí	0	2	2

Doba trvání jednotlivých kožních projevů byla velmi rozdílná. Z tabulky 15 vyplývá, že v případě SC, GA a LSA se jednalo o chronické dermatózy, které trvaly měsíce až léta.

Tab. 15 Doba trvání kožních projevů

Trvání projevu	EM	ACA	BL	GA	SC	LSA
1 den	3	-	-	-	-	-
Do 1 týdne	14	-	-	-	-	-
1–2 týdny	11	-	-	-	-	-
2–3 týdny	7	-	-	-	-	-
3–4 týdny	5	-	-	-	-	-
4–6 týdnů	8	-	-	-	-	-
6–8 týdnů	6	-	-	1	-	-
2–3 měsíce	3	-	-	-	-	-
3–6 měsíců	4	-	-	-	-	-
6–9 měsíců	1	1	-	-	-	-
9–12 měsíců	0	1	-	2	1	-
1–2 roky	0	1	1	3	1	1
2–3 roky	-	-	-	-	1	-
3–5 roky	-	4	-	1	1	-
6–10 let	-	3	-	-	-	-
19 let	-	-	-	1	-	-
Neví	1	-	-	-	-	-

Hodnocení celkových příznaků mělo význam především u pacientů s EM, u ostatních pacientů se na udávaných symptomech podílely chronické obtíže nemocných a současně probíhající další onemocnění. Vzhledem k věkovému složení souboru, se jednalo v mnoha případech o pacienty polymorbidní.

Tab. 16 Celkové příznaky

Příznaky	EM	ACA	BL	GA	SC	LSA
Únava	19	1	-	1	2	-
Cefalea	16	2	-	1	1	-
Artralgie	11	1	-	1	1	-
Myalgie	5	-	-	1	1	-
Febrilie	6	1	-	-	-	-
Vertigo	-	1	-	-	-	-
Lymfadenopatie	3	-	-	-	-	-
GIT obtíže	2	-	-	-	-	-
Mravenčení	-	3	-	-	-	-
Křeče v lýtkách	-	2	-	-	-	-
Žádné obtíže	33	4	0	7	2	1

Jednotlivé dermatózy se lišily také v počtu projevů. Zatímco EM byl v 92 % případech projevem solitárním, v případě SC a GA převažovaly projevy mnohočetné.

Tab. 17 Počet kožních projevů

Počet projevů	EM	ACA	BL	GA	SC	LSA
1	59	6	1	2	1	-
2–3	4	3	-	-	-	-
4–6	1	1	-	2	3	-
Mnohočetné	0	-	-	4	-	1

Terapie

Pacienti byli léčeni a sledováni ambulantně nebo za hospitalizace. Za hospitalizace byly léčeny gravidní pacientky s EM v I. trimestru gravidity, dále pacienti vyžadující intravenózní podávání antibiotik a pacienti s komplikovaným průběhem.

U pacientů léčených ambulantně byl lékem volby perorální doxycyklin v denní dávce 200 mg rozdělené do dvou dávek a perorální amoxicilin v denní dávce 3 g rozdělené do třech dávek, délka podávání byla 2–3 týdny. V případě alergie, či nesnášenlivosti doxycyklinu a amoxicilinu byl podáván perorální azitromycin 500 mg denně v jedné denní dávce po dobu 14 dní. Gravidní pacientky s EM v I. trimestru byli léčeny intravenózně podávaným benzylpenicilinem v denní dávce 20 mil. j. rozdělené do 4 dávek po dobu 2 týdnů a perorálně podávaným amoxicilinem v denní dávce 3 g rozdělené do 3 dávek po dobu dalších 2 týdnů. Tato kombinace byla dále volena u pacientů s průkazem borreliové infekce (genomu *B. burgdorferi*) v krvi.

U jednoho pacienta s GA byl kombinován doxycyklin s ciprofloxacinem pro současně probíhající flebitidu. U dítěte bylo dávkování antibiotik upraveno dle hmotnosti. Efekt terapie byl hodnocen na základě ústupu kožních projevů a celkových obtíží.

Tab. 18 Antibiotická léčba

Antibiotikum	ECM	ACA	BL	GA	SC	LSA
doxycyklin p. o.	33	5	-	2	-	-
amoxicilin p. o.	19	-	1	-	-	-
amoxicilin p. o., doxycyklin p. o.	5	-	-	-	-	-
azitromycin p. o.	2	-	-	-	1	-
benzylpenicilin i. v., amoxicilin p. o.	4	2	-	2	1	
procain-PNC i. m.	-	1	-	-	1	1
benzylpenicilin i. v., ciprofloxacin i. v., p. o.	-	-	-	1	-	-
doxycyklin tbl, amoxicilin p. o., azitromycin p. o.	-	1	-	-	-	-

Antibiotikum	ECM	ACA	BL	GA	SC	LSA
doxycyklin p. o., ceftriaxon i. v., azitromycin p. o.	1	-	-	-	-	-

Délka antibiotické terapie byla ve většině případů 2–3 týdny. U pacientů s EM a přetrvávajícími obtížemi byla léčba prodloužena při přetrvávání klinických obtíží, při trvání erytému a dále dle laboratorních výsledků. Při průkazu anaplasmové infekce u pacientů léčených amoxicilinem byla provedena záměna za doxycyklin a doba léčení prodloužena o další 2 týdny. Nemocní s ACA byli léčeni 2–4 týdny.

Tab. 19 Délka antibiotické léčby

Doba léčby	EM	ACA	BL	GA	SC	LSA
9–14 dní	11	1	-	-	1	-
18–21 dní	38	1	1	3	1	1
25–30 dní	9	7	-	1	1	-
35–38 dní	4	-	-	1	-	-
44 dní	1	-	-	-	-	-
56 dní	1	-	-	-	-	-
Neléčeno	0	1	-	3	1	-

Efekt terapie byl velmi dobrý, u 71 (81 %) pacientů kožní projevy zcela vymizely, u 8 pacientů (9 %) došlo k částečné regresi projevů, u 2 pacientů nebyl pozorován žádný terapeutický efekt. Dva pacienti se nedostavili ke kontrolnímu vyšetření po léčbě a u 5 pacientů s diagnózami ACA, GA a SC nebyla infekce prokázána, proto pacienti nebyli léčeni antibiotiky.

Tab. 20 Úspěšnost terapie

Regrese kožních projevů	EM	ACA	BL	GA	SC	LSA
Do 1 týdne	12	-	-	-	-	-
Do 2 týdnů	26	-	-	-	-	-
Do 3 týdnů	13	-	-	-	-	-
Do 4 týdnů	5	2	-	1	-	-
Do 5–6 týdnů	4	-	-	-	-	-
Do 8 týdnů	2	2	-	-	-	-
Do 3 měsíců	1	1	-	1	-	-
Do 4 měsíců	-	-	-	1	-	-
Celkem zhojeno	63	5	0	3	0	0
Částečná regrese projevů	-	2	1	2	2	1
Bez efektu	-	1	-	-	1	-
Pacient dále nechodil	1	1	-	-	-	-
Pacient neléčen		1	-	3	1	-

Z celkového počtu 84 pacientů, kteří byli léčeni, pozorovalo 19 (23 %) pacientů při terapii komplikace. Dominovaly gastrointestinální obtíže u 8 (9 %) pacientů, méně časté byly lékové exantémy, flebitida po intravenózní terapii a vertigo. Jedna gravidní pacientka potratila, souvislost s borreliovou infekcí se nepodařilo prokázat.

Tab. 21 Komplikace při antibiotické terapii

Komplikace	EM	ACA	BL	GA	SC	LSA	Celkem
GIT obtíže	5	1	-	2	-	-	8
Exantém	3	-	-	-	-	-	3
Fototoxický exantém	1	-	-	-	-	-	1
Flebitida	2	-	-	1	-	-	3
Vertigo	1	1	-	-	-	-	1

Komplikace	EM	ACA	BL	GA	SC	LSA	Celkem
Abortus imminens	1	-	-	-	-	-	-
Makroskopická hematurie	1	-	-	-	-	-	1
Celkem obtíže	14	2	0	3	0	0	19

Z celkového počtu 84 léčených pacientů udávalo 30 (36 %) pacientů obtíže po ukončení terapie. V 15 (17 %) případech si nemocní stěžovali na přetrvávající únavu, v 6 (7 %) případech na bolesti kloubů a ve 3 (4 %) případech na bolesti hlavy. Výskyt ostatních projevů byl izolovaný.

Tab. 22 Klinický stav po ukončení antibiotické terapie

Celkové příznaky	EM	ACA	BL	GA	SC	LSA	Celkem
Bez obtíží	42	8	1	-	3	1	54
Únava	12	2	-	1	-	-	15
Artralgie	6	-	-	-	-	-	6
Cefalea	3	-	-	-	-	-	3
Zmírnění chronických artralgií	-	1	-	-	-	-	1
Parestézie DKK	-	1	-	-	-	-	1
Interní komplikace	-	-	-	1	-	-	1
Zvýšená teplota, malátnost, bolest svalů	1	-	-	-	-	-	1
Vertigo	2	-	-	-	-	-	2
Chybí	2	-	-	-	-	-	2

Laboratorní výsledky

Nejčastější odchylkou v krevním biochemismu byla elevace jaterních testů, laktátdehydrogenázy a anémie. Celkem bylo zjištěno 56 odchylek od normy, viz tabulka 53.

Tab. 23 Laboratorní změny

Laboratorní nálezy	EM	ACA	BL	GA	SC	LSA	Celkem
Anémie	8	1	-	2	1	-	12
Leukopenie	-	-	-	1	-	-	1
Trombocytopenie	1	1	-	-	-	-	2
Elevace jaterních testů	15	2	-	2	1	-	20
Elevace laktátdehydrogenázy	10	1	-	2	-	-	13
Elevace C – reaktivního proteinu	8	-	-	-	-	-	8
Celkem	42	5	0	7	2	0	56
Chybí	4	-	-	1	-	-	5

VÝSLEDKY U JEDNOTLIVÝCH DERMATÓZ**1) Erythema migrans**

Do souboru bylo zařazeno celkem 64 pacientů s projevy EM, 20 mužů a 44 žen, z nichž 11 bylo gravidních. Celkem 33 pacientů uvedlo odstranění klíštěte v posledních 6 měsících, 20 pacientů dávalo vznik EM do souvislosti s poštípáním hmyzu. Celkem 7 pacientů udalo kontakt s klíštětem a zároveň poštípání hmyzem.

Tab. 24 Epidemiologická anamnéza pacientů s EM

Epidemiologická data	Ženy	Muži	Celkem
Klíště v posledních 6 měsících	22	11	33
Poštípání hmyzem	12	8	20
Přisátí klíštěte a poštípání hmyzem	4	3	7
Negativní epidemiologická anamnéza	10	1	11

Přisátí klíštěte a vznik erytémového ložiska ve stejném místě bylo zjištěno celkem ve 26 (41%) případech. Solitárních EM bylo celkem 66 (97 %) a 2 (3 %) erytémy byly mnohočetné. Erytémy byly přítomny na různých lokalitách těla a někteří pacienti udali přisátí více klíšťat. Nejčastěji se erytém nacházel na dolních končetinách, a to ve 46 (70 %)

případech. Druhou nejčastější lokalitou byl trup, ve 13 (20 %) případech, na horních končetinách se erytém nacházel v 5 (7 %) případech, na obličeji se vyskytl u 2 (3 %) pacientů.

Tab. 25 Vztah místa přisátí klíštěte a lokalizace EM

	Přisátí klíštěte	Lokalizace EM	Klíště a EM na stejném místě
Obličej	1	2	1
Horní končetiny	3	5	2
Trup	9	13	6
Dolní končetiny	22	46	17
Celkem	35	66	26

Nejčastější velikost erytému se pohybovala od 10 do 30 cm, průměrná velikost erytému u všech 64 pacientů byla 18 cm.

Tab. 26 Velikost EM

Velikost EM (cm)	Počet pacientů
Do 9	10
10–19	28
20–29	14
30–39	8
40–49	1
Nad 50	3

Nejčastěji se vyskytoval anulární erytém, tvořil 55 % všech erytémů, homogenní EM se vyskytl ve 30 %, iris forma v 11 % a jiný typ erytému se nacházel ve 4 % případů.

Obr. 13 Erythema migrans u pacienta ze studie



Tab. 27 Klinické typy erythema migrans

Typ erytému	Počet
EM annulare (anulární)	35
EM maculare (homogenní)	19
EM concentricum (iris forma)	7
EM jiného typu	3

Histopatologický obraz erythema chronicum migrans je nespecifický a odpovídá obrazu superficiální či hluboké perivaskulární dermatitis s perivaskulárními infiltráty lymfocytů a možné příměsí plasmocytů. Do diferenciální diagnostiky histopatologického nálezu EM patří též erythema annulare centrifugum vzhledem k podobnému nespecifickému histopatologickému obrazu, stejně tak purpura pigmentosa, která má také nespecifický obraz, avšak obsahuje více extravazátů erytrocytů v dermis. Normální nález v kožní biopsii může být způsoben odběrem kůže ze zdravé tkáně při okraji erytému po aplikaci anestézie. Při lokální anestezii dochází k vasokonstrikci a výbledu erytému, který může být následně klinicky nenápadný a splynout se zdravou kůží. Histologická diagnóza odpovídala erythema annulare centrifugum v 1 případě, purpura pigmentosa také v 1 případě, normální nález byl hodnocen v 5 případech a v jednom případě bylo vzhledem k záchytu lymfocytárního infiltrátu s příměsí histiocytů v celém korigu vysloveno podezření na lymfoproliferativní onemocnění.

Tab. 28 Histopatologické nálezy erythema migrans

Histopatologický závěr	Počet
Erythema migrans	54
Erythema annulare centrifugum	1
Purpura pigmentosa	1
Lymfoproliferativní onemocnění	1
Normální nález	5
Histologie neprovedena	2

Celkem 31 (48 %) pacientů s EM udávalo celkové obtíže. Nejčastějším symptomem byla únava, cefalea a artralgie. Chronické obtíže (např. chronické artralgie) nebyly považovány za celkové příznaky související s lymeskou borreliózou.

Tab. 29 Celkové příznaky u pacientů s erythema migrans

Příznak	EM
Únava	19
Cefalea	16
Artralgie	11
Myalgie	5
Febrilie	6
Vertigo	-
Lymfadenopatie	3
GIT obtíže	2
Parestezie	-
Křeče v lýtkách	-
Žádné obtíže	33

V krevním obraze byla v 8 (12,5 %) případech přítomná anémie. Nejnižší hodnota erytrocytů byla 2,92 mil./cm³, hodnota hemoglobinu 92 g/l. Elevace jaterních testů byla

zachycena u 15 (23 %) pacientů. Nejčastěji se jednalo o izolovanou či kombinovanou mírnou odchylku elevace jaterních testů. Laboratorní odchylky byly tranzitorní nebo byly příznakem jiných chorob.

Tab. 30 Laboratorní nálezy u erythema migrans

Laboratorní nálezy	EM
Anémie	8
Leukopenie	-
Trombocytopenie	1
Elevace jaterních testů	15
Elevace laktátdehydrogenázy	10
Elevace C – reaktivního proteinu	8
Neprovedeny	4

Tab. 31 Laboratorní hodnoty u erythema migrans

Název vyšetření	Maximální zjištěná hodnota	Referenční meze
Erytrocyty	2,92	Muži od 4,5–6,3 x 10 ¹² /l Ženy od 4,2–5,4 x 10 ¹² /l
AST	1,8	< 0,5 µk/l
ALT	0,92	< 0,55 µk/l
ALP	4,3	< 2 µk/l
GMT	1,9	< 0,6 µk/l
LDH	11,8	< 4,12 µk/l l
CRP	29	< 8 µk/l

Zvýšené hladiny antiborreliových protilátek byly před léčbou detekovány ELISA vyšetřením u 25 (39 %) pacientů, u 2 (3 %) pacientů byla přítomná současná pozitivita

protilátek IgM a IgG. Metodou Western blot byla pozitivita protilátek konfirmována u 50 % pacientů. Současná pozitivita protilátek třídy IgM a IgG byla zachycena u 10 (16 %) pacientů.

Pozitivní sérologická odpověď na anaplasmovou infekci byla prokázána před léčbou u 7 (11 %) pacientů metodou IFA ve třídách IgM a IgG, současná pozitivita protilátek v obou třídách nebyla zachycena. Jeden měsíc po léčbě bylo zastoupení pozitivních nálezů stejné, 3 měsíce po léčbě byly sérologické nálezy pozitivní u 5 (8 %) pacientů.

Tab. 32 Vývoj výsledků sérologických vyšetření u pacientů s erythema migrans

Vyšetření	Před léčbou			1 měsíc po léčbě			3 měsíce po léčbě		
	Poz.	Hran.	Neg.	Poz.	Hran.	Neg.	Poz.	Hran.	Neg.
ELISA IgM	3	1	60	3	3	47	2	1	42
ELISA IgG	24	7	33	21	9	23	15	7	23
ELISA C6	23	10	5	-	-	-	-	-	-
WB IgM	18	15	30	11	12	28	4	12	27
WB IgG	19	20	24	13	19	19	8	15	20
IFA IgM	2	-	61	5	-	37	2	-	38
IFA IgG	5	-	58	2	-	38	3	-	37

Přímý průkaz borrelií metodou PCR před léčbou byl potvrzen celkem u 23 (36 %) pacientů s EM, z toho u 5 (8 %) pacientů byly borrelie potvrzeny v krvi i kůži. Jeden měsíc po léčbě byl u 5 pacientů zjištěn pozitivní průkaz borrelií v krvi metodou PCR, pouze v jednom případě se jednalo o přetrvávání positivity před léčbou. U 6 (9 %) pacientů byla infekce prokázána až 3 měsíce po antibiotické léčbě.

Elektronovou mikroskopií byla borreliová infekce zjištěna u 34 (53 %) pacientů s EM. V kůži se borrelie nacházely v epidermis v blízkosti bazální membrány nebo v horní části dermis mezi kolagenními vlákny. V 10 (16 %) případech byly borrelie současně prokázány v krvi a tkáni metodou PCR. U 2 (3 %) pacientů byly elektronmikroskopicky 3 měsíce po léčbě nalezeny spirochety v krvi. U obou pacientů byl současně metodou PCR v krvi prokázán genom *B. burgdorferi*. V obou případech se jednalo o reaktivaci infekce *B. burgdorferi*. A obě pacientky byly přeléčeny II. kúrou antibiotik (benzylpenicilinem

20 ml. j. i. v. po dobu 14 dní s následným doléčením amoxicilinem 3 g denně p.o. po dobu dalších 14 dní a azitromycinem 1 x 500 mg p.o. po dobu 15 dní.

Obr. 14 *Borrelia burgdorferi* v kolagenním vazivu

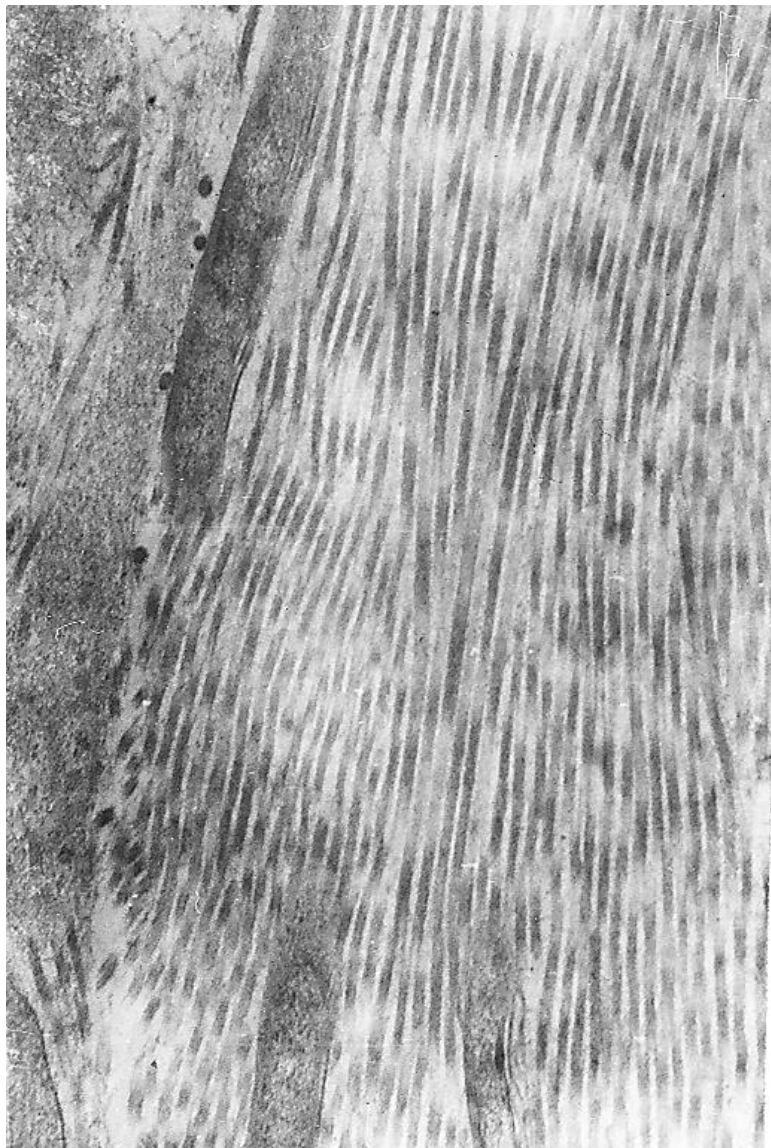


Foto: D. Hulínská

Tab. 33 Výsledky přímých metod u pacientů s erythema migrans

Vyšetření	Před léčbou			1 měsíc po léčbě			3 měsíce po léčbě		
	Poz.	Susp.	Neg.	Poz.	Susp.	Neg.	Poz.	Susp.	Neg.
PCR <i>B. b.</i> krev	7	1	55	5	2	39	6	-	35
PCR <i>B. b.</i> kůže	21	3	38	-	-	-	-	-	-
PCR <i>A. p.</i> krev	2	1	55	3	-	36	1	-	35
PCR <i>A. p.</i> kůže	2	-	45	-	-	-	-	-	-
ELM <i>B.b.</i> krev	15	8	40	0	4	38	2	0	34
ELM <i>B.b.</i> kůže	30	9	13	-	-	-	-	-	-
ELM <i>A.p.</i> kůže	1	-	-	-	-	-	-	-	-
Krevní nátěr	3	-	-	-	-	-	-	-	-
Kultivace kůže (anaplasmata)	2	-	-	-	-	-	-	-	-
Kultivace kůže (borrelie)	9	-	-	-	-	-	-	-	-

Kultivace borrelií byla úspěšná u 9 (14 %) pacientů s EM. Metodou PCR byly rozlišeny jednotlivé genodruhy *B. burgdorferi*.

Obr. 15 *Borrelia burgdorferi* v dermis

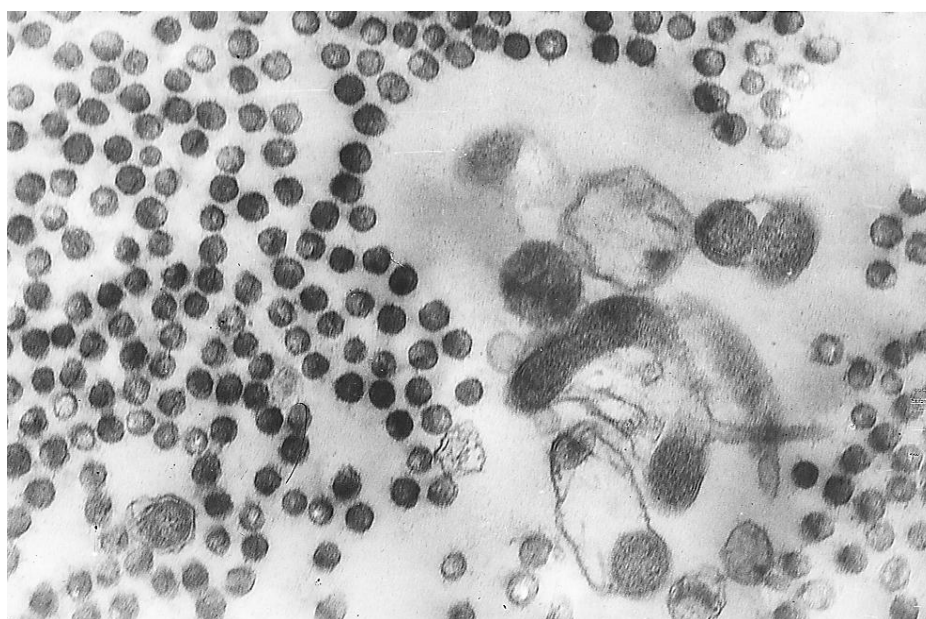


Foto: D. Hulínská

Tab. 34 Genodruhy *B. burgdorferi* z kultivací kůže

Genodruh <i>Borrelia burgdorferi</i>	Počet kultivací
<i>Borrelia afzelii</i>	2
<i>Borrelia garinii</i>	2
<i>Borrelia burgdorferi</i> sensu stricto	4
<i>Borrelia garinii</i> a <i>Borrelia valaisiana</i>	1
Celkem	9

Obr. 16 Identifikace genodruhů *Borrelia burgdorferi* pomocí Real-time PCR

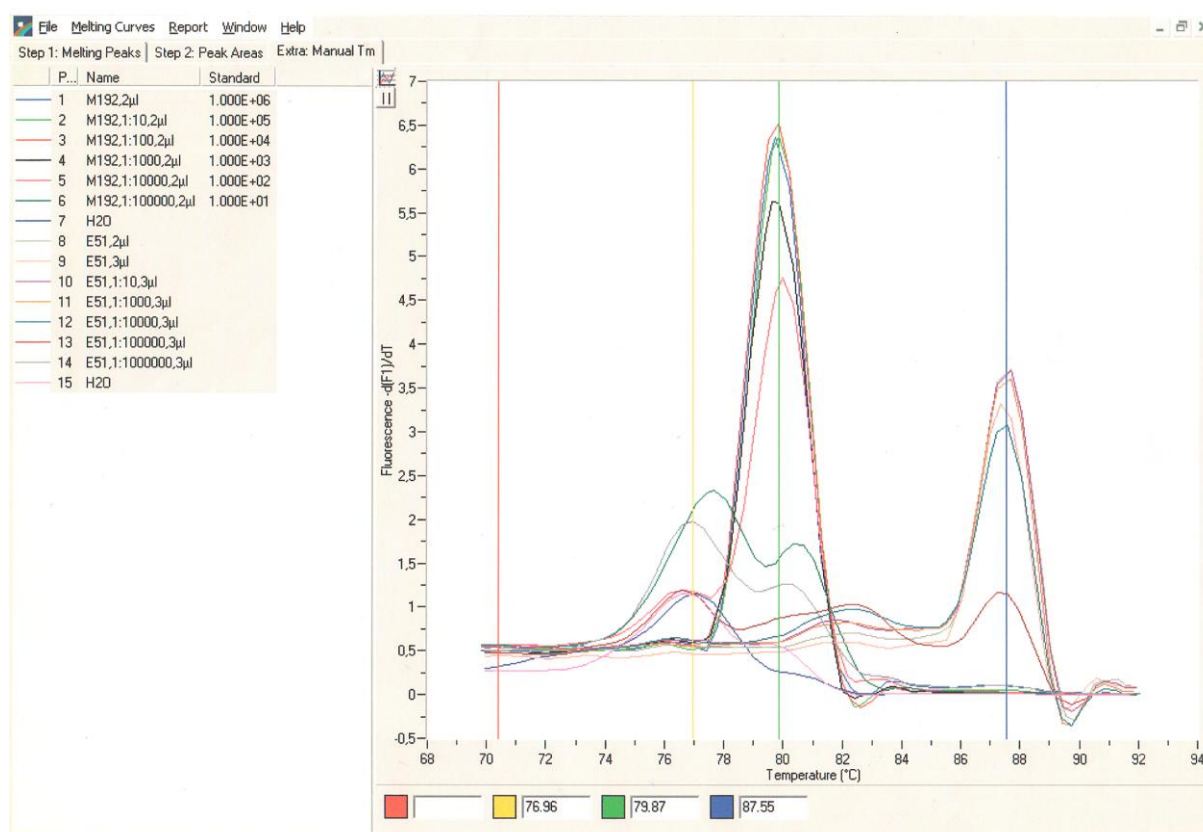


Foto: D. Hulínská

Před léčbou byla borreliová infekce současně prokázána ve dvou přímých metodách u 13 (20 %) pacientů, ve třech u 4 (6 %) pacientů, ve čtyřech u 5 (8 %) pacientů. Metodou PCR krve a tkáně, ELM krve a tkáně a současně kultivací se infekce prokázala u 2 (3 %) pacientů.

Obr. 17 *Borrelia burgdorferi* ve vakuole histiocytomu

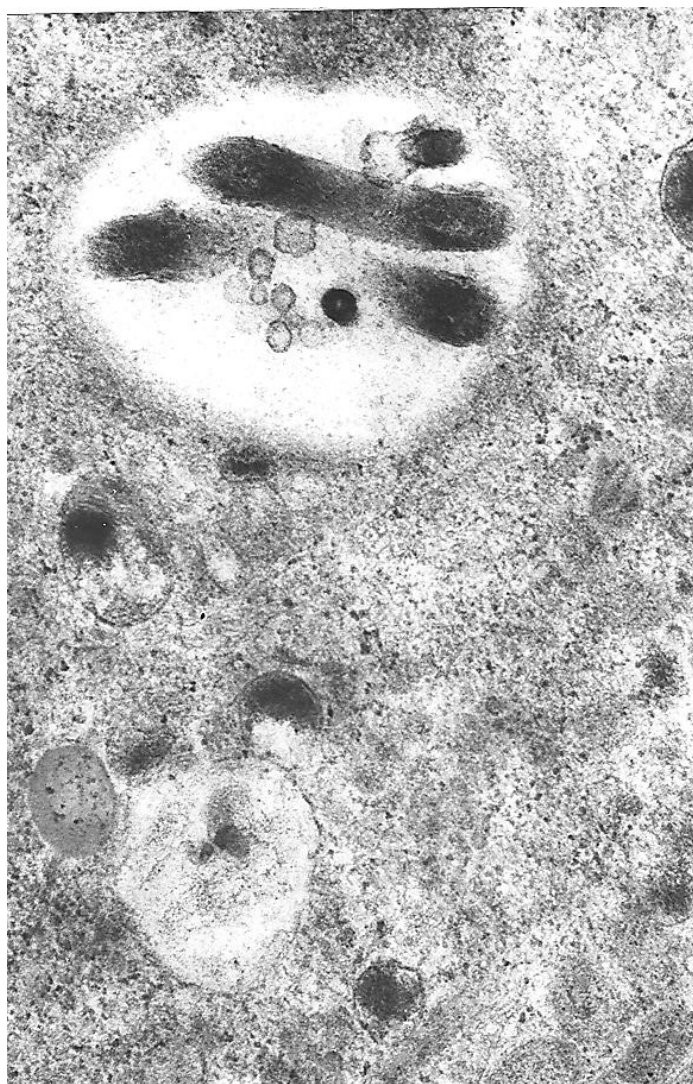


Foto: D. Hulínská

Anaplasmová infekce byla před léčbou prokázána přímými metodami u 9 (14 %) pacientů, z toho u 3 (5 %) pacientů současně ve 2 metodách. V následující tabulce jsou shrnuté celkové nálezy průkazu anaplasmové infekce u pacientů s EM během studie.

Obr. 18 Morula – intraleukocytární mikrokolonie *Anaplasma phagocytophilum*

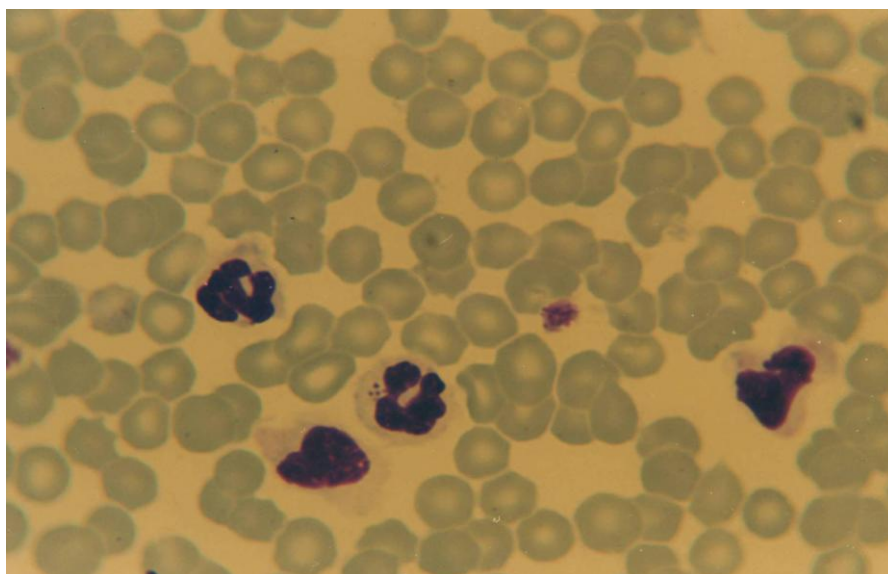


Foto: D. Hulínská

Tab. 35 Průkaz anaplasmat u pacientů s EM při prvním vyšetření

Pozitivní průkaz anaplasmat (HGA)	Počet pacientů
IFA IgM či IgG izolovaně	6
PCR krev	2
PCR kůže	1
Krevní nátěr	1
Krevní nátěr + IFA IgM	1
Krevní nátěr + PCR krev	1
PCR krev + ELM kůže	1
PCR kůže + ELM kůže + PCR krve	1
PCR krev + IFA IgM	1

Patnáct pacientů s prokázanou anaplasmovou infekcí bylo léčeno antibiotiky tetracyclinové i penicilinové řady. Pouze u 1 pacientky se jednalo o rozsáhlý erytém, v ostatních případech byly erytémy průměrné nebo menší. Všechny erytémy vymizely do 7 týdnů. Celkové příznaky nebyly výraznější než u ostatních pacientů s ECM, 9 pacientů bylo bez příznaků.

Tab. 36 Charakteristika pacientů s erythema migrans a průkazem anaplasmové i borreliové infekce

Číslo pacienta	Průkaz anaplasmat	Velikost EM (cm)	Celkové příznaky	Lab. Nález	Léčba	Vymizení erytému	Průkaz borrelií
1	IFA IgM	16 × 12	chřipkovité příznaky	0	amoxicilin doxycyklin	do 2 týdnů	ELM kůže
2	IFA IgG	10 × 10,5	0	0	doxycyklin	do 1 týdne	ELM krev.
3	IFA IgG	10 × 15	chřipkovité příznaky	0	doxycyklin	do 2 týdnů	ELISA, ELISA C6, PCR krve, PCR kůže
4	IFA IgG	20 × 20	chronická cefalea a artralgie	> LDH	doxycyklin	do 5 týdnů	ELISA, WB, PCR kůže, ELM kůže, kultivace
5	IFA IgG	5 × 10	0	0	doxycyklin	do 3 týdnů	ELM krev
6	IFA IgG	20 × 20	0	> AST, > LDH	doxycyklin amoxicilin	do 7 týdnů	WB, PCR kůže, ELM krev, ELM kůže
7	PCR krve	9 × 5	mírná cefalea, únava	mírná anémie, Nadhra- niční AST	amoxicilin	do 2 týdnů	ELISA, WB
8	PCR kůže	19 × 8	0	0	doxycyklin	do 1 týdne	ELISA, WB, PCR tkáň, ELM tkáň
9	PCR krve	10 × 10	Únava	> ALT	amoxicilin	do 2 týdnů	WB

10	Krevní nátěr	16 × 12	0	> AST, > ALT	amoxicilin	do 1 týdne	ELISA, WB, ELISA C6
11	Krevní nátěr, PCR krve	13 × 12	0	0	benzyl- penicilin, amoxicilin	do 1 týdne	ELISA C6, WB
12	Krevní nátěr, IFA v IgM.	18 × 4	0	0	amoxicilin	do 2 týdnů	WB, PCR kůže – <i>B. garinii</i>
13	PCR kůže, ELM kůže, PCR krve	50 × 20	0	Chybí	doxycyklin	do 2 týdnů	WB, ELISA C6
14	ELM kůže, PCR krve	10 × 10	0	> LDH > CRP	amoxicilin	do 2 týdnů	ELISA, PCR tkáň, ELM krve, ELM tkáň
15	PCR krev, IFA IgM	20 × 20	cefalea, artralgie, únava, febrilie	0	amoxicilin doxycyklin	do 5 týdnů	ELISA, ELISA C6, WB

2) Acrodermatitis chronica atrophicans

V této skupině celkem 10 pacientů s projevy ACA převažovali pacienti starší 60 let, průměrný věk byl 61 let. Klinické projevy odpovídaly v 6 případech atrofické ACA, ve 4 případech zánětlivé ACA. Histopatologicky byla ACA potvrzena ve všech případech, atrofie kůže byla přítomna jen u 3 pacientů. V jednom případě histologický nálezn odpovídal atrophia Passini et Pierini, výsledný stav ACA. Celkem 9 pacientů udalo kontakt s klíštětem v průběhu minulých let, 1 pacient negoval anamnézu přisátí klíštěte. Průměrná délka trvání projevů byla 47 měsíců, u 1 pacienta nebylo možno trvání projevu zjistit. Převážně se vyskytoval solitární projev ACA. Projevy se nacházely v 7 případech na dolních končetinách, ve 2 případech na dorsech rukou a v 1 případě na dorsech rukou i nohou. Charakteristickým příznakem byly

parestzie dolních končetin u 4 nemocných. Pro stanovení diagnózy ACA je nutné nejen histopatologické potvrzení diagnózy, ale též pozitivita antiborreliových protilátek ve třídě IgG. Ty byly ve všech 10 případech prokázány metodou ELISA, u 9 pacientů byla tato pozitivita potvrzena také imunoblotem. Přímými metodami byla *B. burgdorferi* prokázána metodou PCR 1× v krvi, 5× v kůži, sekvenací byl zjištěn genom *B. afzelii*. Elektronmikroskopickým vyšetřením byla prokázána *B. burgdorferi* 1× v krvi a 4× v kůži. Při vstupním vyšetření před léčbou byla borreliová infekce prokázána přímými metodami celkem u 7 pacientů. U 1 pacienta bylo PCR krve pozitivní až 1 měsíc po léčbě.

Pozitivní protilátky proti anaplasmatům byly zjištěny celkem u 3 pacientů, 2× ve třídě IgM, 1× ve třídě IgG a 1× byly anaplasmata prokázána přímou metodou v krvi. Tito pacienti však neměli klinické příznaky, které jsou charakteristické pro humánní granulocytární anaplasmózu. Laboratorními testy byla zjištěna u 1 pacienta izolovaná elevace ALT, u jiného anémie.

Koinfekce borrelií a anaplasmat byla laboratorně prokázána u 1 pacienta, klinický obraz odpovídal nekomplikované ACA bez celkových příznaků.

Po léčbě došlo u 5 pacientů ke zhojení, které je v případě zánětlivé ACA možné ad integrum, při atrofické formě zregreduje erytém, atrofie však přetrvává. U 2 pacientů došlo jen k částečnému vyblednutí projevů. Pacient s atrophia Passini et Pierini pozoroval jen mírné změknutí ložisek.

Obr. 19 Acrodermatitis chronica atrophicans u pacientky ze studie



Tab. 37 Klinické typy acrodermatitis chronica atrophicans

Typ ACA	Počet
ACA atrofická	6
ACA zánětlivá	4

Tab. 38 Vývoj výsledků sérologických vyšetření u pacientů s acrodermatitis chronica atrophicans

Vyšetření	Před léčbou			1 měsíc po léčbě			3 měsíce po léčbě		
	Pozit.	Hran.	Neg.	Pozit.	Hran.	Neg.	Pozit.	Hran.	Neg.
ELISA IgM	-	-	10	-	-	5	-	-	6
ELISA IgG	10	-	-	5	-	-	6	-	-
ELISA C6	9	-	-	-	-	-	-	-	-
WB IgM	-	5	5	-	-	5	1	-	5
WB IgG	9	1	-	2	1	2	2	2	2
IFA IgM	2	-	7	-	-	2	-	1	3
IFA IgG	1	-	8	-	-	2	-	-	4

Tab. 39 Výsledky přímých metod u pacientů s acrodermatitis chronica atrophicans

Vyšetření	Před léčbou			1 měsíc po léčbě			3 měsíce po léčbě		
	Pozit.	Hran.	Neg.	Pozit.	Hran.	Neg.	Pozit.	Hran.	Neg.
PCR <i>B. b.</i> krev	1	-	8	1	-	2	2	-	3
PCR <i>B. b.</i> kůže	5	-	3	-	-	-	-	-	-
PCR <i>A. p.</i> krev	-	-	7	-	-	-	-	-	-
PCR <i>A. p.</i> kůže	1	-	6	-	-	2	-	-	4
ELM <i>B. b.</i> krev	1	3	5		1	2	-	1	3
ELM <i>B. b.</i> kůže	4	2	4	-	-	-	-	-	-
ELM <i>A. p.</i> kůže	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Krevní nátěr	-	-	-	-	-	-	-	-	-

3) Borreliový lymfocytom

Pouze 1 pacient s borreliovým lymfocytomem v oblasti prsního dvorce a s negativní anamnézou přisátí klišťete byl zařazen do této skupiny. Sérologický průkaz protilátek proti borreliím byl potvrzen imunoblotem ve třídě IgG. Po léčbě perorálním amoxicilinem v redukované denní dávce 2 g vzhledem k polycystóze ledvin došlo k mírnému výbledu erytému a vymizení protilátek proti *B. burgdorferi* ve třídě IgG v imunoblotu. Vzhledem k průkazu *A. phagocytophilum* metodou PCR v krvi byla po ukončení léčby amoxicilinem v odstupu 2,5 měsíců podána II. kúra antibiotik – perorální doxycyclin v denní dávce 200 mg po dobu 20 dní. Regrese plaku na pravém prsním dvorci byla pozvolná. Protilátky proti anaplasmatům zůstaly i po léčbě negativní. O akutní anaplasmovou infekci se vzhledem k absenci klinických obtíží nejednalo.

Obr. 20 Lymphocytoma borreliensis u pacientky ze studie



Tab. 40 Vývoj výsledků sérologických vyšetření u pacienta s borreliovým lymfocytomem

Vyšetření	Před léčbou			1 měsíc po léčbě			3 měsíce po léčbě		
	Pozit.	Hran.	Neg.	Pozit.	Hran.	Neg.	Pozit.	Hran.	Neg.
ELISA IgM	-	-	1	-	-	1	-	-	1
ELISA IgG	-	-	1	-	-	1	-	-	1
ELISA C6	-	-	-	-	-	-	-	-	-
WB IgM	-	-	1	-	-	1	-	-	1
WB IgG	1	-	-	-	-	1	-	1	-
IFA IgM	-	-	1	-	-	1	-	-	1
IFA IgG	-	-	1	-	-	1	-	-	1

Tab. 41 Výsledky přímých metod u pacienta s borreliovým lymfocytomem

Vyšetření	Před léčbou			1 měsíc po léčbě			3 měsíce po léčbě		
	Pozit.	Hran.	Neg.	Pozit.	Hran.	Neg.	Pozit.	Hran.	Neg.
PCR <i>B. b.</i> krev	-	-	1	-	-	1	-	-	1
PCR <i>B. b.</i> kůže	-	-	1	-	-	-	-	-	-
PCR <i>A. p.</i> krev	-	-	1	1	-	-	-	-	1
PCR <i>A. p.</i> kůže	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ELM <i>B. b.</i> krev	-	-	1	-	-	1	-	-	1
ELM <i>B. b.</i> kůže	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ELM <i>A. p.</i> kůže	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Krevní nátěr	-	-	-	-	-	-	-	-	-

4) Granuloma annulare

Z 8 pacientů s histopatologicky prokázaným GA udávalo 6 pacientů kontakt s klíštětem. Pacienti byli v minulých letech léčeni antibiotiky z různých důvodů (infekce horních cest dýchacích, močových cest aj.). Při vstupním vyšetření byly u 3 pacientů zjištěny specifické antiborreliové protilátky třídy IgG metodou ELISA, které byly u 2 pacientů potvrzeny imunoblotem a u 2 nemocných ELISA C6 testem. U léčených pacientů tyto protilátky klesaly, po 3 měsících přetrvávala pozitivita protilátek IgG u 1 pacienta v metodě ELISA a u dalšího pacienta v imunoblotu. Genom *B. burgdorferi* byl zjištěn u 1 pacienta v kůži, u 1 pacienta v krvi, v 7 případech byl přímý průkaz borreliové infekce suspektní. Metodou PCR byla prokázána infekce *A. phagocytophilum* v kůži u pacienta se suspektním nálezem borreliové infekce metodou PCR a elektronovou mikroskopií. U tohoto pacienta došlo k pozitivní sérologické protilátkové odpovědi po 3 měsících po léčbě doxycyclinem a vymizení kožních projevů do 4 měsíců po léčbě.

Obr. 21 Granuloma annulare – patch forma u pacientky ze studie



Tab. 42 Vývoj výsledků sérologických vyšetření u pacientů s granuloma annulare

Vyšetření	Před léčbou			1 měsíc po léčbě			3 měsíce po léčbě		
	Pozit.	Hran.	Neg.	Pozit.	Hran.	Neg.	Pozit.	Hran.	Neg.
ELISA IgM	-	-	8	-	-	4	-	-	5
ELISA IgG	3	-	5	2	-	2	1	1	3
ELISA C6	2	1	-	-	-	-	-	-	-
WB IgM	-	1	7	1	-	3	1	1	3
WB IgG	2	1	5	-	-	-	1	2	2
IFA IgM	1	-	7	1	-	3	1	-	4
IFA IgG	-	1	7	-	-	5	1	-	4

Tab. 43 Výsledky přímých metod u pacientů s granuloma annulare

Vyšetření	Před léčbou			1 měsíc po léčbě			3 měsíce po léčbě		
	Pozit.	Hran.	Neg.	Pozit.	Hran.	Neg.	Pozit.	Hran.	Neg.
PCR <i>B. b.</i> krev	1	-	7	1	-	2	-	-	3
PCR <i>B. b.</i> kůže	1	2	5	-	-	-	-	-	-
PCR <i>A. p.</i> krev	-		7	-	-	4	-	-	4
PCR <i>A. p.</i> kůže	1	1	6	-	-	-	-	-	-
ELM <i>B. b.</i> krev	-	3	5	-	1	3	-	-	4
ELM <i>B. b.</i> kůže	-	2	6	-	-	-	-	-	-
ELM <i>A. p.</i> kůže	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Krevní nátěr	-	-	8	-	-	-	-	-	-

U pacienta se suspektním nálezem borreliových cyst v krvi v elektronové mikroskopii a pozitivními antiborreliovými protilátkami ve třídě IgG (zjištěné metodou ELISA i WB), se 1 měsíc po antibiotické léčbě objevily protilátky též třídy IgM, které byly prokázány metodou WB a borrelie byly dále prokázány v krvi metodou PCR. V dalších vyšetřeních byl patrný pokles antiborreliových protilátek. K vymizení erytémového pruhu ve tvaru podkovy v oblasti lopatky došlo do 1 měsíce po ukončení antibiotické terapie krystalickým penicilinem a ciprofloxacinem podávaným vzhledem ke komplikaci flebitidou.

U pacienta s pozitivní protilátkovou odpovědí proti anaplasmatům ve třídě IgM metodou IFA se současnou borreliovou infekcí prokázanou metodou PCR v kůži a přítomnými antiborreliovými protilátkami ve třídě IgG v ELISA testu a hraniční pozitivitou v imunoblotu došlo po léčbě doxycyclinem k vymizení kožních projevů do 3 měsíců po terapii.

U dalšího pacienta byl prokázán genom *B. burgdorferi* sensu lato v krvi, suspektní nález borrelií v kůži metodou PCR a dále suspektní nález v elektronové mikroskopii krve i kůže. Negativní výsledek sérologického vyšetření anaplasmových protilátek infekci

nepotvrdil. U tohoto pacienta došlo jen k částečnému výbledu lézí granuloma annulare po léčbě benzyloxyfenylpenicilinem a amoxicilinem.

Borreliová infekce byla prokázána celkem u 4 pacientů s projevy granuloma annulare, koinfekce s *A. phagocytophilum* byla přítomna u 2 pacientů. U 3 z těchto pacientů došlo k vymizení kožních projevů po léčbě od 1 do 4 měsíců. U posledního pacienta došlo k částečnému výbledu projevů.

5 Sclerodermia circumscripta

Do souboru byli zařazeni 4 pacienti s histologicky prokázanou circumscriptní sklerodermií. Infekce *B. burgdorferi* byla prokázána u 2 pacientů přímými metodami, u 1 pacienta nepřímou metodou se současnou pozitivitou anaplasmat v kůži pomocí PCR. Tento pacient však studii nedokončil, proto se k dalšímu vývoji nelze vyjádřit. U posledního pacienta nebyla borreliová infekce prokázána.

U dvou pacientů s prokázanou borreliovou infekcí došlo po antibiotické léčbě ke změknutí ložisek, u jednoho ke zhojení hyperpigmentacemi. V obou případech byla prokázána infekce *B. afzelii*, z toho u jedné gravidní pacientky v placentě 3 měsíce po antibiotické léčbě.

Obr. 22 Sclerodermie u pacientky ze studie



Tab. 44 Vývoj výsledků sérologických vyšetření u pacientů se sklerodermií

Vyšetření	Před léčbou			1 měsíc po léčbě			3 měsíce po léčbě		
	Pozit.	Hran.	Neg.	Pozit.	Hran.	Neg.	Pozit.	Hran.	Neg.
ELISA IgM	-	-	4	-	-	2	-	-	2
ELISA IgG	2	-	2	1	-	1	1	-	1
ELISA C6	2	-	-	-	-	-	-	-	-
WB IgM	-	1	3	-	-	2	-	-	2
WB IgG	-	-	4	-	2	-	-	2	-
IFA IgM	-	-	4	-	-	1	-	-	1
IFA IgG	-	-	4	-	-	1	-	-	1

Tab. 45 Výsledky přímých metod u pacientů se sklerodermií

Vyšetření	Před léčbou			1 měsíc po léčbě			3 měsíce po léčbě		
	Pozit.	Hran.	Neg.	Pozit.	Hran.	Neg.	Pozit.	Hran.	Neg.
PCR <i>B. b.</i> krev	-	-	4	-	-	1	-	-	1
PCR <i>B. b.</i> kůže	1	-	3	-	-	-	-	-	-
PCR <i>A. p.</i> krev	1	-	3	-	-	1	-	-	1
PCR <i>A. p.</i> kůže	-	-	3	-	-	-	-	-	-
ELM <i>B. b.</i> krev	1	1	2	-	-	1	-	-	-
ELM <i>B. b.</i> kůže	1	2	-	-	-	-	-	-	-
ELM <i>A. p.</i> kůže	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Krevní nátěr	-	-	-	-	-	-	-	-	-

6) Lichen sclerosus et atrophicus

Zařazena byla devítiletá dívka s projevy LSA na trupu i končetinách a s anamnézou přisátí l klíštěte v době, kdy již byly přítomné první projevy LSA. Při prvním vyšetření byla zjištěna pozitivita antiborreliových protilátek ve třídě IgG metodou ELISA i WB a dále slabá pozitivita protilátek IgM proti anaplasmatům metodou IFA. Tato pacientka byla léčena parenterálním procain-penicilinem G v denní dávce 1,5 mil. j. i. m. po dobu 21 dní. Po léčbě došlo k poklesu hladin protilátek třídy IgG v ELISA. Protilátky proti anaplasmatům 1 měsíc po léčbě vzrostly a 3 měsíce po léčbě již byly pouze hraniční. V průběhu dalších 6 měsíců došlo ke změknutí a částečné regresi mnohočetných sklerotických ložisek zejména na dolních končetinách, nová ložiska se neobjevila. Vzhledem k délce trvání projevů (2 roky), absenci celkových příznaků, normálním laboratorním výsledkům a negativitě IgG protilátek proti anaplasmatům je vliv anaplasmové infekce na kožní projevy sporný. Borreliovou infekci se nepodařilo prokázat přímými metodami, v sérologických testech došlo po léčbě k poklesu protilátkové odpovědi ve třídě IgG. Zda se podílela na etiopatogenezi borreliová infekce u tohoto děvčete (mj. s autoimunitní thyreoiditidou a pozitivitou ANA a anti ds-DNA protilátek), nelze s určitostí potvrdit.

Tab. 46 Vývoj výsledků sérologických vyšetření u pacientky s lichen sclerosus et atrophicus

Vyšetření	Před léčbou			1 měsíc po léčbě			3 měsíce po léčbě		
	Pozit.	Hran.	Neg.	Pozit.	Hran.	Neg.	Pozit.	Hran.	Neg.
ELISA IgM	-	-	1	-	-	1	-	-	1
ELISA IgG	1	-	-	1	-	-	1	-	-
ELISA C6	-	-	-	-	-	-	-	-	-
WB IgM	-	-	1	-	-	1	-	1	
WB IgG	1	-	-	1	-	-	-	1	--
IFA IgM	1	-	-	1	-	-	-	1	-
IFA IgG	-	-	1	-	-	1	-	-	1

Tab. 47 Výsledky přímých metod u pacientky s lichen sclerosus et atrophicus

Vyšetření	Před léčbou			1 měsíc po léčbě			3 měsíce po léčbě		
	Pozit.	Hran.	Neg.	Pozit.	Hran.	Neg.	Pozit.	Hran.	Neg.
PCR <i>B. b.</i> krev	-	-	1	-	-	1	-	-	1
PCR <i>B. b.</i> kůže	-	-	1	-	-	-	-	-	-
PCR <i>A. p.</i> krev	-	-	1	-	-	1	-	-	1
PCR <i>A. p.</i> kůže	-	-	1	-	-	-	-	-	-
ELM <i>B. b.</i> krev	-	-	1	-	1	-	-	-	1
ELM <i>B. b.</i> kůže	-	-	1	-	-	-	-	-	-
ELM <i>A. p.</i> kůže	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Krevní nátěr	-	-	1	-	-	1	-	-	1

7) Souhrn výsledků všech dermatóz

V souboru 88 pacientů s kožními dermatózami byla přímými metodami během studie prokázána borreliová infekce celkem u 57 (65 %) pacientů, z toho byla potvrzena v krvi ve 32 (36 %), v kůži ve 44 (50 %) případech.

Borreliovou infekci se podařilo prokázat přímými metodami u 45 (70 %) pacientů z 64 s EM, u 7 (70 %) z 10 pacientů s ACA, u 3 (75 %) ze 4 pacientů s GA a u 2 (50 %) ze 4 pacientů s SC. Borreliová infekce nebyla prokázána přímými metodami u pacienta s BL a LSA.

V souboru byla přímými či nepřímými metodami detekována anaplasmová infekce u 26 (29,5 %) pacientů, z toho u 13 (15 %) pacientů přímými metodami, u 17 (19 %) pouze sérologicky, u 4 pacientů současně přímými i nepřímými metodami. Z celkového počtu 26 pacientů s prokázanou infekcí tvořil pouze přímý průkaz 50 %, pouze sérologický 65,4 %, 15,4 % pacientů bylo pozitivní současně v sérologických i přímých testech.

Tab. 48 Celková souhrnná tabulka při vstupním vyšetření

Metoda	ECM	ACA	BL	GA	SC	LSA	Celkem
ELISA IgM	3	0	-	-	-	-	3
ELISA IgG	24	10	-	3	2	1	34
ELISA C6	23	9	-	-	-	-	32
WB IgM	18	0	-	-	-	-	18
WB IgG	19	9	1	2	-	1	32
IFA IgM	3	2	-	1	-	1	7
IFA IgG	4	1	-	1	-	-	6
PCR <i>B. b.</i> krev	7	1	-	2	-	-	10
PCR <i>B. b.</i> kůže	21	5	-	1	1	-	28
PCR <i>A. p.</i> krev	2	-	-	0	-	-	2
PCR <i>A. p.</i> kůže	2	1	-	1	-	1	5
ELM <i>B. b.</i> krev	15	1	-	-	1	-	17
ELM <i>B. b.</i> kůže	30	4	-	-	1	-	35
ELM kůže <i>A. p.</i>	1	-	-	-	-	-	1
Kultivace <i>B. b.</i>	9	-	-	-	-	-	9
Kultivace <i>A. p.</i>	2	-	-	-	-	-	2
Krevní nátěr	3	-	-	-	-	-	3

Tab. 49 Pacienti s přímým průkazem infekce *B. burgdorferi* celkově

Přímý průkaz <i>B. b.</i>	EM	ACA	BL	GA	SC	LSA	Celkem
Celkem	45	7	0	3	2	-	57
V krvi (PCR nebo ELM)	27	2	0	2	1	-	32
V kůži (PCR nebo ELM)	36	6	0	1	1	-	44

Pozn.: Do souhrnných tabulek jsou započtení i pacienti s negativním průkazem při vstupním vyšetření, ale pozitivním při druhém odběru. Suspektní nálezy jsou hodnoceny jako negativní.

Tab. 50 Průkaz *A. phagocytophilum* u všech pacientů celkově

Metody	Celkem
Přímé nebo nepřímé	26
Přímé metody	13
Sérologický průkaz	17
Přímý i sérologický průkaz	4

Tab. 51 Současný přímý průkaz genodruhů *B. burgdorferi* a *A. phagocytophilum*

Patogeny	Celkem
<i>B. garinii</i> + <i>A. phagocytophilum</i>	1
<i>B. afzelii</i> + <i>A. phagocytophilum</i>	2
<i>B. burgdorferi</i> sensu stricto + <i>A. phagocytophilum</i>	1
Celkem	4

6. Diskuze

Z výsledků studie vyplývá, že nejčastějším kožním projevem lymeské borreliózy je v souladu s literárními údaji erythema migrans. Ženy v našem souboru pacientů s EM byly postiženy významně častěji než muži, četnost byla více než dvojnásobná (68,7 %). Naše výsledky jsou shodné s výsledky studií provedených v Evropě. Ve studii provedené v Ljublani ve Slovinsku ženy s EM tvořily 59,3 % souboru [210], v sousedním Německu bylo v endemických oblastech postiženo 55 % žen [211]. Evropské výsledky se však liší od výsledků epidemiologických studií provedených v USA, kde jsou postiženi převážně muži (53,1 %) [212]. Zajímavým zjištěním bylo 11 gravidních pacientek s projevem EM ve studii.

Důvodem převažujícího počtu žen s EM ve studii je pravděpodobně větší péče žen o kůži a častější nález erytému, který ženy přivedl k vyšetření. Častější postižení žen může být způsobeno také tím, že ženy tráví více volného času venku a v přírodě než muži. Nález však může souviset i se zatím nevysvětlenou patogenezí lymeské boreliózy [210]. Prokázali jsme, že riziko EM bylo vyšší u žen po 30. roce věku, u mužů po 45. roce věku. Tím se odlišujeme od studie provedené ve Švédsku [213], kde riziko onemocnění rostlo u žen až po 40. roce věku. Nejčastější výskyt EM byl ve skupině žen ve věku mezi 46 a 60 lety. Naše výsledky jsou tak ve shodě s výsledky studie provedené u 13 606 pacientů s EM v Maďarsku, které prokázaly nejčastější výskyt EM u žen mezi 46. a 64. rokem života [214].

Celkem 83 % pacientů udalo anamnestický kontakt s klíštětem nebo poštípání hmyzem v posledních šesti měsících, erytém v místě přisátí klíštěte se rozvinul u 41 % pacientů. Z toho vyplývá nutnost sledování místa přisátí klíštěte a důležitost informovanosti o lymeské borrelióze. Nejčastěji se erytém vyskytoval na dolních končetinách, a to v 70 % případů, a na trupu ve 20 % případů, tuto predilekci potvrzují mnohé další studie. Průměrný rozměr EM byl 18 cm. Ačkoliv rozměr EM je velmi variabilní, průměrná velikost projevu v našem souboru je větší, než udávají jiné studie [215]. Anulární charakter erytému je nejčastější formou projevu EM, tím se shodujeme s ostatními studiemi. Kožní projev EM byl ve 48 % doprovázen celkovými příznaky, dominovala cefalea, únava a artralgie. Celkové příznaky se vyskytovaly častěji než uvádějí jiné studie [108, 164].

Obr. 23 *Borrelia burgdorferi* – elektronová mikroskopie

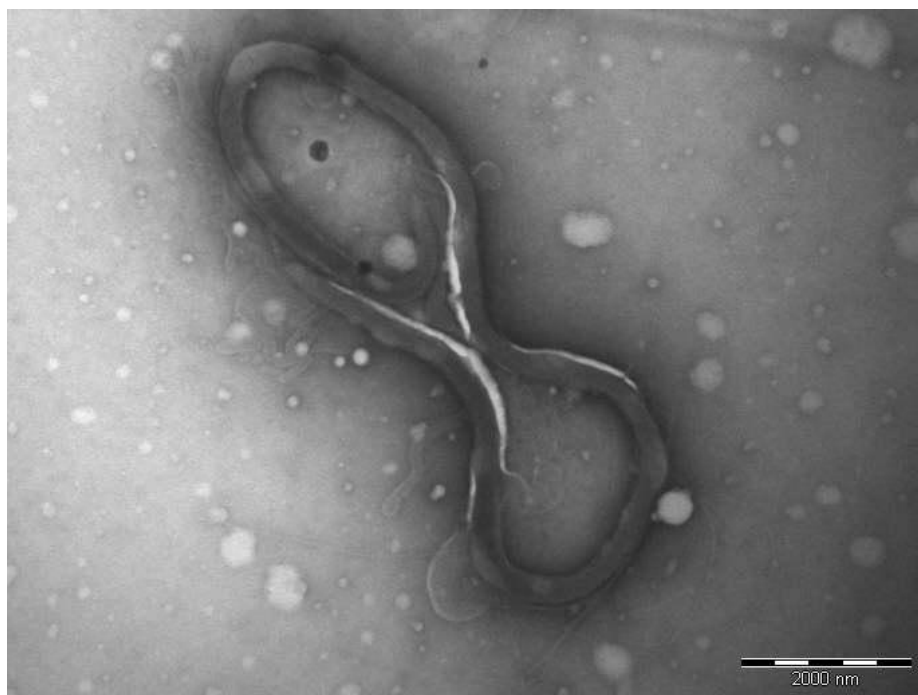


Foto: D. Hulínská

Přímý průkaz borrelií v kůži kombinací různých metod byl úspěšný v 70 % případů. Přímý průkaz borrelií v kůži byl prokázán v 56 %, v krvi ve 42 % případech. U 12 % pacientů byly borrelie detekovány přímými metodami v krvi i tři měsíce po léčbě. Z provedených vyšetření jasně vyplývá, že nejúspěšnější metodou přímého průkazu borrelií je elektronová mikroskopie, která potvrdila patogena v 47 % v kůži, v 23 % v krvi. Jedná se však o metodu využívanou převážně pro experimentální účely [47].

Nejvýznamnějším průkazem patogena je však kultivace. Kultivace z kožních projevů dosahuje pozitivních výsledků v 50–70 % případů [100]. V naší studii byly borrelie úspěšně vykultivovány z devíti projevů EM. Typizací byly zjištěny druhy *B. burgdorferi* sensu stricto (4×), *B. garinii* (3×), *B. afzelii* (2×) a *B. valaisiana* (1×), v jednom případě se jednalo o koinfekci *B. garinii* a *B. valaisiana*. Naše výsledky se liší od jiné studie pacientů provedené v ČR, která jako nejčastější patogeny EM prokázala *B. garinii* a *B. afzelii* se stejnou četností [46]. Nízký počet pozitivních kultivací je pravděpodobně důsledkem kultivace malého objemu tkáně z kožních biopsií, které byly rozděleny na menší části a použity k vyšetření dalšími metodami. Příčinou odlišného zastoupení genodruhů borrelií je zřejmě nízký počet kultivací ve studii a dále infekce klíšťat z různých oblastí České republiky. Jiná studie totiž poukazuje na výskyt různých genodruhů borrelií v naší republice v závislosti na geografických

a klimatických podmínkách a klinických obtížích pacientů [63]. Nejčastějším patogenním genodruhem ve středních Čechách je tak *B. garinii*, která je také nejčastějším genodruhem nacházeném v klíšťatech v regionu Praha [216]. Pro srovnání uveďme, že ve studii provedené na Moravě v roce 2003 byla nejčastěji zastoupeným druhem *B. afzelii* (44 %), *B. burgdorferi* sensu stricto (36 %) a *B. garinii* (20 %) [63]. V Polsku je nejčastějším patogenem *B. garinii* (40 %), méně častá je *B. afzelii* (20 %), nejméně se na infekci podílí *B. burgdorferi* sensu stricto (16 %) [217]. Úspěšná kultivace *B. valaisiany* z kožního projevu ve studii je významná, protože i její výskyt v klíšťatech v ČR je velmi nízký (3,5 %) [64].

Antiborreliové protilátky byly před léčbou zjištěny u 37 % pacientů s EM, nejčastěji ve třídě IgG metodou ELISA a WB. Tyto výsledky potvrzují opožděnou sérologickou odpověď na přítomnost borrelií v organismu [98, 108].

Anaplasmová infekce byla prokázána u 23,4 % pacientů s EM, převážně u žen. Tím se odlišujeme od publikovaných případů, ve kterých jsou častěji postiženi muži starší 40 let, nejvíce ve věkové skupině nad 60 let [145]. Vyšší výskyt anaplasmové koinfekce u žen v naší studii je zřejmě souvisí s vyšším počtem žen s EM zařazených do studie. Klinické obtíže pacientů nebyly odlišné nebo výraznější než u ostatních pacientů s EM. Nebyl nalezen výraznější symptom, který by na přítomnost koinfekce upozornil. Febrilie u pacientů s EM, které by mohly poukazovat na koinfekci s anaplasmaty, byly přítomny u šesti pacientů, infekce byla laboratorně potvrzena ve třech případech. Průběh infekce byl ve všech případech mírný. Naše výsledky jsou v souladu se studií z USA, která zjistila, že souběžný průběh anaplasmové infekce s borreliovou koinfekcí je mírnější a typické klinické i laboratorní známky infekce, zejména febrilie a cytopenie, jsou méně časté než u LGA probíhající samostatně [165]. Další studie nezjistila žádné výraznější klinické symptomy ani laboratorní odchylky, které by pomohly více odlišit LGA od LB, ale prokázala, že u pacientů s koinfekcí LGA nastupují symptomy rychleji [218]. Rovněž velikost erytémů u pacientů s koinfekcí nebyla odlišná. Ve studii nebyl zachycen erytém způsobený pouze *A. phagocytophilum*, borreliová infekce byla potvrzena ve všech případech EM.

Přímým průkazem byla anaplasmová infekce při vstupním vyšetření prokázána u 9 % pacientů s projevy EM. Nález morul v krevním nátěru byl úspěšný celkem u tří pacientů s EM. Ve dvou případech byla anaplasmata prokázána současně v krevním nátěru a PCR metodou v krvi. Tyto výsledky byly rozdílné ve srovnání se studií provedenou v Americe, která prokázala 100% průkaz *A. phagocytophilum* metodou PCR u pacientů s pozitivním krevním nátěrem [219]. Anaplasmata je možné prokázat elektronmikroskopicky také přímo v kůži. Tento průkaz byl v naší studii úspěšný ve dvou případech. Elektronmikroskopie je

však metodou, která se provádí pouze na vysoce specializovaných pracovištích pro výzkumné účely a v běžné praxi se nepoužívá [153]. Kultivace *A. phagocytophilum* z kůže v HL-60 buněčné linii byla úspěšná u dvou projevů EM. Jednalo se o první pozitivní kultivaci anaplasmat u pacientů s projevem EM v ČR vůbec [220]. Kultivace anaplasmat byla obtížná pravděpodobně vzhledem k bakteriální koinfekci, délce trvání některých erytémů a tím snížení možnosti zachytu anaplasmat. Na nízkém zachytu se mohla podílet také vysoká citlivost *A. phagocytophilum* k teplotě uchovávání vzorků. První kultivace anaplasmat byla ve světě poprvé popsána teprve v roce 1996 [221].

Pozitivní protilátky proti *A. phagocytophilum* byly před léčbou nalezeny celkem u 11 % pacientů s EM. Tyto výsledky jsou téměř shodné s výsledky studie u 67 pacientů s klíšťovou meningoencefalitidou v naší republice, u kterých v 8,9 % případů byly nalezeny pozitivní protilátky proti *A. phagocytophilum* ve třídě IgG [222]. Stejně výsledky byly zjištěny v Bulharsku, kdy 9,7 % pacientů s EM bylo séropozitivních (> nebo = 1:80) též pro LGA [205]. Tato studie upozornila na problematiku LGA a koinfekci v jihovýchodní Evropě. Naopak studie provedená na ostrově Rhodu prokázala koinfekci LGA u EM pouze u 2 % pacientů. Séroprevalence protilátek proti *A. phagocytophilum* v populaci v Evropě je vysoká, vyšší je v endemických oblastech a u rizikové populace (lesní dělníci), kde se pohybuje od 0 do 17,4 % [148, 202]. V ČR byla zjištěna séroprevalence v určitých oblastech až 21 % [223], u osob s anamnézou přisátí klíšťe až 28 % [149]. Studie z ČR z poslední doby také ukazuje, že nákaza klíšťat *A. phagocytophilum* je vyšší v městských oblastech, kde dosahuje 9,4 %, než v přírodě, kde je jen 1,9 % [224]. Tím lze vysvětlit poměrně vysokou séropozitivitu u našich pacientů.

Sérologické testy podají informaci o kontaktu s anaplasmovou infekcí, neodliší však proběhlou infekci od aktivně probíhajícího onemocnění. Na začátku infekce často nebývají protilátky ještě vytvořené a infekce se sérologicky potvrdí až s odstupem. Pro infekci je průkazné 4násobné zvýšení titru v rekonvalescentním séru. Pozitivita IgM protilátek může být také falešně pozitivní [225]. Z tohoto pohledu se zdá nejspolehlivější diagnostickou metodou pro praxi metoda PCR [149, 187].

Všechny erytémy pacientů v našem souboru zregredovaly do sedmi týdnů. Kožní projevy i klinické obtíže vymizely též u pacientů s prokázanou LGA, kteří byli léčeni pouze penicilinovým antibiotikem. Lze tedy předpokládat, že LGA může vést i ke spontánnímu vyléčení. Kontrolní vyšetření neprokázala anaplasmovou infekci tři měsíce po léčbě. Shodná zjištění udávají i další literální údaje [226].

V souboru pacientů s EM bylo 11 gravidních pacientek, u dvou z nich byla prokázána LGA. Tyto pacientky byly léčeny penicilinovými antibiotiky a kontrolní vyšetření i u těchto pacientek byla negativní. Děti matek léčených v graviditě pro EM a LGA v naší studii byly v perinatálním období bez obtíží a nebyly dále sledovány. V literatuře jsou však dokumentovány případy perinatálního přenosu LGA [180, 227]. Dobře popsáný je případ novorozence, jehož matka v době porodu měla akutně probíhající LGA. Projevy LGA se u novorozence objevily sedmý den po porodu febriliemi a změnami v krevním obrazu. Onemocnění bylo potvrzeno nálezem morul v krevním obrazu a metodou PCR v krvi [227].

Anaplasmová infekce je rizikem i pro děti [228]. V případě podezření a průkazu LGA je dle CDC a AAP Committee for Infectious Diseases lékem první volby doxycyklin i u dětí, riziko diskolorace zubů u dětí mladších 8 let při použití nové generace tetracyklinů nebylo prokázáno [177, 229].

Obr. 24 *Borrelia burgdorferi*

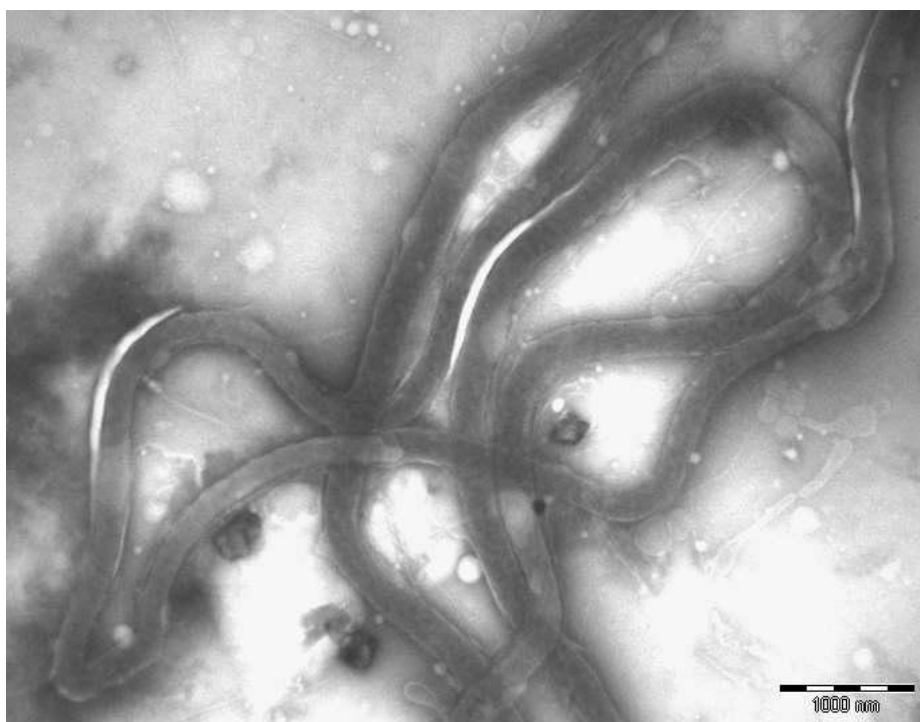


Foto: D. Hulínská

Acrodermatitis chronica atrophicans. Ve studii jsme borreliovou infekci prokázali přímými metodami u 70 % pacientů při vstupním vyšetření a ve 100 % případů sérologicky.

Pozitivní protilátky proti anaplasmatům byly zjištěny u tří pacientů a 1× byla anaplasmata prokázána přímo v krvi. Tito pacienti však byli bez klinických příznaků

charakteristických pro lidskou granulocytární anaplasmózu, klinický obraz odpovídal nekomplikované ACA. Anaplasmová infekce tak byla náhodným nálezem bez klinických projevů infekce. V dostupné literatuře chybí studie zaměřené na přítomnost a vliv *A. phagocytophilum* k ACA.

Lymphocytoma borreliensis. Jediný pacient s lymfocytomem z našeho souboru měl současně prokázanou koinfekci borrelií a anaplasmat. Borreliová infekce byla prokázána sérologicky, průkaz *A. phagocytophilum* metodou PCR z krve se potvrdil jeden měsíc po léčbě. Pacient byl bez klinických obtíží, nejednalo se o akutní anaplasmovou infekci. V dostupné literatuře se nepodařilo najít zprávy o studiích zaměřených na podíl anaplasmové infekce u borreliového lymfocytomu. V našem případě se lze domnívat, že infekce *A. phagocytophilum* se na rozvoji lymfocytomu nepodílela.

Granuloma annulare. Infekce *B. burgdorferi* sensu lato byla prokázána u 75 % pacientů s projevy GA, z toho koinfekce s *A. phagocytophilum* byla přítomna u 25 % pacientů. Naše výsledky prokázaly koinfekci častěji v porovnání se studií provedenou Zollingerem, která prokázala borreliovou infekci u 2,1 % případu [230]. V dostupné literatuře chybí studie zaměřené na vliv anaplasmové infekce u projevů granuloma annulare.

Sclerodermia circumscripta. Infekce *B. burgdorferi* byla prokázána u dvou ze čtyř pacientů přímými metodami, u jednoho pacienta nepřímou metodou se současnou pozitivitou anaplasmat v kůži metodou PCR. U dvou pacientů s prokázanou borreliovou infekcí došlo po antibiotické léčbě ke změknutí ložisek, u jednoho ke zhojení hyperpigmentacemi. V obou případech byla prokázána infekce *B. afzelii*. Význam koinfekce u sklerodermie není jasný a ani v literatuře nejsou dostupné údaje o výskytu anaplasmové infekce u tohoto kožního projevu.

Lichen sclerosus et atrophicus. U jedné pacientky byly detekovány zvýšené hladiny antiborreliových protilátek (ELISA, WB), borrelie nebyly prokázány přímými metodami, anaplasmata se také neprokázala. Literární údaje o průkazu anaplasmové infekce u projevů LSA chybí. Zdá se, že tato infekce nehraje v patogenezi této choroby roli.

Celkové shrnutí

V souboru pacientů s dermatózami se borreliovou infekci podařilo prokázat přímými metodami u 75 % s granuloma annulare a u 50 % se sclerodermia circumscripta. Výsledky tak potvrzují práce jiných autorů, kteří projevy granuloma annulare a sclerodermia circumscripta dávají do souvislosti s borreliovou infekcí. V zahraniční studii pacientů s projevy granuloma annulare byla přímými metodami borreliová infekce prokázána v 80,9 % případů [231], jsou

publikovány i další jednotlivé případy [81]. Jiní autoři prokázali borreliovou infekci sérologicky u 42,3 % pacientů s granuloma annulare a 34,4 % se sclerodermia circumscripta [76, 79]. Naopak někteří autoři tuto souvislost vylučují [87, 232]. Zdá se, že příčinná souvislost borreliové etiologie s těmito dermatózami souvisí s incidencí patogena v dané geografické oblasti. Vzhledem k faktu, že naše republika patří mezi endemické oblasti výskytu LB, je vhodné přítomnost borreliové infekce u těchto dermatóz vyšetřit.

Borreliová infekce nebyla prokázána přímými metodami u pacienta s borreliovým lymfocytomem a lichen sclerosus et atrophicus. V případě granuloma annulare, lichen sclerosus et atrophicus a sclerodermia circumscripta se však jednalo o malé počty pacientů, proto je třeba dalších studií. Z našeho souboru pacientů také vyplývá, že záchyt anaplasmózy u ostatních dermatóz – granuloma annulare, sclerodermia circumscripta a lichen sclerosus et atrophicus – je zřejmě pouze náhodným nálezem. Přístup k průkazu této infekce by se měl řídit anamnestickým údajem o kontaktu s klíštětem a klinickým stavem pacienta, zejména přítomností celkových příznaků, a laboratorními odchylkami.

7. Závěr

1. **Zhodnocení přítomnosti infekce *B. burgdorferi* a *A. phagocytophilum* v kožních projevech lymeské boreliózy (erythema migrans, borreliový lymfocytom a acrodermatitis chronica atrophicans) a dalších dermatózách (sclerodermia circumscripta, granuloma annulare a lichen sclerosus et atrophicus) pomocí přímých a nepřímých laboratorních metod, detekce genodruhů borrelií a anaplasmat.**

V souboru 88 pacientů s kožními projevy byla přímými metodami prokázána borreliová infekce celkem u 65 % pacientů. Prokázala se u 70 % nemocných s erythema migrans, u 70 % s acrodermatitis chronica atrophicans, dále u 75 % s granuloma annulare a u 50 % se sclerodermia circumscripta. Borreliová infekce se přímými metodami neprokázala u pacienta s borreliovým lymfocytomem a lichen sclerosus et atrophicus.

Genodruhy borrelií byly dourčeny typizací po úspěšné kultivaci z devíti projevů EM, *B. burgdorferi* sensu stricto (4×), *B. garinii* (3×), *B. afzelii* (2×) a *B. valaisiana* (1×), v jednom případě se jednalo o koinfekci *B. garinii* a *B. valaisiana*.

Anaplasmová infekce byla v souboru prokázána u 15 % pacientů přímými a u 19 % nepřímými metodami, u 5 % pacientů byl současný průkaz přímými i nepřímými metodami. Kultivace *A. phagocytophilum* byla úspěšná ve dvou případech. Jednalo se o první kultivaci anaplasmy v ČR vůbec. *Anaplasma phagocytophilum* nebyla prokázána izolovaným etiologickým agens erythema migrans.

2. **Zhodnocení infekce nebo koinfekce borrelií a anaplasmat u kožních projevů těchto dermatóz, posouzení možné etiopatogenetické role těchto organismů a doporučení správného diagnostického a léčebného postupu.**

Prokázali jsme, že borreliová infekce se může podílet na etiopatogenezi granuloma annulare a circumscripní sklerodermie. Souvislost anaplasmové infekce s patogenezi granuloma annulare, sklerodermie a lichen sclerosus et atrophicus jsme nepotvrdili. Anaplasmová infekce však může být náhodným nálezem u pacientů pobývajících v endemických oblastech a anamnézou přísátí klíšťat.

Koinfekce borrelií a anaplasmat byla prokázána u 29,5 % pacientů z celého souboru, nejčastěji u pacientů s časnými projevy lymeské borreliózy, s erythema migrans (17 %). Výsledky však ukazují, že i přes laboratorní průkaz anaplasmat byl průběh anaplasmozy mírný, až asymptomatický. Obdobné průběhy anaplasmozy uvádí i ostatní evropské země – na rozdíl od Severní Ameriky, která hlásí klinicky výrazné a komplikované průběhy této infekce [159, 233]. V případě erythema migrans s febriliemi a patologickými laboratorními nálezy je diagnóza anaplasmozy pravděpodobnější, je nutno ji zahrnout do širší diferenciální diagnostiky a doplnit diagnostická vyšetření. Ačkoli studie prokázala i spontánní odeznění infekce, doporučujeme při léčbě EM upřednostnit léčbu doxycyklinem, a to z důvodu rizika komplikací neléčené anaplasmozy. V letních měsících je nezbytné poučit pacienta o zásadách fotoprotekce.

Závěry pro praxi:

1. U pacientů s erythema migrans z endemických oblastí pro lymeskou borreliózu, u rizikových skupin (lesní dělníci), při horečnatém průběhu nebo při atypickém, komplikovaném průběhu onemocnění či u pacientů se změnami v krevním obrazu (leukopenie, trombocytopenie), elevací transamináz, která může být i jen mírná, dále u starších osob je nutné myslet na současnou koinfekci borreliové a anaplasmové infekce. U těchto pacientů doporučujeme doplnit před zahájením antibiotické léčby následující vyšetření:

- Mikroskopické vyšetření krevního nátěru periferní krve barvené Giemsou
- Krevní vyšetření: krevní obraz, AST, ALT, ALP, LD
- Sérologické vyšetření krve *A. phagocytophilum*, které je nutné opakovat za 14 dní.
- PCR *A. phagocytophilum* z kůže a/nebo z krve

Z důvodu možné koinfekce doporučujeme v léčbě časné formy lymeské borreliózy jako lék volby doxycyklin v dávce 100 mg p.o. à 12 hod po dobu 14 dní.

Při podezření na anaplasmovou infekci je lékem první volby doxycyklin pro dospělé i děti všech věkových skupin. U dospělých volíme doxycyklin v dávce 100 mg p.o. à 12 hod, u dětí s váhou nižší než 45 kg v dávce 2,2 mg/kg à 12 hod.

Zvláštní pozornost je nutné věnovat gravidním ženám.

2. U pacientů s projevy granuloma annulare a sclerodermia circumscripta doporučujeme doplnit sérologické vyšetření borrelií nebo průkaz infekce metodou PCR z tkáně či krve a v případě pozitivních nálezů zahájit léčbu lymeské borreliózy, která může terapeuticky ovlivnit i danou dermatózu.

Problematika vektorových nákaz je aktuální. Vzhledem ke klimatickým změnám, cestování do endemických oblastí v naší republice i ve světě, přibývání vědeckých poznatků o vlivu těchto infekcí na lidský organismus ve formě samostatných infekcí anebo koinfekcí je znalost těchto novodobých infekcí důležitá.

8. Souhrn

Lymeská borrelióza a lidská granulocytární anaplasmóza jsou zoonózy přenášené klíšťaty, které se vyskytují sezonně v endemických oblastech. Duálně infikovaná klíšťata mohou přenést infekci na vnímavého jedince. Na koinfekci je nutné myslet u časných stadií lymeské borreliózy, erythema migrans, a mohou na ni upozornit klinické symptomy, které nejsou typické pro lymeskou borreliózu - febrilie a dále laboratorní odchylky, zejména trombocytopenie, leukopenie a elevace jaterních testů. Asymptomatické průběhy jsou však časté. Z těchto důvodů je nutné diferenciatně diagnosticky zvažovat koinfekci anaplasmaty u pacientů s lymeskou borreliózou, zvláště v endemických oblastech, a volit antibiotickou terapii perorálním doxycyklinem.

B. burgdorferi se může podílet na etiopatogenezi dalších příbuzných dermatóz, kterými jsou zejména granuloma annulare a scleroderma circumscripta. Při klinické diagnostice těchto diagnóz je vhodné jejich histopatologické ověření a sérologické vyšetření antiborreliových protilátek doplněné přímým průkazem agens metodou PCR z kůže. V případě průkazu pozitivitu je doporučena antibiotická léčba borreliové infekce.

Summary

Lyme disease and human granulocytic anaplasmosis are zoonoses transmitted by ticks that occur seasonally in endemic areas. Dually infected ticks can transmit the infection to susceptible individuals. Co-infection should be considered in erythema migrans, the early stage of LB, and clinical symptoms that are not typical for lyme disease - fever and laboratory abnormalities, particularly thrombocytopenia, leukopenia may lead to the attention. Asymptomatic course of the disease is common. For these reasons, it is necessary to include *Anaplasma phagocytophilum* infection into a differential diagnosis of patients with Lyme disease particularly in endemic areas and choose oral doxycycline for the antibiotic treatment.

B. burgdorferi may contribute to the pathogenesis of other related dermatoses, mainly granuloma annulare and scleroderma circumscripta. The clinical diagnosis should be confirmed by a histopathological examination and serological tests of borrelia antibodies followed by direct detection of the agents by PCR from the skin. In case of confirmed infection antibiotic therapy for borrelia infection is recommended.

9. Zkratky

ACA	Acrodermatitis chronica atrophicans
ALP	Alkalická fosfatáza
ALT	Alaninaminotransferáza
<i>A. p.</i>	<i>Anaplasma phagocytophilum</i>
AST	Aspartátamnittransferáza
<i>B. b.</i>	<i>Borrelia burgdorferi</i>
<i>B. b. s. l.</i>	<i>Borrelia burgdorferi sensu lato</i>
<i>B. b. s. s.</i>	<i>Borrelia burgdorferi sensu stricto</i>
BL	Borreliový lymphocytom
BSK médium	Barbour-Stoenner-Kelly půda
CNS	Centrální nervová soustava
CO ₂	Oxid uhličitý
ČR	Česká republika
DNA	Deoxyribonucleic acid
DM	Diabetes mellitus
EDTA	Ethylendiamintetraacetic acid
ELISA	Enzym-Linked ImmunoSorbent Assay
ELM	Elektronová mikroskopie
EM	Erythema migrans
EUCALB	European Concerted Action on Lyme Borreliosis
GMT	Gamaglutamyltransferáza
GA	Granuloma annulare
GIT	Gastrointestinální trakt
HGA	Human granulocytic anaplasmosis
IFA	Indirect Immunofluorescent Assay
LB	Lymeská borrelióza
LD	Lyme disease
LEE	Lidská ehrlichioza ewingii
LGA	Lidská granulocytární anaplasmóza
LME	Lidská monocytární ehrlichioza
LSA	Lichen sclerosus et atrophicus
MKN	Mezinárodní klasifikace nemocí
NRL pro LB ve SZÚ	Národní referenční laboratoř v e Státním zdravotním Ústavu v Praze
Osp	Outer surface protein
PCR	Polymerázová řetězová reakce
SC	Sclerodermia circumscripta
WB	Western blotting

10. Seznam obrázků

- Obr.1 *Borrelia burgdorferi* v krvi – elektronová mikroskopie
Obr. 2 *Borrelia burgdorferi* s bičíky – elektronová mikroskopie
Obr. 3 Dělení *B. burgdorferi*
Obr. 4 Tvorba cyst *Borrelie burgdorferi*
Obr. 5 Přisáté klíště
Obr. 6 Erythema migrans annulare u pacientky ze studie
Obr. 7 Erythema migrans maculare u pacientky ze studie
Obr. 8 Erythema migrans concentricum u pacienta ze studie
Obr. 9 *Borrelia burgdorferi* – membrána, bičíky
Obr. 10 Identifikace borrelií metodou PCR
Obr.11 Vliv antibiotik na borrelii
Obr.12 Mikrokolonie *Anaplasma phagocytophilum* v leukocyту
Obr. 13 Erythema migrans
Obr. 14 *Borrelia burgdorferi* v kolagenním vazivu
Obr. 15 *Borrelia burgdorferi* v dermis
Obr. 16 Identifikace genodruhů *Borrelia burgdorferi* pomocí Real-time PCR
Obr. 17 *Borrelia burgdorferi* ve vakuole histiocytomu
Obr. 18 Morula – intraleukocytární mikrokolonie *Anaplasma phagocytophilum*
Obr. 19 Acrodermatitis chronica atrophicans u pacientky ze studie
Obr. 20 Lymphocytoma borreliensis u pacientky ze studie
Obr. 21 Granuloma annulare u pacientky ze studie
Obr. 22 Sclerodermie u pacientky ze studie
Obr. 23 *Borrelia burgdorferi* – elektronová mikroskopie
Obr. 24 *Borrelia burgdorferi*

Fotky označené D. Hulínská – pořídila RNDr. Dagmar Hulínská, CSc. z Národní referenční laboratoře pro lymeskou borreliózu v Praze.

Fotky bez označení autora pořídila autorka ve spolupráci s kolektivem spolupracovníků Dermatovenerologické kliniky 2. LF UK a Nemocnice Na Bulovce v Praze.

11. Literatura

1. Epidat: Vybrané infekční nemoci v ČR v letech 2003-2012 - absolutně. <http://www.szu.cz/publikace/data/vybrane-infekcni-nemoci-v-cr-v-letech-2003-2012-absolutne>, 2013.
2. Cechova L, Durnova E, Sikutova S, Halouzka J, Nemeč M: Characterization of spirochetal isolates from arthropods collected in South Moravia, Czech Republic, using fatty acid methyl esters analysis. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2004;808(2):249-54.
3. Flisiak R, Prokopowicz D: [Antibodies against *Borrelia garinii* in diagnosis of Lyme disease]. *Przegl Lek* 2000;57(3):147-9.
4. Halouzka J, Wilske B, Stunzner D, Sanogo YO, Hubalek Z: Isolation of *Borrelia afzelii* from overwintering *Culex pipiens* biotype *molestus* mosquitoes. *Infection* 1999;27(4-5):275-7.
5. Stanczak J, Racewicz M, Kubica-Biernat B, et al.: Prevalence of *Borrelia burgdorferi sensu lato* in *Ixodes ricinus* ticks (Acari, Ixodidae) in different Polish woodlands. *Ann Agric Environ Med* 1999;6(2):127-32.
6. Reik L, Jr., Burgdorfer W, Donaldson JO: Neurologic abnormalities in Lyme disease without erythema chronicum migrans. *Am J Med* 1986;81(1):73-8.
7. Hardin JA, Walker LC, Steere AC, et al.: Circulating immune complexes in Lyme arthritis. Detection by the 125I-C1q binding, C1q solid phase, and Raji cell assays. *J Clin Invest* 1979;63(3):468-77.
8. Steere AC, Batsford WP, Weinberg M, et al.: Lyme carditis: cardiac abnormalities of Lyme disease. *Ann Intern Med* 1980;93(1):8-16.
9. Bartůněk P: *Lymská borelióza*. Praha: Grada Publishing, a.s., 2006.
10. Buchwald A: Ein Fall von diffuser Idiopathischer Hautatrophie. *Arch. Vierteljahresschr* 1883(10): 553-556.
11. Herxheimer K, Hartmann K: Über Acrodermatitis chronica atrophicans. *Arch Dermatol Syph* 1902(61): 57-76, 255-300.
12. Spiegler E: Über die sogenannte sarcomatosis cutis. *Arch, Derm. Syph.* 1894(27): 163.
13. Ackermann R, Kabatzki J, Boisten HP, et al.: [Spirochete etiology of erythema chronicum migrans disease]. *Dtsch Med Wochenschr* 1984;109(3):92-7.
14. Lipschütz B: Über eine seltene Erythemform (Erythema chronicum migrans). *Arch Dermatol Syph* 1913;118:349-356.
15. Burckhardt J: Zur Frage der Follikel- und Keimzentrenbildung in der Haut. *Frankf Z Pathol* 1911;6:352-359.
16. Bafverstedt B: Über Lymphadenosis benigna cutis. *Acta Derm Venereol (Stockh)* 1943; Suppl 1 l(suppl to 24):1-202.
17. Jessner M: Zur Kenntnis der Acrodermatitis chronica atrophicans. *Arch Dermatol Syph* 1921;134:478-487.
18. Garin C, Bujadoux A: Paralysie par les tiques. *J Med Lyon* 1922;71:765-767.
19. Hellerstrom S: Erythema chronicum migrans Afzelii. *Acta Derm Venereol (Stockh)* 1930; 11:315-321.
20. Stadelmann R: Ein Beitrag zum Krankheitsbild des Erythema chronicum migrans Lipschütz. Inauguraldissertation, Marburg, 1934.
21. Bannwarth A: Zur Klinik und Pathogenese der "chronischen lymphocytären Meningitis." *Arch Psychiatr Nervenkr* 1944;117:161-185.
22. Svartz N: Penicillinbehandlung vid dermatitis atrophicans Herxheimer. *Nord Med* 1946;32:2783.
23. Thyresson N: The penicillin treatment of acrodermatitis atrophicans chronica (Herxheimer). *Acta Derm Venereol* 1949;29(6):572-621.

24. Hollstrom E: Successful treatment of erythema migrans Afzelius. *Acta Derm Venereol* 1951;31(2):235-43.
25. Binder E, Doepfmer R, Hornstein O: [Experimental transmission of chronic erythema migrans from man to man]. *Hautarzt* 1955;6(11):494-6.
26. Gotz H: [Acrodermatitis chronica atrophicans Herxheimer as an infectious disease]. *Dermatologica* 1955;110(3-5):312-4.
27. Ludwig E: [The efficacy of the antibiotics, streptomycin and tetracycline in the treatment of acrodermatitis atrophicans Herxheimer]. *Arch Klin Exp Dermatol* 1955;201(5):495-506.
28. Ludwig E: [Erythema chronicum migrans in the early stage of acrodermatitis chronica atrophicans Herxheimer]. *Hautarzt* 1956;7(1):41-2.
29. Gotz H: Die Acrodermatitis chronica atrophicans Herxheimer als neue Indikation für die Behandlung mit Chloromycetin. *Hautarzt* 1952;3:310-312.
30. Hauser W: Wahrscheinliche Infektionskrankheiten der Haut. *Haut und Geschlechtskrankheiten*. Berlin: Springer, 1965;556-629
31. Scrimanti RJ: Erythema chronicum migrans. *Arch Dermatol* 1970;102(1):104-5.
32. Steere AC, Malawista SE, Snyderman DR, et al.: Lyme arthritis: an epidemic of oligoarticular arthritis in children and adults in three connecticut communities. *Arthritis Rheum* 1977;20(1):7-17.
33. Steere AC, Malawista SE, Hardin JA, Ruddy S, Askenase W, Andiman WA: Erythema chronicum migrans and Lyme arthritis. The enlarging clinical spectrum. *Ann Intern Med* 1977;86(6):685-98.
34. Steere AC, Broderick TF, Malawista SE: Erythema chronicum migrans and Lyme arthritis: epidemiologic evidence for a tick vector. *Am J Epidemiol* 1978;108(4):312-21.
35. Burgdorfer W, Barbour AG, Hayes SF, Benach JL, Grunwaldt E, Davis JP: Lyme disease - a tick-borne spirochetosis? *Science* 1982;216(4552):1317-9.
36. Benach JL, Bosler EM, Hanrahan JP, et al.: Spirochetes isolated from the blood of two patients with Lyme disease. *N Engl J Med* 1983;308(13):740-2.
37. Preac Mursic V, Wilske B, Schierz G, Pfister HW, Einhaupl K: Repeated isolation of spirochetes from the cerebrospinal fluid of a patient with meningoradiculitis Bannwarth. *Eur J Clin Microbiol* 1984;3(6):564-5.
38. Asbrink E: Erythema chronicum migrans Afzelius and acrodermatitis chronica atrophicans. Early and late manifestations of Ixodes ricinus-borne Borrelia spirochetes. *Acta Derm Venereol Suppl (Stockh)* 1985;118:1-63.
39. Johnson RC, Hyde FW, Rumpel CM: Taxonomy of the Lyme disease spirochetes. *Yale J Biol Med* 1984;57(4):529-37.
40. Doutlik S, Hancil J, Havlik J, Skoldenberg B, Stiernstedt G, Jirous J: [Polymorphism in the clinical forms of tick-borne borreliosis diagnosed at the Clinic for Infectious Diseases in Prague]. *Cas Lek Cesk* 1987;126(51):1595-9.
41. Valesova M, Trnavsky K, Hulinska D, Alusik S, Janousek J, Jirous J: Detection of Borrelia in the synovial tissue from a patient with Lyme borreliosis by electron microscopy. *J Rheumatol* 1989;16(11):1502-5.
42. Sedlacek V: Erythema chronicum migrans-poznámky ke klinice, etiopatogenezi a zarazení. *Cs Dermatol* 1960;35:386-399.
43. Sedlacek V: Erythema chronicum migrans-liceni penicilinem. *Cs dermatol* 1961;36:12-15.
44. Doutlik S, Hancil J, Kulkova H, Skoldenberg B, Stiernstedt G: [Is Lyme disease also in Czechoslovakia?]. *Cas Lek Cesk* 1985;124(49):1526-7.
45. Doutlik S, Hancil J, Kulkova H, Skoldenberg B, Stiernstedt G: [The first serologic detection of Lyme disease in children in Czechoslovakia]. *Cesk Pediatr* 1986; 41(11): 648-50.

46. Hulinska D, Drevova H, Godova T, Janovska D: [Culture of *Borrelia burgdorferi* sensu lato from patients in the Czech Republic]. *Epidemiol Mikrobiol Imunol* 2001;50(2):74-81.
47. Hulinska D, Krausova M, Janovska D, Rohacova H, Hancil J, Mailer H: Electron microscopy and the polymerase chain reaction of spirochetes from the blood of patients with Lyme disease. *Cent Eur J Public Health* 1993;1(2):81-5.
48. Bašta J, Hulínská D, Plch J, Daniel M: Použití jedнокrokové polymerázové řetězové reakce k detekci *Borrelia burgdorferi* sensu lato a jejich genomospecies u klíšťat *Ixodes ricinus*. *Epidemiologie, mikrobiologie, imunologie* 1999;48(4):161-170.
49. Hulínská D: Laboratorní diagnostika borreliózy. *Diagnóza* 1999;2(18):5.
50. Hercogova J, Tomankova M, Frosslova D, Janovska D: [Early-stage lyme borreliosis during pregnancy: treatment in 15 women with erythema migrans]. *Cesk Gynekol* 1993;58(5):229-32.
51. Hercogova J, Tomankova M, Plch J, et al.: *Borrelia burgdorferi* isolates from erythema migrans. *Arch Dermatol Res* 1993;285(3):171-3.
52. Hercogova J, Tomankova M, Bartak P: Contributions to the treatment of dermatologic manifestations of Lyme borreliosis. *Cutis* 1992;49(6):409-11.
53. Valesova M, Hulinska D, Jirous J: [Isolation of *Borrelia* in the tissues of patient with Lyme borreliosis]. *Cas Lek Cesk* 1988;127(26):825-6.
54. Bartunek P, Gorican K, Mrazek V, et al.: Lyme borreliosis infection as a cause of dilated cardiomyopathy. *Prague Med Rep* 2006;107(2):213-26.
55. Bojar M, Valešová M, Jirous J, Hulínská D: Perzistence *Borrelia burgdorferi* u nemocných léčených pro lymeskou borreliozu. *Antiinfekčná terapia* 1989:314-317.
56. Picha D, Moravcova L, Holeckova D, et al.: Examination of specific DNA by PCR in patients with different forms of Lyme borreliosis. *Int J Dermatol* 2008;47(10):1004-10.
57. Rohacova H, Hancil J, Hulinska D, Mailer H, Havlik J: Ceftriaxone in the treatment of Lyme neuroborreliosis. *Infection* 1996;24(1):88-90.
58. Stoenner HG: Biology of *Borrelia hermsii* in Kelly medium. *Appl Microbiol* 1974;28(4):540-3.
59. Barbour AG: Isolation and cultivation of Lyme disease spirochetes. *Yale J Biol Med* 1984;57(4):521-5.
60. Kelly R: Cultivation of *Borrelia hermsii*. *Science* 1971;173(3995):443-4.
61. Brorson O, Brorson SH: In vitro conversion of *Borrelia burgdorferi* to cystic forms in spinal fluid, and transformation to mobile spirochetes by incubation in BSK-H medium. *Infection* 1998;26(3):144-50.
62. European Concerted Action on Lyme Borreliosis:
http://meduni09.edis.at/eucalb/cms_15/index.php?option=com_content&view=article&id=58:spirochaete-strains&catid=57:biology-cat1&Itemid=92, 2013.
63. Hulinska D, Drevova H, Votypka J, Langrova K, Kurzova Z: [Prevalence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato species among patients in the Czech Republic; direct sequencing analysis and real-time polymerase chain reaction]. *Epidemiol Mikrobiol Imunol* 2004;53(4):183-91.
64. Hulinska D, Votypka J, Kriz B, Holinkova N, Novakova J, Hulinsky V: Phenotypic and genotypic analysis of *Borrelia* spp. isolated from *Ixodes ricinus* ticks by using electrophoretic chips and real-time polymerase chain reaction. *Folia Microbiol (Praha)* 2007;52(4):315-24.
65. Bacon RM, Kugeler KJ, Mead PS: Surveillance for Lyme disease--United States, 1992-2006. *MMWR Surveill Summ* 2008;57(10):1-9.
66. Epidat: <http://www.szu.cz/publikace/data/vybrane-infekcni-nemoci-v-cr-v-letech-2003-2012-relativne>. 2013.
67. Danielova V, Daniel M, Schwarzova L, et al.: Integration of a tick-borne encephalitis virus and *Borrelia burgdorferi* sensu lato into mountain ecosystems, following a shift in the

- altitudinal limit of distribution of their vector, *Ixodes ricinus* (Krkonoše mountains, Czech Republic). *Vector Borne Zoonotic Dis*;10(3):223-30.
- 68.** Burgdorfer W, Gage KL: Susceptibility of the black-legged tick, *Ixodes scapularis*, to the Lyme disease spirochete, *Borrelia burgdorferi*. *Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg A* 1986;263(1-2):15-20.
- 69.** des Vignes F, Piesman J, Heffernan R, Schulze TL, Stafford KC, 3rd, Fish D: Effect of tick removal on transmission of *Borrelia burgdorferi* and *Ehrlichia phagocytophila* by *Ixodes scapularis* nymphs. *J Infect Dis* 2001;183(5):773-8.
- 70.** Hulínská D, Kybicová K: Diagnostika lymeské borreliózy v NRL LB. <http://www.szu.cz/tema/prevence/diagnostika-lymeske-borreliozy-v-nrl-lb>, 2013.
- 71.** Hubalek Z, Stunzner D, Halouzka J, et al.: Prevalence of borreliae in ixodid ticks from a floodplain forest ecosystem. *Wien Klin Wochenschr* 2003;115(3-4):121-4.
- 72.** Kybicova K, Schanilec P, Hulinska D, Uherkova L, Kurzova Z, Spejchalova S: Detection of *Anaplasma phagocytophilum* and *Borrelia burgdorferi* sensu lato in dogs in the Czech Republic. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2009;9(6):655-61.
- 73.** Nuttall PA, Labuda M: Tick-host interactions: saliva-activated transmission. *Parasitology* 2004;129 Suppl:S177-89.
- 74.** Sigal LH: Immunologic mechanisms in Lyme neuroborreliosis: the potential role of autoimmunity and molecular mimicry. *Semin Neurol* 1997;17(1):63-8.
- 75.** Ornstein K, Berglund J, Nilsson I, Norrby R, Bergstrom S: Characterization of Lyme borreliosis isolates from patients with erythema migrans and neuroborreliosis in southern Sweden. *J Clin Microbiol* 2001;39(4):1294-8.
- 76.** Hercogova J: *Borrelia burgdorferi*: a protagonist in Lyme disease, a bystander in morphea? *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2002;16(2):98-9.
- 77.** Trevisan G, Rees DH, Stinco G: *Borrelia burgdorferi* and localized scleroderma. *Clin Dermatol* 1994;12(3):475-9.
- 78.** Weide B, Schitteck B, Klyszcz T, et al.: Morphea is neither associated with features of *Borrelia burgdorferi* infection, nor is this agent detectable in lesional skin by polymerase chain reaction. *Br J Dermatol* 2000;143(4):780-5.
- 79.** Svecova D, Buchvald J: [*Borrelia burgdorferi* antibodies in scleroderma circumscripta, lichen sclerosus et atrophicus, erythema nodosum, granuloma annulare, erythema annulare and chronic urticaria]. *Bratisl Lek Listy* 2000;101(4):194-9.
- 80.** Santos M, Ribeiro-Rodrigues R, Talhari C, Ferreira LC, Zelger B, Talhari S: Presence of *Borrelia burgdorferi* "Sensu Lato" in patients with morphea from the Amazonic region in Brazil. *Int J Dermatol* 2011;50(11):1373-8.
- 81.** Strle F, Preac-Mursic V, Ruzic E, Wilske B, Cimperman J: Isolation of *Borrelia burgdorferi* from a skin lesion in a patient with granuloma annulare. *Infection* 1991;19(5):351-2.
- 82.** Fernandez-Flores A, Ruzic-Sabljić E: Granuloma annulare displaying pseudorosettes in *Borelia* infection. *Acta Dermatovenerol Alp Panonica Adriat* 2008;17(4):171-6.
- 83.** Duray PH, Steere AC: Clinical pathologic correlations of Lyme disease by stage. *Ann N Y Acad Sci* 1988;539:65-79.
- 84.** Duray PH: Clinical pathologic correlations of Lyme disease. *Rev Infect Dis* 1989;11 Suppl 6:S1487-93.
- 85.** Ozkan S, Fetil E, Gunes AT, et al.: Cutis laxa acquisita: is there any association with *Borrelia burgdorferi*? *Eur J Dermatol* 1999;9(7):561-4.
- 86.** Eisendle K, Zelger B: The expanding spectrum of cutaneous borreliosis. *G Ital Dermatol Venereol* 2009;144(2):157-71.

- 87.** Zollinger T, Mertz KD, Schmid M, Schmitt A, Pfaltz M, Kempf W: *Borrelia* in granuloma annulare, morphea and lichen sclerosus: a PCR-based study and review of the literature. *J Cutan Pathol* 2010;37(5):571-7.
- 88.** Edmonds E, Mavin S, Francis N, Ho-Yen D, Bunker C: *Borrelia burgdorferi* is not associated with genital lichen sclerosus in men. *Br J Dermatol* 2009;160(2):459-60.
- 89.** Dlouhy P, Honegr K, Krbkova L, Picha D, Rohacova H, Struncova V: [Lyme borreliosis. Recommendations for diagnosis, therapy and prevention]. *Klin Mikrobiol Infekc Lek* 2011;17(4):144-9.
- 90.** Hercogova J, Fadrhoncova A, Jirous J: [Cutaneous forms of Lyme borreliosis in children]. *Cesk Pediatr* 1990;45(4):203-8.
- 91.** Hercogova J, Brzonova I: Lyme disease in central Europe. *Curr Opin Infect Dis* 2001;14(2):133-7.
- 92.** Weber K, Schierz G, Wilske B, Preac-Mursic V: European erythema migrans disease and related disorders. *Yale J Biol Med* 1984;57(4):463-71.
- 93.** Weinstein A, Britchkov M: Lyme arthritis and post-Lyme disease syndrome. *Curr Opin Rheumatol* 2002;14(4):383-7.
- 94.** Bartunek P, Zapletalova J, Nemecek J, Gorican K, Veselka J, Mrazek V: [Lyme carditis]. *Vnitr Lek* 1995;41(9):644-6.
- 95.** Biziorek B, Zagorski Z, Jedrzejewski D, Haszcz D: [Clinical manifestation and diagnosis of ocular borreliosis]. *Klin Oczna* 1997;99(2):129-32.
- 96.** Sauer A, Speeg-Schatz C, Hansmann Y: Two cases of orbital myositis as a rare feature of lyme borreliosis. *Case Rep. Infect Dis* 2011;372470, doi:10.1155/2011/372470.
- 97.** Mc Causland FR, Niedermaier S, Bijol V, Rennke HG, Choi ME, Forman JP: Lyme disease-associated glomerulonephritis. *Nephrol Dial Transplant*; 26(9): 3054-6.
- 98.** Strle F, Stanek G: Clinical manifestations and diagnosis of lyme borreliosis. *Curr Probl Dermatol* 2009;37:51-110.
- 99.** Moravcova L, Picha D, Vanousova D, Hercogova J: [Detection of borrelia DNA from patients with neuroborreliosis and erythema migrans]. *Klin Mikrobiol Infekc Lek* 2009;15(5):160-5.
- 100.** Wilske B: Diagnosis of lyme borreliosis in europe. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2003;3(4):215-27.
- 101.** Banyas GT: Difficulties with Lyme serology. *J Am Optom Assoc* 1992;63(2):135-9.
- 102.** Hunfeld KP, Kraiczky P, Wichelhaus TA, Schafer V, Brade V: Colorimetric in vitro susceptibility testing of penicillins, cephalosporins, macrolides, streptogramins, tetracyclines, and aminoglycosides against *Borrelia burgdorferi* isolates. *Int J Antimicrob Agents* 2000;15(1):11-7.
- 103.** Sicklinger M, Wienecke R, Neubert U: In vitro susceptibility testing of four antibiotics against *Borrelia burgdorferi*: a comparison of results for the three genospecies *Borrelia afzelii*, *Borrelia garinii*, and *Borrelia burgdorferi sensu stricto*. *J Clin Microbiol* 2003;41(4):1791-3.
- 104.** Janovska D, Hulinska D, Godova T: Sensitivity of *Borrelia burgdorferi* strains isolated in the Czech Republic. *Cent Eur J Public Health* 2001;9(1):38-40.
- 105.** Luft BJ, Dattwyler RJ, Johnson RC, et al.: Azithromycin compared with amoxicillin in the treatment of erythema migrans. A double-blind, randomized, controlled trial. *Ann Intern Med* 1996;124(9):785-91.
- 106.** Vanousova D, Hercogova J: Lyme borreliosis treatment. *Dermatol Ther* 2008;21(2):101-9.
- 107.** Donovan BJ, Weber DJ, Rublein JC, Raasch RH: Treatment of tick-borne diseases. *Ann Pharmacother* 2002;36(10):1590-7.

- 108.** Oksi J, Marttila H, Soini H, Aho H, Uksila J, Viljanen MK: Early dissemination of *Borrelia burgdorferi* without generalized symptoms in patients with erythema migrans. *Apmis* 2001;109(9):581-8.
- 109.** Strle F, Maraspin V, Pleterski-Rigler D, et al.: Treatment of borrelial lymphocytoma. *Infection* 1996;24(1):80-4.
- 110.** Schlesinger PA, Duray PH, Burke BA, Steere AC, Stillman MT: Maternal-fetal transmission of the Lyme disease spirochete, *Borrelia burgdorferi*. *Ann Intern Med* 1985;103(1):67-8.
- 111.** Maraspin V, Cimperman J, Lotric-Furlan S, Pleterski-Rigler D, Strle F: Erythema migrans in pregnancy. *Wien Klin Wochenschr* 1999;111(22-23):933-40.
- 112.** Schaumann R, Fingerle V, Buchholz K, Spencker FB, Rodloff AC: Facial palsy caused by *Borrelia* infection in a twin pregnancy in an area of nonendemicity. *Clin Infect Dis* 1999;29(4):955-6.
- 113.** Hercogova J, Vanousova D: Syphilis and borreliosis during pregnancy. *Dermatol Ther* 2008;21(3):205-9.
- 114.** Arnez M, Ruzic-Sabljić E: Lyme borreliosis and acute peripheral facial palsy in Slovenian children. *Pediatr Infect Dis J* 2010;29(2):182-4.
- 115.** Chmielewska-Badora J, Moniuszko A, Zukiewicz-Sobczak W, Zwolinski J, Piatek J, Pancewicz S: Serological survey in persons occupationally exposed to tick-borne pathogens in cases of co-infections with *Borrelia burgdorferi*, *Anaplasma phagocytophilum*, *Bartonella* spp. and *Babesia microti*. *Ann Agric Environ Med* 2012;19(2):271-4.
- 116.** Nadelman RB, Nowakowski J, Fish D, et al.: Prophylaxis with single-dose doxycycline for the prevention of Lyme disease after an *Ixodes scapularis* tick bite. *N Engl J Med* 2001;345(2):79-84.
- 117.** Marks DH: Neurological complications of vaccination with outer surface protein A (OspA). *Int J Risk Saf Med* 2011;23(2):89-96.
- 118.** Gordon W, Brownlee A, Wilson D: Studies on louping ill, tick-borne fever and scrapie. *Proc. 3rd Int Congr. Microbiol. NY, September 2-9, 1939, Int Assoc Microbiol NY 1940:262-3.*
- 119.** Hudson J: The recognition of tick-borne fever as a disease of cattle. *Brit. Vet. J.* 1950;(106):3-17.
- 120.** Tuomi J: Experimental studies on bovine tick-borne fever. Clinical and haematological data, some properties of the causative agent, and homologous immunity. *Acta Pathol. Microbiol. Scand.* 1967;(70):429-445.
- 121.** Gribble DH: Equine ehrlichiosis. *J Am Vet Med Assoc* 1969; 155(2): 462-9.
- 122.** Chen SM, Dumler JS, Bakken JS, Walker DH: Identification of a granulocytotropic *Ehrlichia* species as the etiologic agent of human disease. *J Clin Microbiol* 1994;32(3):589-95.
- 123.** Bakken JS, Dumler JS, Chen SM, Eckman MR, Van Etta LL, Walker DH: Human granulocytic ehrlichiosis in the upper Midwest United States. A new species emerging? *Jama* 1994;272(3):212-8.
- 124.** Dumler JS, Barbet AF, Bekker CP, et al.: Reorganization of genera in the families Rickettsiaceae and Anaplasmataceae in the order Rickettsiales: unification of some species of *Ehrlichia* with *Anaplasma*, *Cowdria* with *Ehrlichia* and *Ehrlichia* with *Neorickettsia*, descriptions of six new species combinations and designation of *Ehrlichia equi* and 'HGE agent' as subjective synonyms of *Ehrlichia phagocytophila*. *Int J Syst Evol Microbiol* 2001;51(Pt 6):2145-65.
- 125.** Brouqui P, Dumler JS, Lienhard R, Brossard M, Raoult D: Human granulocytic ehrlichiosis in Europe. *Lancet* 1995;346(8977):782-3.

- 126.** Petrovec M, Lotric Furlan S, Zupanc TA, et al.: Human disease in Europe caused by a granulocytic Ehrlichia species. *J Clin Microbiol* 1997;35(6):1556-9.
- 127.** de la Fuente J, Torina A, Naranjo V, et al.: Infection with *Anaplasma phagocytophilum* in a seronegative patient in Sicily, Italy: case report. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 2005;4:15.
- 128.** Alekseev AN, Dubinina HV, Van De Pol I, Schouls LM: Identification of Ehrlichia spp. and *Borrelia burgdorferi* in Ixodes ticks in the Baltic regions of Russia. *J Clin Microbiol* 2001;39(6):2237-42.
- 129.** Loebermann M, Fingerle V, Lademann M, Fritzsche C, Reisinger EC: *Borrelia burgdorferi* and *Anaplasma phagocytophilum* coinfection. *Emerg Infect Dis* 2006;12(2):353-5.
- 130.** Garcia JC, Nunez MJ, Castro B, et al.: Human anaplasmosis: the first Spanish case confirmed by PCR. *Ann N Y Acad Sci* 2006;1078:545-7.
- 131.** Grzeszczuk A, Puzanowska B, Zirako S: *Anaplasma phagocytophilum* infection in patients with early Lyme borreliosis, erythema migrans, in north-eastern Poland. *Clin Microbiol Infect* 2009;15 Suppl 2:17-8.
- 132.** Novakova M, Vichova B, Majlathova V, Lesnakova A, Pochybova M, Petko B: First case of human granulocytic anaplasmosis from Slovakia. *Ann Agric Environ Med* 2010;17(1):173-5.
- 133.** Haschke-Becher E, Bernauer R, Walleczek AM, et al.: First detection of the *Anaplasma phagocytophilum* groEL-A genotype in man. *J Infect* 2010;60(4):300-5.
- 134.** Cao WC, Zhao QM, Zhang PH, et al.: Granulocytic Ehrlichiae in *Ixodes persulcatus* ticks from an area in China where Lyme disease is endemic. *J Clin Microbiol* 2000;38(11):4208-10.
- 135.** Madewell BR, Gribble DH: Infection in two dogs with an agent resembling Ehrlichia equi. *J Am Vet Med Assoc* 1982;180(5):512-4.
- 136.** Anderson BE, Dawson JE, Jones DC, Wilson KH: Ehrlichia chaffeensis, a new species associated with human ehrlichiosis. *J Clin Microbiol* 1991;29(12):2838-42.
- 137.** Balatova P, Kurzova Z, Hulinska D: [Serology of Lyme borreliosis and human granulocytic ehrlichiosis in 2005-2010]. *Epidemiol Mikrobiol Imunol*;60(2):74-6.
- 138.** Hulinska D, Langrova K, Pejcoch M, Pavlasek I: Detection of *Anaplasma phagocytophilum* in animals by real-time polymerase chain reaction. *Apmis* 2004;112(4-5):239-47.
- 139.** Blanco JR, Oteo JA: Human granulocytic ehrlichiosis in Europe. *Clin Microbiol Infect* 2002;8(12):763-72.
- 140.** CDC: Centers for Disease Control and Prevention Anaplasmosis. 2013: <http://www.cdc.gov/anaplasmosis/stats/>.
- 141.** Magnarelli LA, Stafford KC, Mather TN, Yeh MT, Horn KD, Dumler JS: Hemocytic rickettsia-like organisms in ticks: serologic reactivity with antisera to Ehrlichiae and detection of DNA of agent of human granulocytic ehrlichiosis by PCR. *J Clin Microbiol* 1995;33(10):2710-4.
- 142.** Pancholi P, Kolbert CP, Mitchell PD, et al.: *Ixodes dammini* as a potential vector of human granulocytic ehrlichiosis. *J Infect Dis* 1995;172(4):1007-12.
- 143.** Agüero-Rosenfeld ME, Donnarumma L, Zentmaier L, et al.: Seroprevalence of antibodies that react with *Anaplasma phagocytophila*, the agent of human granulocytic ehrlichiosis, in different populations in Westchester County, New York. *J Clin Microbiol* 2002;40(7):2612-5.
- 144.** Bakken JS, Goellner P, Van Etten M, et al.: Seroprevalence of human granulocytic ehrlichiosis among permanent residents of northwestern Wisconsin. *Clin Infect Dis* 1998;27(6):1491-6.

- 145.** Demma LJ, Holman RC, McQuiston JH, Krebs JW, Swerdlow DL: Epidemiology of human ehrlichiosis and anaplasmosis in the United States, 2001-2002. *Am J Trop Med Hyg* 2005;73(2):400-9.
- 146.** Schicht S, Schnieder T, Strube C: Rickettsia spp. and coinfections with other pathogenic microorganisms in hard ticks from northern Germany. *J Med Entomol* 2011;49(3):766-71.
- 147.** Derdakova M, Stefancikova A, Spitalska E, et al.: Emergence and genetic variability of Anaplasma species in small ruminants and ticks from Central Europe. *Vet Microbiol* 2011;153(3-4):293-8.
- 148.** Grzeszczuk A: Anaplasma phagocytophilum in Ixodes ricinus ticks and human granulocytic anaplasmosis seroprevalence among forestry rangers in Bialystok region. *Adv Med Sci* 2006;51:283-6.
- 149.** Lasikova S, Moravcova L, Picha D, Holeckova D, Zdarsky E: [Detection of anti-Ehrlichia antibodies and direct demonstration of Ehrlichia nucleic acid using the polymerase chain reaction (PCR) in patients in the Czech Republic]. *Klin Mikrobiol Infekc Lek* 2004;10(1):25-9.
- 150.** CDC: Centers for Disease Control and Prevention. http://www.cdc.gov/epo/dphsi/casedef/ehrlichiosis_current.htm. 2013.
- 151.** Heikkila HM, Bondarenko A, Mihalkov A, Pfister K, Spillmann T: Anaplasma phagocytophilum infection in a domestic cat in Finland: Case report. *Acta Vet Scand* 2010;52:62.
- 152.** Petrovec M, Sixl W, Schweiger R, et al.: Infections of wild animals with Anaplasma phagocytophila in Austria and the Czech Republic. *Ann N Y Acad Sci* 2003;990:103-6.
- 153.** Hulinska D, Votypka J, Plch J, et al.: Molecular and microscopical evidence of Ehrlichia spp. and Borrelia burgdorferi sensu lato in patients, animals and ticks in the Czech Republic. *New Microbiol* 2002;25(4):437-48.
- 154.** Santino I, del Piano M, Sessa R, Favia G, Iori A: Detection of four Borrelia burgdorferi genospecies and first report of human granulocytic ehrlichiosis agent in Ixodes ricinus ticks collected in central Italy. *Epidemiol Infect* 2002;129(1):93-7.
- 155.** Katavolos P, Armstrong PM, Dawson JE, Telford SR, 3rd: Duration of tick attachment required for transmission of granulocytic ehrlichiosis. *J Infect Dis* 1998;177(5):1422-5.
- 156.** Zhang L, Liu Y, Ni D, et al.: Nosocomial transmission of human granulocytic anaplasmosis in China. *Jama* 2008;300(19):2263-70.
- 157.** Jereb M, Pecaver B, Tomazic J, et al.: Severe human granulocytic anaplasmosis transmitted by blood transfusion. *Emerg Infect Dis* 2012;18(8):1354-7.
- 158.** Bakken JS, Krueth J, Wilson-Nordskog C, Tilden RL, Asanovich K, Dumler JS: Clinical and laboratory characteristics of human granulocytic ehrlichiosis. *Jama* 1996;275(3):199-205.
- 159.** Dumler JS, Choi KS, Garcia-Garcia JC, et al.: Human granulocytic anaplasmosis and Anaplasma phagocytophilum. *Emerg Infect Dis* 2005;11(12):1828-34.
- 160.** Walker DH, Dumler JS: Emergence of the ehrlichioses as human health problems. *Emerg Infect Dis* 1996; 2(1):18-29.
- 161.** Aguero-Rosenfeld ME, Horowitz HW, Wormser GP, et al.: Human granulocytic ehrlichiosis: a case series from a medical center in New York State. *Ann Intern Med* 1996;125(11):904-8.
- 162.** Weil AA, Baron EL, Brown CM, Drapkin MS: Clinical findings and diagnosis in human granulocytic anaplasmosis: a case series from Massachusetts. *Mayo Clin Proc* 2012;87(3):233-9.
- 163.** Fichtenbaum CJ, Peterson LR, Weil GJ: Ehrlichiosis presenting as a life-threatening illness with features of the toxic shock syndrome. *Am J Med* 1993;95(4):351-7.

- 164.** Strle F, Videcnik J, Zorman P, Cimperman J, Lotric-Furlan S, Maraspin V: Clinical and epidemiological findings for patients with erythema migrans. Comparison of cohorts from the years 1993 and 2000. *Wien Klin Wochenschr* 2002;114(13-14):493-7.
- 165.** Horowitz HW, Aguero-Rosenfeld ME, Holmgren D, et al.: Lyme disease and human granulocytic anaplasmosis coinfection: impact of case definition on coinfection rates and illness severity. *Clin Infect Dis* 2013;56(1):93-9.
- 166.** Horowitz HW, Aguero-Rosenfeld ME, McKenna DF, et al.: Clinical and laboratory spectrum of culture-proven human granulocytic ehrlichiosis: comparison with culture-negative cases. *Clin Infect Dis* 1998;27(5):1314-7.
- 167.** Bakken JS, Erlemeyer SA, Kanoff RJ, Silvestrini TC, 2nd, Goodwin DD, Dumler JS: Demyelinating polyneuropathy associated with human granulocytic ehrlichiosis. *Clin Infect Dis* 1998;27(5):1323-4.
- 168.** Bakken JS, Dumler S: Human granulocytic anaplasmosis. *Infect Dis Clin North Am* 2008;22(3):433-48, viii.
- 169.** Bakken JS, Aguero-Rosenfeld ME, Tilden RL, et al.: Serial measurements of hematologic counts during the active phase of human granulocytic ehrlichiosis. *Clin Infect Dis* 2001;32(6):862-70.
- 170.** Brouqui P, Bacellar F, Baranton G, et al.: Guidelines for the diagnosis of tick-borne bacterial diseases in Europe. *Clin Microbiol Infect* 2004;10(12):1108-32.
- 171.** Knižek P, Koblíha J, Sedláček F: HGE v pardubickém regionu - kazuistika. *Voj. Zdrav. Listy* 2010;(1):186-1189.
- 172.** Wormser GP, Horowitz HW, Nowakowski J, et al.: Positive Lyme disease serology in patients with clinical and laboratory evidence of human granulocytic ehrlichiosis. *Am J Clin Pathol* 1997;107(2):142-7.
- 173.** Bakken JS, Dumler JS: Human granulocytic ehrlichiosis. *Clin Infect Dis* 2000;31(2):554-60.
- 174.** Buitrago MI, Ijdo JW, Rinaudo P, et al.: Human granulocytic ehrlichiosis during pregnancy treated successfully with rifampin. *Clin Infect Dis* 1998;27(1):213-5.
- 175.** Klein MB, Nelson CM, Goodman JL: Antibiotic susceptibility of the newly cultivated agent of human granulocytic ehrlichiosis: promising activity of quinolones and rifamycins. *Antimicrob Agents Chemother* 1997;41(1):76-9.
- 176.** American Academy of Pediatrics. *Ehrlichia* infections (human ehrlichioses). In: Pickering LK, Baker CJ, Overturf GD, Prober CG, eds. 2003 Red Book: report of the Committee on Infectious Diseases, 26th ed. Elk Grove Village, Illinois: American Academy of Pediatrics, Committee on Infectious Diseases; 2003:266--9
- 177.** Lochary ME, Lockhart PB, Williams WT, Jr.: Doxycycline and staining of permanent teeth. *Pediatr Infect Dis J* 1998;17(5):429-31.
- 178.** CDC: Centers for Disease Control and Prevention 2013: http://www.cdc.gov/epo/dphsi/casedef/ehrlichiosis_current.htm.
- 179.** Horowitz HW, Hsieh TC, Aguero-Rosenfeld ME, et al.: Antimicrobial susceptibility of *Ehrlichia phagocytophila*. *Antimicrob Agents Chemother* 2001;45(3):786-8.
- 180.** Dhand A, Nadelman RB, Aguero-Rosenfeld M, Haddad FA, Stokes DP, Horowitz HW: Human granulocytic anaplasmosis during pregnancy: case series and literature review. *Clin Infect Dis* 2007;45(5):589-93.
- 181.** Stamp JT, Watt JA, Jamieson S: Tick-borne fever as a cause of abortion in sheep. *Vet Rec* 1950;62(32):465-70.
- 182.** Machado RZ, Duarte JM, Dagnone AS, Szabo MP: Detection of *Ehrlichia chaffeensis* in Brazilian marsh deer (*Blastocerus dichotomus*). *Vet Parasitol* 2006;139(1-3):262-6.
- 183.** Lee M, Yu D, Yoon J, Li Y, Lee J, Park J: Natural co-infection of *Ehrlichia chaffeensis* and *Anaplasma bovis* in a deer in South Korea. *J Vet Med Sci* 2009;71(1):101-3.

- 184.** Kawahara M, Rikihisa Y, Lin Q, et al.: Novel genetic variants of *Anaplasma phagocytophilum*, *Anaplasma bovis*, *Anaplasma centrale*, and a novel *Ehrlichia* sp. in wild deer and ticks on two major islands in Japan. *Appl Environ Microbiol* 2006;72(2):1102-9.
- 185.** Paddock CD, Childs JE: *Ehrlichia chaffeensis*: a prototypical emerging pathogen. *Clin Microbiol Rev* 2003;16(1):37-64.
- 186.** Centers for Disease Control and Prevention: Annual Cases of Ehrlichiosis in the United States. <http://www.cdc.gov/Ehrlichiosis/stats/>, 2013.
- 187.** Hulínska D, Kurzova D, Drevova H, Votypka J: [First detection of Ehrlichiosis detected serologically and with the polymerase chain reaction in patients with borreliosis in the Czech Republic]. *Cas Lek Cesk* 2001;140(6):181-4.
- 188.** Cunha BA, Keim SM, Abuhammour W, Domachowske J, Bennett NJ: Ehrlichiosis. *Medscape*: <http://emedicine.medscape.com/article/235839-overview>. 2013.
- 189.** Treadwell TA, Holman RC, Clarke MJ, Krebs JW, Paddock CD, Childs JE: Rocky Mountain spotted fever in the United States, 1993-1996. *Am J Trop Med Hyg* 2000;63(1-2):21-6.
- 190.** Herwaldt BL, Linden JV, Bosserman E, Young C, Olkowska D, Wilson M: Transfusion-associated babesiosis in the United States: a description of cases. *Ann Intern Med* 2011;155(8):509-19.
- 191.** Vannier E, Gewurz BE, Krause PJ: Human babesiosis. *Infect Dis Clin North Am*. 2008;22(3):469-88.
- 192.** Brasseur P, Gorenflot A: Human babesial infections in Europe. *Rocz Akad Med Białymst* 1996;41(1):117-22.
- 193.** Nohynkova E, Kubek J, Mest'ankova O, Chalupa P, Hubalek Z: [A case of *Babesia microti* imported into the Czech Republic from the USA]. *Cas Lek Cesk* 2003;142(6):377-81.
- 194.** Staňková M, Marešová V, Vaništa J: *Repetitorium infekčních nemocí*. Praha: Triton, 2008.
- 195.** Votava M: *Lékařská mikrobiologie speciální: Neptun*, 2003.
- 196.** Thornsberry LA, English JC: Etiology, Diagnosis, and Therapeutic Management of Granuloma Annulare: An Update. *Am J Clin Dermatol* 2013;[Epub ahead of print].
- 197.** Nadelman RB, Horowitz HW, Hsieh TC, et al.: Simultaneous human granulocytic ehrlichiosis and Lyme borreliosis. *N Engl J Med* 1997;337(1):27-30.
- 198.** Amicizia D, Domnich A, Panatto D, et al.: Epidemiology of tick-borne encephalitis (TBE) in Europe and its prevention by available vaccines. *Hum Vaccin Immunother* 2013;9(5):[Epub ahead of print].
- 199.** Hubalek Z: Epidemiology of lyme borreliosis. *Curr Probl Dermatol* 2009;37:31-50.
- 200.** Cimperman J, Maraspin V, Lotric-Furlan S, Ruzic-Sabljić E, Avsic-Zupanc T, Strle F: Double infection with tick borne encephalitis virus and *Borrelia burgdorferi sensu lato*. *Wien Klin Wochenschr* 2002;114(13-14):620-2.
- 201.** Lommano E, Bertaiola L, Dupasquier C, Gern L: Infections and coinfections of questing *Ixodes ricinus* ticks by emerging zoonotic pathogens in Western Switzerland. *Appl Environ Microbiol* 2012;78(13):4606-12.
- 202.** Cisak E, Chmielewska-Badora J, Zwolinski J, Wojcik-Fatla A, Polak J, Dutkiewicz J: Risk of tick-borne bacterial diseases among workers of Roztocze National Park (south-eastern Poland). *Ann Agric Environ Med* 2005;12(1):127-32.
- 203.** Mayne PJ: Emerging incidence of Lyme borreliosis, babesiosis, bartonellosis, and granulocytic ehrlichiosis in Australia. *Int J Gen Med* 2011;4:845-52.
- 204.** Hulínská D, Votypka A: Průkaz *Borrelia*, *Anaplasma*, *Bartonella* a *Rickettsia* sp. V klíšťatech rodu *Ixodes ricinus* v roce 2007 a 2008 v pražských parcích. *Zprávy epidemiologie a mikrobiologie, SZÚ*, Praha 2009;18:5.

- 205.** Christova IS, Dumler JS: Human granulocytic ehrlichiosis in Bulgaria. *Am J Trop Med Hyg* 1999;60(1):58-61.
- 206.** Lebech AM, Hansen K, Pancholi P, Sloan LM, Magera JM, Persing DH: Immunoserologic evidence of Human Granulocytic Ehrlichiosis in Danish patients with Lyme neuroborreliosis. *Scand J Infect Dis* 1998;30(2):173-6.
- 207.** Christova I, Gladnishka T: Prevalence of infection with *Francisella tularensis*, *Borrelia burgdorferi sensu lato* and *Anaplasma phagocytophilum* in rodents from an endemic focus of tularemia in Bulgaria. *Ann Agric Environ Med* 2005;12(1):149-52.
- 208.** Steere AC, McHugh G, Suarez C, Hoitt J, Damle N, Sikand VK: Prospective study of coinfection in patients with erythema migrans. *Clin Infect Dis* 2003;36(8):1078-81.
- 209.** Rittig MG, Krause A, Haupl T, et al.: Coiling phagocytosis is the preferential phagocytic mechanism for *Borrelia burgdorferi*. *Infect Immun* 1992;60(10):4205-12.
- 210.** Strle F, Wormser GP, Mead P, et al.: Gender disparity between cutaneous and non-cutaneous manifestations of Lyme borreliosis. *PLoS One*; 8(5): e64110.
- 211.** Fulop B, Poggensee G: Epidemiological situation of Lyme borreliosis in Germany: surveillance data from six Eastern German States, 2002 to 2006. *Parasitol Res* 2008; 103 Suppl 1: S117-20.
- 212.** Bacon RM, Kugeler KJ, Mead PS: Surveillance for Lyme disease--United States, 1992-2006. *MMWR Surveill Summ* 2008; 57(10): 1-9.
- 213.** Bennet L, Stjernberg L, Berglund J: Effect of gender on clinical and epidemiologic features of Lyme borreliosis. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2007; 7(1): 34-41.
- 214.** Zoldi V, Juhasz A, Nagy C, Papp Z, Egyed L: Tick-borne encephalitis and Lyme disease in Hungary: the epidemiological situation between 1998 and 2008. *Vector Borne Zoonotic Dis*; 13(4): 256-65.
- 215.** Filipiuk J, Nowicka-Cieluszecka A, Tarasiuk J, Pancewicz S: [Occurrence of erythema migrans in Hajnowka district in years 2004-2009]. *Przegl Epidemiol*; 66(1): 19-23.
- 216.** Basta J, Plch J, Hulinska D, Daniel M: Incidence of *Borrelia garinii* and *Borrelia afzelii* in *Ixodes ricinus* ticks in an urban environment, Prague, Czech Republic, between 1995 and 1998. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1999;18(7):515-7.
- 217.** Niscigorska-Olsen J, Wodecka B, Moranska I, Skotarczak B: Genospecies of *Borrelia burgdorferi sensu lato* in patients with erythema migrans. *Ann Agric Environ Med* 2008;15(1):167-70.
- 218.** Wormser GP, Aguero-Rosenfeld ME, Cox ME, et al.: Differences and similarities between culture-confirmed human granulocytic anaplasmosis and early Lyme disease. *J Clin Microbiol* 2013;51(3):954-8.
- 219.** Schotthoefer AM, Meece JK, Ivacic LC, et al.: Comparison of a Real-time PCR Method with Serology and Blood Smear Analysis for Diagnosis of Human Anaplasmosis: Importance of Infection Time Course for Optimal Test Utilization. *J Clin Microbiol*.2013;51(7):2147-53.
- 220.** Hulinska D, Votypka J, Vanousova D, et al.: Identification of *Anaplasma phagocytophilum* and *Borrelia burgdorferi sensu lato* in patients with erythema migrans. *Folia Microbiol (Praha)* 2009;54(3):246-56.
- 221.** Goodman JL, Nelson C, Vitale B, et al.: Direct cultivation of the causative agent of human granulocytic ehrlichiosis. *N Engl J Med* 1996;334(4):209-15.
- 222.** Zeman P, Pazdiora P, Cinatl J: HGE antibodies in sera of patients with TBE in the Czech Republic. *Int J Med Microbiol* 2002;291(Suppl 33):190-3.
- 223.** Zeman P, Pazdiora P, Rebl K, Cinatl J: [Antibodies to granulocytic Ehrlichiae in the population of the western and central part of the Czech Republic]. *Epidemiol Mikrobiol Imunol* 2002;51(1):13-8.

- 224.** Venclikova K, Rudolf I, Mendel J, Betasova L, Hubalek Z: Rickettsiae in questing *Ixodes ricinus* ticks in the Czech Republic. *Ticks Tick Borne Dis*; 5(2): 135-8
- 225.** La Scola B, Raoult D: Laboratory diagnosis of rickettsioses: current approaches to diagnosis of old and new rickettsial diseases. *J Clin Microbiol* 1997;35(11):2715-27.
- 226.** Belongia EA, Reed KD, Mitchell PD, et al.: Clinical and epidemiological features of early Lyme disease and human granulocytic ehrlichiosis in Wisconsin. *Clin Infect Dis* 1999;29(6):1472-7.
- 227.** Horowitz HW, Kilchevsky E, Haber S, et al.: Perinatal transmission of the agent of human granulocytic ehrlichiosis. *N Engl J Med* 1998;339(6):375-8.
- 228.** Arnez M, Luznik-Bufon T, Avsic-Zupanc T, et al.: Causes of febrile illnesses after a tick bite in Slovenian children. *Pediatr Infect Dis J* 2003; 22(12): 1078-83.
- 229.** <http://www.cdc.gov/anaplasmosis/symptoms/>
- 230.** Zollinger T, Mertz KD, Schmid M, Schmitt A, Pfaltz M, Kempf W: *Borrelia* in granuloma annulare, morphea and lichen sclerosus: a PCR-based study and review of the literature. *J Cutan Pathol*; 37(5): 571-7.
- 231.** Ziemer M, Grabner T, Eisendle K, Baltaci M, Zelger B: Granuloma annulare--a manifestation of infection with *Borrelia*? *J Cutan Pathol* 2008;35(11):1050-7.
- 232.** Espinoza-Leon F, Arocha F, Hassanhi M, Arevalo J: [Using the polymerase chain reaction to *Borrelia burgdorferi* infection in localized scleroderma in (morphea), in Venezuelan patients]. *Invest Clin* 2010;51(3):381-90.
- 233.** Strle F: Human granulocytic ehrlichiosis in Europe. *Int J Med Microbiol* 2004;293 Suppl 37:27-35.