

STŘEDOŠKOLSKÁ ODBORNÁ ČINNOST

Obor SOČ: 06: Zdravotnictví

Onemocnění způsobené bakterií

rodu Borrelia

Disease called Lyme borreliosis

Autor :	Lucie Černá
Škola:	Střední odborná škola ekologická a potravinářská ve Veselí nad Lužnicí, Blatské sídliště 600/ I
Konzultant:	Ing. Milena Hlásková

Veselí nad Lužnicí 2013

Klíčová slova

Lymeská borelióza – infekční onemocnění vyvolané bakteriemi rodu *Borrelia*. Svůj název dostala od amerického městečka Old Lyme, kde byla prokázána.

Bakterie rodu *Borrelia* – je to spirochetální, gramnegativní bakterie s periplastmatickými bičíky, tvar má tělo šroubovice, pohybuje se vývrtkovitým pohybem.

Klíště obecné (*Ixodes ricinus*)- je to parazitický roztoč, přenašeč bakterií LB. Žije ve vegetaci, samičky a nymfy se živí krví hostitele, kterým bývají většinou obratlovci.

Způsob přenosu – prostřednictvím klíštěte, diskutuje se o přenosu hmyzem.

Diagnostika lymeské boreliózy – založena na klinickém obrazu, epidemiologické anamnéze a laboratorních testech.

Screeningové vyšetření vzorku – pomocí laboratorní metody ELISA, tzv. sendvičovou metodou

Konfirmační vyšetření vzorku – pomocí laboratorní metody Westernblot, používá se pro identifikaci specifických proteinů v komplexní směsi.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem svou práci vypracovala samostatně a použila jsem pouze podklady (literaturu, SW atd.) uvedené v příloženém seznamu.

Nemám závažné důvody proti zpřístupňování této práce v souladu se zákonem č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) v platném znění.

Ve Veselí n. Luž., dne 13. 3. 2013

Podpis:

Poděkování

Děkuji paní Ing. Mileně Hláskové za cenné rady, připomínky a trpělivost při vedení mé maturitní práce. Dále bych chtěla poděkovat vedení Klinických laboratoří Tábor za cenné rady a konzultace, za poskytnutí důležitých dat pro vypracování praktické části maturitní práce a za vykonání povinné školní praxe v červnu loňského roku.

Abstrakt

Maturitní práce se zabývá onemocněním nazývané Lymeská borelióza (LB). Teoretická část má za cíl seznámit čtenáře s historií onemocnění, původci a přenašeči LB či s příznaky nemoci. Praktická část je zaměřená na zjištění rozšířenosti nákazy mezi veřejností. Pro vypracování praktické části jsem sestavila dotazník o počtu 13 otázek. Získaná data jsem sestavila do grafů. Dále jsem v praktické části vyhodnotila údaje z databáze Klinických laboratoří Tábor. Tyto údaje jsou ze sérologického vyšetření krve metodou ELISA, sloužící k prokázání protilátek třídy IgM a IgG proti bakterii rodu *Borrelia*.

Abstract

This graduation work deals with a disease called Lyme borreliosis (LB). The aim of the theoretical part is to familiarize the reader with the history of the disease, agents and vectors of LB, or symptoms of the disease. The practical part is focused on finding the prevalence of infection among the general public. For the development of the practical part, I compiled a questionnaire on the number of 13 questions. The obtained data were compiled into graphs. Then I practiced the assessment of the data from the database of Clinical Laboratories Tábor. These data are from the serological ELISA blood test, used to demonstrate antibodies IgM and IgG against the bacteria of the genus *Borrelia*.

Obsah

1. Úvod	8
2. Teoretická část.....	9
2.1 Historie Lymeské boreliózy	9
2.2 Původci Lymeské boreliózy	10
2.2.1. Spirochéty.....	10
2.2.2. Rod Borrelia	11
2.3 Přenašeč – Klíště obecné (<i>Ixodes</i>).....	13
2.3.1. Vývoj klíštěte	13
2.3.2. Výskyt klíšťat	15
2.4 Způsob přenosu – kousnutí nebo bodnutí?.....	15
2.5 Příznaky nemoci	17
2.6 Stádia nemoci	17
2.6.1. Časné lokalizované stádium	17
2.6.2. Časné disseminované stádium.....	18
2.6.3. Pozdní stádium	18
2.7 Postižení jednotlivých systémů	18
2.7.1. Postižení kůže.....	18
2.7.2. Neuroborelióza	20
2.7.3. Lymeská karditida	20
2.7.4. Postižení oka	21
3. Praktická část.....	22
3.1 Metodika.....	22
3.1.1. Diagnostika Lymeské boreliózy.....	22
3.1.2. Screeningové vyšetření vzorků pomocí ELISA testů	23

3.1.3. Konfirmační vyšetření pomocí metody Westernblot	23
3.2 Vyhodnocení dotazníku.....	25
3.2.1. Dotazník: Lymeská borelióza.....	25
4. Diskuze.....	44
5. Závěr.....	47
6. Seznam použité literatury.....	48
6.1 Seznam literatury.....	48
6.2 Seznam citací.....	49
6.3 Zdroje obrázků	49
7. Seznam zkratk	50
8. Seznam příloh.....	51

1. Úvod

Pro svou maturitní práci jsem si vybrala téma „Onemocnění přenášené bakterií rodu *Borrelia*“. K výběru tohoto tématu mě inspirovala má maminka, která pracuje v Klinických laboratořích Tábor. V laboratoři jsem měla možnost načerpat důležité informace k vypracování této maturitní práce.

V České republice se ročně vyskytne okolo 4 000 nových případů onemocnění Lymeskou boreliózou. I přes tento vysoký počet nakažených u nás informovanost zaostává. Lidé se obvykle o tomto onemocnění dozví, poté co jim ho lékař diagnostikuje. Možná, kdyby byla veřejnost lépe seznámena s počátečními příznaky a s preventivním opatřením, mohla by se jejich onemocnění diagnostikovat a léčit mnohem dříve, čímž by byli ušetřeni mnohých útrap provázejících toto onemocnění.

Lymeská borelióza je infekční onemocnění vyvolané bakteriemi rodu *Borrelia*. Svůj název dostala od amerického městečka Old Lyme, kde byla poprvé prokázána. Vyskytuje se v Evropě, Asii a Severní Americe. Při této nemoci dochází ke klinickému poškození kůže, nervového systému, kloubů, srdce a vzácně i oka a svalů. V současné době se průběh onemocnění dělí na dvě stádia: akutní a chronické. Přenašečem tohoto onemocnění je klíště. Naše země je svými přírodními podmínkami vhodná pro existenci tohoto přenašeče a navíc pokud bude pokračovat trend globálního oteplování, teritoriální výskyt klíštěte by se rozšířil i do lokalit, kde se dříve klíšťata nevyskytovala.

2. Teoretická část

2.1 Historie Lymeské boreliózy

Onemocnění bylo prokázáno v americkém městečku Old Lyme ve státě Connecticutu roku 1975, kde byl zaznamenán vysoký výskyt onemocnění kloubů u dětí. Na podnět rodičů nemocných dětí vysílá do oblasti státní zdravotní odbor odborníka Allena Steera. Záhadným onemocněním ve městečku onemocnělo 39 dětí a 12 dospělých.

V roce 1975 na popud dvou pečlivých matek uskutečnil Dr. Steer epidemiologická vyšetření. Zjistilo se, že většina pacientů žila v lesních oblastech a že se první příznaky objevily v létě. Více jak čtvrtina nemocných potvrdila, přítomnost kožní vyrážky připomínající zarudlý kruh s bílým středem. Obdobnou skvrnu popsal již v roce 1909 švédský dermatolog Arvid Afzeeli, který ji dával do souvislosti s kousnutím klíštěte. Pacienti z Old Lyme si však přítomnost klíštěte nevybavovali a proto se Dr. Steer v roce 1976 se pustil do testování jejich krve na protilátky všech virových onemocnění přenášená klíšťaty a ostatními členovci. Ani jeden případ se však nepotvrdil. V pátrání mu pomohla návštěva evropského lékaře ve městě Yale, od něhož se dozvěděl, že na tento typ vyrážky je úspěšně používán penicilin, což ho navedlo na bakteriální příčinu Lymeské boreliózy.

Willi Burgdorfer byl považován za předního experta na virová onemocnění klíšťat a proto byl přizván k rozborům vzorků pacientů. Dr. Steer v roce 1980 začal uplatňovat antibiotika v léčbě boreliózy, kdy výsledky v prvním stádiu byly pozitivní. O dva roky později byla v krevním vzorku objevena přítomnost doposud neznámé bakterie z rodu *Borrelia*, kterou po jejím objeviteli nazvali burgdorferi.

2.2 Původci Lymeské boreliózy

Původci Lymeské boreliózy jsou bakterie rodu *Borrelia*, které patří do kmene spirochéty.

2.2.1. Spirochéty

Spirochéty jsou gramnegativní bakterie, které jsou spirálovitě zatočené, dají se ohýbat a jsou pohyblivé. Jsou chemoheterotrofní, anaerobní a volně žijící.

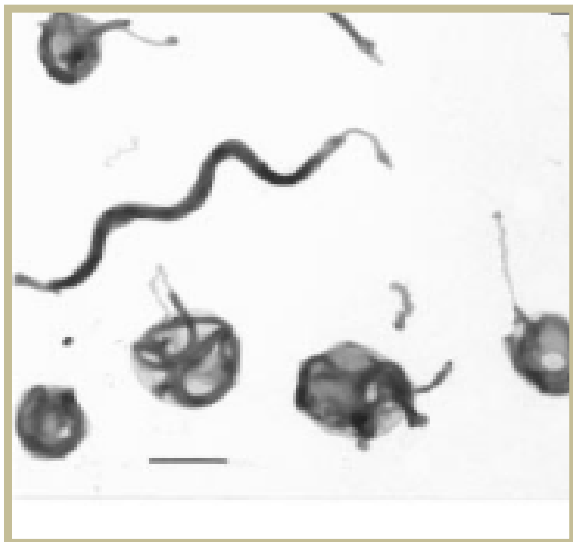
Vyskytují se v kalech, bahně, ve znečištěných vodách, ve střevních tekutinách, v otevřených tělních dutinách. Vyhovuje jim snížená tenze kyslíku. Jsou křehké, nesnáší zmraznutí, teplota pro rozmnožování musí být pod 37 °C. Přispívají k rozkladu bílkovin, způsobují nemoci. Jsou to velmi starobylé organismy. Většinou žijí se svým hostitelem v dlouhodobém příměří a za vzájemně výhodných podmínek.

Spirochéty jsou dlouhé, tenké, ohebné buňky charakteristického šroubovitého tvaru, 5 - 500 µm dlouhé a 0,2 - 7 µm široké. Jsou velmi pohyblivé, a to díky tzv. osovému vláknu, což je kontraktilní struktura podobná bakteriálnímu bičíku, která je zabudovaná v buněčné stěně a spirálně se ovíjí kolem protoplastu. Osová vlákna vedou od pólů buňky k jejímu středu, kde se protilehlá vlákna více či méně přesahují. Díky tomu se spirochéty pohybují vývrtkovitým otáčením kolem své vlastní osy nebo smršťováním a natahováním celé buňky.

Spirochéty se množí příčným dělením, případně pučením. Jsou schopny tvořit cysty, blepsy, či tzv. L-formy, bez buněčných stěn. Takto jsou schopny se vyhnout antibiotikům, která působí na buněčnou stěnu (Penicilíny, Cefalosporiny).

čeledi: (Votýpka, J. A.: 2009)

1. čeleď: Leptospiraceae s rody *Leptospira*, *Leptonema* a *Turneria*
2. čeleď: Spirochaetaceae s rody *Spirochaeta*, *Cristispira*, *Treponema*, *Brachyspira* a *Borrelia*



Obr. č. 1: Spirochéty



Obr. č. 2: Spirochéty

2.2.2. Rod *Borrelia*

Z klinicko – patologického hlediska můžeme rod *Borrelia* rozdělit do dvou skupin. Na původce lymeské boreliózy (LB) – *Borrelia burgdorferi* a původce vyvolávající návratné horečky – např. *Borrelia recurrentis* a *Borrelia Hermini*.

Původce LB je spirochetální bakterie *Borrelia burgdorferi* sensu lato, která byla objevena v době, kdy se mělo za to, že existuje jen jeden druh vyvolávající LB. U nás jsou nejvíce rozšířené *Borrelia burgdorferi* sensu stricto, *Borrelia afzelii* a *Borrelia garinii*. Dále jsou známe např. *Borrelia valaisiana*, *Borrelia lusitaniae*, *Borrelia Japonica*, atd.

Borrelia burgdorferi je gramnegativní bakterie s periplasmatickými bičíky. Její velikost kolísá mezi 8 až 30 μm na délku a 0,2 až 0,3 μm na šířku. Jejich tělo má tvar šroubovice se třemi až deseti nerovnoměrnými záhyby. Pohybují se vývrtkovým pohybem.

Obal bakterie je tvořen trojvrstvou membránou. V periplasmatickém prostoru mezi zevní membránou a protoplasmou bakterie jsou umístěny bičíky (endoflagely). Bičíky jsou duté, nespouzďené a jejich počet kolísá mezi 7 až 11. Zevní membrána má relativně nízkou denzitu pro transmembránový transport proteinů. Zevní membrána se skládá ze 42 % proteinů, 50 % lipidů a 4 % sacharidů. Tento neobvyklý povrch zvyšuje schopnost borrelií přežívat v savcích i klíšťatech. Má zásadní význam, jelikož podmiňuje neobyčejnou genetickou proměnlivost, antigenní variabilitu a přizpůsobivost.

Významnými bílkovinami pro spoluvytváření zevní membrány jsou:

1. OspA: lipoprotein, molekulová hmotnost 80 – 82 kDa
2. OspB: molekulová hmotnost 34 – 36 kDa
3. OspC: molekulová hmotnost 21 – 24 kDa
4. Další povrchové antigeny, lipoproteiny OspD (28 kDa), OspE (19 kDa), OspF (26 kDa) jsou strukturní složky membrány s různým stupněm exprese v závislosti na fázi životního cyklu. (Votava, M.: 2003)

Vnitřní část bakterie tvoří tzv. protoplasmatický cylindr. Ten je složen z buněčné stěny, cytoplasmatické membrány a vlastní cytoplasmy. Flexibilita membrány umožňuje vysouvání bičíků proximálním a distálním směrem, tvorbu cyst a vylučování vezikul (blebs), které mají stejnou stavbu jako buněčná membrána a obsahují plasmidovou genetickou výbavu. Borrelie, které jsou bez bičíků, vytvářejí nepravidelné struktury (cysty, granuly).

2.3 Přenašeč – Klíště obecné (*Ixodes*)

Klíště patří do kmene členovci (*Arthropoda*), podkmen klepíkatci (*Celicerata*), třída pavoukovci (*Arachnida*) a řád roztoči (*Acarina*), rod klíště (*Ixodes*), druh klíště obecné (*Ixodes ricinus*).

Klíšťata rozlišujeme na dvě velké skupiny: klíšťáci a klíšťata. Klíšťáci se při pohledu shora podobají prostému kožovitému vaku, jejich kusadla se nalézají na břišní straně a jsou viditelná poté, co klíšťáky obrátíme břichem vzhůru. K nejvýznamnějším zástupcům ve střední Evropě patří klíšťák holubí (*Argas reflexus*). (Kimmig, P.; Hassler, D.; Braun, R.: 2003)

Klíšťata jsou na zádech vybavena silným štítem, který obsahuje chitin. U samečků tento štítek překrývá celé tělo, u samic asi jen polovinu. Díky tomuto štítu jsou chráněny, jsou špatně rozmáčkнут. Klíšťata jsou dále rozpoznatelná i podle kusadel, která směřují dopředu a lze je snadno spatřit při pohledu shora. Ve volné přírodě se více vyskytují právě klíšťata.



Obr. č. 3: Klíště obecné



Obr. č. 4: Klíště obecné

2.3.1. Vývoj klíštěte

Vývoj klíšťat se dělí do několika stádií, která se od sebe oddělují svlékáním blan. Klíšťáci potřebují k dosažení pohlavní dospělosti čtyři až osm vývojových stádií. U klíšťat stačí k pohlavní dospělosti jen tři stádia: z vajíčka se nejprve vylíhne šestinohá larva a z ní pak osminohá nymfa. Posledním stádiem tzv. dospělcem, je pohlavně zralá samička nebo sameček.

U klíšťat je pevně stanoven počet sání i množství hostitelů. Podle počtu hostitelů rozdělujeme klíšťata na: jednohostitelská – klíšťata s jedním hostitelem, ta zůstávají po celou

dobu svého života na stejném hostiteli, klíšťata dvouhostitelská – ta projdou během svého života jednorázovou změnou hostitele, a klíšťata trojhostitelská. U nás fauna zahrnuje téměř bez výjimky trojhostitelská klíšťata.

U trojhostitelského klíštěte napadne nejdříve larva vhodného hostitele, pak se pustí a zahrabaná v zemi se svléká. Poté se mění na nymfu. V podobě nymfy si opět hledá nejpříjemnějšího hostitele, stejně jako larva od něj po chvíli odpadne, aby se mohla svléknout a přeměnit v pohlavně zralejší stádium, v dospělce. I dospělec si hledá svého hostitele, aby si zajistil příjem potravy. Při tomto vývoji může docházet k dlouhým čekacím prodlevám, které však klíšťata díky své rozvinuté schopnosti hladovět dokážou přežít bez jakékoliv újmy. (Kimmig, P.; Hassler, D.; Braun, R.: 2003)

Celý vývin klíštěte od vajíčka až po pohlavně dospělého jedince podléhá značným výkyvům a trvá od jednoho a půl roku až do čtyř a půl let. Ve střední Evropě, která má specifickou vlhkost i tepelné podmínky, spadá první vrchol výskytu klíšťat od období jara a časného léta. Samičky poté nakladou vajíčka a přezimují stejným způsobem jako larvy, nymfy a neoplozené samičky.



Obr. č. 5: Klíště obecné – vývojová stádia

2.3.2. Výskyt klíšťat

Stejně jako většina roztočů, i klíšťata potřebují pro svůj život vysokou vlhkost vzduchu (7 %). Takové mikroklima se u nás vyskytuje v lesích s nižším porostem a se značným množstvím travin. Dále na okraji lesů, v křovinatých oblastech a v místech, kde rostou kapradiny. Klíšťata se hojně nacházejí také díky zvýšené vlhkosti vzduchu v okolí řek a se stoupající nadmořskou výškou jejich počet klesá.

Ve vegetaci v různých nadmořských výškách se vyskytují klíšťové biotopy s jednotlivými vývojovými stadii klíšťat a pohlavně zralými jedinci. Larvy, které vyžadují nejvyšší vlhkost, se nacházejí v těsné blízkosti u země, až do výšky dvaceti centimetrů. V tomto výškovém rozpětí se nacházejí i jejich hostitelé, což znamená hlodavci – norník rudý, myšice lesní a myšice křovinná. Nymfy vylézají na rostliny, tedy do výšky deseti až padesáti centimetrů. Nymfy se díky výšce, kam vylézají, snadno dostávají na větší zvířata, jako je jezek, veverka. Dospělci šplhají ze všech tří stádií nejvýše. V přírodě se nacházejí až ve výšce kolem jednoho metru, proto padají na velkou zvěř, jako jsou srnci, domácí zvířata, ale také člověk.

2.4 Způsob přenosu – kousnutí nebo bodnutí?

Lymeská borelióza patří mezi zoonózy. Nákazu přenáší klíště. O přenosu hmyzem se stále diskutuje. Někteří ho považují za možný, jiní jej odmítají. Pravdou je, že v některých druzích hmyzu byly spirochéty nalezeny a jsou popsány i klinické projevy LB po štípnutí hmyzem. Při štípnutí hmyzem se však za nejpravděpodobnější v současné době považuje nepřímý mechanismus, kdy je hmyz rozdrčen a spirochéty se tak mohou do organismu dostat malými oděrkami na kůži. Možný je i přenos LB vertikální cestou z matky na plod, vzácně pak při krevní transfúzi. Přenos sexuální cestou se nepotvrdil. (Roháčová, H.: 2005)

Klíšťata jsou vybavena složitým smyslovým ústrojím zvaným „Hallerovým orgánem“. Tento orgán se nachází na koncích předních končetin klíštěte a dokáže zachytit mechanické, tepelné i chemické podněty. Klíště vyhledá svého hostitele na základě otřesů, vyzařovaného tepla a vydechovaného oxidu uhličitého. Poté co klíště svého hostitele rozpozná, sedí s roztaženými předními končetinami a čeká na správný okamžik, aby se na něj vysoukalo nebo spadlo. Když se klíště na hostitele dostane, začne hledat vhodné místo pro své působíště. Vhodná místa jsou ta s tenkou kůží a vlhkým prostředím, jako například oblast třísel nebo podpaží. Pro nalezení takových míst má klíště po stranách zařízení zvané pedipalpy, která se nacházejí po stranách kusadel. Než najdou klíšťata správné působíště, může to trvat i celé

hodiny. Aby se dostali ke zdroji potravy, musejí použít nejprve tzv. chelicery, což jsou malé nožičky pohybující se navzájem proti sobě a tak dokážou pokožku proříznout. V tomto případě by se dalo ještě hovořit o kousnutí, ale při následném ději půjde jednoznačně o bodnutí. O bodnutí hovoříme tehdy, kdy klíště použije zařízení hypostom. Hypostom je masivní sosáček. Sosáček je z chytinu a je opatřen zpětnými háčky, které slouží k uchycení klíštěte k pokožce. Uchycení je tak pevné, že pro zvířata už není možné, aby si přisáté klíště sama vytáhla, jsou jakoby přilepené. Podle toho vychází i jejich vědecké pojmenování - *Ixodes* (řecky znamená *ixos* lepidlo, *klih*).

Při vlastním sání vyměšují klíšťata sliny, které se dostávají do rány žlábkem v hypostomu. Sliny působí jako anestetikum a chemické látky obsažené v nich zabraňují krvácení. Délka sání závisí na vývojovém stádiu klíštěte. Důležité je i to, že přenosu infekce jsou schopny již zárodečné formy klíštěte, které jsou pro svoji barvu i velikost těžko rozpoznatelné. Pro přenos infekce je považován interval nejméně 24 hodin. Spirochéty jsou obsaženy ve střevě klíšťat a hematogenní cestou se šíří v organismu klíštěte a dostávají se do slinných žláz, ze kterých se následně při sání vylučují do člověka nebo do zvířete.

Lymeská borelióza se vyskytuje v průběhu celého roku a vzhledem k velmi odlišným délkám inkubační doby u různých stádií onemocnění se nedá zařadit k typicky sezónním infekcím.

2.5 Příznaky nemoci

Onemocnění Lymeská borelióza má velmi pestrý klinický obraz. Existují zcela jasné formy prokazující, že se jedná o toto onemocnění, jindy je celá řada klinických jednotek, jejichž symptomatologie je velmi různorodá a často je velmi obtížné stanovit, zda se jedná o LB či nikoliv.

Pro jednodušší stanovení diagnostiky Lymeské boreliózy byly vypracovány klasifikační schémata, která se mírně liší v Evropě a USA. Evropská kritéria rozdělujeme podle organizace EUCLAB.

Přes veškerou snahu o stanovení jasných kritérií zůstávají četné problémy při stanovení ne zcela typických obrazů LB.

V současné době se klinické formy dělí na akutní a chronické, však dlouhou dobu bylo používáno a stále se ještě používá dělení do 3 stádií: časné lokalizované, časné disseminované a pozdní stádium.

U LB platí, že infekce může postihnout v podstatě jakýkoliv orgán, nejvíce však postihuje kůži (67 %), muskuloskeletální systém (17 %) a nervový systém (12 %). Zbýlá část připadá na méně časté formy – oční, kardiální, a další. Inkubační doba u jednotlivých forem kolísá v průběhu onemocnění mezi týdny, měsíci až lety.

2.6 Stádia nemoci

2.6.1. Časné lokalizované stádium

Do kůže nejčastěji borreliie vstupují po přisátí klíštěte, v pokožce se pak pomnožují a u části pacientů vyvolávají charakteristický erythem.

Prvotní výsev erytému je velký asi 5 cm a obvykle se objevuje za 3 – 30 dní, ojediněle i později. Nejčastěji se však první příznaky projeví po 7 až 10 dnech od přisátí klíštěte. Někdy se erythemová ložiska objevují i na jiných místech těla než na původním místě přisátí klíštěte, což dalo označení erythema migrans. Součástí tohoto stádia jsou nespecifické příznaky jako je bolest hlavy, zvýšená teplota, nechutenství, únava, bolest svalů a kloubů, lymfadenitida. Jelikož u některých pacientů se erythema migrans neobjeví a zůstane jen u nespecifických potíží, bývá těžké včas diagnostikovat a léčit Lymeskou boreliózu. Dále je

však prokázáno, že část pacientů si nepamatuje kontakt s klíštětem, nebo ani nezaznamenají přisátí klíštěte, zejména přísají- li se maličké nymfy klíšťat.

Bakterie v tomto stádiu nemoci lze prokázat biopsií, ale lékaři ji provádějí jen v ojedinělých případech. Pokud jste se nakazili před méně jak dvěma měsíci, nemají význam ani krevní testy, jelikož ty měří hladinu protilátek v krvi proti bakteriím. Protilátky se totiž tvoří s určitým zpožděním po nakažení. V této fázi nákazy je ještě poměrně snadná léčba vhodnými antibiotiky, bohužel se v této fázi onemocnění často neprokáže.

2.6.2. Časné diseminované stádium

Borrelie jsou při tomto stádiu hematogenně diseminovány během několika dnů až týdnů po celém organismu. Ke kožním projevům v tomto stádiu patří borreliový lymfocytom, nebo může toto stádium zahrnovat neurologické, revmatologické či kardiální projevy onemocnění. Během asi jednoho až dvou měsíců se borrelie objevují v mozkové tkáni, játrech či myokardu.

V této fázi onemocnění zhruba v prvním měsíci od vstupu borrelií do organismu, se začínají tvořit protilátky. Zpočátku především třídy IgM, kolem čtvrtého až šestého týdne pak začíná tvorba protilátek třídy IgG. Načasování dvou odběrů krve k sérologickému vyšetření zhruba s měsíčním odstupem prokáže sérokonverzi nebo signifikantní změnu titru protilátek.

Časnou protilátkovou odpověď stimuluje zejména málo specifický flagelin a OspC.

2.6.3. Pozdní stádium

V tomto stádiu nemoci představuje kožní projevy acrodermatis chronica atrophicans (ACA). Může se rozvinout po končetinách, trupu nebo i v obličeji. ACA se může projevit s odstupem měsíců, někdy i let od prvotních kožních projevů.

2.7 Postižení jednotlivých systémů

2.7.1. Postižení kůže

Kožní projevy nemoci jsou nejtypičtějším postižením při nemoci.

Nejčastější z nich je erythema migrans (EM). Jedná se o kruhovou či oválnou afekci, která se projeví po několika dnech až týdnech v místě po přisátí klíštěte. Průměrná doba výskytu afekce je 10 dní. EM se však nemusí vyskytnout přímo v místě, kde se klíště přisálo,

může i migrovat po těle. Erythema migrans je nebolestivé, jeho velikost může dosáhnout několika desítek centimetrů. U dětí bývá pozorována méně často než u dospělých. EM po několika týdnech či dnech zmizí i bez léčby. Po nějakém čase se mění, od středu bledne a kolem zbývá jasně kolorovaný okraj. U některých pacientů se mohou objevit i sekundární erythemy, které jsou obvykle menší, a bývá jich více.

Druhou typickou dermatózou je borreliový lymfocytom. Vyskytuje se v místě přisátí klíštěte, ale i mimo něj. Přednostními místy, kde se lymfocytom projevuje, jsou – ušní lalůček, nos, prsní bradavka či šourek. Jde o nebolestivé zduření červenofialové či modrofialové barvy. Odlišují se dva typy – častější je typ lokalizovaný, vzácnější pak typ diseminovaný.



Obr. č. 6: Erythema migrans



Obr. č. 7: Erythema migrans



Obr. č. 8: Borreliový lymfocytom

2.7.2. Neuroborelióza

Při neuroborelióze dochází k postižení nervového systému. Toto postižení je při nákaze velmi časté a stále roste. Postižen může být centrální i periferní nervový systém. Do nervové tkáně se infekce dostává krevní cestou.

Klinické projevy neuroboreliózy (NB) jsou velmi pestré. Akutní NB může postihovat centrální i periferní nervový systém. Projevy akutní centrální neuroboreliózy jsou meningitida (zánět mozkových blan) a encefalitida (zánět mozku, způsoben virovou infekcí). Tyto dvě jednotky často splývají v meningoencefalitidu. Jejich odlišení je dáno neurologickým nálezem v mozkomíšním moku. Postižení míchy vede k myelitidě (zánětu míchy), která je mnohem vzácnější. Encefalitida a meningoencefalitida bývají často provázeny obrnami hlavových nervů. Nejčastější a nejtypičtější je obrna lícního nervu, kdy se může jednat i o oboustranné postižení. (Roháčová, H.: 2005)

Dalším velmi charakteristickým projevem u neuroboreliózy je Garinův – Bujadouxův – Bannwarthův syndrom (je to zánětlivé postižení nervového systému, jde o postižení mozkové pleny, nervové kořeny). Jedná se o meningoradikulitidu (zánět míšních nervů s projevy meningeálního dráždění), která je charakterizována chabými periferními parézami, někdy i lícního nervu, dále aspektickým likvorovým nálezem a krutými radikulárními bolestmi. U tohoto typu obrny jde obvykle o asymetrické postižení a jejich začátek nemusí být vždy na dolních končetinách. (Roháčová, H.: 2005)

2.7.3. Lymeská karditida

Lymeská karditida nese pod svým názvem onemocnění srdce borreliovou infekcí. Vyskytuje se v disseminované i chronické fázi nemoci a to u 4 – 10 % pacientů. Lidé by její příznaky neměli brát na lehkou váhu, neboť neléčená karditida by mohla vést až k dilatované kardiomyopatii se srdečním selháváním až k fatálnímu konci.

Projevy postižení srdce mají shodnou symptomatologii s jinými chorobami vedoucími k postižení kardiovaskulárního aparátu. Projevy postižení srdce jsou tlak na hrudníku, palpitace, dušnost, celkový diskomfort nemocného. Není zatím zjištěno, proč u některých pacientů dochází až k selhání srdce, zatímco u jiných probíhá onemocnění prakticky asymptoticky.

2.7.4. Postižení oka

Oční postižení u Lymeské boreliózy není časté, může se však vyskytnout v několika klinických formách. Výskyt se obvykle objevuje v akutním stádiu, v chronickém je také možný, ale jen vzácně. V akutním stádiu se může postižení oka projevit po několika dnech od napadení bakterie a vyskytuje se asi u 10 % pacientů.

Onemocnění se na začátku projevuje fotofobií, což může vést k neovaskularizaci a k jizvení postižené oblasti. Postižení oka úzce souvisí s postižením nervového systému, tedy obrny u dalších hlavových nervů.

3. Praktická část

3.1 Metodika

Maturitní práci jsem začala vypracovávat v červnu loňského roku. První informace a materiály jsem získala při vykonávání povinné školní praxe v Klinických laboratořích Tábor. V laboratoři jsem měl možnost seznámit se s laboratorními metodami ELISA a Westernblot. V této laboratoři probíhá diagnostika bakterií *Borrelia burgdorferi* a *Borrelia afzelli*. Od laboratoře jsem získala data ze sérologického vyšetření metody ELISA, které jsem vyhodnotila do tabulek podle roku a měsíce vyšetření a podle pohlaví pacientů. Na základě zkušeností ze školní praxe jsem vypracovala dotazník o počtu 13 otázek. Dotazník jsem rozdělila na 2 části. První část obsahovala 6 otázek pro širokou veřejnost a druhá část obsahovala 7 otázek pro pacienty s nákazou Lymeská borelióza. Celkový počet vyplněných dotazníků je 25. Z tohoto čísla mám 17 dotazníků vyplněných od osob s nákazou Lymeská borelióza a 8 dotazníků od osob bez nákazy. Svou anketu jsem zveřejnila i na serveru www.borelioza.cz, kde si široká veřejnost sděluje své problémy i rady. Mně se díky tomuto serveru podařilo získat několik vyplněných dotazníků. Ze získaných údajů jsem sestavila grafy.

3.1.1. Diagnostika Lymeské boreliózy

Diagnostika Lymeské boreliózy je založena na klinickém obrazu, epidemiologické anamnéze a laboratorních testech, zejména stanovení specifických protilátek třídy IgM a IgG v séru, plazmě, synoviální tekutině nebo mozkomíšním moku. Tvorba protilátek je docela pozdní, jelikož IgM se začínají tvořit ve 2. – 4. týdnu od nákazy. Jejich výskyt vrcholí mezi 3. – 8. týdnem. V průběhu výskytu protilátek třídy IgM se začínají tvořit i protilátky třídy IgG. Pozitivní hodnota protilátek nemusí nutně znamenat aktivní onemocnění, může jít i o přetrvávání protilátek po léčbě LB, o paměťové protilátky, či zkříženou sérologickou reakcí mezi nepatogenními a spirochetálními bakteriemi.

Při stanovení specifických protilátek je dle EUCLAB (European Union Concerted Action on Lyme Borreliosis) doporučeno dvoukrokové schéma vyšetření:

1. Screeningové vyšetření vzorků pomocí vysoce citlivých ELISA testů
2. Konfirmační vyšetření vzorků s hraničními a pozitivními výsledky ve screeningovém testu pomocí Westernblot testů (Test – Line: 2012)

3.1.2. Screeningové vyšetření vzorků pomocí ELISA testů

ELISA test je nejpoužívanější screeningové vyšetření, měří množství protilátek třídy IgM a IgG.

Průkaz protilátek:

Metoda ELISA používá k detekci protilátek tzv. **sendvičovou metodu**. Při této metodě je antigen navázán na pevnou fázi. Na antigen se pak váže značená protilátka. Po inkubaci a promytí se na navázanou protilátku váže antiglobulin značený enzymem (antiglobulin musí být druhově odlišný od stanovované protilátky) a vznikne tzv. sendvič. Po další inkubaci a promytí následuje detekce enzymové aktivity komplexu vázaného na pevnou fázi. (Lukš, D.; Šedivý, M.; Müllerová, A.: Test – Line)

Princip testu:

Imunoenzymatická souprava ke stanovení IgM/IgG protilátek proti *Borrelia burgdorferi* / *Borrelia afzelii* v lidském séru, plazmě, mozkomíšním moku nebo v synoviální tekutině a k průkazu intratektální syntézy specifických protilátek.

Souprava EIA (enzymová imunoanalýza) *Borrelia* recombinant IgM/IgG (192) je určena ke stanovení antiboreliových protilátek třídy IgM/IgG v lidském séru nebo v krevní plazmě. Antigeny jsou imobilizovány na vnitřním povrchu jamek mikrotitrační destičky. Specifické protilátky přítomné ve vzorku se naváží na imobilizovaný antigen, a na ně se v dalším kroku naváže zvířecí protilátka proti lidskému IgM/IgG označená křenovou peroxidázou (Konjugát). Peroxidázová aktivita vázaná na pevnou fázi je pak semikvantitativně detekována pomocí chromogenního substrátu. Pozitivita se projevuje modrým zbarvením, které se Zastavovacím roztokem změní na žluté, jehož intenzita se měří na fotometru při vlnové délce 450nm. (Test – Line: 2011)

3.1.3. Konfirmační vyšetření pomocí metody Westernblot

Metoda Westernblot se používá pro identifikaci specifických proteinů v komplexní směsi a zároveň pro stanovení jejich molekulové hmotnosti. V praxi je využíván v klinické diagnostice hlavně pro identifikaci specifických proteinů a dále hodnotí antigenní specifity, enzymovou aktivitu nebo vazby ligandů.

Westernblot test je určen především pro confirmaci vzorků, které byly metodami EIA nebo jiným sérologickým vyšetřením určeny jako pozitivní nebo hraniční.

Princip testu

V laboratoři se k vyšetření metody Westernblot používají komerčně připravované soupravy.

Před detekcí specifických proteinů se provádí vyblokování nespecifických vazebných míst použitím nespecifického proteinu, který neovlivní následnou imunodetekci. Princip této detekce obsahuje následující kroky. Nejprve dochází k reakci se specifickými protilátkami,

kteře jsou přítomny v pozitivním vzorku. Protilátky se naváží na příslušné specifické antigeny navázané na membráně. V následujícím kroku dochází k reakci těchto protilátek se sekundární protilátkou značenou buď alkalickou fosfatázou, nebo křenovou peroxidázou. Ve třetím a posledním kroku dojde po reakci s příslušným systémem chromogen – substrát k obarvení navázaných protilátek. Zbarvené linie na membráně hovoří o přítomnosti či nepřítomnosti specifických protilátek v roztoku vzorku.

Detekce v praxi probíhá následujícím způsobem. Nejprve se jednotlivé proužky na membráně tzv. stripy smáčí v Univerzálním roztoku. Poté je nanesen roztok vzorku v příslušném ředění a následuje 30 min. inkubace se vzorkem. Po odsátí roztoku vzorku je strip promýván Univerzálním roztokem, a to 3 x 5 min. Promývání probíhá proto, aby byly dokonale odstraněny veškeré komponenty séra, které se nenavázaly na membránu. Následuje opět 30 min. inkubace s konjugátem. Po odsátí konjugátu a po dalším promytí Univerzálním roztokem se nanáší substrátový roztok s chromogenem. Inkubace nyní trvá 15 min, poté se strip promývá destilovanou vodou a to 2 x 5 min, čímž dojde k zastavení barevné reakce. Pak se strip vysuší a teprve s dokonale suchým stripem se provádí hodnocení. (Lukš, D.; Šedivý, M.; Müllerová, A.: Test – Line)

Hodnocení výsledků (Test – Line: 2010)

Pro vyhodnocení výsledku testu obsahuje souprava protokol s vyobrazením validačního stripu, kde je uvedena poloh jednotlivých specifických linií.

Na zpracovaném Westerblot stripu je patrná řada příčných proužků, které odpovídají pozitivní reakci protilátek s jednotlivými separovanými antigeny o příslušné molekulové hmotnosti. Vyhodnocují se pouze proužky, které korespondují s pozicemi na validačním stripu vyobrazeném na protokolu.

Hodnocení specifických linií provádíme za a) pomocí vizuálního hodnocení nebo za b) pomocí softwarového hodnocení.

a) Vizuální hodnocení:

Každý strip obsahuje v oblasti nad startovní linií tzv. kontrolní cut – off linii, jejíž intenzita odpovídá hraniční hodnotě. Při hodnocení testu tedy platí, jeli intenzita kterékoliv ze specifických linií menší než intenzita cut – off linie, hodnotíme tuto linii jako negativní (avšak obecně platí, že i negativní séra mohou na stripech vyvolat slabý signál). Pokud je intenzita jakékoliv specifické linie větší než intenzita cut – off linie, hodnotíme ji jako pozitivní. Odpovídá – li však intenzita specifické linie intenzitě cut – off linie, hodnotíme ji jako hraniční.

b) Softwarové hodnocení

Při softwarovém hodnocení slouží cut – off linie pouze k ověření validity testu.

Specifické linie jsou hodnoceny následujícím způsobem:

Negativní linie (< 8 %) – označujeme jako „bez linie“

Hraniční linie (8 – 10 %) – označujeme jako „slabá linie“

Pozitivní linie (> 10 %) – označujeme jako „výrazná linie“

3.2 Vyhodnocení dotazníku

3.2.1. Dotazník: Lymeská borelióza

Tento dotazník slouží k vypracování maturitní práce na téma: Lymeská borelióza.
Maturitní práce bude zveřejněna na SOŠ Ekologické a potravinářské ve Veselí nad Lužnicí.

1. Pohlaví

.....
.....

2. Jak se chráníte před klíšťaty při pobytu v přírodě?

.....
.....

3. Kontrolujete se po příchodu z přírody, zda jste si s sebou nepřinesli prisáté klíště?

.....
.....

4. Víte, jaké dvě nejzávažnější onemocnění přenáší klíště?

.....
.....

5. Prodělal / a jste nebo přetrvává u Vás nemoc Lymeská borelióza?

.....
.....

6. Víte, jak se může zjistit nákaza Lymeské boreliózy?

.....
.....

Dále pokračuje dotazník jen pro pacienty s nákazou Lymeské boreliózy.

7. Jak se u Vás projevily první příznaky nákazy?

.....
.....
.....
.....

8. Jakými antibiotiky jste se léčily / léčíte?

.....
.....

9. Změnil se Váš stav po léčbě antibiotiky?

.....
.....

10. Jaké příznaky u Vás přetrvávají?

.....
.....
.....
.....

11. Užívali jste nebo užíváte nějaké potravinové doplňky, či účastnili jste se nějaké alternativní léčby?

.....
.....
.....
.....

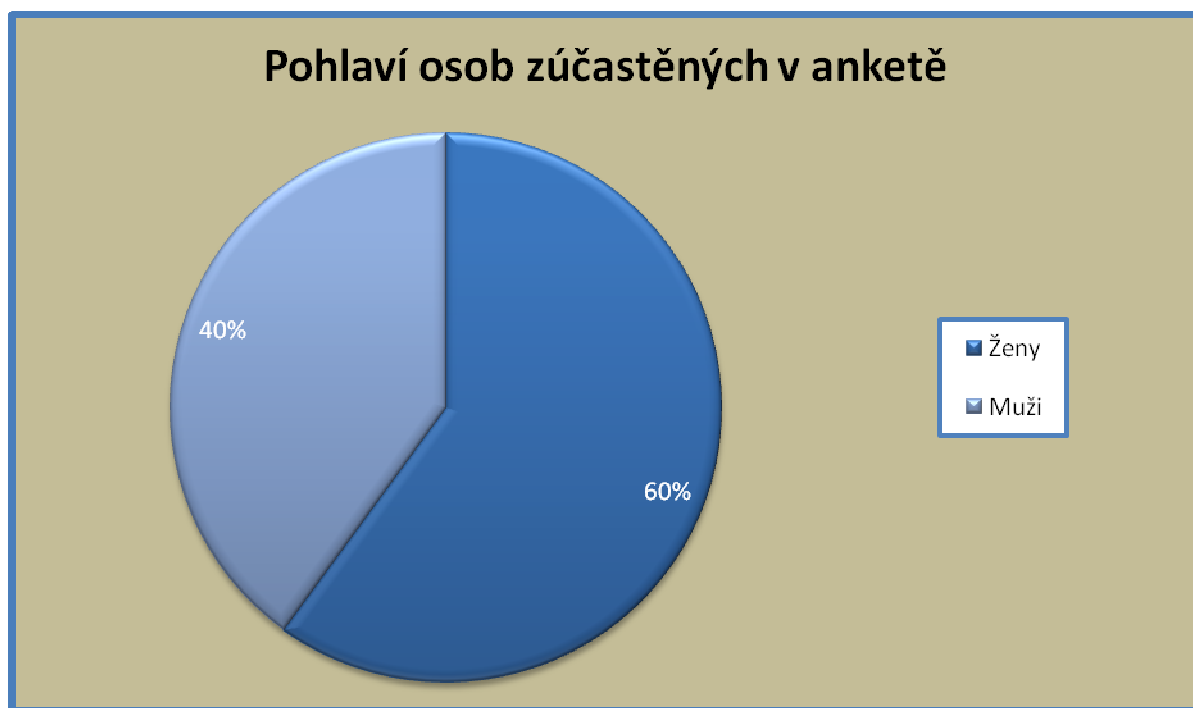
12. V čem Vás v běžném životě nemoc omezuje?

.....
.....
.....
.....
.....

13. Oblast, kraj kde jste se nakazili?

.....
.....

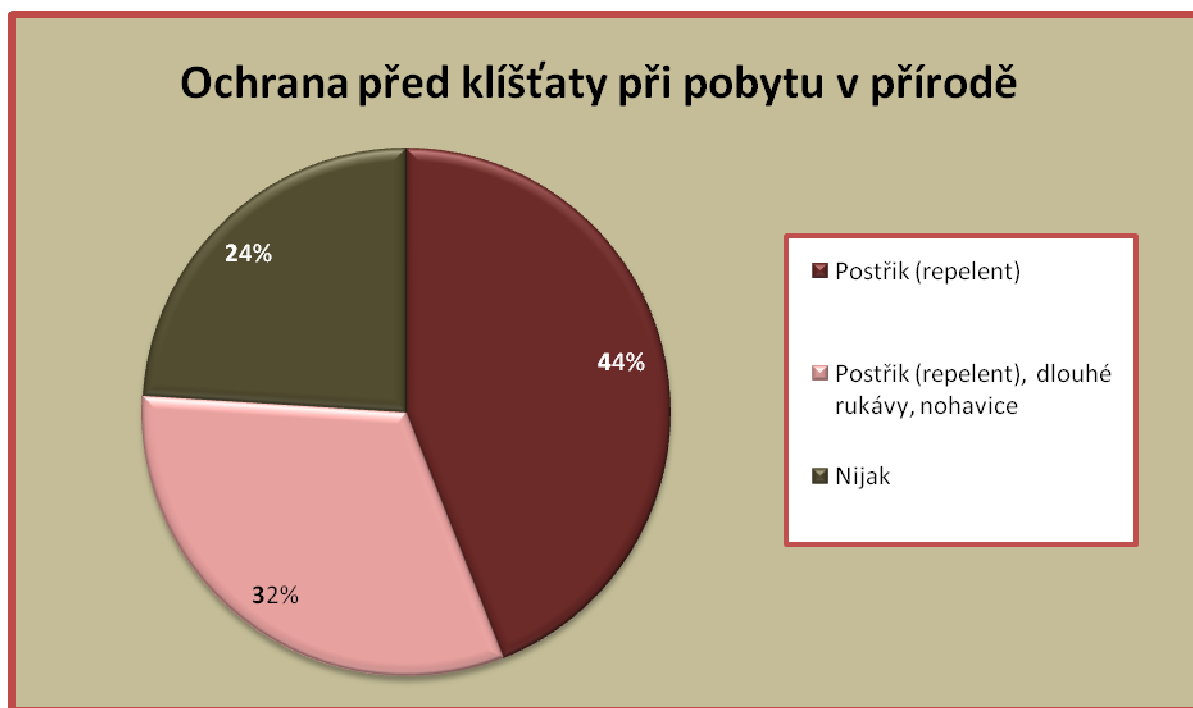
1. Pohlaví



Graf č. 1: Pohlaví osob zúčastněných v anketě.

V této anketě odpovídalo z celkového počtu 25 dotázaných občanů 15 žen a 10 mužů. Mezi ženami odpovídali 4 bez nákazy Lymeské boreliózy a 11 žen s prodělanou nákazou Lymeské boreliózy. Mezi muži odpovídali 6 s nákazou Lymeské boreliózy a 4 bez nákazy. Tato otázka byla ve vyplňování dotazníků pouze orientační, bez další návaznosti.

2. Jak se chráníte před klíšťaty při pobytu v přírodě



Graf č. 2: Ochrana před klíšťaty při pobytu v přírodě

Na otázku: Jak se chráníte před klíšťaty při pobytu v přírodě, byla nejčastější odpověď postříkem. Takto odpovědělo 44 % dotázaných. 32 % dotázaných občanů odpovědělo, že používají postřík za kombinace ještě dalších opatření především dlouhých rukávů či nohavic. Poměrně překvapující číslo vyšlo, že 24 % dotázaných se při pobytu v přírodě před klíšťaty vůbec nechrání. Větší ochrana před klíšťaty byla zjištěna u žen než u mužů. Z 10 dotázaných mužů vyšlo, že před klíšťaty se nechrání 6 mužů a to i po prodělání nákazy.

3. Kontrolujete se po příchodu z přírody, zda jste si s sebou nepřinesli přisáté klíště?



Graf č. 3: Kontrola po příchodu z přírody, kvůli klíšťatům

Kontrola po příchodu z přírody je velmi důležitá a to především při vysoké aktivitě klíšťat. Doporučená prohlídka těla je večer a ráno a poté případné odstranění klíšťat. V odstranění klíštěte hraje velkou roli čas. I kdyby bylo klíště infikované, neznamená to vždy, že se člověk musí nakazit Lymeskou boreliózou. Bakterie potřebují čas, aby se dostali do těla, udává se asi 2 hodiny.

V žádném případě by se nemělo na klíště nanášet mast ani oleje. Ty totiž klíště zadusí a následuje vyvrhnutí střev do rány. Před jeho vytažením můžeme klíště pouze pokapat desinfekcí. Avšak mnohem vhodnější způsob je použít speciální kleštičky, kartu či pinzetu. Klíště uchytíme co nejbližší u kůže a pomalými kývavými pohyby ho vytáhneme. Podstatné je, že bychom měli brát zřetel na vytažení celého klíštěte spolu s hlavičkou. Po vytažení klíštěte by se měla rána potřít desinfekcí. Klíště se nesmí rozmačkávat mezi prsty, jelikož by mohlo dojít ke kontaktu s jeho střevy. Klíště by se nemělo ani pálit, může se třeba spláchnout do odpadu.

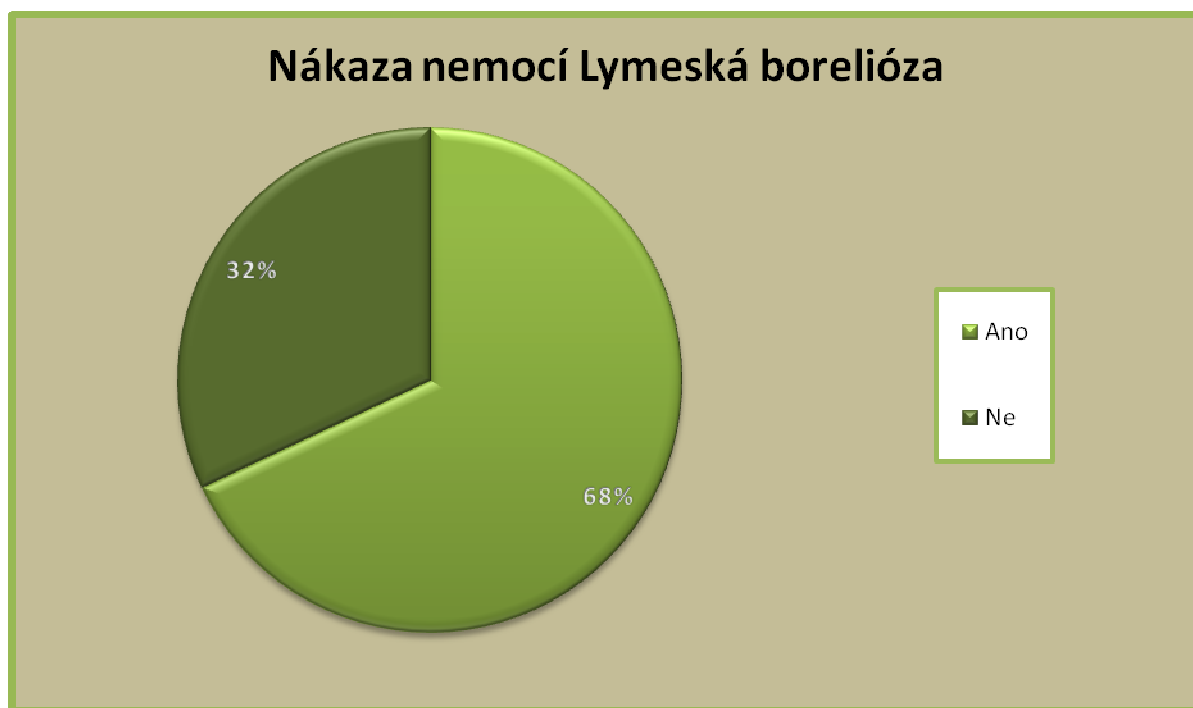
4. Víte, jaké dvě nejzávažnější onemocnění přenáší klíště?



Graf č. 4: Dvě nejzávažnější onemocnění přenášené klíšťaty

Poměrně překvapující počet procent se projevil v otázce číslo 5: Jaké znáte dvě nejznámější onemocnění přenášené klíšťaty, kdy pouze jeden člověk odpověděl, že neví, jinak 96 % odpovědělo správně, že to jsou onemocnění Lymeská borelióza a Klíšťová encefalitida.

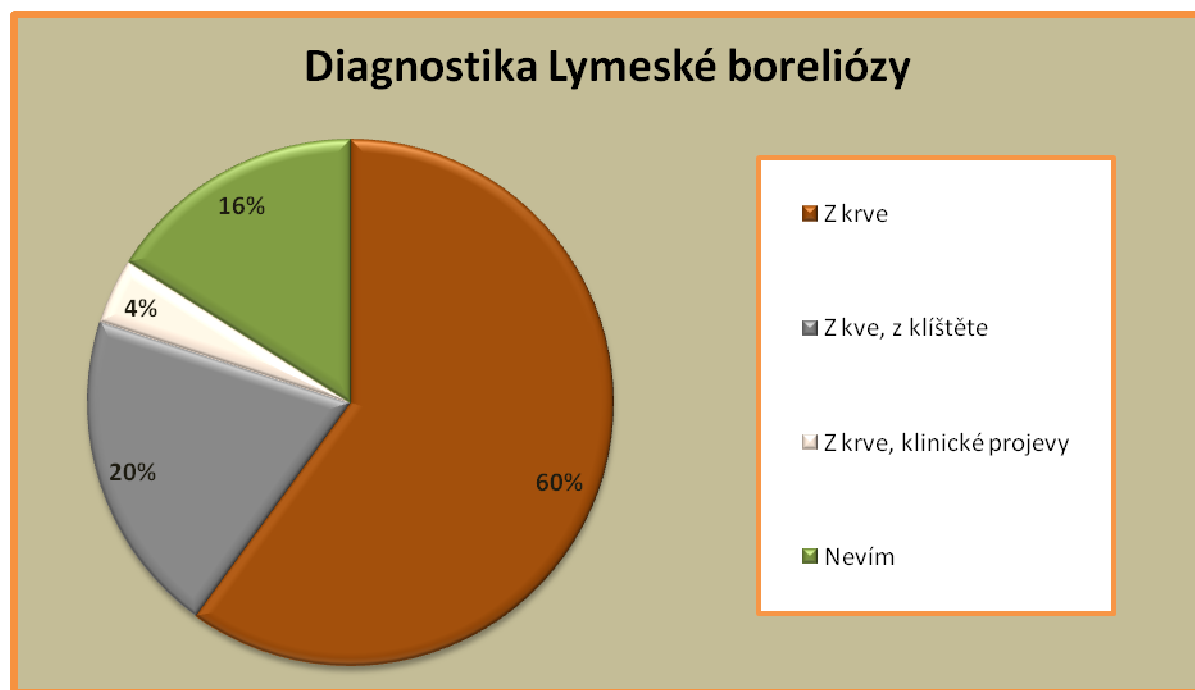
5. Prodělal/a jste nebo přetrvává u vás nemoc Lymeská borelióza?



Graf č. 5: Nákaza nemocí Lymeská borelióza

Z 25 dotázaných odpovědělo 18 občanů (68 %), že prodělali nákazu Lymeská borelióza a 8 občanů (32 %), že ne.

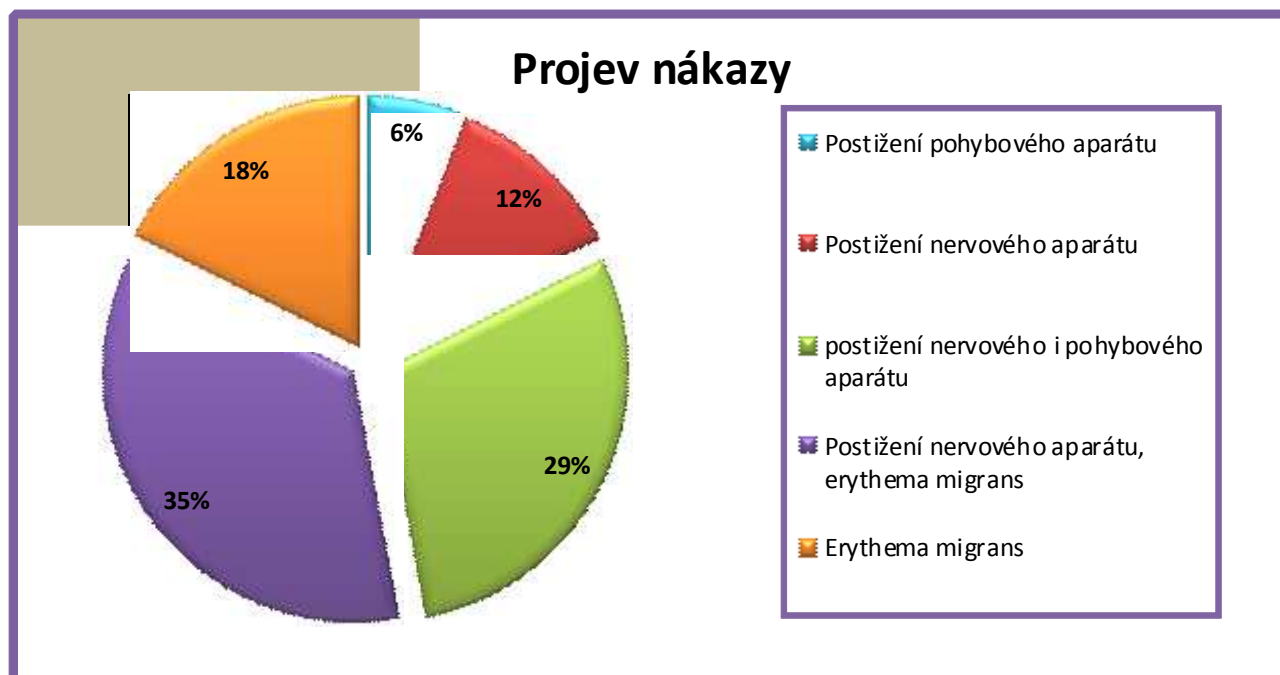
6. Víte, jak se může zjistit nákaza Lymeské boreliózy?



Graf č. 6: Diagnostika Lymeské boreliózy

Otázka: Víte, jak se může zjistit nákaza Lymeské boreliózy, odpověděla většina dotázaných, že z krve (60 %). 20 % odpovědělo, že se může nákaza zjistit z krve i z klíštěte. Malé procento odpovědělo, že kromě z rozborů krve jsou příznaky Lymeské boreliózy i klinické projevy, jako erythema migrans, bolest hlavy, kloubů, apod. Pouze 16 % dotázaných odpovědělo, že neví, jak se nemoc vyšetřuje.

7. Jak se u vás projeví první příznaky nákazy?



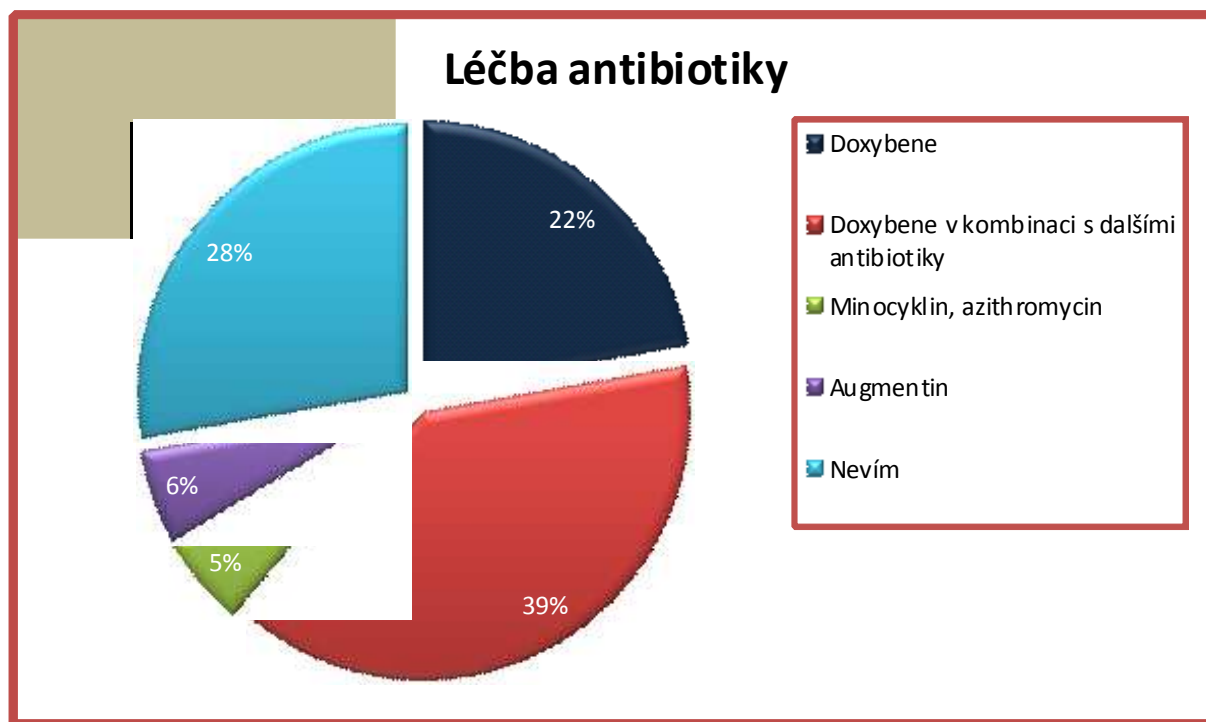
Graf č. 7: Projev nákazy

Od této otázky se dotazník vztahoval pouze k pacientům s nákazou Lymeská borelióza. Pacienti měli nejčastější problémy s postižením nervového aparátu a výskytem erythema migrans. Tímto postižením trpělo 35 % dotázaných. 29 % pacientů trpělo především postižením nervového i pohybového aparátu, 18 % si všimlo výskytu erythema migrans a 12 % trpělo postižením nervového aparátu. Pouhých 6 % si stěžovalo na problémy spojené pouze s pohybovým aparátem.

Mezi postižení nervového aparátu řadí bolesti hlavy, migrény, zapomínání.

Mezi postižení pohybového aparátu patří bolest kloubů, svalů, nadměrné křupání v kloubech.

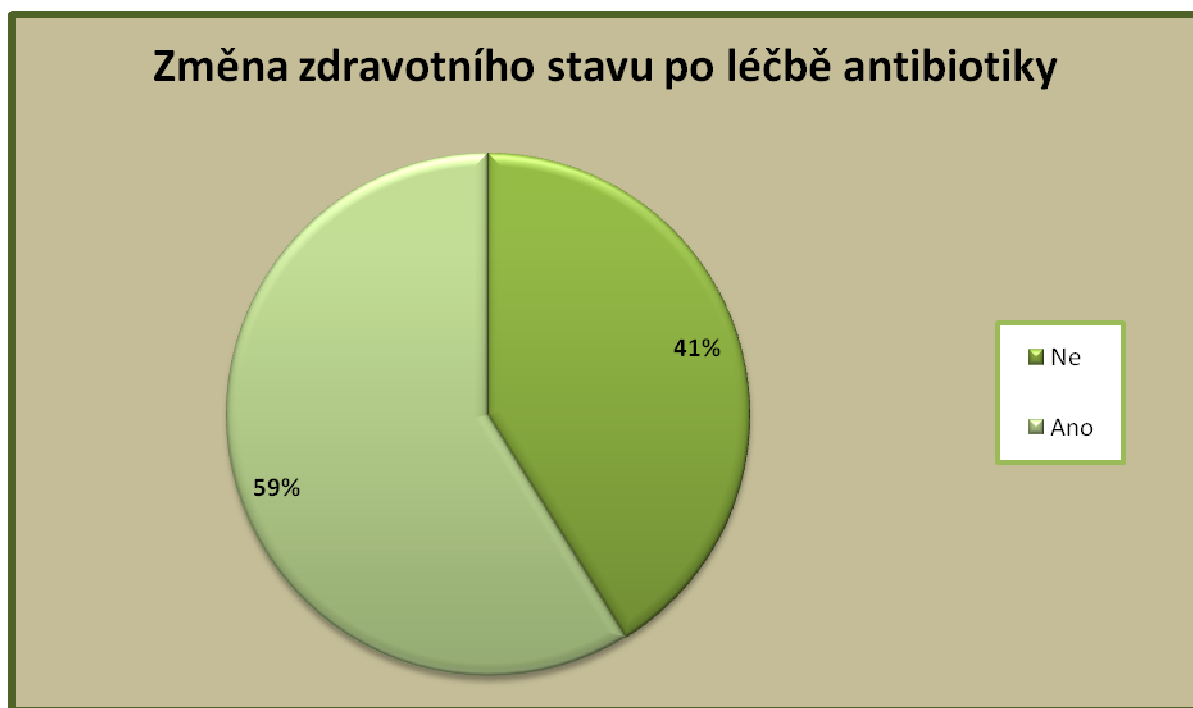
8. Jakými antibiotiky jste se léčili/léčíte?



Graf č. 8: Léčba antibiotiky

V otázce číslo 8: Jakými antibiotiky se léčíte, byly v jasné převaze antibiotika s názvem Doxybene. Pouze se lišilo, zda lékaři naordinovali jen jeden druh antibiotik či více. Další kombinací k antibiotikům Doxybene byly například antibiotika s názvem Minocyklin či Augmentin. Dále se třeba ordinují antibiotika Azithromycin, apod. Minimální léčba antibiotik by měla trvat 4 týdny.

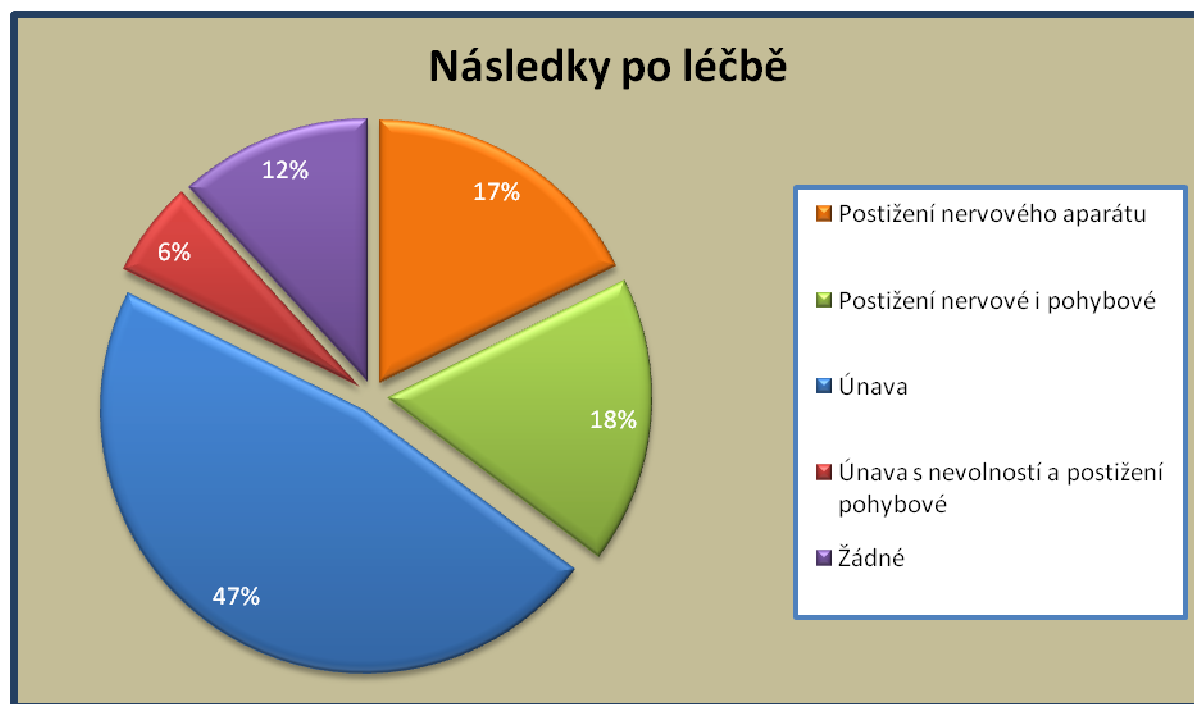
9. Změnil se váš stav po léčbě antibiotiky?



Graf č. 9: Změna zdravotního stavu po léčbě antibiotiky

Na otázku: Jak se změnil váš stav po léčbě antibiotik, 59 % dotázaných odpovědělo, že se jejich zdravotní stav změnil, z toho většina se vyléčila. U některých zůstaly problémy, jak občasná únava, bolest hlavy či kloubů. U 41 % dotázaných se zdravotní stav nezměnil. Tato otázka mě velmi zaskočila, toto číslo mi přijde velmi vysoké.

10. Jaké příznaky u vás přetrvávají



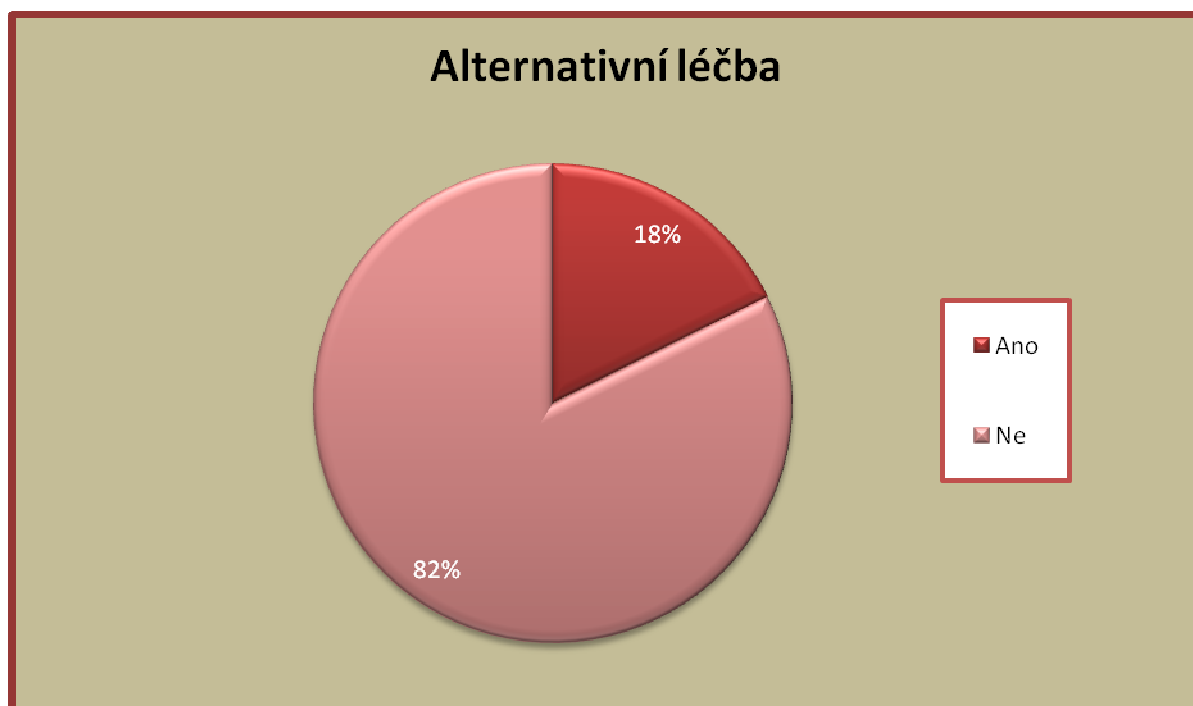
Graf č. 10: Následky po léčbě

Tato otázka navazuje na otázku číslo 9. Ti pacienti, kteří odpověděli, že se jim stav po léčbě antibiotik nezměnil, nejčastěji odpovídali, že mají problémy s únavou, dále s postižením nervového či pohybového aparátu.

Mezi postižení pohybového aparátu patří bolesti kloubů, svalů, šíje, zad.

Mezi postižení pohybového aparátu patří bolest hlavy, migrény.

11. Užívali jste nebo užíváte nějaké potravinové doplňky, či účastnili jste se nějaké alternativní léčby?



Graf č. 11: Alternativní léčba

Na otázku číslo 11 týkající se alternativní léčby, odpovědělo pouhých 18 % dotázaných, že se o něco takového zajímali, většina 82 % odpověděli, že se alternativní léčby neúčastnili.

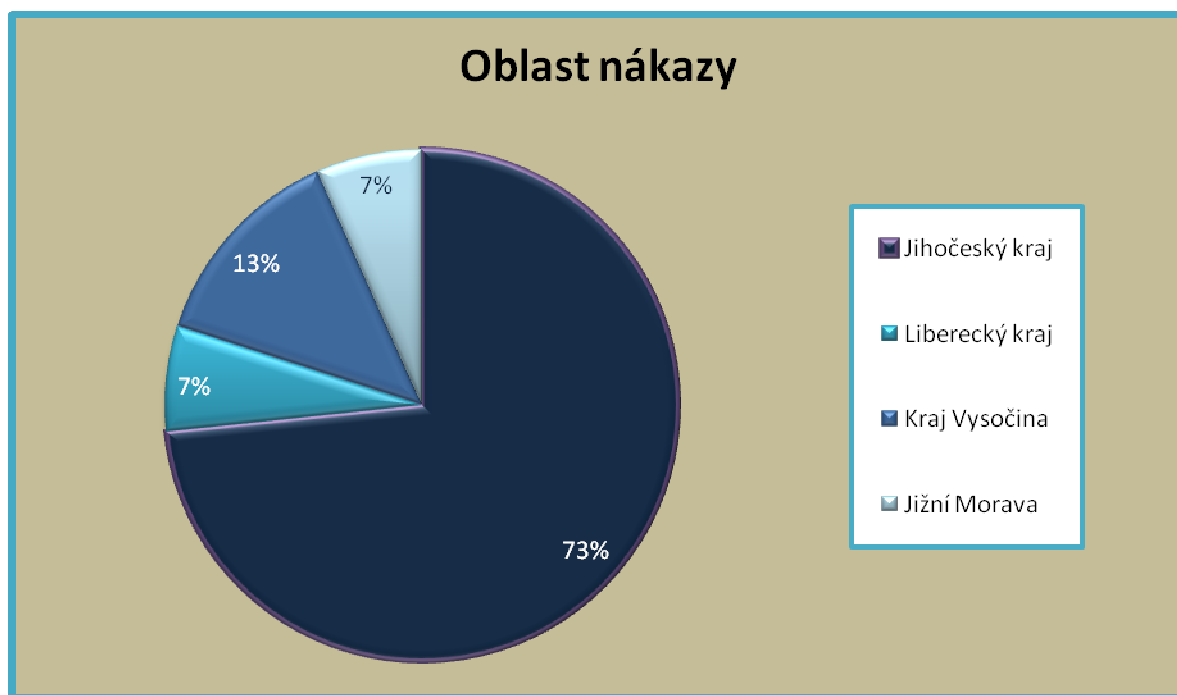
12. V čem vás v běžném životě nákaza omezuje?



Graf č. 12: Omezení života

Většina dotázaných na otázku: V čem vás nákaza v běžném životě omezuje, nejvíce lidí odpovědělo, že ve všem. To znamená v práci nebo ve škole, při volnočasových aktivitách, především při sportu. Jeden člověk odpověděl, že po nákaze Lymeské boreliózy získal invalidní důchod.

13. Oblast, kraj kde jste se nakazili?



Graf č. 13: Oblast nákazy

Nejvíce dotázaných občanů odpovědělo, že se nakazily v Jihočeském kraji. Tato odpověď souhlasí s celorepublikovými průzkumy, které i ty vypovídají, že největší počet nakažených klíšťat je v Jihočeském kraji.

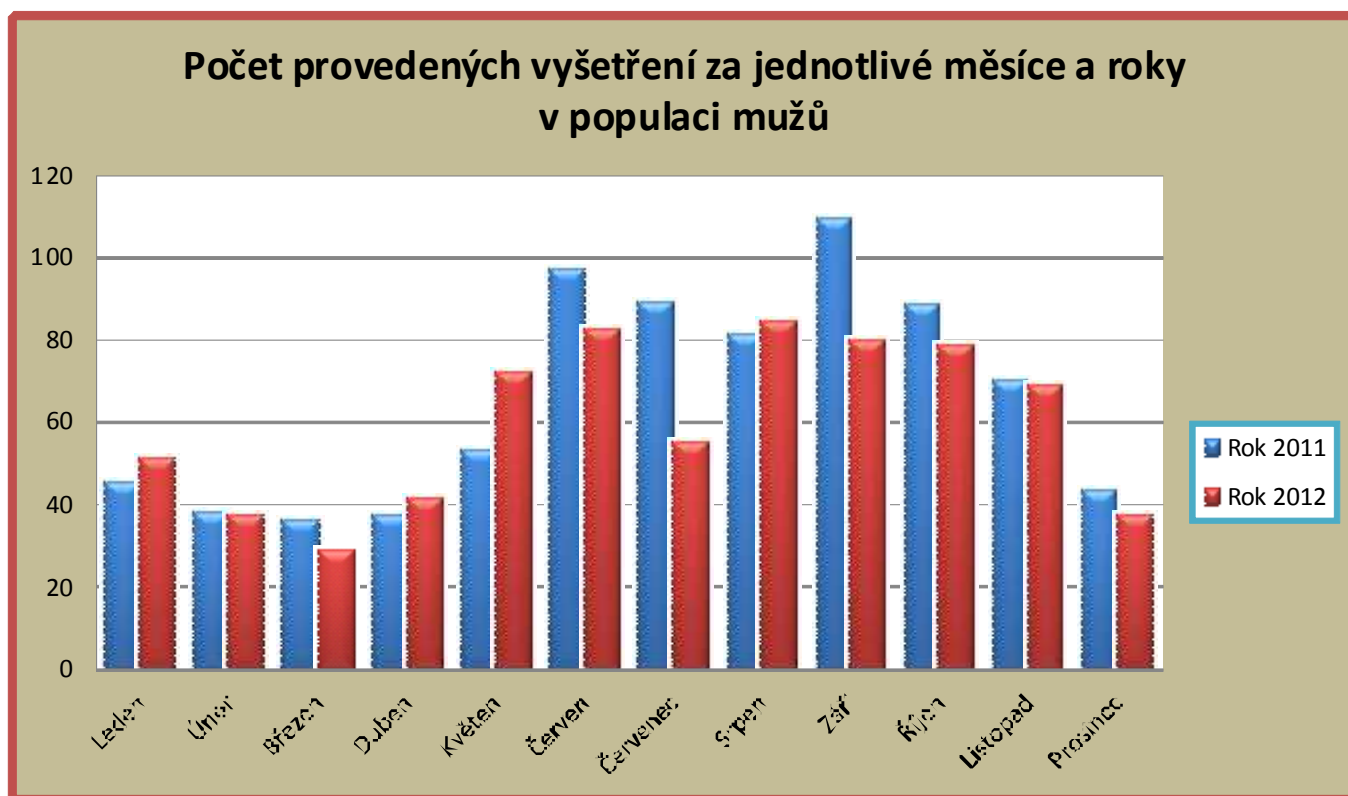
Vyhodnocení dat v populaci mužů

Rok 2011	Celkem	IgM hraniční	IgM pozitivní	IgG hraniční	IgG pozitivní	IgM + IgG	Negativní
Leden	45	1	5	0	9	1	29
Únor	38	3	3	0	7	1	24
Březen	36	0	0	2	5	2	27
Duben	37	3	3	0	6	3	22
Květen	53	1	1	3	12	4	32
Červen	97	0	6	0	18	4	69
Červenec	89	4	8	3	13	7	54
Srpen	81	1	5	3	14	7	51
Září	109	1	8	1	15	9	75
Říjen	88	1	5	2	14	7	59
Listopad	70	3	3	0	8	6	50
Prosinec	43	4	1	0	12	5	21

Tab. č. 1: Vyhodnocení dat za rok 2011 v populaci mužů

Rok 2012	Celkem	IgM hraniční	IgM pozitivní	IgG hraniční	IgG pozitivní	IgM + IgG	Negativní
Leden	51	1	4	2	3	1	40
Únor	37	1	7	2	4	2	21
Březen	29	1	4	0	7	2	15
Duben	41	1	2	1	7	4	26
Květen	72	2	6	2	13	4	45
Červan	82	5	9	4	6	0	58
Červenec	55	2	3	2	9	2	37
Srpen	84	3	12	3	9	3	54
Září	80	2	7	5	14	5	47
Říjen	79	2	8	0	10	7	52
Listopad	69	1	8	0	14	2	44
Prosinec	37	5	3	0	5	2	22

Tab. č. 2: Vyhodnocení dat za rok 2012 v populaci mužů



Graf č. 14 : Porovnávající množství provedených vyšetření za jednotlivé měsíce a roky v populaci mužů

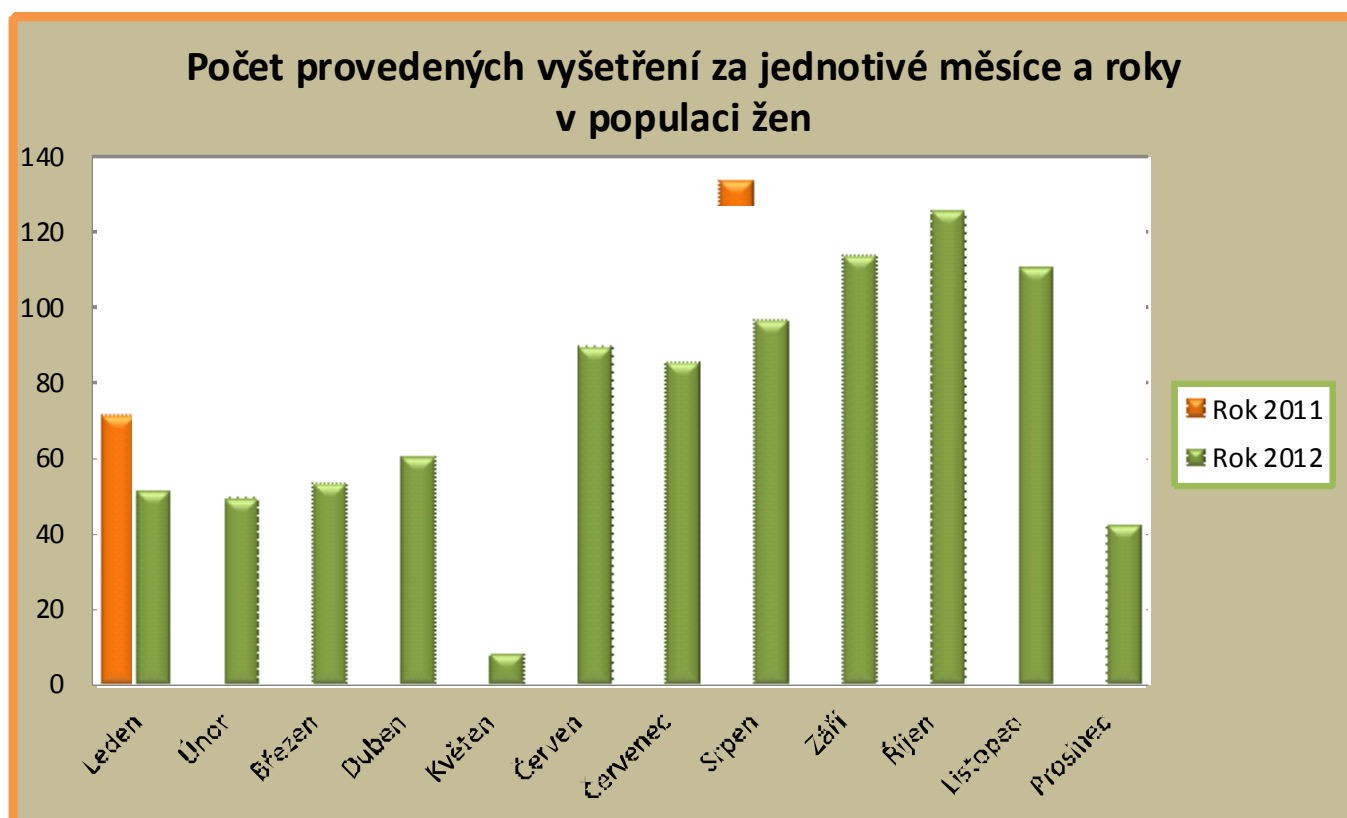
Vyhodnocení dat v populaci žen

Rok 2011	Celkem	IgM hraniční	IgM pozitivní	IgG hraniční	IgG pozitivní	IgM + IgG	Negativní
Leden	71	1	8	2	10	5	45
Únor	53	0	4	1	7	1	40
Březen	69	1	1	2	9	4	52
Duben	60	1	4	4	9	2	39
Květen	84	0	7	1	6	5	65
Červen	123	3	10	2	16	3	89
Červenec	96	6	13	2	11	6	58
Srpen	133	3	15	2	16	5	92
Září	115	5	7	7	12	7	77
Říjen	121	4	8	2	14	2	91
Listopad	91	3	14	1	11	4	58
Prosinec	53	2	5	2	10	3	31

Tab. č. 3: Vyhodnocení dat za rok 2011 v populaci žen

Rok 2012	Celkem	IgM hraniční	IgM pozitivní	IgG hraniční	IgG pozitivní	IgM + IgG	Negativní
Leden	51	0	7	0	4	1	39
Únor	49	2	4	1	7	0	35
Březen	53	2	13	2	5	4	27
Duben	60	2	8	0	5	0	45
Květen	80	5	9	4	7	2	53
Červen	89	4	7	0	6	1	71
Červenec	85	2	9	2	11	4	57
Srpen	96	6	16	0	8	2	64
Září	113	4	14	3	12	4	76
Říjen	125	7	22	4	11	8	73
Listopad	110	5	12	2	15	3	73
Prosinec	42	4	1	1	2	4	30

Tab. č. 4: Vyhodnocení dat za rok 2012 v populaci žen



Graf č. 15: Porovnávající počet provedených vyšetření za jednotlivé měsíce a roky

	celkem	IgM hraniční	IgM pozitivní	IgG hraniční	IgG pozitivní	IgM + IgG
Ženy	2022	72	290	47	224	80
Muži	1502	48	121	35	234	90
celkem	3524	120	411	82	458	170

Tab. č. 5: Celkové vyhodnocení za 2 roky rozdělené na populaci žen a mužů

	% IgM h.	% IgM p.	% IgG h.	% IgG p.	% IgM + IgG
Ženy	3,64	15,09	2,22	15,00	4,40
Muži	3,18	14,75	2,35	21,81	7,63
celkem	3,44	14,94	2,28	17,90	5,78

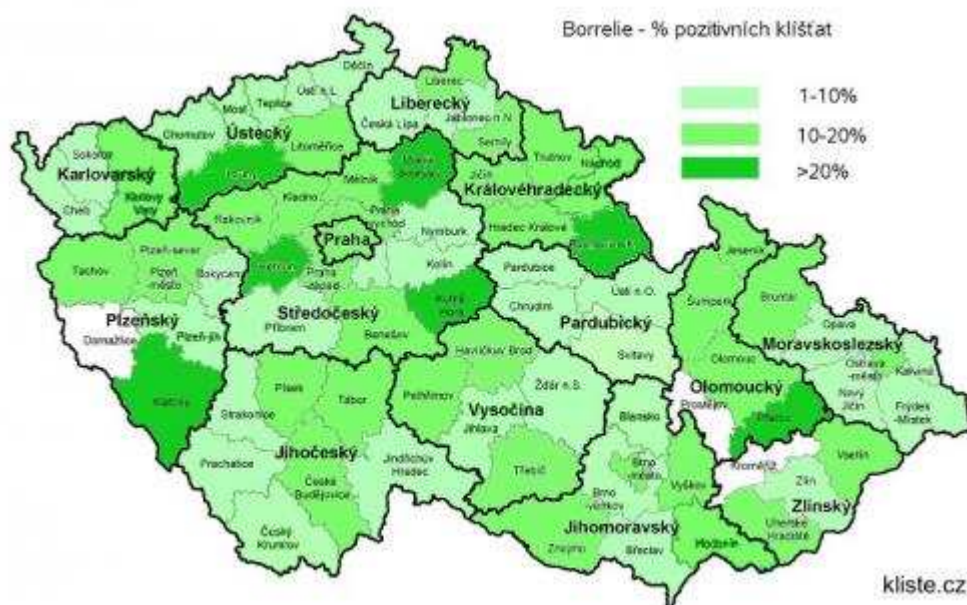
Tab. č. 6: Celkové vyhodnocení v procentech

4. Diskuze

Cílem mé maturitní práce, je zjistit rozšířenost onemocnění Lymeská borelióza mezi veřejností. Ke zpracování praktické části maturitní práce, jsem vytvořila dotazník, díky kterému se mi podařilo shromáždit data pro analýzu a průzkum rozšíření onemocnění mezi veřejností. Průzkumu dotazníkovou metodou se účastnilo celkem 25 respondentů, z nichž 7 účastníků uvedlo, že nákazou LB nikdy netrpěli a 18 účastníků, že tuto nákazu prodělali. Dotazník jsem rozdělila na dvě části. Jak už vyplývá s účasti dotázaných, první část byla určena pro širokou veřejnost a druhá část pro účastníky s nákazou LB.

První otázka sledovala rozložení pohlaví respondentů. Dotazník vyplnilo 60 % žen a 40 % mužů. Otázka č. 2 a 3 se zabývala ochranou občanů proti klíšťatům při pobytu v přírodě. Na otázku č. 2, ochrana před klíšťaty při pobytu přírodě, odpovědělo 44 % dotázaných pomocí postřiku (repelentu). Dalších 32 % respondentů odpovědělo, že se chrání pomocí postřiku a dlouhého oděvu. Celkem překvapující číslo bylo, že 24 % dotázaných se při pobytu v přírodě nijak nechrání. Větší ochrana před klíšťaty byla zjištěna u žen. Na otázku č. 3, zda se kontrolují po příchodu z přírody, jestli si s sebou nepřinesli klíště, odpovědělo 60 % respondentů, že ano a 40 % respondentů, že ne. Kontrola po příchodu z přírody je velmi důležitá, doporučená prohlídka je večer a ráno. Další otázka měla prověřit znalosti respondentů, na to jaké dvě nejzávažnější onemocnění klíšťata přenášejí. 96 % dotázaných odpovědělo správně, že klíšťata přenášejí Lymeskou boreliózu a klíšťovou encefalitidu. Pouhá 4 % dotázaných odpovědělo, že nemoci neznají. Otázka č. 6 zjišťovala, zda se respondenti nakazili LB či nikoliv. Z počtu 25 dotázaných uvedlo 17 občanů (68 %), že ano a 8 občanů (32 %), že nikoliv. Poslední otázka obecné části dotazníků, zjišťovala u respondentů znalosti ve vyšetřování LB. 60 % dotázaných uvedlo, že se LB vyšetřuje z krve, dalších 20 % odpovědělo, že z krve i z klíštěte a 4 % uvedli, že se LB zjišťuje z krve, nebo se dá zjistit pomocí klinických projevů. Mezi klinické problémy se řadí erythema migrans, bolest hlavy, svalů, zad, apod. Pouhých 16 % dotazovaných uvedlo, že nevědí. Od další otázky byl dotazník určen jen pro osoby, které prodělaly onemocnění LB. Otázka č. 8 zjišťovala, jak se u pacientů projeví první příznaky LB. Dotázaní nejvíce odpovídali (35 %), že se u nich projeví obtíže s nervovým aparátem a erythema migrans. U 29 % respondentů se objevily potíže s nervovým i pohybovým aparátem, u dalších 18 % se objevila jen erythema migrans. U zbylých dotázaných se projeví obtíže buďto s postižením nervového aparátu (12 %) nebo

postižením pohybového aparátu (6 %). Na otázku č. 8, jakými antibiotiky jste byli léčeni, odpovědělo 39 % občanů pomocí antibiotik Doxybene v kombinaci s dalšími antibiotiky. Nejčastěji užívali Doxybene v kombinaci s antibiotiky Minocyklin či Augmentin. Dalších 22 % dotázaných odpověděli, že užívali pouze antibiotika pod názvem Doxybene. Poměrně velký počet dotázaných (28 %) na tuto otázku neznal odpověď. Otázka č. 9 se zabývala o to, jak se dotázaným změnil zdravotní stav po léčbě antibiotiky. 59 % odpovědělo, že změna k lepšímu nastala, avšak 41 % odpovědělo, že nikoliv. Následující otázka se zabývá následky po léčbě u osob, které v předchozí otázce odpověděly, že se jejich zdravotní stav po léčbě antibiotiky nezměnil. Většina dotázaných odpověděla (47 %), že i nadále trpí únavou, další si stěžovali na potíže spojené s nervovým a pohybovým aparátem. Na otázku č. 11, která zjišťuje, kolik respondentů se podrobili alternativní léčbě, odpověděli v převaze 82 %, že se takové léčby neúčastnili. Předposlední otázka se zabývá následky po nemoci LB, konkrétně v čem dotazované tato nemoc omezuje. 52 % dotázaných odpovědělo, že je nemoc omezuje ve všem, to znamená při práci, sportu, studiu. Poslední otázka se dotazuje na oblast nákazy. Nejvíce dotazovaných odpovědělo (73 %), že se s největší pravděpodobností nakazili v jižních Čechách. Tento fakt souhlasí s následující mapou výskytu infikovaných klíšťat bakterií rodu *Borrelia*.



Obr. č. 9: Mapa výskytu infikovaných klíšťat bakterií rodu *Borrelia* z let 2008 – 2011

Dále se má praktická část maturitní práce zabývala vyhodnocením dat získaných z databáze výsledků Klinických laboratoří Tábor. Tyto údaje jsou ze sérologického vyšetření krve metodou ELISA, sloužící k prokázání protilátek třídy IgM a IgG proti bakterii rodu *Borrelia*. Data jsem zpracovala do tabulek a grafů. Data jsou z roku 2011 a 2012. Tabulku jsem rozdělila podle jednotlivých měsíců, ke kterým jsem vyhodnocovala celkový počet vyšetřených vzorků. Stažená data obsahovala u jednotlivých pacientů výsledky na protilátky IgM a IgG. Podle toho jsem výsledky rozdělila na negativní, IgM hraniční, IgM pozitivní, IgG hraniční, IgG pozitivní a IgM + IgG, kde vyšly pozitivní oboje protilátky. Nejvíce z těchto údajů mě zajímalo, jak rostl počet provedených vyšetření v jednotlivých měsících. Ukázalo se, že nejvíce vyšetření u mužů v roce 2011 provedla laboratoř v měsíci září, další vysoký počet byl zjištěn v měsíci červen. V roce 2012 u mužů provedla laboratoř nejvíce vyšetření v měsíci srpen. Obecně se u mužů provedlo mnohem více vyšetření v roce 2011. V populaci žen za rok 2011 provedla laboratoř nejvíce vyšetření v měsíci srpen. Další vysoký počet vyšetření v roce 2011 byl zjištěn v červnu, září a říjnu. V roce 2012 byl nejvyšší počet provedených vyšetření v měsíci říjen, dále pak v září a listopadu. U žen byl, zaznamenám daleko vyšší počet vyšetření. Měření hladiny protilátek v krvi proti bakterii rodu *Borrelia* má význam provádět dva měsíce od nákazy klíštětem. Z toho vyplývá vysoký počet vyšetření v podzimních měsících.

5. Závěr

Ve své maturitní práci jsem se zabývala onemocněním Lymeská borelióza a jeho rozšíření mezi populací. Práci jsem rozdělila do dvou částí. V první, teoretické části jsem se snažila shrnout poznatky o Lymeské borelióze do několika kapitol. Zabývala jsem se historií onemocnění, přenašeči, klinickými formami.

V druhé, praktické části jsem vyhodnocovala dotazníkové šetření, jehož cílem bylo zjistit rozšířenost onemocnění v populaci. Dále jsem se v praktické části zabývala vyhodnocením dat z Klinických laboratoří Tábor. Tyto údaje jsou ze sérologického vyšetření krve metodou ELISA, sloužící k prokázání protilátek třídy IgM a IgG proti bakterii rodu *Borrelia*. Data jsem zpracovala do tabulek a grafů. Data jsou z roku 2011 a 2012. Tato data jsem rozdělila do tabulek podle pohlaví, roků a měsíců.

Rozšířenost této nákazy mezi občany je poměrně vysoká, avšak informovanost občanů z médií o této nemoci poměrně zaostává. Z mé ankety vyplývá, že nákaza mezi lidmi je vysoká, avšak pokud bych chtěla získat objektivní data, byla by potřeba získat daleko více vyplněných dotazníků. Občané se o LB obvykle dozvědí až poté co jim lékař toto onemocnění prokáže. Daleko více zná populace onemocnění klíšťová encefalitida. O klíšťové encefalitidě se daleko více hovoří v médiích a to v podobě reklam na její očkování.

Bohužel v současné době v Evropě zatím žádné očkování na LB neexistuje. V USA byla sice vakcinace vyvinuta, ale v oblasti Ameriky a Evropy se vyskytují různé druhy borelií s různou povrchovou antigenitou, v Evropě nebyla účinnost vakcíny dostatečná. V USA se tato vakcína používala od roku 1998 až 2002, kdy se její výroba přerušila. V jedné verzi se mluví o nezájmu o vakcinaci nebo v druhé o mnohých nežádoucích účincích.

V ČR se v roce 2008 podařilo vyvinout vakcínu proti LB, která se v současné době testuje na zvířatech. Ročně onemocní v ČR okolo 4000 lidí. Zajímavé je, že psi se proti nákaze LB očkují, avšak pro ně neexistuje očkování proti klíšťové encefalitidě.

6. Seznam použité literatury

6.1 Seznam literatury

1. Roháčová, H.: Lymeská borelióza: průvodce ošetřujícího lékaře, Maxdorf, Praha, 2005
2. Jelínek, J.; Zicháček, V.: Biologie, Fin Publishing, Olomouc, 1996
3. Votava, M.: Lékařská mikrobiologie speciální, Neptun, Brno, 2003
4. Bojar, M.: Lymeská borelióza, Maxdorf, Praha, 1996
5. Kimmig, P.; Hassler, D.; Braun, R.: Klíšťata: Nepatrné kousnutí s neblahými následky, Pragma, 2003
6. <http://tn.nova.cz/zpravy/domaci/cesti-vedci-vyvinuli-vakcinu-proti-lymske-borelioze.html>, 2. 4. 2008
7. http://kliste.cz/clanek/43/mapa_vyskytu_infikovanych_klistat_v_cr, 18. 4. 2008
8. <http://www.borelioza.cz/>, 2003 – 2013
9. <http://www.zirafoviny.cz/modules/news/article.php?storyid=26>, 5. 7. 2008
10. <http://www.lymeska-borelioza.cz/>, 2009
11. Lukš, D.; Šedivý, M.; Müllerová, A.: ELISA – základní informace o principu metody a jejím správném provedení, Test – Line, Brno
12. Test – Line: EIA Borrelia recombinant IgM (192), Test – Line, Brno, 2011
13. Test – Line: EIA Borrelia recombinant IgG (192), Test – Line, Brno, 2011
14. Test – Line: BLOT Borrelia afzelii IgM, Test – Line, Brno, 2010
15. Test – Line: Humánní a veterinární diagnostické soupravy, Test – Line, Brno, 2012
16. Schindlerová, H.: Lymeská borelióza z pohledu laické veřejnosti, bakalářská práce, 2012

6.2 Seznam citací

1. Votýpka, J. A.:
http://www.borrelie.ic.cz/index.php?option=com_content&view=article&id=18&Itemid=5, 2009
2. Votava, M.: Lékařská mikrobiologie speciální, Neptun, Brno, 2003, str. 192
3. Kimmig, P.; Hassler, D.; Braun, R.: Klíšťata: Nepatrné kousnutí s neblahými následky, Pragma, 2003, str. 9, 14
4. Roháčová, H.: Lymeská borelióza: průvodce ošetřujícího lékaře, Maxdorf, Praha, 2005, str. 20, 27
5. Test – Line: Humánní a veterinární diagnostické soupravy, Test – Line, Brno, 2012, str. 25
6. Lukš, D.; Šedivý, M.; Müllerová, A.: ELISA – základní informace o principu metody a jejím správném provedení, Test – Line, Brno, str. 11, 22, 23, 24
7. Test – Line: BLOT Borrelia afzelii IgM, Test – Line, Brno, 2010, str. 5, 6
8. Test – Line: EIA Borrelia recombinant IgM (192), Test – Line, Brno, 2011, str. 2

6.3 Zdroje obrázků

1. http://www.borelioza.cz/cs/clanky/vse_co_jste_si_mysleli_ze_vite_o_lecich_ucinnych_na_cysty_borelii_je_spatne/?index_term=view, 2011
2. [http://cs.wikipedia.org/wiki/Soubor:Borrelia_burgdorferi_\(CDC-PHIL_-_6631\)_lores.jpg](http://cs.wikipedia.org/wiki/Soubor:Borrelia_burgdorferi_(CDC-PHIL_-_6631)_lores.jpg), 2009
3. http://www.borelioza.cz/cs/galerie_fotografii/mikroskopicke_snimky_klistete/, 2003
4. http://www.denik.cz/galerie/foto.html?mm=bn0823_kl__t_, 2007
5. http://www.ezoo.cz/zvire.php?zvire_id=77, 2007
6. <http://www.zeckenrollen.de/zecken-und-krankheiten>, 2009
7. <http://tagging.silverchair.com/Derm101/quiz.aspx?id=qu001147>
8. <http://www1.lf1.cuni.cz/~hrozs/zoopch1.htm>, 2006
9. http://kliste.cz/clanek/43/mapa_vyskytu_infikovanych_klistat_v_cr, 2012

7. Seznam zkratek

ACA	Acrodermatis chronica atrophicans
Č.	Číslo
Dr.	Doktor
EIA	Enzymová imunoanalýza
ELISA	Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay
EM	Erythema migrans
EUCALB	European Concerted Action on Lyme Borreliosis
IgG	Imunoglobulin G
IgM	Imunoglobulin M
kDa	Kilo Dalton
L – forma	Reverzibilní bakteriální varianta mikroorganismů
LB	Lymeská borelióza
Min	Minuty
NB	Neuroborrelióza
Osp	Outer surface protein
SDS	Dodecylsírán sodný
tzv.	Tak zvané
μm	Mikrometr

8. Seznam příloh

Příloha 1	Výsledkové listy
Příloha 2	Vyplněný dotazník
Příloha 3	Fotografie

Příloha 1: Výsledkové listy

Klinické laboratoře Tábor
tel. 381 252 082, 058, 059

Archivní nález

Tisk dne: 7.března 2013 (čtvrtek) v 14:11

List: 1

Jméno :	ID# :	ZP:	Dg. :
Oddělení : Praktický lékař	Lékař :		Text:

STAPRO

Název metody	21.02.2013 09:34	28.02.2013 12:47	Rozměr	Ref. meze	REF MEZ	* * * * *	* * * * *
SEROLOGIE						-	+
Borrelia							
AntiBorrelia IgM	pozitiv.	-					
IPrecombinantIgM	1.220	-	index	< 0.900			*
AntiBorrelia IgG	neg.	-					
IPrecombinantIgG	0.510	-	index	< 0.900		*	
POZNAMKA							
Borrelie WB							
-- IgM VlsE	-	neg.					
-- IgM p83	-	neg.					
-- IgM p39 /BmpA/	-	neg.					
-- IgM p25 /OspC/	-	neg.					
Hodnocení WB IgM	-	NEGATIV.					

21.02.2013 09:34 CP-00065 Sr-00065 Rr-00065

Komentář Borrelie: Vyšetření metodou Western Blot bude provedeno dodatečně. Mgr. Pitálková
28.02.2013 12:47 WB-00001

Kontroloval: Mgr.Pitálková Lucie

Klinické laboratoře Tábor
tel. 381 252 082, 058, 059

Archivní nález

Tisk dne: 7.března 2013 (čtvrtek) v 14:12

List: 2

Jméno :	ID# :	ZP:	Dg. :
Oddělení : Pediatr	Lékař :		Text:

STAPRO

SEROLOGIE							
Borrelia							
AntiBorrelia IgM	neg.	-					
IPrecombinantIgM	0.670	-	index	< 0.900		*	*
AntiBorrelia IgG	pozitiv.	-					
IPrecombinantIgG	2.000	-	index	< 0.900		*	*
Borrelie WB							
-- IgG p VlsE	-	pozitiv.					
-- IgG p 83	-	neg.					
-- IgG p 39 /BmpA/	-	neg.					
-- IgG p 31 /OspA/	-	pozitiv.					
-- IgG p 30	-	neg.					
-- IgG p 25 /OspC/	-	neg.					
-- IgG p 21	-	pozitiv.					
-- IgG p 19	-	pozitiv.					
Hodnocení WB IgG	-	POZITIV.					

26.02.2013 11:22 CP-00207 Sr-00207 Rk-00207 Rh-00207 Rr-00207

Komentář Borrelie: Vyšetření metodou Western Blot bude provedeno dodatečně. Mgr. Pitálková
28.02.2013 12:48 WB-00002

Kontroloval: Mgr.Pitálková Lucie

Dotazník: Lymeská borelioza

Tento dotazník slouží k vypracování maturitní práce na téma: Lymeská borelióza. Maturitní práce bude zveřejněna na SOŠ Ekologické a potravinářské ve Veselí nad Lužnicí.

Dobrý den, rozhodla jsem se vyplnit dotazník, protože mi borelióza hodně narušila život.

1. Pohlaví

žena

2. Jak se chráníte před klíšťaty při pobytu v přírodě?

repelent na oblečení, ponožky a dlouhé rukávy, nechodit v trávě a v době vysoké aktivity se raději pobytu v přírodě vyhýbat

3. Kontrolujete po příchodu z přírody, pokud jste si s sebou nepřinesli přísáté klíště?

Ano

4. Víte, jaké dvě nejzávažnější onemocnění přenáší klíště?

Lymeskou boreliózu a encefalitidu,

5. Prodělal / a jste nebo proděláváte nemoc Lymeská borelióza?

ano

6. Víte, jak se může zjistit nákaza Lymeské boreliózy?

sérologií – Elisa, Western Blot, přímým průkazem PCR, LTT – v zahraničí, CD-57 jako nepřímý ukazatel, obecně řečeno je to klinická diagnóza

Dále pokračuje dotazník jen pro pacienty s nákazou lymeské boreliózy.

7. Jak se u Vás projeví první příznaky nákazy?

únava, menší výkonnost, zapomínání, stěhovavé bolesti, křeče

8. Jakými antibiotiky jste se léčily / léčíte?

minocyclin, azitromycin

9. Změnil se Váš stav po léčbě antibiotiky?

příliš ne, zatím

10. Jaké příznaky u Vás přetrvávají?

neuropatie močové trubice, vulvodynie, bolesti a křeče podbřišku, bolesti a tlak ve střevech a v konečníku, vyčerpanost a těžká únava, migrény, nevolnost, pocit otravy, zimomřivost, tělesná teplota 35,5 stupňů, nemožnost se zahřát, studené končetiny, otupělost, zapomínání, nemožnost vybavit si slova, bolesti svalů, žilní potíže, ztuhlý krk, křeče, bolest chodidel a pat, bolest v uších a v krku, tlak na srdci, světlolachost, popraskané žíly v očích, nízký tlak, bolesti zubů, nesnášenlivost alkoholu, úzkost, panické záchvaty, bolesti prstů, mozková mlha

11. Užívali jste nebo užíváte nějaké potravinové doplňky, či účastnili jste se nějaké alternativní léčby? (jaké?)

zkoušela jsem celou řadu potravinových doplňků –

acetyl l-karnitin, astaxanthin, bččka, carbofit, česnekový olej, citrovital, mannosy, enzymy, extrakt z oliv, fosfolipidy, hořčík, vápník, hylak, kokosový olej, inulin, křemelina, kyselina alfa lipoová, kyselina kaprylová, l-glutamin, lichořeřišnice, MSM, mladý ječmen, NAC, oregánový olej, panthenol, pelyněk, probiotika, psyllium, rybí olej, selen, serrapeptaza, ubiquinol, vitamin C, mladý ječmen, zelený kamut atd.

12. V čem Vás v běžném životě nákaza omezuje?

nemůžu studovat nebo pracovat, prakticky vůbec chodit ven (těžká únava + bolesti), nemůžu mít sexuální styk (bolest) a zdravé sociální vztahy

13. Lokality, místo nákazy?

Asi Liberecký kraj

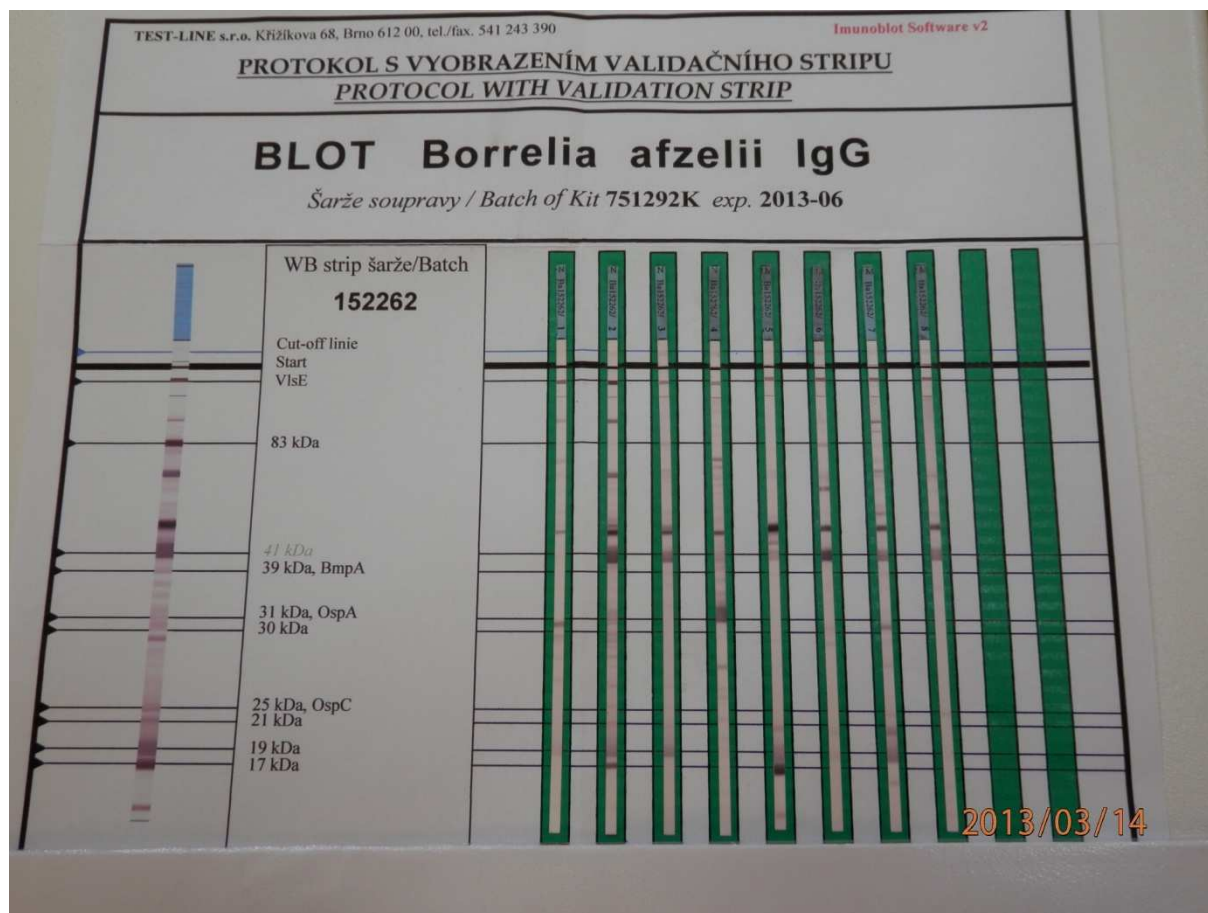
Příloha 3: Fotografie (autor: Lucie Černá)



Obr. č. 1: Promývačka



Obr. č. 2: ELISA Reader



Obr. č. 3: Protokol s vyobrazením validačního stripu