

## ARTYKUŁ POGLĄDOWY

**Tadeusz Piśa**

Wydział Medyczny Uczelni Łazarskiego w Warszawie

# Aktualne zagrożenie zakażeniem *Borrelia burgdorferi*

## Current risk of *Borrelia burgdorferi* infection

### Streszczenie

W 1977 r. opisano w miejscowościach Lyme i Old Lyme w stanie Connecticut w USA zapalenia stawów oraz zmiany skórne, które powiązano z ukąszeniami przez kleszcze. Obecnie choroba z Lyme (borelioza) jest najczęstszą chorobą odkleszczową na świecie. W Polsce większość zachorowań na boreliozę przypada na okres od maja do listopada, a ponad 80% przypadków stwierdza się w czerwcu i lipcu, w okresie żerowania nimf kleszczy. Rezerwuarem bakterii jest ok. 300 różnych gatunków ssaków. *Borrelia burgdorferi* charakteryzuje się zmiennością morfologiczną i immunologiczną w poszczególnych stadiach rozwojowych. Bakteria ma zdolność morfologicznego przekształcania się w postaci z deficytem błony komórkowej (*cell wall deficient* – CWD) w formie sferoplastów, L-form, *bleb-like spirochetes* i w postaci cyst (*round body/form*). Ma także zdolność do tworzenia biofilmu. Powyższe uwarunkowania wpływają na wiarygodność testów diagnostycznych, co może prowadzić do błędnych decyzji terapeutycznych. W postępowaniu początkowym istotne jest wdrożenie skutecznego leczenia, aby zapobiec dalszemu postępowi zakażenia. Szczególną trudność sprawia zespół poboreliozowy, gdy występują ciężkie stany niewydolności narządowej. Objawy zespołu pojawiają się miesiące lub lata po antybiotykoterapii u 10–20%

### Abstract

In 1977, arthritis and skin lesions were described in Lyme and Old Lyme in the state of Connecticut in the USA, which was associated with tick bites. Currently, Lyme disease (borreliosis) is the most common tick-borne disease in the world. In Poland, most cases of Lyme disease occur between May and November, and over 80% of cases are found in June and July due to foraging nymphs ticks. The reservoir of bacteria is about 300 different species of mammals. *Borrelia burgdorferi* is characterised by morphological and immunological variability in particular stages of development. The bacterium has the ability to morphologically transform into cell wall-deficient forms (CWD) in the form of spheroplasts, L-form, *bleb-like spirochetes*, and in the form of cysts (*round body/form*). It also has the ability to create a biofilm. The above conditions affect the reliability of diagnostic tests, which may lead to incorrect therapeutic decisions. In the initial procedure, it is important to implement effective treatment to prevent further progression of infection. A particular difficulty in the procedure is caused by re-reflux syndrome, when severe states of organ failure occur. Symptoms of the syndrome appear months or years after antibiotic therapy in 10–20% of those treated as an autoimmune response, which was created after active infection and effective treatment that could eliminate

leczonych jako odpowiedź autoimmunologiczna po czynnym zakażeniu i skutecznym leczeniu, które mogło zlikwidować czynnik sprawczy. Rozbieżność zaleceń terapeutycznych dotyczy głównie wyboru antybiotyku, jego dawki i czasu stosowania. Proponowana doksycyklina znajduje się we wszystkich zaleceniach, mimo że jej MIC<sub>90</sub> wynosi 2,0 mg/l. Inne antybiotyki mają lepsze parametry, szczególnie azytromycyna, która podawana miejscowo w pierwszym etapie zakażenia, może być w pełni skuteczna.

### Słowa kluczowe

borelioza, epidemiologia, patogeneza, rozpoznawanie, leczenie

W 1909 r. szwedzki dermatolog Arvid Afzelius opisał rumień wędrujący na skórze powstający po ukąszeniu przez kleszcza [1], a dopiero w 1977 r. w miejscowościach Lyme i Old Lyme w stanie Connecticut w USA zaobserwowano u 12 dzieci zapalenia stawów oraz zmiany skórne, które powiązano z ukąszeniami przez kleszcze. Od nazwy ww. miejscowości zespół takich objawów nazwano chorobą z Lyme [2].

Pełnego opisu choroby dokonali dr Alan Steere i wsp. Patogen bakteryjny wywołujący objawy nazwano *Borrelia* na cześć francuskiego biologa Amedee Borrel'a, a chorobę nazwano boreliozą [2]. Uznano, że wektorem choroby są stawonogi z rejonów wiejskich, które pojawiają się sezonowo. W 1983 r. dr Willy Burgdorfer i wsp. obserwowali mikroaerofilne bakterie Gram-ujemne (krętki) o średnicy 0,3–0,5 μm i długości ok. 20–30 μm, które izolowano z jelita kleszczy *Ixodes dammini* zebranych z miejsc endemicznych choroby. Wykazali oni, że krętki powodują zaczerwienienie skóry, które zmienia się w rumień wędrujący. Ponadto surowica chorych reagowała z bakteriami w pośrednim teście immunofluorescencyjnym, co potwierdzało związek choroby z patogenem, który nazwano *Borrelia burgdorferi* [3]. Rok później wykryto swoiste przeciwciała w klasie IgM i IgG przeciwko *Borrelia burgdorferi* [4].

### Patomechanizm zakażenia *Borrelia burgdorferi*

Patogenem wywołującym objawy choroby z Lyme są bakterie z gromady *Spirochaetes*, które cechuje spiralna lub falista budowa i obecność rzęsek, odpowiedzialnych za poruszanie się [5]. Do tej gromady należy szereg innych ludzkich patogenów,

the causative agent. The discrepancy in therapeutic recommendations concerns mainly the choice of antibiotics, its dose, and time of administration. The proposed doxycycline is included in all the recommendations, although its MIC<sub>90</sub> is 2.0 mg/l. Other antibiotics have better parameters, especially azithromycin, which can be fully effective when administered topically in the first stage of infection..

### Key words

Lyme disease, epidemiology, pathogenesis, diagnosis, treatment

w tym *Treponema pallidum* wywołujące kiłę, *Lep-tospira interrogans* powodująca leptospirozę i kilka rodzajów *Borrelia* sp. odpowiedzialnych za stany gorączkowe [4].

*Borrelia burgdorferi sensu lato* (w ogólnym rozumieniu) dzieli się na 20 różnych gatunków genetycznych, przy czym trzy z nich są odpowiedzialne za wywoływanie boreliozy u ludzi: *Borrelia burgdorferi*, *Borrelia afzelii* i *Borrelia garinii* [5]. Podkreśla się, że heterogenność szczepów *Borrelia burgdorferi* może być głównym czynnikiem odpowiedzialnym za kształtowanie obrazu klinicznego boreliozy. Wykazano bowiem, że *Borrelia burgdorferi* w północnych stanach USA jest szczególnie ukierunkowana na stawy (*arthritogenic*), *Borrelia afzelii* powoduje zmiany skórne, a *Borrelia garinii* wywołuje zmiany w układzie nerwowym (*neurotropic*) [5, 6]. Nie wyizolowano klasycznych czynników odpowiadających za wirulencję i dlatego przypuszcza się, że krętek nie zawiera go w odniesieniu do ssaków. Zdefiniowano jednakże szereg lipoprotein i niektóre z nich mogą stanowić czynnik uczynniający wrodzony układ odpornościowy (*innate immune system*). Plazmidy mogą szybko ulegać zmianom ewolucyjnym i w związku z tym działać stymulująco [7].

Bakterie są przenoszone przez różne gatunki kleszczy w poszczególnych regionach geograficznych, w Polsce głównie przez *Ixodes ricinus*. Kleszcz zakaża się krętkiem, żywiąc się krwią zakażonych zwierząt, a kolejne stadia rozwojowe kleszcza zakażają swoich żywicieli, powodując utrzymywanie się rezerwuaru bakterii w środowisku [5, 8].

Rezerwuarem bakterii jest ok. 300 różnych gatunków ssaków, w tym głównie gryzonie z rodziny nor-nikowatych i myszowatych oraz wolno żyjące jelenie, sarny i wilki, a także niektóre gatunki ptaków [9].

Cykl rozwojowy kleszczy ma decydujący wpływ na rozprzestrzenianie się zakażenia *Borrelia burgdorferi*. Kleszcz potrzebuje od 2 do 24 godzin, aby przenieść bakterię w akcie ukłucia do organizmu człowieka lub zwierzęcia. Przechodzi on 3 fazy, w których musi ssać krew dla dalszego rozwoju [8]:

- I faza – złożone wiosną jajo przekształca się do larwa w jasnobrązową larwę długości ok. 0,5 mm, która ma 6 odnóży i musi ssać krew przez 3–5 dni;
- II faza – nimfa o ciemniejszym zabarwieniu i długości ok. 1 mm, ssie krew przez 5–7 dni;
- III faza – dorosły osobnik, samica o zabarwieniu czerwono-brązowym tylnej części ciała ma długość 3–4 mm i pije krew przez 7–13 dni, zanim złoży 1000–3000 jajeczek na ziemi, po czym ginie, samiec z czarną tylną częścią ciała ma długość 2–3 mm i nie musi ssać krwi, bo nie znosi jajeczek.

Kleszcze ulegają zakażeniu *Borrelia burgdorferi* poprzez krew zakażonych zwierząt, przy czym u larw nie stwierdza się bakterii. Dorosłe osobniki są zakażone krętkiem boreliozy w różnym stopniu z zależności od regionu kraju – 5–20% nimf i 15–40% dorosłych osobników. Kleszcz, kłując ofiarę, wtryskuje substancję znieczulającą, która znajduje się w jego ślinie, co powoduje, że ukłucie jest niezauważalne [5, 10].

W warunkach naturalnych kleszcz wykazuje aktywność w temperaturze otoczenia 4–32°C. Nie ma oczu, reaguje na ruch i zapachy, a także na promieniowanie cieplne i dwutlenek węgla wydychany przez potencjalną ofiarę. Najczęściej kleszcze znajdują się w zaroślach powyżej powierzchni ziemi i oczekują z wysuniętymi przednimi odnóżami, aby uczepić się ofiary [8].

### Epidemiologia boreliozy

Choroba z Lyme (borelioza) jest uznawana za najczęstszą chorobę odkleszczową na świecie, przy czym najczęściej zachorowań odnotowuje się na półkuli północnej, głównie w rejonach bytowania kleszczy *Ixodes* [11].

Przewiduje się, że w 2018 r. w USA ponad 1 mln, a w Europie 2,4 mln ludzi zostanie zainfekowanych przez borelię. W prognozach dłuższych wskazuje się, że do 2050 r. w USA 55,7 mln, a w Europie 134,9 mln ludzi będzie zakażonych borelią, przy czym w większości będą to przypadki przewlekłe [12]. W Europie borelioza jest wywoływana przez krętki *Borrelia garinii*, *Borrelia afzelii*, rzadziej przez *Borrelia burgdorferi* i jest przenoszona przez kleszcze *Ixodes*

*ricinus*. Najwięcej zachorowań odnotowuje się w Europie Środkowej [13]. Częstość występowania zakażonych kleszczy w różnych częściach Europy waha się od 3% do 34%, w niektórych lesistych obszarach północno-wschodniej Polski sięga 25% [11]. Według *European Center of Disease Control* najniższy wskaźnik zachorowania na boreliozę (< 5/100 000) odnotowano na Białorusi, w Belgii, Chorwacji, Norwegii, Federacji Rosyjskiej i Serbii. W dalszej kolejności wskaźnik < 16/100 000 stwierdzono w Bułgarii, Finlandii, na Węgrzech i w Polsce, następnie < 36/100 000 w Czechach, Estonii i na Litwie, natomiast najwyższy (< 130/100 000) w Słowenii [14]. Co roku na boreliozę w Europie zapada 64 500 osób [15].

W badaniu kleszczy w rejonie Hanoweru (Niemcy) stwierdzono, że 24,0% z 2100 zebranych było zakażonych borelią, przy czym 4% stanowiły formy dorosłe, w tym 38,5% samice, 32,3% samce oraz 19,8% nimfy. W analizowanym okresie 10 lat zwiększyła się także liczba kleszczy zakażonych *Anaplasma phagocytophilum* [16]. W innym badaniu z Niemiec większość kleszczy usuniętych ze skóry żołnierzy stacjonujących na poligonach stanowiły nimfy (63,9%), następnie larwy (24,7%) i dorosłe samice (10,9%) [17]. Z kolei w badaniu przeprowadzonym w Szwajcarii zakażone nimfy stanowiły 64%, samice 33,3% i larwy 1,6% [18]. Z danych z rejonu Brna (Czechy) wynika, że 12,1% badanych kleszczy było zainfekowanych, przy czym 37,8% przez *Borrelia afzelii*, 40,5% przez *Borrelia garinii* i 5,4% przez *Borrelia burgdorferi sensu lato*. W 10,8% przypadków wykazano mieszane genotypy [19].

W Polsce większość zachorowań na boreliozę przypada na okres od maja do listopada, a ponad 80% przypadków stwierdza się w czerwcu i lipcu, w okresie żerowania nimf kleszczy. Za rejon endemiczny uznano północną część kraju, a szczególnie województwa podlaskie, warmińsko-mazurskie oraz zachodniopomorskie. Ostatnio stwierdzano zachorowania także w województwach śląskim i małopolskim [20, 21]. W 2017 r. największą liczbę rozpoznanych boreliozy odnotowano w województwach małopolskim, śląskim, mazowieckim, lubelskim, podlaskim, pomorskim oraz warmińsko-mazurskim [25]. Liczba zachorowań na boreliozę w Polsce ulega stałemu zwiększeniu (tab. 1) [11, 21, 22].

W badaniu kleszczy w Polsce przeprowadzonym przy wykorzystaniu reakcji łańcuchowej polimerazy (*polymerase chain reaction* – PCR) stwierdzono, że wśród 510 kleszczy zebranych w latach 2012–2014 od osób ukłutych 78 (15,30% całej grupy) było zakażonych borelią, w tym 52,56% samców i 47,44% sa-

mic. Najwięcej ukłuc spowodowały nimfy (46,15%) i samice (42,31%), a larwy tylko niewielki odsetek (5,13%). Podkreślono, że najwięcej (69,23%) zakażonych kleszczy było jesienią, zwłaszcza u osób przebywających w lasach (56,41%) [23].

W Ameryce Północnej najwięcej zachorowań na boreliozę stwierdza się w stanach północno-wschodnich, przy czym liczba ta zwiększyła się z 7,9 przypadków na 100 000 mieszkańców w latach 2003–2005 do 31,6 przypadków na 100 000 w 2012 r. [24, 25].

W Azji borelioza jest rozpoznawana w Japonii, północno-zachodnich Chinach oraz na wschodnim obszarze Rosji [26, 27].

W Afryce stwierdzano pojedyncze przypadki boreliozy w Algierii, Maroku i Tunezji, głównie w rejonach chłodniejszych i o większej wilgotności. Wektorem jest tu także kleszcz *Ixodes ricinus* [28]. W przeprowadzonych badaniach DNA izolowanego z kleszczy przy użyciu techniki PCR-RLFP wykazano obecność *Borrelia lusitaniae* (genotypy Poti B2 i Poti B3) oraz *Borrelia garinii* i *Borrelia burgdorferi sensu stricto*, oceniając ryzyko zakażenia na 4% [29].

### Zmienność morfologiczna i immunologiczna

Sklasyfikowano ponad 38 gatunków *Borrelia* sp., przy czym 14 z nich jest odpowiedzialnych za wywołanie zmian chorobowych [30]. Wszystkie gatunki objęte są wspólną nazwą *Borrelia burgdorferi sensu lato* i obejmują m.in. *Borrelia burgdorferi sensu stricto* i ostatnio opisaną *Borrelia mayonii* występującą w Stanach Zjednoczonych oraz *Borrelia afzelii* i *Borrelia garinii* występujące w Eurazji [31]. Według Burgdorfera *Borrelia* stanowią odrębną grupę filogenetyczną i są bakteriami mikroaerofilnymi, wolno rosnącymi, zależnymi od gospodarza i od transmisji przez kleszcze [32].

*Borrelia burgdorferi* charakteryzuje się zmiennością morfologiczną w odpowiedzi na zmiany środowiska, w którym się znajduje. Z postaci spiralnej

przekształca się w cystę (forma latentna – L), czyli w formę sferyczną pozbawioną błony komórkowej. W ten sposób ukrywa swój materiał genetyczny, aby go ponownie ujawnić w dogodnych warunkach środowiskowych. W tej fazie braku kontaktu organizmu gospodarza z antygenami patogenu powoduje zatrzymanie wytwarzania przeciwciał i nie są one wykrywane w badaniach diagnostycznych [8]. Bakteria ma zdolność morfologicznego przekształcania się w formy ziarniste, w postaci z deficytem błony komórkowej (*cell wall deficient* – CWD) – sferoplasty, L-formy, *bleb-like spirochetes*, a także w postaci cyst (*round body/form*) [34].

Wykazano, że bakteria ma zdolność do tworzenia biofilmu, który stanowi istotną przeszkodę dla antybiotyków. Dawki 1000 razy większe niż standardowe mogą skutecznie wpływać na biofilm, ale nie jest możliwe ich zastosowanie w warunkach klinicznych w trakcie terapii. Biofilm stanowi swoistą strukturę bakteryjną pokrytą warstwą aglomeratu wytworzonego przez bakterie – substancją polisacharydową (*extra-polysaccharide substance* – EPS). Ta struktura ma chronić bakterie przed niedogodnymi warunkami, a znajdują się w niej również szczepy zmienione genetycznie, z odmiennym profilem białkowym [35].

Obserwacje kliniczne nawracających objawów boreliozy narządowej wskazują, że w tkankach gospodarza pozostają elementy antygenowe bakterii, które mogą prowokować odpowiedź zapalną. Przemawia za tym fakt, że *Borrelia burgdorferi* występuje także w formach, które zawierają swoiste lipoproteiny – zewnętrzne powierzchniowe białka (*outer surface protein* – Osp): OspA (31 kDa), OspB (34 kDa), OspC (21–24 kDa), OspE (19 kDa), OspF (26 kDa), BmpA (p39), p93, p83/100, oraz niskocząsteczkową lipoproteinę o masie 6–10 kDa [36]. Białka te mają zdolność indukowania reakcji zapalnej i podtrzymywania stanu zapalnego nawet bez obecności patogenu. Należy podkreślić, że niezależnie od geograficznego czy biologicznego pochodzenia *Borrelia* ma dwa główne komponenty białkowe o stałej masie molekularnej 41 kDa (p41 lub flagelina) i 60 kDa, określane jako białko szoku termicznego (*heat shock protein* – HSP 60). Białka te często są odpowiedzialne za reakcje krzyżowe z innymi bakteriami [37].

Najbardziej immunogennym białkiem w komórce *Borrelia burgdorferi* jest flagelina, która wchodzi w skład wici i wywołuje wczesną i silną odpowiedź humoralną. Interesujący jest także fakt, że białko to w początkowym i końcowym odcinku łańcucha

Tabela 1. Zachorowania na boreliozę w Polsce

Rok	Liczba zachorowań	Zapadalność
2004	3817	10,0/100 000
2012	8806	23,0/100 000
2013	12 760	33,5/100 000
2014	13 886	34,4/100 000
2015	13 624	35,4/100 000
2016	21 200	55,2/100 000
2017	21 516	56,0/100 000

wykazuje wysoki stopień homologii z sekwencją aminokwasów flageliny innych bakterii – *Bacillus subtilis* i *Salmonella typhimurium*. Epitopy dla *Borrelia burgdorferi* znajdują się między 129. a 151. aminokwasem nici DNA [37].

W przypadku *Borrelia* sp. zmiany antygenów powierzchniowych są wynikiem adaptacji do miejsca przebywania patogenu – kolejno w kleszczu, kręgowcu, tkance organizmu. Stwierdza się wówczas brak przeciwciał skierowanych przeciwko tym antygenom, natomiast w wyniku dokonujących się w nich zmian strukturalnych dochodzi do prezentacji nowych dla organizmu – zmienionych antygenów, w stosunku do których nie zostały wytworzone przeciwciała. W takiej sytuacji organizm nie ma naturalnej ochrony i można oczekiwać dalszej ekspansji patogenu. Dodatkowym utrudnieniem jest zjawisko zmienności antygenów bakterii w poszczególnych fazach jej rozwoju [38].

Zbyt niskie miano przeciwciał wytwarzanych w odpowiedzi na rozpoznane antygeny może wynikać z faktu, że bakterie umiejscawiają się w obrębie stref dla nich bezpiecznych. Takim miejscem jest środowisko wewnątrzkomórkowe, które stanowi barierę dla obecnych przeciwciał oraz ogranicza działanie stosowanych antybiotyków. Wiadomo, że do wnętrza komórki praktycznie docierają makrolidy i fluorochinolony, co najlepiej potwierdzono w zakażeniach bakteriami atypowymi – *Chlamydomphila pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae* i *Legionella pneumophila* [39]. Stanowi to wskazanie do stosowania tych antybiotyków u zakażonych *Borrelia burgdorferi* w odpowiednich fazach choroby.

### Odpowiedź immunologiczna

Ukłucie przez zakażonego kleszcza powoduje wprowadzenie przez skórę do organizmu bakterii *Borrelia burgdorferi*, które w ciągu kilku godzin lub dni mogą przedostawać się do narządów i tkanek. Nadal jednak nie wiadomo, dlaczego bakterie wędrują do wybranych narządów, a inne omijają. Zakażenie uruchamia w organizmie swoiste i nieswoiste reakcje obronne [40].

W pierwszej fazie zakażenia, kiedy jeszcze nie wykrywa się obecności przeciwciał skierowanych przeciwko *Borrelia burgdorferi*, główną funkcję obronną pełnią makrofagi i neutrofile, wykorzystując zdolność do fagocytozy bakterii oraz wytwarzania składników układu dopełniacza, interferonu, lizozymu itp. Przeciwciała pojawiają się po 3 tygodniach od kontaktu z antygenem jako pierwotna odpowiedź immunologiczna [41].

W drugiej fazie zakażenia następuje rozwój elementów odpowiedzi nabytej – swoistej, czyli wynikającej z rozpoznania antygenów bakteryjnych i rozpoczęcia swoistej reakcji immunologicznej. Po przekazaniu przez komórki prezentujące antygen (*antigen presenting cell* – APC) do limfocytów T informacji o charakterze i cechach immunologicznych nowo wykrytego białka następuje „zapisanie” danych o antygenie w „pamięci” komórki. Dalszym etapem reakcji jest stymulowanie przez limfocyty T limfocytów B, które mają zdolność wytwarzania przeciwciał swoistych, zgodnych z informacjami zakodowanymi w limfocytach T. Ta swoistość odpowiedzi ma zasadnicze znaczenie w kontrolowaniu procesu zapalnego. Stwierdzone zaburzenia odpowiedzi immunologicznej mogą mieć istotny wpływ na poprawność przebiegu procesu eliminacji patogenu z organizmu, a także na możliwość przejścia procesu zapalnego w fazę przewlekłą [42].

Przeciwciała w klasie immunoglobulin M (IgM) pojawiają się w odpowiedzi na zakażenie jako pierwsze, ale charakteryzują się niewielkim powinowactwem do antygeny i znaczną aktywacją układu dopełniacza. Wczesna odpowiedź immunologiczna jest skierowana przeciwko flagelinie p41 oraz białku OspC, związanemu z błoną zewnętrzną bakterii, bowiem układ odpornościowy w tej fazie zakażenia rozpoznaje tylko kilka antygenów [43]. W miarę rozwijania się zakażenia w późniejszych stadiach choroby można wykrywać szereg innych przeciwciał skierowanych przeciwko różnym strukturom białkowym, m.in.: p83/100, p53, p43, p39, p30, p21, Osp17, pl4 (wykrywane po kilku tygodniach, miesiącach i latach). Należy podkreślić, że przeciwciała anty-OspC w klasie IgM mogą utrzymywać się przez długi czas po przeprowadzonej skutecznej terapii i nie mogą być uznawane za wskaźnik wznowy zakażenia [44]. Przeciwciała w klasie immunoglobulin G (IgG) pojawiają się w późniejszych stadiach zakażenia i mogą być wykrywane przez wiele miesięcy i lat. Z tego powodu nie można ich wykorzystywać do monitorowania procesu zapalnego. Należy się także liczyć z reakcjami krzyżowymi, które nie zawsze są związane z zakażeniem borrelią, ale z innymi zmienionymi antygenami tkankowymi lub współistniejącym zakażeniem innymi krętkami [45]. Wykazano ponadto, że zewnętrzne białko błonowe p66 *Borrelia burgdorferi* zawiera liczne liniowe epitopy, które reagują krzyżowo z przeciwciałami innych gatunków, co obniża swoistość stosowanych testów diagnostycznych [46].

## Testy diagnostyczne

W diagnostyce boreliozy wykorzystuje się testy pośrednie przesiewowe, które wykrywają swoiste przeciwciała w klasach IgM i IgG. Charakteryzują się one wysoką czułością, ale niską swoistością, co stwarza możliwość uzyskania wyników fałszywie dodatnich, które wymagają dalszej weryfikacji [45, 47].

Test immunoenzymatyczny (*enzyme-linked immunosorbent assays* – ELISA) jest najtańszą metodą immunoenzymatyczną, która jest powtarzalna, ale wymaga standaryzacji. W diagnostyce boreliozy test ELISA wykorzystywany jest jako badanie przesiewowe, które umożliwia wyselekcjonowanie chorych wymagających dalszych badań diagnostycznych w celu potwierdzenia lub wykluczenia zakażenia [48].

Test immunofluorescencji pośredniej (*indirect immunofluorescence test* – IFT) służy do wstępnej diagnostyki przesiewowej i umożliwia wykrywanie przeciwciał w obu klasach. Ich czułość jest porównywalna z testami ELISA, ale w niektórych przypadkach nieznacznie niższa, ponieważ w teście IFT badaniu podlegają całe komórki bakteryjne, z niezmodyfikowanym składem antygenów. Stężenie poszczególnych antygenów może w tym przypadku być niekiedy zbyt niskie do wykrycia przeciwciał obecnych w materiale badanym [49].

*Western blot* jest testem potwierdzającym, który powinien być wykonywany u osób ukłutych przez kleszcza, gdy wyniki testu przesiewowego są wątpliwe lub dodatnie. Nie zaleca się wykonywania testu, gdy wyniki są jednoznacznie ujemne [47]. W teście *Western blot* antygeny bakteryjne tworzą rodzaj mapy z elektroforetycznie rozdzielonego ekstraktu z pełnego spektrum antygenów *Borrelia burgdorferi*, który zostaje unieruchomiony na pasku diagnostycznym [50]. Stosowane w teście białka rekombinowane umożliwiają wykrywanie przeciwciał boreliozowych skierowanych przeciw różnym gatunków *Borrelia* przy zastosowaniu jednego testu, a także zmniejszają możliwość wystąpienia reakcji krzyżowych [51]. Należy się jednak liczyć z reakcjami krzyżowymi z antygenami innych gatunków *Spirochetes*, zwłaszcza z antygenem p41, który pojawia się najwcześniej i jest najbardziej swoisty dla zakażenia borelią [42].

Badanie przeciwciał przeciwko VlsE (*variable major protein-like sequence, expressed*) wykonywane jest testem ELISA oraz *Western blot* [51, 52]. *Borrelia burgdorferi* dysponuje zmiennymi antygenami nazywanymi vls (*VMP-like sequence*), które pozwalają przetrwać bakterii w organizmie człowieka przez

lata [53, 54]. Sekwencje DNA homologiczne do vlsE zidentyfikowano u każdego z patogennych gatunków *Borrelia* i zlokalizowano je na plazmidzie, co zwiększa zakaźność bakterii [55]. Ponieważ chorzy na boreliozę stale wytwarzają przeciwciała przeciwko vlsE, może to być wykorzystane w procesie diagnostycznym.

Amplifikacja DNA metodą PCR może być stosowana w teście potwierdzenia u chorych z rumieniem wędrującym, zanim pojawią się przeciwciała w surowicy. Czuość metody wynosi 68%, a specyficzność 100%, co stanowi jej zaletę. Daje ona możliwość badania płynów, zwłaszcza mózgowo-rdzeniowego, co ułatwia szybkie rozpoznanie zakażenia w sytuacji, gdy występuje miejscowe wytwarzanie przeciwciał [45]. Najlepszym materiałem są bioptaty tkankowe, w których można zdefiniować patogeny umiejscowione wewnątrzkomórkowo lub połączone ze strukturami komórek gospodarza [42]. Obecnie wykonuje się badanie w dwóch wariantach – *real-time* i *immuno-PCR* [56]. Należy jednak podkreślić, że wykrycie materiału genetycznego patogenu nie musi potwierdzać obecności żywych bakterii, czyli nie umożliwia rozpoznania aktywnego zakażenia, co ma istotne znaczenie dla decyzji terapeutycznych.

Hodowla bakterii wydawałaby się najwłaściwszą metodą diagnostyczną, jednak od dawna wiadomo, że krętki *Borrelia burgdorferi* hodują się bardzo trudno na podłożach sztucznych, np. na pożywce *Kelly*. Sama hodowla wymaga warunków beztlenowych, a wzrost bakterii trwa od 1 do 5 tygodni, a tak późno otrzymany wynik nie może być przydatny do wczesnego rozpoznania zakażenia. Częściej wynik dodatni hodowli uzyskuje się przy badaniu płynu mózgowo-rdzeniowego i maziowego niż surowicy [30].

Wiarygodność testów przesiewowych ELISA w kierunku zakażenia *Borrelia burgdorferi* jest zróżnicowana, co często jest przyczyną błędnych decyzji terapeutycznych [45]. Nierespektowanie standardów diagnostycznych, zarówno w laboratoriach, jak i podczas interpretacji otrzymywanych wyników, stanowi istotny problem w sytuacji narastania zagrożenia boreliozą w Polsce i w Europie. Dostępne dane wskazują jednoznacznie, że wątpliwe wyniki badań przesiewowych wymagają weryfikacji w testach bardziej swoistych [57].

## Kryteria rozpoznania boreliozy

Liczne badania, analizy i zalecenia towarzystw naukowych nie są ze sobą spójne, co często utrudnia

rozpoznawanie zakażenia *Borrelia burgdorferi*. Poszczególne objawy i wyniki testów mają określoną wartość diagnostyczną, co może być podstawą podejmowania decyzji terapeutycznych (tab. 2).

Na podstawie badań przeprowadzonych w różnych regionach Europy przez *European Union Concerted Action on Lyme Boreliosis* (EUCALAB) zalecono stosowanie następujących kryteriów diagnostycznych [wg 58]:

- *Western blot* w klasie IgM:
  - » dla *Borrelia afzelii* – obecność co najmniej jednego pasma spośród: p39, OspC, p17 i p41,
  - » dla *Borrelia garinii* – obecność co najmniej jednego pasma spośród: p39, p41, OspC;
- *Western blot* w klasie IgG:
  - » dla *Borrelia afzelii* – obecność co najmniej dwóch pasm spośród: p83/100, p58, p43, p39, p30, OspC, p21, p17, p14,
  - » dla *Borrelia garinii* – obecność co najmniej jednego pasma spośród: p83/100, p39, p30, OspC, p21, p17.

Należy podkreślić, że kryteria rozpoznania są stale modyfikowane przez różne gremia specjalistów i towarzystwa medyczne.

### Obraz kliniczny boreliozy

Wczesna postać boreliozy (*early Lyme disease* – ELD) rozpoznawana jest w ciągu kilku dni od ukłucia przez kleszcza, ale okres ten może trwać nawet do 4 miesięcy. Pojawia się charakterystyczna zmiana skórna w miejscu ukłucia, określana jako rumień wędrujący (*erythema migrans* – EM) – potocznie „bycze oko” (*bull's-eye*) (ryc. 1). Obszar zaczerwienienia nie przekracza zwykle 5 cm i jest otoczony żywo-czerwono-fioletową obwódką, która w ciągu następnych 4–14 dni powoli znika wraz z ustępowaniem rumienia. Zmiana pojawia się u 70–80% zakażonych borelią w ciągu 3 dni od ukłucia, ale może być stwierdzana po 16 tygodniach, a nawet po kilku miesiącach jako ustępująca samoistnie [59]. W niektórych przypadkach obserwuje się krwotoczne i niemigrujące postacie EM, które stanowią wyraz nadreaktywności skórnej. Zmianom skórnym mogą towarzyszyć objawy grypopodobne (ból mięśniowo-stawowy i zmęczenie) z podwyższeniem ciepłoty ciała i dreszczami, świądem skóry oraz powiększeniem węzłów chłonnych w okolicy ukłucia. Ustępują one po 3–4 dniach od chwili podania antybiotyku [60].

Wczesna rozsiana postać boreliozy (*early disseminated Lyme disease* – EDLD) pojawia się po kilku tygodniach od zakażenia w wyniku rozsiewu drogą

Tabela 2. Kryteria diagnostyczne boreliozy [wg 42]

Objaw, wynik badania	Punkty
narażenie na ukłucie kleszcza w rejonie endemicznym	1
w wywiadach ewolucja objawów w czasie związana z boreliozą	2
objawy układowe i związane z zakażeniem: – pojedynczy objaw, np. zapalenie jednego stawu	1
– dwa lub więcej objawów, np. zapalenie jednego stawu i niedowład nerwu	2
rumień wędrujący ( <i>erythema migrans</i> ) potwierdzony przez lekarza	7
<i>acrodermatitis chronica atrophicans</i> potwierdzone biopsyjnie	7
seropozytywność (dodatni test ELISA)	3
serokonwersja (określana w stosunku do poprzedniego testu)	4
mikroskopowe badanie wycinka skóry barwionego srebrem	3
hodowla bakterii – wynik dodatni	4
wykrycie antygenu <i>Borrelia burgdorferi</i>	4
wykrycie DNA/RNA <i>Borrelia burgdorferi</i>	4

W przypadku uzyskania 7 i więcej punktów zakażenie *Borrelia burgdorferi* uważa się za wysoce możliwe, 5–6 punktów – za możliwe, a 4 i mniej punktów – za mało prawdopodobne.

krwionośną. Zajęte są wybrane narządy, co daje odmienne obrazy kliniczne [61].

Neuroborelioza (*Lyme neuroborreliosis* – NLB) jest chorobą o ostrym przebiegu, ale może mieć także charakter przewlekły i rozpoznawana jest u 10–20% zakażonych. Rozwija się w ciągu 1–12 tygodni od początku zakażenia, najczęściej w ciągu 4–6 tygodni [62]. Badania z zastosowaniem najnowszych



Rycina 1. Obraz rumienia wędrującego z otoczką w 3. dniu po ukłuciu przez kleszcza (fot. autora)

technik (*dark field microscopy, histochemical, immunohistochemical atomic force microscopy*) wykazały obecność pleomorficznych, zewnątrz- oraz wewnątrzkomórkowych atypowych postaci bakterii w neuronach i astrocytach u chorych z objawami neuroboreliozy. Sugeruje się, że *Borrelia burgdorferi* w postaci cyst może przetrwać w strukturach mózgu przez wiele miesięcy, a nawet lat, wywołując kolejne nawroty choroby [63]. W obrazie klinicznym neuroboreliozy zmiany mogą występować pojedynczo lub w skojarzeniu [62].

Postać kardiologiczna (*Lyme carditis* – LC) charakteryzuje się objawami kardiologicznymi w postaci palpacji, dyskomfortu w klatce piersiowej, zawrotów głowy, aż do zasłabnięć i utraty przytomności. W cięższych przypadkach stwierdza się uporczywe arytmie oraz zapalenie mięśnia serca i osierdzia (*myopericarditis*), które prowadzą do niewydolności krążenia [61]. Postać LC jest rozpoznawana u < 1% chorych w Europie [64], a u 10% w USA [40], przy czym zapalenie mięśnia serca (*myocarditis*) stwierdza się u 0,4–4% chorych [5].

Boreliozowe zapalenie stawów (*Lyme arthritis* – LA) objawia się jako ból stawów i mięśni (*arthralgia, myalgia*) z regionalną lub uogólnioną limfadenopatią [51]. Rozpoznanie LA wymaga potwierdzenia zakażenia w badaniach laboratoryjnych poprzez wykazanie obecności przeciwciał przeciwko boreliozie we wczesnym stadium w klasie IgM lub w późnym w klasie IgG. Choroba może przyjmować różne postaci. Postać LA występuje u 2–7% chorych w Europie [65] i < 10% w USA [64]. Inne zmiany stwierdzane w tej postaci choroby to: zajęcie narządu wzroku (*uveitis, papillitis, keratitis, episcleritis*), przewlekłe zanikowe zapalenie skóry kończyn (*acrodermatitis chronica atrophicans* – ACA), limfocytoma (*borreliolymphocytoma* – BL), powiększenie i zapalenie wątroby, a także długotrwały suchy kaszel oraz świąd jąder [51].

Późna postać boreliozy (*late Lyme disease* – LLD) jest rozpoznawana wiele miesięcy, a nawet lat od chwili zakażenia borrelią. Obraz kliniczny najczęściej obejmuje zapalenie stawów i zespół objawów neurologicznych z towarzyszącym zmęczeniem. W zależności od regionu świata stwierdzane są epizody nawracających zapaleń dużych stawów. Zapalenia mózgu i rdzenia kręgowego opisywane są bardzo rzadko, nawet w rejonach endemicznych. Objawy LLD są zależne od umiejscowienia procesu zapalnego wywołanego obecnością borrelii lub trwającego odczynu, już bez obecności patogenu [51].

Zespół objawów występujących po leczeniu zakażenia *Borrelia burgdorferi* (*post-treatment Lyme borreliosis syndrome* – PTLBS) stanowi przedmiot dyskusji w gronie ekspertów. Objawy zespołu pojawiają się po upływie miesięcy lub lat od antybiotykoterapii u 10–20% leczonych [66]. Najczęściej zajęciu ulegają stawy, co objawia się nasilonymi bólami, zmęczeniem, zaburzeniami snu oraz zaburzeniami rozpoznawania.

### Leczenie boreliozy

Złożoność obrazu klinicznego boreliozy i ograniczone możliwości wiarygodnego rozpoznania w testach laboratoryjnych znacznie utrudniają podejmowanie skutecznego leczenia.

Pierwsza reakcja na ukłucie kleszcza z następczym obrzękiem i fioletową otoczką wymaga podania jednego z następujących antybiotyków [42]:

- doksycyklina w dawce 100–600 mg raz lub dwa razy dziennie przez 1–21 dni – zalecana przez nestora badań nad boreliozą – prof. Josepha Burascano [42],
- amoksycylina w połączeniu z kwasem klawulanowym – skuteczniejsza niż penicyliny, których działanie bakteriobójcze rozpoczyna się po 72 godzinach,
- cefalosporyny (cefuroksym, ceftriakson) – również skuteczne jak amoksycylina,
- makrolidy (erytromycyna, azytromycyna, telitromycyna) – mają zdolność penetracji do wnętrza makrofaga, gdzie znajdują się bakterie i skutecznie mogą je niszczyć. Zalecane są jednak wyższe dawki niż standardowe, np. azytromycyna 2 × 500 mg przez 6 dni [42].

Trwają badania nad kremami z azytromycyną 4%, których zastosowanie dwa razy dziennie przez 3 kolejne dni dawało 100-procentową ochronę przed zakażeniem borrelią, a utrzymanie tego leczenia przez 14 dni po usunięciu kleszcza w 74% chroniło przed kolejnym ukłuciem. Krem z azytromycyną 4% zastosowany w innym miejscu, niż nastąpiło ukłucie, był również skuteczny, co sugeruje układowe działanie azytromycyny z wykorzystaniem efektu transdermalnego [67, 68].

Amerykańskie Towarzystwo Chorób Zakaźnych (*Infections Diseases Society of America* – IDSA), w przeciwieństwie do Międzynarodowego Towarzystwa ds. Boreliozy i Chorób z Nią Powiązanych (*International Lyme and Associated Diseases Society* – ILADS), nie zaleca terapii długoterminowej, leczenia skojarzonego i specyficznej suplementacji diety. W przypadku ukłucia przez kleszcza rutynowe podawanie leków nie jest konieczne [69].



Międzynarodowe Towarzystwo ds. Boreliozy i Chorób z Nią Powiązanych zaleca odmienny sposób leczenia, m.in. przyjmowanie doustne antybiotyków przez 28 dni, aby mieć pewność zablokowania dalszego rozwoju choroby. Wskazana jest agresywna antybiotykoterapia z połączeniem kilku antybiotyków w dużych dawkach, aż do ustąpienia objawów choroby. Po poprawie choremu zaleca się nadal przyjmowanie antybiotyków przez 2–4 miesiące. Po tym okresie, który może trwać nawet kilka lat, pacjenta uznaje się za wyleczonego [70].

Zalecenia Polskiego Towarzystwa Epidemiologów i Lekarzy Chorób Zakaźnych zostały opracowane w 2015 r. i stanowią w zasadzie jedyny polski zestaw zasad postępowania z chorymi na boreliozę [71, 72]. W rekomendacjach tych nie uwzględniono podawania azytromycyny, mimo że w cytowanych opracowaniach była ona zalecana.

- W przypadku rumienia wędrującego zaleca się leczenie doksycyliną (2 × 100 mg) lub amoksycyliną (1,5–2,0 g/dobę), lub aksetylem cefuroksymu (2 × 500 mg) przez 14–28 dni.
- U chorych z *Lyme carditis* leczenie polega na stosowaniu doksycykliny (2 × 100 mg) lub amoksycyliny (1,5–2,0 g/dobę), lub ceftriaksonu (2,0 g/dobę) przez 28–30 dni.
- W zapaleniu stawów zarówno w fazie wczesnej, jak i późnej standardem jest stosowanie doksycykliny (2 × 100 mg) lub ceftriaksonu (2,0 g/dobę) przez 28–30 dni.
- U chorych z objawami neuroboreliozy leczenie jest uzależnione od postaci choroby:
  - » w przypadku porażenia nerwów czaszkowych zalecana jest doksycyklina (2 × 100 mg) przez 14–28 dni,
  - » u chorych z objawami *meningitis, radiculopathy, cerebral borrelial vasculitis* rekomendowane jest podawanie doksycykliny (2 × 100 mg) lub ceftriaksonu (2,0 g/dobę *i.v.*) przez 14–28 dni,
  - » w *encephalomyelitis, radiculoneuritis, meningitis, occlusive vasculitis* i *cerebral infarct* wskazane jest stosowanie ceftriaksonu (2,0 g/dobę) przez 21–28 dni.
- W przewlekłym zanikowym zapaleniu skóry zaleca się stosowanie doksycykliny (2 × 100 mg *p.o.*) lub ceftriaksonu (2,0 g/dobę *i.v.*), lub amoksycyliny (1,5–2,0 g/dobę *p.o.*), lub aksetylu cefuroksymu (2 × 500 mg *p.o.*) przez 14–21 dni.

### Koszt leczenia chorych na boreliozę

Według prognoz koszt leczenia chorych na ostrą i przewlekłą boreliozę w 2018 r. w USA będzie wynosił 4,8–9,6 mld USD, a w Europie 10,1–20,1 mld EUR. Na zwiększenie kosztów leczenia istotny wpływ ma

podawanie dożylnie antybiotyków, które przynosi efekt u mniej niż 25% chorych [12].

### Podsumowanie

Wyniki prowadzonych obserwacji i analiz wymagają dalszych badań. W wielu przypadkach są bardzo obiecujące i z pewnością mogą umożliwić całkowicie bezpieczne leczenie na pierwszym etapie, tuż po ukłuciu przez kleszcza, zwłaszcza w regionach endemicznych. Leczenie przypadków przewlekłych nadal stanowi istotny problem. Podejmowane próby kontrolowania procesu zapalnego wydają się także interesujące, ale wymagają badań immunologicznych, które pozwoliłyby na monitorowanie poszczególnych etapów choroby.

### Piśmiennictwo

1. Marcus K. Verhandlungen der dermatologischen Gesellschaft zu Stockholm. Archiv für Dermatologie und Syphilis 1911; 107: 467-470.
2. Steere AC, Malawista SE, Snyderman DR i wsp. Lyme arthritis: an epidemic of oligoarticular arthritis in children and adults in three Connecticut communities. Arthritis Rheum 1977; 20: 7-17.
3. Johnson RC, Schmid GP, Hyde FW i wsp. *Borrelia burgdorferi* sp. nov.: etiologic agent of Lyme disease. Int J Syst Bacteriol 1984; 34: 496-497.
4. Tilly K, Rosa PA, Steward PhE. Biology of infection with *Borrelia burgdorferi*. Infect Dis Clin North Am 2008; 22: 217-234.
5. Steere AC, Strle F, Wormser GP i wsp. Lyme borreliosis. Nat Rev Dis Primers 2017; 2: 16090.
6. Margos G, Vollmer SA, Ogden NH i wsp. Population genetics, taxonomy, phylogeny and evolution of *Borrelia burgdorferi* sensu lato. Infect Genet Evol 2011; 11: 1545-1563.
7. Casjens S, Palmer N, van Vugt R i wsp. A bacterial genome in flux: the twelve linear and nine circular extrachromosomal DNAs in an infectious isolate of the Lyme disease spirochete *Borrelia burgdorferi*. Mol Microbiol 2000; 35: 490-516.
8. Mannelli A, Bertolotti L, Gern L i wsp. Ecology of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in Europe: transmission dynamics in multi-host systems, influence of molecular processes and effects of climate change. FEMS Microbiol Rev 2012; 36: 837-861.
9. Gassner F, Takken W, Plas CL i wsp. Rodent species as natural reservoirs of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in different habitats of *Ixodes ricinus* in The Netherlands. Tick Tick Borne Dis 2013; 4: 452-458.
10. Płusa T. Historia badań, epidemiologia zachorowań oraz charakterystyka zakażenia *Borrelia burgdorferi*. Pol Merkur Lek 2017; 43: 99-103.
11. Flisiak R. Borelioza z Lyme. W: Choroby zakaźne i pasożytnicze. t. II. Cianciara J, Juszczyk J (red.). Czelej, Lublin 2012; 616-622.
12. Davidsson M. The financial implications of a well-hidden and ignored chronic Lyme disease pandemic. Healthcare 2018; 6: 16.
13. Smith R, Takkinen J. Lyme borreliosis: Europe-wide coordinated surveillance and action needed? Euro Surveill 2006; 11: E060622.1.

14. European Center for Disease Control – Lyme borreliosis in Europe. 2016.
15. Rizzoli A, Haufler HC, Carpi G i wsp. Lyme borreliosis in Europe. *Euro Surveill* 2011; 16, pii: 19906.
16. Blazejak K, Raulf MK, Janecek E i wsp. Shifts in *Borrelia burgdorferi* (s.l.) geno-species infections in *Ixodes ricinus* over a 10-year surveillance period in the city of Hanover (Germany) and *Borrelia miyamotoi*-specific Reverse Line Blot detection. *Parasit Vectors* 2018; 11: 304.
17. Faulde MK, Rutenfranz M, Hepke J i wsp. Human tick infestation pattern, tick-bite rate, and associated *Borrelia burgdorferi* s.l. infection risk during occupational tick exposure at the Seedorf military training area, north-western Germany. *Ticks Tick Borne Dis* 2014; 5: 594-599.
18. Huegli D, Moret J, Rais O i wsp. Prospective study on the incidence of infection by *Borrelia burgdorferi* sensu lato after a tick bite in a highly endemic area of Switzerland. *Ticks Tick Borne Dis* 2011; 2: 129-136.
19. Pejchalova K, Žakowska A, Mejzlikova M i wsp. Isolation, cultivation and identification of *Borrelia burgdorferi*. Genospecies from *Ixodes ricinus* ticks from the city of Brno, Czech Republic. *Ann Agric Environ Med* 2007; 14: 75-79.
20. Czupryna P, Muszyńska-Mazur A, Pancewicz SA. Zapalenie korzeni rdzeniowych i bóle kręgosłupa w przebiegu boreliozy. *Med Dypl* 2011; 20: 92-96.
21. Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego – Państwowy Zakład Higieny. Zachorowania na wybrane choroby zakaźne w Polsce od 1 stycznia do 31 grudnia 2015 r. oraz w porównywalnym okresie 2014 r.
22. Główny Inspektorat Sanitarny. Kleszcze, jak się przed nimi chronić? 2018. [www.gis.gov.pl](http://www.gis.gov.pl)
23. Gałęziowska E, Rzymowska J, Najda N i wsp. Prevalence of *Borrelia burgdorferi* in ticks removed from skin of people and circumstances of being bitten – research from the area of Poland, 2012–2014. *Ann Agric Environ Med* 2018; 25: 31-35.
24. Nelson CA, Saha S, Kugeler KJ i wsp. Incidence of clinician-diagnosed Lyme disease, United States, 2005–2010. *Emerg Infect Dis* 2015; 21: 1625-1631.
25. White J, Noonan-Toly C, Lukacik G i wsp. Lyme Disease Surveillance in New York State: an Assessment of Case Underreporting. *Zoonoses Public Health* 2018; 65: 238-246.
26. Li M, Masuzawa T, Takada N i wsp. Lyme disease *Borrelia* species in northeastern China resemble those isolated from far eastern Russia and Japan. *Appl Environ Microbiol* 1998; 64: 2705-2709.
27. Masuzawa T. Terrestrial distribution of the Lyme borreliosis agent *Borrelia burgdorferi* sensu lato in East Asia. *Jpn J Infect Dis* 2004; 57: 229-235.
28. Dsouli N, Younsi-Kabachii H, Postic D i wsp. Reservoir role of lizard *Psammotomus algirus* in transmission cycle of *Borrelia burgdorferi* sensu lato (Spirochaetaceae) in Tunisia. *J Med Entomol* 2006; 43: 737-742.
29. Bouattour A, Ghorbel A, Chabchoub A i wsp. Lyme borreliosis situation in North Africa. *Arch Inst Pasteur Tunis* 2004; 81: 13-20.
30. Stanek G, Fingerle V, Hunfeld KP i wsp. Lyme borreliosis: Clinical case definitions for diagnosis and management in Europe. *Clin Microbiol Infect* 2011; 17: 69-79.
31. Calderaro A, Gorrini C, Piccolo G i wsp. Identification of *Borrelia* species after creation of an in-house MALDI-TOF MS database. *PLoS One* 2014; 9: e88895.
32. Burgdorfer W, Lane R, Barbour A i wsp. The western black-legged tick, *Ixodes pacificus*: a vector of *Borrelia burgdorferi*. *Am J Trop Med Hyg* 1985; 34: 925-930.
33. Brorson O, Brorson SH. An in vitro study of the susceptibility of mobile and cystic forms of *Borrelia burgdorferi* to metronidazole. *APMIS* 1999; 107: 566-576.
34. Sapi E, Kaur N, Anyanwu S i wsp. Evaluation of in-vitro antibiotic susceptibility of different morphological forms of *Borrelia burgdorferi*. *Infect Drug Resist* 2011; 4: 97-113.
35. Timmaraju V, Theophilus P, Balasubramanian K i wsp. Biofilm formation by *Borrelia burgdorferi* sensu lato. *FEMS Microbiol Lett* 2015; 362: fnv120.
36. Murgia R, Piazzetta C, Cinco M. Cystic forms of *Borrelia burgdorferi* sensu lato: induction, development, and the role of RpoS. *Wiener Klinische Wochenschrift* 2002; 114: 574-579.
37. Reed KD. Laboratory testing for Lyme disease: possibilities and practicalities. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 319-324.
38. Elsner RA, Hastey CJ, Olsen KJ i wsp. Suppression of long-lived humoral immunity following *Borrelia burgdorferi* infection. *PLoS Pathog* 2015; 11:e1004976.
39. Płusa T. Farmakokinetyka współczesnych antybiotyków. *Pol Merk Lek* 2011; 30: 385-388.
40. Stanek G, Wormser GP, Gray J, Strle F. Lyme Borreliosis. *Lancet* 2012; 379: 461-473.
41. Miąskiewicz K, Walczak E, Roguska K i wsp. Fałszywie ujemne wyniki testów serologicznych w kierunku *Borrelia burgdorferi* jako efekt kompleksemii w przebiegu choroby z Lyme. *Forum Med Rodzinnej* 2011; 5: 201-209.
42. Burrascano JJ Jr. Advanced topics in Lyme disease. Diagnostic hints and treatment guidelines for Lyme and other tick borne illnesses. 16<sup>th</sup> ed. *Managing Lyme Disease*, 2008; 2-37.
43. Hanson MS, Cassatt DR, Guo BP i wsp. Active and passive immunity against *Borrelia burgdorferi* decorin binding protein A (DbpA) protects against infection. *Infect Immun* 1998; 66: 2143-2153.
44. Arvikar SL, Steere AC. Diagnosis and treatment of Lyme arthritis. *Infect Dis Clin North Am* 2015; 29: 269-280.
45. Borchers T, Keen CL, Huntley AC i wsp. Lyme disease: a rigorous review of diagnostic criteria and treatment. *J Autoimmun* 2015; 57: 82-115.
46. Amboldi PM, Dattwayler RJ. Cross-reactive epitopes in *Borrelia burgdorferi* p66. *Clin Vaccine Immunol* 2015; 22: 840-843.
47. Gajović O, Tedorović Z, Nesić L i wsp. Lyme borreliosis – diagnostic difficulties in interpreting serological results. *Med Pregl* 2010; 63: 839-843.
48. Lum GD, Hood JR, Wright P. An Australian guideline on the diagnosis of overseas-acquired Lyme disease/borreliosis. *Policy Guidelines* 2015; 39: E590-E596.
49. Aguero-Rosenfeld ME, Wang G, Schwartz I i wsp. Diagnosis of Lyme borreliosis. *Clin Microbiol Rev* 2005; 18: 484-509.
50. Wright WF, Riedel DJ, Talwani R i wsp. Diagnosis and management of Lyme disease. *Am Family Physician* 2012; 85: 1086-1093.
51. Stanek G, Lusa L, Ogring K i wsp. Intrathecally produced IgG and IgM antibodies to recombinant VlsE, VlsE peptide, recombinant OspC and whole cell extracts in the diagnosis of Lyme neuroborreliosis. *Med Microbiol Immunol* 2014; 203: 125-132.
52. Guzman I, Gelman H, Gruebele M. The extracellular protein VlsE is destabilized inside cells. *J Mol Biol* 2014; 426: 11-20.

53. Rogovsky AS, Gillis DC, Ionov Y i wsp. Antibody response to Lyme disease Spirochetes in the context of VlseE-mediated immune evasion. *Infect Immun* 2017; 85: 1-13.
54. Wang G, van Dam AP, Dankert J. Analysis of a VMP-like sequence (vls) locus in *Borrelia garinii* and Vls homologues among four *Borrelia burgdorferi sensu lato* species. *FEMS Microbiol Lett* 2001; 199: 39-45.
55. Purser JE, Norris SJ. Correlation between plasmid content and infectivity in *Borrelia burgdorferi*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 13865-13870.
56. Skotarczak B, Wodecka B, Hermanowska-Szpakowicz T. Czułość techniki PCR w wykrywaniu *Borrelia burgdorferi sensu lato* w różnych izolatach. *Przegl Epidemiol* 2002; 56: 73-79.
57. Leeflang MMG, Ang CW, Berkhout J i wsp. The diagnostic accuracy of serological tests for Lyme borreliosis in Europe: a systematic review and meta-analysis. *BMC Infect Dis* 2016; 16: 1-17.
58. Gąsiorowski J, Witecka-Knysz E, Knysz B i wsp. Diagnostyka boreliozy. *Med Pracy* 2007; 58: 439-447.
59. Smith RP, Schoen RT, Rahn DW i wsp. Clinical characteristics and treatment outcome of early Lyme disease in patients with microbiologically confirmed erythema migrans. *Ann Intern Med* 2002; 136: 421-428.
60. Wetter DA, Ruff CA. Erythema migrans in Lyme disease. *Can Med Assoc J* 2011; 183: 1281.
61. Pfister HW, Wilske B, Weber K. Lyme borreliosis: basic science and clinical aspects. *Lancet* 1994; 343: 1013-1016.
62. Mygland Å, Ljøstad U, Fingerle V i wsp. EFNS guidelines on the diagnosis and management of European Lyme neuroborreliosis. *Eur J Neurol* 2010; 17: 8-16, e1-e4.
63. Miklosy J, Kasas S, Zurn AD i wsp. Persisting atypical and cystic forms of *Borrelia burgdorferi* and local inflammation in Lyme neuroborreliosis. *J Neuroinfect* 2008; 5: 1-18.
64. Strle F, Stanek G. Clinical manifestations and diagnosis of Lyme borreliosis. *Curr Probl Dermatol* 2009; 37: 51-110.
65. Berglund J, Eitrem R, Ornstein K i wsp. An epidemiologic study of Lyme disease in southern Sweden. *N Engl J Med* 1995; 333: 1319-1327.
66. Marques A. Chronic Lyme disease: a review. *Infect Dis Clin North Am* 2008; 22: 341-346.
67. Knauer J, Krupka I, Fuedner C i wsp. Evaluation of the preventive capacities of a topically applied azithromycin formulation against Lyme borreliosis in a murine model. *J Antimicrob Chemother* 2011; 66: 2814-2822.
68. Piesman J, Hojgaard A, Ullmann AJ i wsp. Efficacy of an experimental azithromycin cream for prophylaxis of tick-transmitted Lyme disease spirochete infection in a murine model antimicrobial agents and chemotherapy. *Antimicrob Agents Chemother* 2014; 58: 348-351.
69. Preboth M. IDSA Issues Guidelines on the Treatment of Lyme Disease. *Am Fam Physician* 2001; 63: 2065-2067.
70. Cameron DJ, Johnson LN, Maloney EL. Evidence assessments and guideline recommendations in Lyme disease: the clinical management of known tick bites, erythema migrans rashes and persistent disease. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2014; 12: 1103-1135.
71. Pancewicz SA, Garlicki AM, Moniuszko-Malinowska A i wsp. Diagnostyka i leczenie chorób przenoszonych przez kleszcze. Rekomendacje Polskiego Towarzystwa Epidemiologów i Lekarzy Chorób Zakaźnych. *Przegl Epidemiol* 2015; 69: 421-428.
72. Szenbron L. Borelioza – aktualne zasady leczenia i edukacji pacjenta. *Świat Med Farma* 2017; 7: 52-58.

#### Adres do korespondencji:

prof. dr hab. med. Tadeusz Płusa  
 Wydział Lekarski Uczelni Łazarskiego  
 ul. Świeradowska 43  
 02-662 Warszawa  
 tel. 515 444 999  
 e-mail: respir48@gmail.com