KLÍŠŤATA

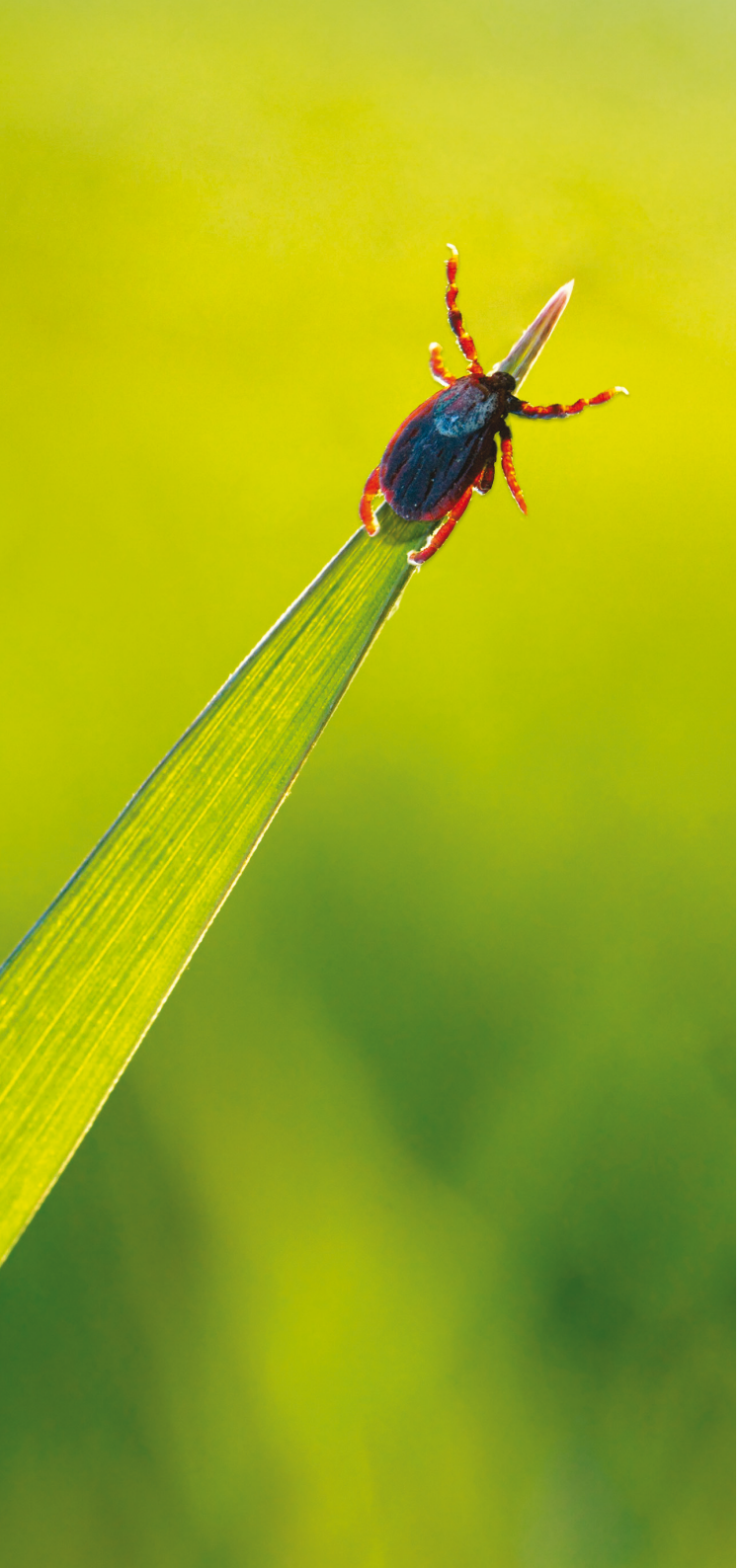
A JIMI PŘENÁŠENÁ ONEMOCNĚNÍ V JIHOČESKÉM KRAJI A BAVORSKU

ZECKEN

UND ZECKEN-ÜBERTRAGENE INFEKTIONSKRANKHEITEN IN SÜDBÖHMEN UND BAYERN

INVESTICE DO VAŠÍ BUDOUCNOSTI
Projekt je spolufinancován Evropskou unií z Evropského fondu pro regionální rozvoj a Jihočeským krajem.

ZIEL 3
CÍL 3



SBORNÍK PROJEKTU /
SAMMELBAND DES PROJEKTES
2009–2011

KLÍŠŤATA

A JIMI PŘENÁŠENÁ ONEMOCNĚNÍ V JIHOČESKÉM KRAJI A BAVORSKU

ZECKEN

UND ZECKEN-ÜBERTRAGENE INFEKTIONSKRANKHEITEN IN SÜDBÖHMEN UND BAYERN

AUTORSKÝ KOLEKTIV / AUTOREN KOLLEKTIV

VÁCLAV HÖNIG, DANA ZUBRIKOVÁ, MARIA VÖGERL, PAVEL ŠVEC, KURT PFISTER, LIBOR GRUBHOFFER

PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA, JIHOČESKÁ UNIVERZITA, ČESKÉ BUDĚJOVICE, ČESKÁ REPUBLIKA

VE SPOLUPRÁCI S / IN KOOPERATION MIT

INSTITUT FÜR VERGLEICHENDE TROPENMEDIZIN UND PARASITOLOGIE, TIERÄRZTLICHE FAKULTÄT DER LUDWIG-MAXIMILIANS-UNIVERSITÄT, MÜNCHEN, DEUTSCHLAND

OBSAH / INHALT

I. Projekt klíšťata a jimi přenášená infekční onemocnění v podmínkách Jihočeského kraje a Bavorska /
I. Das Projekt Zecken und Zecken-übertragene Infektionskrankheiten in Südböhmen und Bayern _____ 3

Cíle projektu / Projektziele _____ 3

II. Úvod / II. Einleitung _____ 4

1. Klíšťaty přenášená onemocnění v Evropě / 1. Zecken-übertragene Infektionskrankheiten in Europa _____ 4
2. Klíšťata / 2. Zecken _____ 5
3. Klíšťaty přenášené patogeny / 3. Zecken-übertragene Infektionserreger _____ 7
   3.1 Virus klíšťové encefalitidy / 3.1 FSME-Virus _____ 7 / 8
   3.2 *Borrelia burgdorferi* sensu lato / 3.2 *Borrelia burgdorferi* sensu lato _____ 9
4. Přenos patogenů klíšťaty / 4. Übertragung von Infektionserreger durch Zecken _____ 13
5. Preventivní opatření / 5. Prophylaxe _____ 15

III. Klíšťata a jimi přenášená onemocnění v Jihočeském kraji / III. Zecken und Zeckenübertragene Krankheiten in Ostbayern _____ 16

1. Základní charakteristiky výzkumného území / 1. Eigenschaften der Standorte _____ 17 / 16
2. Prostorová distribuce klinických případů klíšťové encefalitidy a lymeské boreliózy v Jihočeském kraji /
   2. Die Verteilung der FSME-und Lyme-Borreliose-Erkrankungsfälle in Ostbayern (Oberpfalz und Niederbayern) _____ 17
3. Výběr lokalit pro terénní výzkum / 3. Auswahl der Standorte für die Zeckensammlung _____ 18
4. Stanovení aktivity populací klíštěte *Ixodes ricinus* / 4. Bestimmung der Aktivität von *Ixodes ricinus* _____ 18 / 19
5. Detekce viru klíšťové encefalitidy a spirochét lymeské boreliózy / 5. Nachweis des FSME-Virus und *Borrelia burgdorferi* sensu lato _____ 19 / 20
6. Faktory prostředí a modelování / 6. Vergleich der Ergebnisse in Ostbayern und Südböhmen _____ 20 / 21
7. Porovnání situace v Jihočeském kraji a Bavorsku _____ 21

Konference: „Klíšťata a jimi přenášené nákazy v jižních Čechách a Bavorsku" /
Konferenz: „Zecken und die von ihnen übertragenen Infektionskrankheiten in Südböhmen und Bayern" _____ 23

Obrazová příloha / Bildbeilage _____ 67

Literatura / Literatur _____ 78

Seznam zkratek / Liste der Abkürzungen _____ 80

© Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Přírodovědecká fakulta, 2011
© Institut für Vergleichende Tropenmedizin und Parasitologie, Tierärztliche Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität, München, 2011
ISBN 978-80-7394-309-7

I. Projekt klíšťata a jimi přenášená infekční onemocnění v podmínkách Jihočeského kraje a Bavorska

Klíšťata a klíšťaty přenášené nákazy jsou vzhledem k významnosti této problematiky dlouhodobě jedním z důležitých výzkumných témat řešených ve spolupráci Přírodovědecké fakulty Jihočeské univerzity a Parazitologického ústavu Biologického centra Akademie věd ČR. Z epidemiologického pohledu patří právě území Jihočeského kraje k oblastem s nejvyšším výskytem klíšťaty přenášených nákaz. Zároveň se jedná o region s vysokým turistickým a rekreačním potenciálem. Vzhledem k těmto okolnostem vznikla potřeba důkladně zmapovat riziko, které obyvatelům a návštěvníkům kraje hrozí stran infekce klíšťaty přenášenými patogeny. Projekt byl finančně, organizačně i politicky podporován ze strany Jihočeského kraje a měl tedy i potřebou podporu pro šíření a aplikaci výsledků.

Vzhledem k předchozím kontaktům s kolegy z bavorského Mnichova, geografické blízkosti Bavorska a jižních Čech a podobnosti přírodních podmínek byl projekt koncipován jako přeshraniční spolupráce. Spolupráce byla navázána konkrétně s Ústavem srovnávací tropické medicíny a parazitologie, Veterinární fakulty Univerzity Ludvíka-Maxmiliána v Mnichově. Projekt byl financován z Evropského fondu pro regionální rozvoj – OP přeshraniční spolupráce Cíl 3 – Česká republika – Svobodný stát Bavorsko 2007–2013, spolufinancování české části projektu bylo zajištěno z prostředků Jihočeského kraje a státního rozpočtu ČR. Realizace projektu byla započata k 1.4.2009 a ukončena k 31.10.2011. Vedoucím partnerem projektu byla Přírodovědecká fakulta Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích, projektovým partnerem Ústav srovnávací tropické medicíny a parazitologie, Veterinární fakulty Univerzity Ludvíka-Maxmiliána v Mnichově.

Cíle projektu

1. Geografické zmapování výskytu klinických případů klíšťové encefalitidy a lymeské boreliózy na území Jihočeského kraje a vybraného území Bavorska
2. Stanovení aktivity klíšťat, prevalence viru klíšťové encefalitidy a spirochét lymeské boreliózy v systému 30 typových lokalit v Jihočeském kraji a 20 lokalit v Bavorsku

I. Das Projekt Zecken und Zecken-übertragene Infektionskrankheiten in Südböhmen und Bayern

Zecken und die durch sie übertragenen Infektionen gehören zum Hauptforschungsgebiet des Instituts für Vergleichende Tropenmedizin und Parasitologie der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität in München. Der Freistaat Bayern wird durch das gehäufte Auftreten von Zecken-übertragener Infektionskrankheiten als Hochrisikogebiet in Deutschland eingeschätzt. Aus diesem Grund bestand der Bedarf nach einer umfassenden Beschreibung der geographischen Variation des Infektionsrisikos in dieser Region. Daher wurde ein grenzübergreifendes Projekt „Zecken und Zecken-übertragene Infektionskrankheiten in Südböhmen und Bayern“ zusammen mit der naturwissenschaftlichen Fakultät der Südböhmichen Universität in Ceske Budejovice in der Tschechischen Republik ins Leben gerufen. Das Projekt wurde durch das Ziel-3-Programm zur grenzübergreifenden Zusammenarbeit Freistaat Bayern-Tschechische Republik 2007–2013 finanziert. Das Projekt startete am 1.4.2009 und endete am 31.10.2011.

Projektziele

1. Kartierung der FSME-und Lyme-Borreliose-Erkrankungsfälle in Südböhmen und Ostbayern.
2. Ermittlung der Zeckenaktivität und der Prävalenzen des FSME-Virus und Lyme-Borreliose-Spirochäten in einem Netzwerk von 20 Standorten in Ostbayern und 30 Standorten in Südböhmen.
3. Charakterisierung der genetischen Diversität der Zecken-übertragenen Infektionserreger.
4. Identifizierung von Schlüsselfaktoren, die die Verteilung von Zecken, Zecken-übertragenen Infektionserregern und Erkrankungsfällen bestimmen.

3. Charakteristika genetické variability klíšťaty přenášených patogenů
4. Identifikace hlavních determinant distribuce klíšťat, klíšťaty přenášených patogenů a klinických případů onemocnění člověka
5. Modely predikce rizika infekce klíšťaty přenášenými onemocněními

II. Úvod

1. Klíšťaty přenášená onemocnění v Evropě

Klíšťata a jimi přenášené patogeny jsou ve (střední) Evropě významným rizikem pro zdraví člověka. Klíšťaty přenášené nákazy jsou na tomto kontinentě nejrozšířenějšími vektory přenášenými onemocněními (nákazy přenášené na definitivního hostitele jiným živočišným druhem). Konkrétně dvě onemocnění jsou v ohledu počtu klinických případů a jejich závažnosti nejvýznamnější: klíšťová encefalitida (KE) a lymeská borelióza (LB). Původci obou onemocnění byly popsáni poměrně nedávno a geografické rozšíření i incidence klinických případů se v současné době velmi dynamicky mění, proto se obě nemoci označují jako „emergentní nákazy" (angl. „emerging diseases"). Pod tímto označením se rozumějí onemocnění objevující se zcela nově, či vyskytující se s rozdílnou intenzitou, v jiných geografických oblastech nebo v jiném kontextu (u jiné části populace apod.) než v minulosti.

V Evropě je průměrně registrováno 5 453 případů KE a 26 826 případů LB ročně. Konkrétní údaje pro Evropu, Českou republiku a Německo jsou uvedeny v tabulce 1 a na grafech (Obr. 1, 2). Nejvyšší incidence KE je v Evropě hlášena z Estonska, Slovinska, Lotyšska a Litvy (průměrná roční incidence: 13,1; 12,7; 12,0 respektive 11,3 případů/100 000 obyv.). Nejvyšší incidence LB je pak zaznamenávána ve Slovinsku, Estonsku, Litvě a České republice (průměrná roční incidence: 201,4; 58,9; 51,4 respektive 36,6 příp./100 000 obyv.) (WHO, CISID; SZÚ, EPIDAT).

Tab. 1: Průměrná roční incidence klíšťové encefalitidy a lymeské boreliózy v Evropě, České republice a Německu (2000–2010) (WHO, CISID; SZÚ, EPIDAT). Data pro lymeskou boreliózu pro Německo nejsou dostupná, protože tato nemoc nepatří v Německu mezi povinně hlášené.

5. Prognose des Risikos für Zecken-übertragene Infektionskrankheiten durch Erstellung eines Risikomodells.

II. Einleitung

1. Zecken-übertragene Infektionskrankheiten in Europa

Zecken und Zecken-übertragenen Infektionskrankheiten kommt eine große Bedeutung für die Gesundheit des Menschen in (Zentral-) Europa zu. Sie gehören zu den am meisten verbreiteten vektorübertragenen Krankheiten (Infektionen, die durch einen blutsaugende Arthropoden auf einen Wirt übertragen werden) in dieser Region. Besonders zwei dieser Infektionskrankheiten sind sehr bedeutsam für den Menschen (bezüglich der Fallzahlen und der Schwere des Krankheitsverlaufs), FSME (Frühsommer-Meningoenzephalitis) und Lyme-Borreliose (LB). Beide Infektionskrankheiten wurden erst vermehrt in letzter Zeit beschrieben und werden daher zu den neu auftretenden Infektionskrankheiten, den „emerging diseases" gezählt. Als „emerging" oder "emergent" werden Krankheiten bezeichnet, die in einem Gebiet neu auftreten, von der bisherigen Inzidenz abweichen oder in neuen geographischen Breiten beobachtet werden.

In Europa werden im Durchschnitt 26 826 Fälle von LB und 5 453 Fälle von FSME pro Jahr registriert. Die Inzidenzraten pro Jahr für Gesamteuropa und die Tschechische Republik und Deutschland sind in Tab. 1, Abb. 1 und 2 aufgeführt. Die höchste Inzidenzrate für FSME in Europa wird für Estland, Slowenien, Lettland und Litauen beschrieben (durchschnittliche Jahresinzidenz jeweils 131; 12,7; 12,0 und 11,3 Fälle/100 000 Einwohner.). Die höchste Inzidenzrate für LB wird für Slowenien, Estland, Litauen und die Tschechische Republik berichtet (durchschnittliche Jahresinzidenz jeweils 201,4; 58,9; 51,4 und 36,6 Fälle/100 000 Einwohner) (WHO, CISID; SZÚ, EPIDAT).

Tab. 1: Durchschnittliche Jahresinzidenz für FSME und Lyme-Borreliose in Europa, Tschechische Republik und Deutschland (2000–2010) (WHO, CISID; SZÚ, EPIDAT) (Daten für Lyme-Borreliose in Deutschland sind nicht verfügbar, da Lyme-Borelliose in Deutschland nicht meldepfichtig ist).

	Incidence KE [případů/100 000 obyv.]			Incidence LB [případů/100 000 obyv.]	
	Evropa	ČR	Německo	Evropa	ČR
2000	2,2	7		10,8	37,6
2001	1,8	6,2	0,3	11,6	24,75
2002	1,4	6,4	0,3	12,1	35,9
2003	2,8	6	0,3	18,4	36,1
2004	2,4	5		16,2	31,9
2005	3,3	6,3	0,5	16,5	35,8
2006	3,4	10,1	0,7	21	42,7
2007	2,7	5,3	0,3	20,6	34,6
2008	3,4	6,1		28,3	42,2
2009	6,8	7,8	0,4	51,1*	36,9
2010	6,3	5,6		127,4*	34,2
Průměr	2,7	6,5	0,4	19,8	36,6

* nízké počty údajů

2. Klíšťata

Klíšťata jsou krev-sající členovci vzdáleně příbuzní pavoukům. Taxonomicky se řadí mezi Chelicerata > Arachnida > Acarina > Ixodida. Ve skupině Ixodida najdeme dvě významné čeledi klíšťat. Klíšťata čeledi Argasidae, někdy označovaná jako „měkká klíšťata", jsou přizpůsobena životu v suchých podmínkách, mají větší počet nymfálních stádií a na hostitelích sají sice po kratší dobu, ale v rámci jednoho stádia i opakovaně. Některé druhy těchto klíšťat mohou přenášet borélie návratných horeček (Horak et al. 2002).

Obecně je však pro přenos patogenů mnohem významnější čeleď Ixodidae. V Evropě najdeme celou řadu druhů klíšťat, které alespoň příležitostně sají na člověku a mohou na něj přenést některá nebezpečná infekční onemocnění (např. *Dermacentor marginatus, D. reticulatus*, *Haemaphysalis concinna*, *Hyalomma marginatum*

	FSME Inzidenz [Anzahl der Fälle/100 000 EW.]			Lyme-Borreliose Inzidenz [Anzahl der Fälle/100 000 EW.]	
	Europa	Tsch. Republik	Deutschland	Europa	Tsch. Republik
2000	2,2	7		10,8	37,6
2001	1,8	6,2	0,3	11,6	24,75
2002	1,4	6,4	0,3	12,1	35,9
2003	2,8	6	0,3	18,4	36,1
2004	2,4	5		16,2	31,9
2005	3,3	6,3	0,5	16,5	35,8
2006	3,4	10,1	0,7	21	42,7
2007	2,7	5,3	0,3	20,6	34,6
2008	3,4	6,1		28,3	42,2
2009	6,8	7,8	0,4	51,1*	36,9
2010	6,3	5,6		127,4*	34,2
Durchschnitt	2,7	6,5	0,4	19,8	36,6

* niedrige Dateneingabe

2. Zecken

Zecken sind blutsaugende Arthropoden und gehören zu der Klasse der Spinnentiere. Taxonomisch werden sie den Chelicerata > Arachnida > Acarina > Ixodida zugeordnet. Innerhalb der Ordnung der Ixodida gibt es zwei wichtige Familien: die Argasidae (Lederzecken) sind vor allem an trockene und warme Orte angepasst, haben mehrere Nymphstadien und multiple und kürzere Blutmahlzeiten pro Stadium. Einige der Lederzecken sind Überträger von Rückfallfieber-Borrelien, die das Zeckenrückfallfieber verursachen (Horak et al. 2002).

Für die Übertragung von Infektionserregern ist die Familie der Ixodida oder Schildzecken noch bedeutsamer. In Europa gibt es viele Zeckenarten, die auch den Menschen für ihre Blutmahlzeit verwenden können wie z. *B. Dermacentor marginatus*,

nebo *Ixodes ricinus*). *I. ricinus* je v Evropě bez pochyby nejdůležitějším vektorem nákaz člověka. Na člověku je toto klíště nacházeno nejčastěji a geograficky je rozšířené téměř po celé Evropě (Estrada-Peña a Jongejan 1999).

Distribuční areál tohoto klíštěte je obrovský. Sahá od Velké Británie a Irska (Gray et al., 1999, Pietzsch et al., 2005) přes celou západní a střední Evropu až do Pobaltí a Ruska, kde se jeho areál výskytu překrývá s dalším druhem stejného rodu, taktéž zapojeným do přenosu patogenů, *I. persulcatus* (Blaškovič 1967, Yasyukevich et al. 2009). Jihovýchodní hranice geografického rozšíření *I. ricinus* dosahuje až k Aralskému moři. Severní hranice výskytu se táhne jižními částmi Norska a Finska až k severnímu pobřeží Baltského moře ve Švédsku (Lindgren a Jaenson 2006, Paulauskas et al. 2009). Klíště *I. ricinus* je zaznamenáváno i ve Středomoří, i když je většinou omezeno pouze na oblasti s vyšší relativní vzdušnou vlhkostí (Colebrook a Wall 2004, Vatansever et al. 2008), a v severozápadních částech Afriky jako je Tunisko, (Younsi et al. 2001), Maroko (Sarih et al. 2003) nebo Alžírsko (Dib et al. 2009).

Geografické rozšíření klíštěte *Ixodes ricinus* se obecně posouvá směrem na sever. Populace tohoto klíštěte kolonizují nové biotopy ve Skandinávii, zatímco na druhé straně opouštějí některé lokality na jihu Evropy. Tento posun v rozšíření je nejčastěji dáván do souvislosti s globálními změnami klimatu, konkrétně se zvýšenými jarními a podzimními teplotami, které umožňují klíštěti dokončit svůj vývojový cyklus i v méně příznivých podmínkách. Obdobné změny jsou pozorovány vzhledem k nadmořské výšce. V posledních desetiletích byl v České republice zdokumentován posun horní hranice výskytu *I. ricinus* z původních ca 800 m n. m. do nadmořských výšek přes 1 100 m, kde jsou již zaznamenávány stabilní populace těchto klíšťat (Daniel et al. 2003, Materna et al. 2005, 2008). Spolu s klíšťaty dochází i k posunu v rozšíření klíšťaty přenášených patogenů a klinických případů jimi vyvolaných onemocnění (Stünzner et al. 2006, Daniel et al. 2009).

I. ricinus je klíště tzv. „exofilní" – kromě krátkých období sání, kdy jsou klíšťata těsně asociována se svými hostiteli, tráví většinu svého života jako volně žijící organizmus. Je tedy významně ovlivňováno podmínkami prostředí (zejména teplotou a relativní vzdušnou vlhkostí), a proto je těsně vázáno na specifické druhy biotopů. Preferuje listnaté a smíšené lesy, které mu poskytují dostatečné množství hostitelů a dostatečnou vlhkost v letních suchých obdobích. Klimatické faktory, kromě jiného,

D. reticulatus, *Haemaphysalis concinna*, *Hyalomma marginatum* oder *Ixodes ricinus*. *I. ricinus* oder auch Gemeiner Holzbock ist der wichtigste Vektor für Infektionserreger beim Menschen, da er geographisch am weitesten verbreitet und daher oft auf dem Menschen zu finden ist (Estrada-Peña und Jongejan 1999).

Ixodes ricinus besiedelt Europa von Großbritannien (Gray et al. 1999, Pietzsch et al. 2005) über Europa und das Baltikum bis Russland, wo es mit dem Verbreitungsgebiet von *I. persulcatus*, einer Schildzeckenart, die ebenfalls als Vektor für Infektionserreger fungiert, überlappt (Blaškovič 1967, Yasyukevich et al. 2009). Die südöstliche Grenze des Lebensraums reicht bis zum Aralsee, die nördliche Grenze zieht sich durch die südlichen Teile von Norwegen und Finnland bis zur nördlichen Küste der Ostsee in Schweden (Lindgren und Jaenson 2006, Paulauskas et al. 2009). *I. ricinus* wird auch im Mittelmeerraum begrenzt auf Regionen mit ausreichender Luftfeuchtigkeit in der submediterranen bioklimatischen Zone beschrieben (Colebrook und Wall 2004, Vatansever et al. 2008). Auch im nordwestlichen Teil von Afrika einschließlich Tunesien (Younsi et al. 2001), Marrokko (Sarih et al. 2003) oder Algerien (Dib et al. 2009) kann man *Ixodes ricinus* finden.

Der Lebensraum der Zecke dehnt sich immer mehr Richtung Norden, auf neue Bereiche Skandinaviens aus und verschwindet aus den südlichen Gebieten Europas. Für diese Verschiebung des Lebensraums ist möglicherweise die globale Erwärmung verantwortlich. Erhöhte Temperaturen in Frühjahr und Herbst ermöglichen es den Zecken ihren Entwicklungszyklus fortzusetzen. Eine Verschiebung des Lebensraums konnte auch bezüglich der Höhenlage beobachtet werdend. In den letzten Jahrzehnten hat sich die obere Höhengrenze des Lebensraums der Zecken von 800 m. ü. M. auf 1100 m. ü. M. verschoben, wo bereits stabile Zeckenpopulation beobachtet werden konnten (Daniel et al. 2003, Materna et al. 2005, 2008). Die Verschiebung der Lebensräume der Zecken resultiert letztendlich sogar in der Verschiebung der Zecken-übertragenen Infektionserreger und dem Auftreten von Infektionsfällen (Stünzner et al. 2006, Daniel et al. 2009).

I. ricinus ist exophil, d. h. bis auf die relative kurze Dauer der Blutmahlzeiten verbringt sie den Großteil ihres Lebens als frei lebender Organismus. Als solcher wird er durch Umweltfaktoren (hauptsächlich Temperatur und relative Luftfeuchtigkeit) merklich beeinflusst und sein Vorkommen ist daher an spezifische Habitate geknüpft. *I. ricinus*

regulují i počátek aktivity klíšťat na jaře a její ukončení na podzim, i podíl klíšťat aktivně hledajících hostitele v průběhu sezóny (Nosek et al. 1967, Randolph et al. 2002, Hubálek et al. 2003).

I. ricinus je klíštětem tří-hostitelským. To znamená, že každé z vývojových stádií saje na jiném hostiteli. Tento fakt má obrovský dopad na jeho potenciál, coby přenašeče infekčních agens. Sání trvá v případě larev 2–4 dny, 3–5 dní u nymfálních stádií a 6–10 dní u dospělců (Süss 2003). Z vajíčka se líhne šestinohá larva, která se nasaje krve obvykle na drobných savcích (hlodavci, hmyzožravci), ještěrkách nebo ptácích. Následně larva metamorfuje na osminohou nymfu (Obr. 3) a znovu saje na dalším hostiteli – drobných, středně velkých, nebo velkých savcích (hlodavci, zajíci, lišky, srnčí zvěř) a metamorfuje na dospělce (Obr. 3). Samci a samice následně kopulují, často přímo na hostiteli. Samice poté realizují ještě další sání a produkují vajíčka. Celý vývojový cyklus trvá přibližně 2–6 let v závislosti na podmínkách prostředí, dostupnosti hostitelů jednotlivých vývojových stádií apod. (Černý 1972, Süss 2003).

3. Klíšťaty přenášené patogeny

Řada druhů klíšťat se uplatňuje jako významní přenašeči široké palety infekčních nákaz člověka. Mezi nejvýznamnější klíšťaty přenášená onemocnění patří virové nákazy jako: klíšťová encefalitida (KE), krymsko-konžská horečka, omská hemoragická horečka, horečka kyasanurského lesa; bakteriální nákazy: lymeská borelióza, lidská granulocytární anaplazmóza, klíšťaty přenášené rickettsiózy a nákazy protozoární jako jsou babesiozy (Estrada-Peña a Jongejan 1999, Parola a Raoult 2001, Charrel et al. 2004). V Evropě mají největší důsledky pro zdraví člověka klíšťová encefalitida a lymeská borelióza. Původcem klíšťové encefalitidy je stejnojmenný virus (virus klíšťové encefalitidy), lymeská borelióza je způsobována bakteriemi komplexu *Borrelia burgdorferi* sensu lato.

3.1 VIRUS KLÍŠŤOVÉ ENCEFALITIDY

Virus klíšťové encefalitidy (VKE) patří společně s významnými komáry přenášenými viry jako viry žluté zimnice, dengue nebo virus západního nilu do rodu Flavivirus (Chambers et al. 1990).

bevorzugt Gebiete mit Laub-oder Mischwäldern, welche ihr genügend empfängliche Wirte und ein ausreichendes Feuchtigkeitslevel in den trockenen Sommermonaten gewähren. Der Beginn und das Ende der saisonalen Aktivität sind ebenfalls an klimatische Bedingungen geknüpft (Nosek et al. 1967, Randolph et al. 2002, Hubálek et al. 2003).

I. ricinus zeigt einen dreiwertigen Zyklus, d. h. jede Entwicklungsstufe benötigt für die Blutmahlzeit einen unterschiedlichen Wirt. Diese Tatsache besitzt einen großen Einfluss auf die Zirkulation Zecken-übertragener Infektionserreger. Die Blutmahlzeit dauert 2–4 Tage bei Larven, 3–5 Tage bei Nymphen und 6–10 Tage bei adulten Tieren (Süss 2003). Eine sechsbeinige Larve schlüpft aus ihrem Ei und sucht nach ihrem Wirt, für gewöhnlich kleine Säugetiere (Nagetiere, Insektenfresser), Eidechsen oder Vögel. Nach der Blutmahlzeit entwickelt sich die Larve zu der achtbeinigen Nymphe (Abb. 3). Diese sucht erneut nach passenden Wirten, wie Nagetiere, Hasen, Füchse oder Wild und entwickelt sich nach der Blutmahlzeit in ein Adulttier (Fig. 3). Adulte Männchen und Weibchen paaren sich gewöhnlich direkt auf einem Wirt. Weibliche Adulte benötigen eine weitere Blutmahlzeit um Eier zu produzieren. Adulte Männchen sterben kurz nach der Paarung. Der Entwicklungszyklus dauert abhängig von den Umweltfaktoren und der Verfügbarkeit von Wirten etc. 3–6 Jahre (Černý 1972, Süss 2003).

3. Zecken-übertragene Infektionserreger

Viele Zeckenarten sind potentielle Vektoren für humanopathogene Infektionserreger. Die bedeutendsten viralen Infektionskrankheiten sind hierbei FSME, Krim-Kongo-Fieber, Omsk Hämorrhagisches Fieber und Kyasanur-Wald-Fieber. Bei den bakteriellen Infektionskrankheiten spielen Lyme-Borreliose, humane granulocytäre Anaplasmose und Rickettsiose eine wichtige Rolle. Auch von Einzellern (Protisten) verursachte Krankheiten wie Babesiose werden von Zecken übertragen (Estrada-Peña und Jongejan 1999, Parola und Raoult 2001, Charrel et al. 2004).

In Europa haben FSME und die Lyme-Borreliose die größten Auswirkungen auf die Gesundheit des Menschen. FSME wird durch das FSME-Virus und Lyme-Borreliose wird durch Bakterien des *Borrelia burgdorferi* sensu lato Komplex verursacht.

VKE je malá, jednoduchá částice skládající se v podstatě jen z genetické informace uložené v proteinové kapsidě a lipoproteinové obálce. Genom VKE je tvořen jedno-vláknovou RNA (ribonukleovou kyselinou) pozitivní polarity. Podle RNA je syntetizován poly-protein, který je následně štěpen na 3 strukturní proteiny (proteiny zabudované přímo ve struktuře virionu) a 7 proteinů nestrukturních (převážně enzymy zapojené do procesů množení viru). Nejdůležitějším virovým strukturním proteinem je obalový glykoprotein E, který se zásadním způsobem účastní na procesech interakce s hostitelskou buňkou a je také hlavním imunogenním proteinem (shrnuto v Gritsun et al. 2003).

Na základě genetických, antigenních a dalších rozdílů lze rozlišit 3 subtypy VKE: Evropský (TBEV-Eu), Dálně-východní (TBEV-FE) a Sibiřský subtyp (TBEV-Sib). Subtypy viru se dále liší geografickým rozšířením, hlavním vektorem a klinickým průběhem onemocnění, které způsobují (shrnuto v Tab. 2) (Ecker et al. 1999).

Tab. 2: Subtypy viru klíšťové encefalitidy

Subtyp VKE	Rozšíření	Hlavní vektor	Průběh onemocnění
TBEV-Eu	Evropa kromě Velké Británie, Irska, zemí Beneluxu, částí jižní Evropy a Skandinávie	*Ixodes ricinus*	lehčí, mortalita: 1–5 %
TBEV-FE	od Pobaltí, přes evropskou a asijskou část Ruska až do Číny a Japonska	*I. persulcatus*	častější vážné formy, mortalita: 5–35 %
TBEV-Sib	převážně oblast Sibiře	*I. persulcatus*	lehčí s tendencí k chronickému průběhu, mortalita: 1–5 %

V případě evropského subtypu viru probíhá onemocnění člověka většinou poměrně mírně. Značná část případů proběhne zcela bezpříznakově (Luňáčková et al. 2003), v ostatních případech probíhá onemocnění typicky ve dvou fázích. V první fázi, přibližně po 3–7 dnech od sání infikovaného klíštěte, se většinou objevují pouze nespecifické, chřipce podobné příznaky (únava, bolesti hlavy, nevolnost, teploty, přecitlivělost na světlo..). Po krátkém období odeznění prvních příznaků se u 20 – 30 % pacientů vyvine druhá fáze onemocnění zahrnující neurologické příznaky různé závažnosti: meningeální příznaky, podrážděnost, snížená schopnost koncentrace, zmatenost, poruchy vnímání, poruchy vědomí, paralýzy apod. Rekonvalescence je poměrně

3.1 FSME-VIRUS

Der Verursacher der Frühsommer-Meningoenzephalitis ist das FSME-Virus, ein humanpathogenes Virus das zusammen mit dem Gelbfieber-Virus, dem Denguefieber-Virus und dem West-Nil-Virus zu der Familie der Flaviviridae gehört (Chambers et al. 1990). Das FSME-Virus ist ein behülltes einzel(+)-Strang-RNA Virus [ss(+)RNA]. Die RNA wird dabei in Form eines Polyproteins aus drei Strukturproteinen (für die Konstruktion des Viruskapsids) und sieben Nichtstruktur-Proteine (hauptsächlich Enzyme für die Replikation des Virus) translatiert. Im Infektionsverlauf wird es in Einzelproteine gespalten. Das Strukturprotein Glykoprotein E besitzt eine zentrale Rolle in der Biologie der Infektion. Es vermittelt die Adsorption des Virus an die Zellen und fungiert als wichtigstes immunogenes Protein (Gritsun et al. 2003).

Das FSME-Virus lässt sich anhand der geographischen Verbreitung und der Vektoren in drei Subtypen einteilen: Europäischer Subtyp (FSME-Eu), Fernöstlicher Subtyp (FSME-FE) und Sibirischer Subtyp (FSME-Sib) (zusammengefasst in Tab. 2) (Ecker et al. 1999).

Tab. 2: Subtypen des FSME-Virus

FSME-Subtyp	Vorkommen	Hauptvektor	Krankheitsverlauf
FSME-Eu	West-, Zentral – und Osteuropa, außer UK, Irland, Benelux-Staaten, Teile von Südeuropa und Skandinavien	*Ixodes ricinus*	mild Mortalität: 1–5 %
FSME-FE	von den baltischen Ländern über europäische und asiatische Teile von Russland bis China und Japan	*I. persulcatus*	häufiger ernst Mortalität: 5–35 %
FSME-Sib	hauptsächlich Sibirien	*I. persulcatus*	milder, tendiert zu chronischem Verlauf, Mortalität: 1–5 %

Die Infektion des Menschen mit dem FSME-Eu Virus verläuft relativ mild. Bei einem bedeutendem Anteil der Fälle zeigt sich die Krankheit klinisch unauffällig, der geringe Rest entwickelt eine Erkrankung, die in zwei Phasen gegliedert sein kann. In der ersten Phase treten 3–7 Tage nach der Infektion unspezifische grippeähnliche

dlouhá a některé příznaky jako paralýzy, parézy nebo psychiatrické obtíže mohou přetrvávat dlouhodobě (Haglund a Günther 2003, Gritsun et al. 2003, Charrel et al. 2004). Celkově může mít průběh onemocnění různou míru závažnosti od lehkého febrilního onemocnění, přes meningitidu, po meningoencefalitidu, poliomyelitidu nebo polyradiculoneuritidu. Podíl onemocnění s vážným průběhem významně roste s věkem pacientů (Logar et al. 2006). Léčba KE je symptomatická.

Kromě klasické inokulativní cesty přenosu při sání klíštěte se může VKE přenášet i alimentárně a to především požitím nepasterizovaného kozího, ovčího či kravského mléka. Tyto alimentární infekce bývají spojeny s většími či menšími lokálními epidemiemi KE (Süss 2003, Holzman et al. 2009).

Nejefektivnější prevencí klíšťové encefalitidy je očkování. Na trhu jsou dostupné dvě vakcíny a jejich varianty pro děti. Obě vakcíny mají vysokou účinnost (Lehrer a Holbrook 2011) a zanedbatelné vedlejší účinky. Efekt vakcinace lze dobře demonstrovat na příkladu Rakouska, kde masivní vakcinační kampaň během 10 let vyústila v desetinásobný pokles incidence KE. Míra proočkovanosti v Rakousku dosáhla v roce 2001 hranice 86 %, v některých endemických oblastech dokonce až 90 % (Kunz 2002, 2003). V České republice bylo v roce 2007 očkováno 16 % obyvatel. V Německu je proočkováno 24 % populace ovšem pouze v rizikových oblastech (shrnuto v Süss 2008). Vakcinace evropskou vakcínou poskytuje ochranu i před asijskými subtypy viru (Lehrer a Holbrook 2011).

3.2 *BORRELIA BURGDORFERI* SENSU LATO

Borrelia burgdorferi sensu lato je původcem lymeské boreliózy. Bakterie rodu *Borrelia* patří taxonomicky mezi Eubacteria > Spirochaetes > Spirochaetales > Spirochaetaceae. Borélie mají tenké dlouhé spirálovité buňky s několika bičíky na obou koncích buňky, které jsou kryty pod vnější membránou. Vývrtkovitý pohyb borélií vychází z rotačních pohybů bičíků pod membránou (Goldstein et al. 1994, 1996). Borélie jsou mikroaerofilní, kultivačně náročné a pomalu rostoucí bakterie vyžadující vysoce obohacená kultivační média (Barbour-Stoner-Kelly médium a jeho modifikace). *Borrelia burgdorferi* má pro bakterie atypický genom obsahující velký lineární chromozom a množství různě velkých cirkulárních a lineárních plazmidů (Fraser et al. 1997).

Symptome wie Fieber, Kopfschmerzen, Übelkeit und Lichtsensibilität auf. Sie dauern etwa eine Woche. Danach bessert sich das Befinden vorübergehend. Etwa 20–30 % der Fälle entwickeln die zweite Phase, die von einer milden Form der Meningitis bis zu schweren Formen der Enzephalitis mit Zittern, Schwindel, veränderter Wahrnehmung und Lähmungserscheinungen reichen kann. Die Prognose ist vor allem bei Kindern insgesamt günstig. Die Genesung dauert lang und Spätfolgen wie Paralysen, Paresen oder psychische Störungen sind nicht auszuschließen (Haglund und Günther 2003, Gritsun et al. 2003, Charrel et al. 2004). Die Infektion allgemein zeigt sich in unterschiedlicher Schwere von milder, fiebriger Erkrankung bis zur Meningitis, Meningoenzephalitis, Poliomyelitis oder Polyradikuloneuritis. Der Anteil der Fälle mit schweren Krankheitsverlauf steigt merklich mit dem Alter des Patienten (Logar et al. 2006). Neben der Inokulation durch den Zeckenstich, kann das FSME-Virus auch über die Nahrung durch die Aufnahme unpasteurisierter Ziegen-, Schaf – oder Kuhmilch aufgenommen werden. Übertragungen mit der Milch sind gewöhnlich mit kleineren oder größeren lokalen Ausbrüchen der Krankheit verbunden (Süss 2003, Holzman et al. 2009).

Zum Schutz gegen das FSME-Virus ist ein sicherer und effektiver Impfstoff verfügbar (Lehrer und Holbrook 2011). Der Einfluss der Impfung auf die Inzidenzrate der Krankheit kann am Beispiel Österreichs demonstriert werden, wo eine große Impfkampagne in einer 10fachen Erniedrigung der Zahl der klinischen Fälle in einer Zeitspanne von zehn Jahren resultiert. Die Impfrate erreichte 2001 86 %, in manchen Endemiegebieten sogar bis zu 90 % (Kunz 2002, 2003). In der Tschechischen Republik erreichte die Impfrate 2007 16 %, wohingegen in Deutschland zur selben Zeit 24 % der Bevölkerung im Endemiegebiet geimpft waren (Süss 2008). Der Impfstoff gegen FMSE-Eu schützt auch gegen Infektion mit den asiatischen Subtypen des Virus (Lehrer und Holbrook 2011).

3.2 *BORRELIA BURGDORFERI* SENSU LATO

Borrelia burgdorferi sensu lato ist der Erreger der Lyme-Borreliose. Das Bakterium der Gattung *Borrelia* ist taxonomisch den: Eubacteria > Spirochaetes > Spirochaetales > Spirochaetaceae zuzuordnen. Borrelien bestehen aus dünnen, langen spiralförmigen Zellen. An den Enden sind bis zu 18 Flagellen verankert, die den Protoplasmazylinder umgeben. Die rotierenden Bewegungen der Zelle entstehen

Rod *Borrelia* zahrnuje dvě skupiny spirochét s významem pro zdraví člověka: borélie způsobující návratné horečky (*Borrelia recurrentis*, *B. duttonii*...), přenášené klíšťaty čeledi Argasidae nebo vešmi a borélie z komplexu *Borrelia burgdorferi* sensu lato, původce lymeské boreliózy, přenášené klíšťaty čeledi Ixodidae (Estrada-Peña a Jongejan 1999).

Přestože příznaky lymeské boreliózy byly známy již dříve, onemocnění jako takové bylo popsáno až v 70. letech 19. století v USA ve státě Connecticut. Samotný původce nákazy byl izolován až roku 1982 Burgdorferem a kol. z amerického klíštěte *Ixodes scapularis*. Postupně byly o tomto novém patogenu získávány další poznatky, které ukazovaly na ohromnou variabilitu spirochét *B. burgdorferi*. Proto byl tento rod následně rozčleněn nejprve do 3 genomospecies (*B. burgdorferi* sensu stricto, *B. afzelii* a *B. garinii*), později však byly prakticky po celém světě definovány další, a tak komplex *B. burgdorferi* s.l. rozrostl na dnešních 19–20 samostatných genomospecies (Tab. 3).

Tab. 3: Genomospecies *Borrelia burgdorferi* sensu lato

Genomospecies	Hlavní vektor	Hlavní hostitel	Rozšíření
B. burgdorferi s.s.	*I. scapularis, I. ricinus*	hlodavci, ptáci	Evropa, S. Amerika
B. afzelii	*I. ricinus, I. persulcatus*	hlodavci	Evropa, Asie
B. americana	*I. pacificus, I. minor*	ptáci	USA
B. andersonii	*I. dentatus*	králíci rodu *Sylvilagus* sp.	USA
B. bavariensis	*I. ricinus*	hlodavci	Evropa
B. bissettii	*I. scapularis, I. pacificus, I. minor, I. ricinus*	hlodavci	USA, Evropa
B. californiensis	*I. pacificus, I. jellisonii, I. spinipalpis*	tarbíkomyš (*Dipodomys* sp.), jelenec ušatý (*Odocoileus hemionus*)	USA
B. carolinensis	*I. minor*	hlodavci, ptáci	USA
B. finlandensis	*I. ricinus*	neznámý	Finsko

durch die Kontraktion dieser Flagellen. Protoplasmazylinder und Flagellen sind von einer äußeren Membran umhüllt (Goldstein et al. 1994, 1996). Borrelien sind mikroaerophile, anspruchsvolle und langsam wachsende Bakterien mit speziellen Ansprüchen an ihr Kulturmedium (Barbour-Stoner-Kelly und Modifikationen). *Borrelia burgdorferi* besitzt für ein Bakterium ein außergewöhnliches Genom bestehend aus einem großen linearen Chromosom und einer Vielzahl an zirkulären und linearen Plasmiden (Fraser et al. 1997).

Die Gattung *Borrelia* lässt sich in zwei Gruppen von Spirochäten einteilen, die für den Menschen pathogen sind: Rückfallfieber-Borrelien (*Borrelia recurrentis*, *B. duttonii*...), die von Lederzecken oder Läusen übertragen werden und Rückfallfieber verursachen sowie Borrelien des *Borrelia burgdorferi* sensu lato Komplex, die von Schildzecken übertragen werden und die Lyme-Borreliose verursachen (Estrada-Peña und Jongejan 1999).

Obwohl die Symptome von Lyme-Borreliose schon lange bekannt waren, wurde die Krankheit als solche erst in den 1975 in Connecticut in den USA beschrieben. Der Erreger der Lyme-Borreliose wurde 1982 von Burgdorfer et al. aus einer *Ixodes scapularis* Zecke isoliert. Mit dem Fortschritt der Forschung kristallisierte sich die große Variabilität von *B. burgdorferi*-Spirochäten und die Gattung wurde 3 Genospezies klassifiziert. (*B. burgdorferi* sensu stricto, *B. afzelii* und *B. garinii*). Durch fortlaufende Identifizierung neuer Arten auf der ganzen Welt, enthält der *B. burgdorferi* s.l. Komplex heute ungefähr 19–20 Genospezies (aufgelistet in Tab. 3).

Tab. 3: Arten des *Borrelia burgdorferi* sensu lato Komplex

Arten	Hauptvektor (en)	Hauptwirt	Verteilung
B. burgdorferi s. s.	*I. scapularis, I. ricinus*	Nagetiere, Vögel	Europa, N. Amerika
B. afzelii	*I. ricinus, I. persulcatus*	Nagetiere	Europa, Asien
B. americana	*I. pacificus, I. minor*	Vögel	USA
B. andersonii	*I. dentatus*	Sylvilagus sp.	USA
B. bavariensis	*I. ricinus*	Nagetiere	Europa
B. bissettii	*I. scapularis, I. pacificus, I. minor, I. ricinus*	Nagetiere	USA, Europa

B. garinii	*I. ricinus, I. persulcatus, I. nipponensis, I. hexagonus*	ptáci, ještěrky	Evropa, Asia
B. japonica	*I. ovatus*	hlodavci	Japonsko
B. kurtenbachii	*I. scapularis*	hlodavci	USA
B. lusitaniae	*I. ricinus*	ještěrky, ptáci, ježci	Evropa, S. Afrika
B. sinica	*I. ovatus*	hlodavci	Čína
B. tanukii	*I. tanuki*	neznámý	Japonsko
B. turdi	*I. turdus*	ptáci	Japonsko
B. spielmanii	*I. ricinus*	plchové	Evropa
B. valaisiana	*I. ricinus, I. granulatus*	ptáci, ještěrky	Evropa, Asie
B. yangtze	*Haemaphysalis longicornis, I. granulatus*	hlodavci	Čína
Genomospecies II	*I. pacificus*	neznámý	USA

Jak je uvedeno v tabulce 3, jednotlivé genomospecies se liší geografickým rozšířením, preferencí hostitelů, či druhy hlavních vektorů. Ne všechny genomospecies *B. burgdorferi* s.l. jsou schopné způsobit onemocnění člověka. Za pro člověka jednoznačně patogenní jsou považovány *B. burgdorferi* sensu stricto, *B. afzelii*, *B. garinii*, *B. spielmanii* a *B. bavariensis*. Patogenní genomospecies navíc vykazují určitou míru tkáňové specificity. *B. burgdorferi* s.s. bývá spojována s artritidou, *B. afzelii* s postižením kůže a *B. garinii* s neurologickými obtížemi. Další genomospecies (*B. lusitaniae*, *B. valaisiana* a *B. bissettii*) jsou příležitostně nalézány u pacientů s příznaky LB, což naznačuje jejich možný vztah k onemocnění.

Lymeská borelióza je multisystémové onemocnění projevující se širokým spektrem příznaků od nespecifických chřipkových, přes rané kožní projevy, pozdní kožní manifestace (lymphocytom, acrodermatitis chronica atrophicans), záněty kloubů, postižení nervového systému (neuroborelióza) nebo srdce (Stanek et al. 2011). Jak bylo naznačeno výše, různé genomospecies vykazují určitý tkáňový tropizmus. Určité projevy jsou proto pozorovány častěji při infekci určitou genomospecies borélie než jinou.

B. californiensis	*I. pacificus, I. jellisonii, I. spinipalpis*	*Dipodomys* sp., *Odocoileus hemionus*	USA
B. carolinensis	*I. minor*	Nagetiere, Vögel	USA
B. garinii	*I. ricinus, I. persulcatus, I. nipponensis, I. hexagonus*	Vögel, Eidechsen	Europa, Asien
B. japonica	*I. ovatus*	Nagetiere	Japan
B. kurtenbachii	*I. scapularis*	Nagetiere	USA
B. lusitaniae	*I. ricinus*	Eidechsen, Vögel, Igel	Europa, N. Afrika
B. sinica	*I. ovatus*	Nagetiere	China
B. tanukii	*I. tanuki*	unbekannt	Japan
B. turdi	*I. turdus*	Vögel	Japan
B. spielmanii	*I. ricinus*	Haselmäuse	Europa
B. valaisiana	*I. ricinus, I. granulatus*	Vögel, Eidechsen	Europa, Asien
B. yangtze	*Haemaphysalis longicornis, I. granulatus*	Nagetiere	China
B. finlandensis	*I. ricinus*	unbekannt	Finnland
Genospecies II	*I. pacificus*	unbekannt	USA

Wie der Tab. 3 zu entnehmen ist, unterscheiden sich die einzelnen Borrelienspezies in ihrer geographischen Verteilung und der Präferenz der Wirte und Vektoren. Zudem unterscheiden sie sich in ihrer Pathogenität. *B. burgdorferi* sensu stricto, *B. afzelii*, *B. garinii*, *B. spielmanii* und *B. bavariensis* sind eindeutig humanpathogen und zeigen bis zu einem bestimmten Grad Gewebespezifität. *B. burgdorferi* s.s. wird gewöhnlich mit Arthritis, *B. afzelii* mit Hautausschlägen und *B. garinii* mit neurologischen Manifestationen assoziiert. *B. lusitaniae*, *B. valaisiana* und *B. bissettii* werden gelegentlich bei Patienten isoliert, die Symptome der Lyme-Borreliose zeigen. Dies lässt zumindest auf eine potentielle Pathogenität schließen.

Die Lyme Borreliose verläuft im klassischen Fall in mehreren Stadien. Frühstadien der Erkrankung (Stadium I und II) können spontan ausheilen oder in eine chronische Infektion mit Erregerpersistenz (Stadium III) einmünden. Sie zeigt sich als

Erythema migrans (EM) je typická červená vyrážka, obyčejně se světlejším středem lokalizovaná v místě přisátí klíštěte. Vyrážka často poměrně rychle roste. EM se vyvíjí nejčastěji během několika dní maximálně týdnů od přisátí klíštěte. Dalším kožním projevem LB je lymfocytom. Lymfocytom je načervenalý drobný kožní uzlík, který se nejčastěji vyvíjí na ušních boltcích, bradavkách nebo šourku. Nejzávažnějším kožním projevem LB je pak acrodermatitis chronica atrophicans (ACA). ACA začíná jako červeno-modrá otékající vyrážka na rukou a nohou a postupně se formuje až do lokálních lézí kožní atrofie. Kožní projevy bývají nejčastěji následkem infekce *B. afzelii*. EM bývá pozorována i při infekci *B. burgdorferi* s.s. (shrnuto v Stanek et al. 2011). Neuroborelióza se většinou projevuje příznaky meningoradiculoneuritidy a/nebo ochrnutím obličejových svalů. Dalších neurologických příznaků je popisována celá řada, bývají ovšem evidovány pouze v jednotlivých případech – klinický obraz neuroboreliózy může být velmi proměnlivý. Případy neurologické manifestace LB bývají spojeny s infekcí *B. garinii* (shrnuto v Stanek et al. 2011). Postižení kloubů se nejčastěji projevuje jako perzistentní artritida nejčastěji velkých kloubů (kolenních, ramenních). S artritidami bývají dávány do spojitosti zejména infekce *B. burgdorferi* s.s. Karditidy bývají poměrně vzácné a většinou doprovázené artritidou či neuroboreliózou (shrnuto v Stanek et al. 2011).

Diagnostika LB většinou spočívá v kombinaci přisátého klíštěte v anamnéze, případné přítomnosti EM a přítomnosti specifických protilátek proti spirochétám LB. Pro průkaz protilátek se nejčastěji používá kombinace serologických testů ELISA a „western blot". Bohužel oba testy vykazují poměrně vysokou hladinu falešné pozitivity i falešné negativity. Kromě toho, protilátky se v některých případech infekce nevyvinou vůbec nebo dosahují pouze nízkých titrů. Na druhé straně mohou vysoké titry protilátek přetrvávat i po dlouhou dobu po úspěšném přeléčení. Perzistence protilátek může být i jedním z důvodů nesprávné diagnózy některých onemocnění jako chronická LB. Další metody diagnostiky jako klasické kultivační či molekulárně biologické metody mohou v některých případech přinést důležité informace ovšem jejich citlivost je velmi variabilní vzhledem k lokalizaci infekce, typu vzorku i fázi onemocnění (Stanek et al. 2011, Rizzoli et al. 2011).

multisystemische Infektionskrankheit mit unspezifischen grippeähnlichen Symptomen über Hautmanifestationen wie Erythema migrans Lymphozytome und Acrodermatitis chronica atrophicans, über Arthritis zu Neuroborreliose oder kardiovaskuläre Manifestationsformen wie die Lyme-Karditis (Stanek et al. 2011). Wie bereits erwähnt zeigen bestimmte Borrelienarten Gewebe-und Organspezifität und werden daher häufiger bei einem Symptom beobachtet.

Im ersten Stadium (lokal und in der Haut) entsteht bei einem Teil der Patienten an der Erregereintrittspforte Tage bis Wochen nach dem Zeckenstich ein Erythema migrans (EM) als Primäraffekt. EM oder auch Wanderröte ist ein roter Hautausschlag, in der Mitte blasser als am Rand, welcher sich von der Einstichstelle der Zecke nach außen ausweitet und in Dauer und Farbintensität variiert. In seltenen Fällen kann es nach dem Zeckenstich zum Borrelien-Lymphozytom kommen, einer Lymphozyteneinlagerungen in die Haut, welche sich häufig im Gesicht, an den Ohrläppchen, Mamillen oder Skrotum zeigt. Im dritten Stadium (chronisch, persistierend) kann es zu einer Acrodermatitis chronica atrophicans kommen und tritt meistens an der Haut der Extremitäten mit einer dunkelbläulichen Schwellung auf, welche sich später zu einer lokalen Hautatrophie entwickelt. Hautmanifestationen werden typischerweise für Infektionen mit *B. afzelii* beschrieben, EM kann aber auch im Zusammenhang mit *B. burgdorferi* s.s. Infektionen auftreten (Stanek et al. 2011).

Im zweiten Stadium (Dissemination) der Generalisierung der Erreger bestehen grippeartige Symptome und kardiale und neurologische Symptome können beobachtet werden. In Europa manifestiert sich bei den meisten Patienten eine lymphozytäre Meningoradikulitis (Bannwarth-Syndrom) mit Hirnnervenparesen bzw. radikulären Schmerzen. Zusätzlich werden in Einzelfällen weitere neurologische Symptome in Verbindung mit der Lyme-Borreliose beschrieben. Die Neuroborreliose wird typischerweise mit *B. garinii* Infektionen assoziiert (Stanek et al. 2011).

Das dritte Stadium (chronisch, persistierend) ist vor allem durch einen chronischen Krankheitsverlauf charakterisiert, der Monate bis Jahre nach der Infektion auftritt. Am häufigsten ist hierbei der Bewegungsapparat (Lyme-Arthritis) aber auch die Haut (Acrodermatitis chronica atrophicans) bzw. das Nervensystem (progressive Enzephalomyelitis) betroffen. Kardiale Manifestationen treten selten auf und sind oft von Arthritis und Neuroborreliose begleitet (Stanek et al. 2011).

Lymeská borelióza je obyčejně poměrně rychle a úspěšně léčena antibiotiky z okruhu beta-laktamových antibiotik (penicilin, amoxicilin, ceftriaxon...), tetracyklinů (doxycyklin) nebo makrolidů (erytromycin, azitromycin...). Výběr konkrétního preparátu, dávkování a forma podání závisí na formě onemocnění, současném stavu a věku pacienta apod.

Rekonvalescence z léčené LB je obvykle poměrně rychlá a úplná, ovšem v některých případech lymeské artritidy nebo neuroboreliózy mohou některé příznaky přetrvávat týdny až měsíce. Rekonvalescence z pozdně diagnostikované a pozdně léčené neuroboreliózy nemusí být úplná. V některých případech mohou přetrvávat i artritické obtíže. V případech přetrvávajících obtíží ovšem většinou nebývá přítomnost borélií v těle pacienta laboratorně prokazatelná. Pravděpodobně se jedná o projevy autoimunitní reakce (reakce cílené na molekuly vlastního těla), spirochétami LB pouze spuštěné.

Některé obtíže, které bývají spojované s LB a přetrvávají, se někdy shrnují pod označení „post-lyme syndrom". Tyto příznaky ovšem bývají subjektivního charakteru (únava, psychologické poruchy, ztráta schopnosti koncentrace apod.) a jejich přímá souvislost s prodělanou LB není dosud prokázána. Prodloužené užívání antibiotik v těchto případech pravděpodobně nemá žádný reálný efekt (shrnuto v Stanek et al. 2011).

4. Přenos patogenů klíšťaty

Obecné schéma cirkulace klíšťaty přenášených patogenů (KPP) spočívá v infekci klíštěte během sání na hostiteli, který je ve stavu virémie/bakteriémie (přítomnost virových části/bakterií v krvi), následné amplifikaci patogenu v klíštěti, šíření infekce v těle klíštěte až do slinných žlaz a přenosu do dalšího hostitele při následném sání. Klíště jednou infikované zůstává infikované po celý svůj vývojový cyklus (označováno jako tzv. „transstadiální přenos"). Přirozené cykly cirkulace se odehrávají v přírodních ohniscích mezi vektory a přirozenými hostiteli klíšťat a jimi přenášených patogenů. Člověk je infikován náhodně při vstupu do ohniska.

Kromě klasické virémické/bakteriémické cesty přenosu mohou KPP mezi klíšťaty cirkulovat i jinými mechanizmy. Jedním z nich je tzv. „transovariální přenos", při kterém je patogen přenášen z infikované samice na její potomstvo přes vajíčka.

In den meisten Fällen beruht die Diagnose von LB auf einer Kombination aus dem klinischen Bild und als auch auf den Ergebnissen der Labordiagnostik. Der Direktnachweis des Erregers oder die Kultivierung ist möglich aber mit Unsicherheiten behaftet und nur als Zusatzverfahrenin in schwierigen Fällen geeignet. Die übliche Serodiagnostik mit ELISA und Western Blot Tests, kann falsch positive/negative Ergebnisse zeigen, wenn es nach der Infektion zu keiner/geringer Antikörperproduktion kommt oder zum Zeitpunkt der Untersuchung bereits eine persistierende Infektion vorliegt. Diese inapparente Infektion mit anschließender Serokonversion tritt häufiger auf. Molekularbiologische Detektionsmethoden (PCR) sind unter Umständen hilfreich beim Nachweis wobei ihre Sensitivität vom Infektionsort, der Art der Probe und der Phase, in der sich die Infektion befindet, abhängt (Stanek et al. 2011, Rizzoli et al. 2011).

Die Behandlung der LB erfolgt mit Antibiotika, wobei Tetrazykline das Mittel der ersten Wahl sind. Alternativ kommen Ampicillin oder Erythromycin in Frage. Bei Spätmanifestationen wir mit Ceftriaxon behandelt. Die Behandlung mit Antibiotika erstreckt sich über mindestens 14 Tage. Rezidive sind jedoch möglich, da die Erreger sich aufgrund ihrer Struktur in unzugänglichen Nischen verstecken können.

Die Genesung von der LB verläuft für gewöhnlich schnell und folgenlos. In manchen Fällen halten die Beschwerden der Lyme-Arthritis oder Neuroborreliose für mehrere Wochen oder Monate an. Die Genesung von spät diagnostizierter und behandelter Neuroborreliose kann unvollständig verlaufen. Auch bleiben im manchen Fällen die arthritischen Symptome bestehen obwohl kein molekularer Nachweis für LB-Spirochäten gelingt. Man vermutet, dass in Fällen wie diesen wahrscheinlich Autoimmunreaktionen für die Symptome verantwortlich sind (Stanek et al. 2011).

4. Übertragung von Infektionserreger durch Zecken

Zecken infizieren sich mit Infektionserregern wenn sie während ihrer Blutmahlzeit an einen Wirt mit akuter Virämie/Bakteriämie (Zirkulierung der Viren/Bakterien im Blut) Blut saugen. Die Infektionserreger gelangen so in die Zecke, vermehren sich dort und verteilen sich dort in den Organen wie z. B. der Speicheldrüse. Bei der

Přestože je efektivita přenosu poměrně nízká (vajíček ve snůšce infikované samice je infikováno 17,6 %, z nich následně vylíhnuté larvy jsou infikovány pouze z 0,23 – 0,75 %), transovariální přenos může hrát velmi důležitou roli zejména v udržení cirkulace VKE v ohnisku, protože umožňuje přežití viru v klíšťatech nezávisle na přítomnosti kompetentních hostitelů (Danielová a Holubová 1991).

Další zajímavou možností přenosu KPP je přenos při tzv. „sousání" (z angl. „co-feeding"). Klíšťata se snaží vyhýbat pokusům hostitele o jejich mechanické odstranění (škrábáním, kousáním apod.), za tímto účelem si na těle hostitele vybírají taková místa, která jsou pro zuby a drápy hostitelů těžko dosažitelná (jako krk, uši apod.), a v těchto místech vytvářejí uskupení těsně vedle sebe přisátých jedinců. V rámci těchto uskupení může docházet k lokalizovanému přenosu patogenů z infikovaného klíštěte na klíště (klíšťata) neinfikovaná, bez toho, aby patogen cirkuloval v krevním systému hostitele. K přenosu „sousáním" navíc může docházet i na hostitelích pro přenos nákazy nekompetentních nebo dokonce vůči patogenu imunních. Tento fakt má obrovský dopad, protože se velmi významně rozšiřuje okruh hostitelů, kteří mohou přispívat k cirkulaci patogenu v přírodě. (Labuda et al. 1996, 1997).

Některé druhy hostitelů mohou být více nebo méně vhodné pro množení a následný přenos konkrétního patogenu (tzv. kompetence k přenosu). V případě VKE jsou pravděpodobně nejvýznamnějšími hostiteli drobní savci (hlodavci a hmyzožravci) (Süss 2003). Významným zdrojem spirochét LB pak jsou zřejmě hlodavci (myšice rodu *Apodemus*, norník rudý, plchové, veverky...), ptáci a ještěrky (Gern 2008). Naopak velcí savci, jako srnčí a jelení zvěř jsou považováni za nekompetentní hostitele pro VKE i LB. Výskyt velkých savců může tedy způsobit pokles v prevalenci patogenů (% infikovaných klíšťat) tím, že na nich bude sát určitá část klíšťat, která by jinak mohla být potenciálně infikována při sání na kompetentních hostitelích (tzv. „dilution effect") (Ostfeld a Keesing 2000). Na druhou stranu mají velcí savci význam v tom smyslu, že poskytují zdroj potravy pro velká množství klíšťat všech stádií a podporují tak celou populaci. I při nižší prevalenci tak může být celkové riziko nákazy stejné nebo i vyšší.

nächsten Blutmahlzeit werden die Infektionserreger an den nächsten Wirt weitergegeben. Ist eine Zecke einmal infiziert, überdauert der Infektionserreger den Rest des Lebenszykluses der Zecke (transstadiale Übertragung). Der Übertragungszyklus von Infektionserregern von Zecken auf Reservoirwirte und umgekehrt findet in den Naturherden der jeweiligen Erreger unabhängig vom menschlichen Beisein statt. Der Mensch wird nur infiziert, wenn er sich in diesem Naturherd aufhält.

Eine weitere Übertragungsmöglichkeit von Erregern bietet die transovarielle Übertragung. In diesem Fall wird der Infektionserreger von einem Zeckenweibchen auf seine Nachkommen durch Infektion der Eier übertragen. Obwohl die Infektionsrate scheinbar niedrig ist (17,6 % der Eipakete infizierter Weibchen und 0,23 – 0,75 % der Larven infizierter Eipakete waren positiv) kommt diesem Übertragungsweg eine große Bedeutung zu, da er Erregern, z. B. dem FSME-Virus, ermöglicht, unabhängig von der Verfügbarkeit eines Reservoirwirtes in Zeckenpopulation zu überleben (Danielová und Holubová 1991).

Neben den bereis beschriebenen Wegen existiert zusätzlich die Möglichkeit der Übertragung durch „co-feeding". Um vom Wirtstier nicht abgebissen oder gekratzt zu werden, sammeln sich Zecken meistens an bestimmten Körperteilen außerhalb der Reichweite des Wirts wie Hals, Ohren, etc. . Durch diese Ansammlung besteht die Möglichkeit der Übertragung von Erregern von einer infizierten Zecke auf eine nicht infizierte Zecke ohne Virämie/Bakteriämie des Wirtes. Diese Art der Übertragung findet auch bei nicht empfänglichen oder immunen Wirten statt (Labuda et al. 1996, 1997).

Einige Tierarten sind für den jeweiligen Infektionserreger und dessen Übertragung geeigneter als andere. Dieses Merkmal wird als Übertragungskompetenz bezeichnet. Im Fall des FSME-Virus sind die geeignetsten Wirbeltierreservoire kleine Säugetiere wie Nagetiere und Insektivoren. Im Fall der LB wurden einige Nagetierarten (*Apodemus* sp., Wühlmäuse, Haselmäuse, Eichhörnchen, etc.), Vögel und Eidechsen als wichtiges Reservoir für Borrelien identifiziert (Gern 2008). Größere Säugetiere wie Wild werden zwar als nicht als geeignetes Reservoir für das FSME-Virus und Borrelien betrachtet, bieten jedoch durch ihre Größe ausreichend Blut für Zecken aller Stadien und unterstützen somit indirekt die Zeckenpopulation. Die Prävalenz der Infektionserreger wird daher durch die Anwesenheit großer Säugetiere limitiert (Verdünnungseffekt) (Ostfeld und Keesing 2000).

5. Preventivní opatření

Tradiční systémy monitorování rizika nákazy KPP jsou založeny na hlášení klinických případů onemocnění. Tento přístup pasivní „surveillance" má však několik nevýhod. Pacienti většinou nejsou schopní blíže specifikovat lokalitu přisátí infikovaného klíštěte. Část populace je chráněna protilátkami získanými ať již přirozenou infekcí nebo vakcinací, a tak reálné riziko pro nechráněnou osobu (např. turistu z neendemické oblasti) je mnohem vyšší než riziko odhadované z počtu klinických případů (Süss 2003). Jak bylo zmíněno výše, v některých oblastech Rakouska dosahuje míra proočkovanosti hranice až 90 %. V těchto oblastech tedy systémy pasivní „surveillance" nejsou využitelné. V případě lymeské boreliózy je samotná definice případu tohoto onemocnění natolik problematická, že je systém hlášení silně zatížen řadou falešně pozitivních a falešně negativních údajů. Z těchto důvodů je do systémů stanovení rizika nákazy KPP potřeba zahrnout stanovení prevalence patogenů přímo v populacích klíšťat.

Preventivní opatření pro snížení rizika nákazy KPP se dají rozdělit do dvou kategorií. Prostředky osobní ochrany zahrnují ochranné oblečení, používání efektivních repelentů, vyhýbání se rizikovým oblastem, vakcinaci proti klíšťové encefalitidě, prohlídku těla po návratu z oblastí s výskytem klíšťat a jejich okamžité odstranění, ochranu domácích zvířat před přisátím klíštěte. Mezi opatření obecné veřejné ochrany lze zařadit kontrolu nad výskytem a rozšiřováním klíštěcích biotopů a jejich kontaktů s rezidenčními zónami, pravidelnou údržbu městské zeleně, kontrolu populací důležitých hostitelů klíšťat, podporu vakcinace, pasteurizaci mléka a mléčných výrobků, mapování a monitoring rizikových oblastí, zvyšování informovanosti neodborné i odborné veřejnosti.

V oblasti epidemiologie klíšťaty přenášených nákaz se stále objevují nová, aktuální témata jako: posun rozšíření klíšťat a výskytu případů jimi přenášených onemocnění do vyšších nadmořských výšek a zemských šířek, rostoucí urbanizace rozšíření klíšťat, výskyt a rozšiřování určitých druhů klíšťat v nových geografických oblastech, zvýšení outdoorové aktivity lidí vyšších věkových kategorií apod.

5. Prophylaxe

Üblicherweise basieren klinische Überwachungssysteme auf der Meldung klinischer Fälle. Dieser Ansatz birgt einige Nachteile. Zum einen ist es dem Patienten oft nicht möglich, das Gebiet, von dem die vermeintlich infektiöse Zecke stammt, genau anzugeben. Zum anderen führt der Schutz durch natürliche Antikörper oder, wie im Fall des FSME-Virus, durch Impfung zu einer Unterschätzung des realen Infektionsrisikos (Süss 2003). Wie bereits erwähnt resultierte eine 2001 durchgeführte Impfkampagne in Österreich in einer Impfrate von 86 %, in einigen endemischen Gebieten sogar bis zu 90 % (Kunz 2002, 2003). Das Risiko für ungeimpfte Menschen (z. B. Touristen aus Nicht Endemiegebieten) für eine Infektion mit dem FSME-Virus ist scheinbar höher als es die Inzidenzrate vermuten lässt. Bei der Lyme-Borreliose ist die aktuelle Falldefinition fern vom Ideal was in einer Über/Unter Meldung der Krankheitsfälle resultiert. Aus diesem Grund wird ein Überwachungssystem benötigt, welches auf das Sammeln von Zecken und der Einschätzung der Prävalenz Zecken-übertragener Infektionserreger basiert um das aktuelle räumliche und zeitliche Infektionsrisiko überwachen.

Präventive Maßnahmen um das Risiko für Zecken-übertragene Infektionskrankheiten zu minimieren, können grob in zwei Gruppen unterteilt werden: in die persönliche und die allgemeine Prophylaxe. Zur persönlichen Prophylaxe gehört das Tragen schützender Kleidung, die Benutzung von Zecken-Repellents, die FSME-Schutzimpfung, das Absuchen des Körpers und die sofortige Entfernung von Zecken nach dem Aufenthalt im Freien, der Schutz von Haustieren sowie die Vermeidung von Risikogebieten. Zum allgemeinen Schutz der öffentlichen Gesundheit zählen die Minimierung von Kontaktflächen zwischen Zeckenhabitaten und Bebauungsflächen, die regelmäßige Pflege von urbanen Grünflächen, die Kontrolle wichtiger Zeckenwirte, die Durchführung von Impfkampagnen, die Pasteurisierung von Milch und Milchprodukten sowie die Kartierung der Risikogebiete und Erstellung von Informationsmaterial für Experten und Öffentlichkeit.

Darüberhinaus müssen neue Fragestellungen wie die Höhen-und Breitenverlagerung der Lebensräume der Zecken und der Zecken-übertragenen Infektionskrankheiten, die verstärkte Urbanisierung der Zeckenpopulationen, das Auftreten und die Verbreitung von Zeckenarten in neuen geographischen Gebieten sowie die höhere Freizeitaktivität von älteren Menschen in der Natur, gelöst werden.

III. Klíšťata a jimi přenášená onemocnění v Jihočeském kraji

Hlavním cílem projektu bylo stanovení prostorové distribuce rizika infekce dvěma nejvýznamnějšími klíšťaty přenášenými onemocněními – klíšťovou encefalitidou a lymeskou boreliózou. Pravděpodobnost rizika nákazy člověka klíšťaty přenášeným patogenem je dána abundancí (početností) infikovaných klíšťat na straně jedné a mírou kontaktu člověka s nimi na straně druhé (Randoplh et al. 2009). Riziko lze chápat jednak jako „biologické riziko infekce" („risk of exposure") – tedy pravděpodobnost nákazy člověka vstupujícího na definované území, ale také obecně jako „riziko onemocnění" – tedy pravděpodobnost vzniku klinického případu v daném území.

Zatímco riziko vzniku případu se za splnění určitých podmínek dá odhadovat z počtu případů hlášených v minulosti, pro stanovení biologického rizika infekce musíme znát aktivitu klíšťat a prevalenci patogenů (% klíšťat infikovaných daným patogenem).

Pravděpodobnost vzniku klinického případu je pak dále ovlivněna frekvencí výskytu člověka a typem aktivity, kterou v daném území provozuje, a dále i individuální náchylností jedinců k infekci (věk, celkový fyziologický stav, vrozená imunita, imunita získaná prodělanou infekcí či očkováním, poškození imunitního systému jiným onemocněním apod.).

Díky systému povinného hlášení laboratorně potvrzených případů klíšťové encefalitidy a lymeské boreliózy je možné určit, ve které oblasti došlo u každého případu KPN k infekci. Z těchto údajů odhadnutou pravděpodobnost výskytu klinických případů tedy známe poměrně přesně (v závislosti na přesnosti udání místa přisátí klíštěte a na přesnosti diagnózy) pro celé území kraje.

Ovšem aktivita klíšťat a výskyt jimi přenášených patogenů jsou prostorově velmi proměnlivé a stanovení obou parametrů, je časově a finančně náročné, proto není možné zmapovat biologické riziko infekce plošně na území celého kraje. Bylo tedy vybráno 30 typových lokalit, kde byly tyto parametry stanoveny a na základě podobnosti přírodních podmínek těchto lokalit se zbytkem nezmapovaného území a znalosti vztahu mezi epidemiologickými parametry a charakteristikami prostředí byly výsledky extrapolovány do neměřených území.

III. Zecken und Zeckenübertragene Krankheiten in Ostbayern

Das Projekt hatte die räumliche und zeitliche Untersuchung der Verteilung von Zecken und Zecken-übertragenen Infektionserregern (FSME-Virus und Borrelien) sowie die Abschätzung des Infektionsrisikos mit diesen Erregern einschließlich der Erstellung lokaler Risikokarten für ausgewählte Standorte zum Ziel. Der bayerische Projektraum erstreckte sich über zwei Regierungsbezirke Bayerns, Oberpfalz und Niederbayern, die an die Tschechische Republik grenzen. Die Prävalenz des FSME-Virus in Zecken in Bayern ist sehr niedrig (ca. 0,2–1%). Aus diesem Grund mussten für das Projekt Gebiete ausgewählt werden, in denen das FSME-Virus natürlich zirkuliert. Dafür wurden Daten über die Verteilung der FSME-Erkrankungsfälle der Jahre 2001 bis 2009 in Niederbayern und der Oberpfalz herangezogen. Mit diesen und weiteren Daten wurde eine GIS-Analyse durchgeführt (GIS= geographisches Informationssystem), um 20 geeignete Standorte für das Sammeln von Zecken zu erhalten.

1. Eigenschaften der Standorte

Die 20 untersuchten Standorte verteilen sich gleichmäßig über Niederbayern und die Oberpfalz, zwei Regierungsbezirke in Bayern. Der Regierungsbezirk Oberpfalz zählte 2010 1 081 206 Einwohner, hat eine Fläche von 9 691 km² und umfasst die drei kreisfreien Städte Amberg, Regensburg und Weiden, sowie die Landkreise Amberg-Sulzbach, Cham, Neumarkt in der Oberpfalz, Neustadt an der Waldnaab, Regensburg, Schwandorf und Tirschenreuth. In Niederbayern wohnten 2010 1 189 701 Einwohner. Es hat eine Fläche von 10 330 km² und besteht aus den kreisfreien Städten Landshut, Passau und Straubing sowie den Landkreisen Deggendorf, Dingolfing-Landau, Freyung-Grafenau, Kelheim, Landshut, Passau, Regen, Rottal-Inn und Straubing-Bogen. Über das östliche Niederbayern und die Oberpfalz erstreckt sich der Bayerische Wald, ein 100 km langes Mittelgebirge an der Grenze zwischen Bayern und der Tschechischen Republik.

1. Základní charakteristiky výzkumného území

Jihočeský kraj se rozkládá na ploše 10 056 km². Počet obyvatel dosahuje 638 845, s hustotou zalidnění přibližně 64 obyvatel na km². Na území kraje se vyskytuje celkem 632 obcí. Nadmořská výška dosahuje maxima 1 378 m n. m., minima 330 m n. m. (hladina Orlické přehrady) s průměrem 400–600 m n. m. Plocha kraje je tvořena zejména zemědělskou půdou (49,1 %), lesní pozemky zabírají ca 37,4 % území kraje (ČSÚ, České Budějovice). Na území kraje zasahuje velká plocha Národního parku Šumava a vyskytuje se zde velké množství menších chráněných území. Celkově patří Jihočeský kraj díky ke své přírodní a kulturní atraktivitě a průmyslem málo postiženému prostředí k turisticky nejvyužívanějším regionům České republiky.

Pro jihočeskou krajinu typická přítomnost menších i větších vodních ploch rybníků, nádrží a vodních toků, roztroušených fragmentů lesních biotopů v rámci převážně zemědělsky využívané krajiny a relativně vysoké zastoupení listnatých a smíšených lesů poskytuje vynikající podmínky pro klíšťata a jejich hostitele.

2. Prostorová distribuce klinických případů klíšťové encefalitidy a lymeské boreliózy v Jihočeském kraji

Data o výskytu klinických případů v Jihočeském kraji za období let 2001–2008 byla poskytnuta Státním zdravotním ústavem Praha. V systému jsou evidovány pravděpodobné lokality přisátí infekčního klíštěte. Celkem bylo v daném období na území Jihočeského kraje evidováno 1 307 případů KE a 1 172 případů LB. Roční průměr je tedy přibližně 160 případů KE (24 % celorepublikového průměru) a 154 případů LB (4 % celorepublikového průměru). Data byla zpracována a ve formě absolutního počtu případů či počtu případů přepočteného na počet obyvatel napojena v GIS na vrstvu obcí.

Následně bylo vytvořeno několik epidemiologických map zobrazujících absolutní počet případů v obci a počet případů v obci přepočtený na 1 000 obyv. (Obr. 4 pro KE, Obr. 5 pro LB), interpolovaný počet případů (Obr. 6 pro KE, Obr. 7 pro LB). Na mapě počtu případů je viditelná výrazná kumulace případů do okolí velkých měst, což je spojeno s větší aktivitou člověka v těchto oblastech. Po přepočtu na počet obyvatel jsou zvýrazněny jiné oblasti více odpovídající biologickému riziku nákazy.

2. Die Verteilung der FSME-und Lyme-Borreliose-Erkrankungsfälle in Ostbayern (Oberpfalz und Niederbayern)

Die epidemiologische Situation bezüglich der FSME gestaltet sich in den einzelnen Bundesländern in Deutschland unterschiedlich. Die höchste Inzidenzrate wird für Baden-Württemberg und Bayern gefolgt von Hessen, berichtet. Von 2001 bis 2009 wurden in Baden-Württemberg 1 295 und in Bayern 1 168 Fälle registriert. In Hessen waren es in diesem Zeitraum 191 Fälle. Zudem wurden von 2001 bis 2009 für Thüringen 40 Fälle und für Nordrhein-Westfalen, Rheinland-Pfalz und Sachsen jeweils 30 – 31 Fälle berichtet. In anderen Bundesländern traten nur vereinzelt FSME-Erkrankungen auf. Der Durchschnitt der registrierten FSME-Fälle im Gesamtzeitraum von 2001–2009 in den einzelnen Bundesländern reicht von null in Bremen, über 116,8 in Bayern bis zu 129,5 in Baden-Württemberg. Pro Jahr wurden in Deutschland 2001–2009 durchschnittlich 286,6 Fälle registriert. Die jährlich registrierte Fallzahl reicht von 239 (2003, 2007) bis 546 (2006). Zum jetzigen Zeitpunkt sind 136 von 440 Landkreise in Deutschland als FSME-Riskogebiet klassifizert (Süss, 2011).

In Bayern zeigen sich ähnliche Verhältnisse. Die Anzahl registrierter FSME-Fälle unterschied sich bezüglich ihrer Verteilung in den sieben Regierungsbezirken und ihrer Landkreise. Die meisten Fälle wurden für die Oberpfalz (215 Fälle) berichtet, gefolgt von Oberbayern (209 Fälle), Niederbayern (206 Fälle), Mittelfranken (204 Fälle), Unterfranken (151 Fälle) und Oberfranken (150 Fälle). Die niedrigsten Fallzahlen wurden für Schwaben (33 Fälle) berichtet. Der bayerische Projektteil konzentrierte sich auf die Untersuchung der Prävalenz des FSME-Virus in Niederbayern und der Oberpfalz, die Bezirke, die eine gemeinsame Grenze mit der Tschechischen Republik besitzen, und von denen eine hohe Fallrate von FSME-Erkrankungen berichtet wird. In der Oberpfalz wurden in den Landkreisen Schwandorf, Amberg-Sulzbach und Regensburg mehr als 50 Fälle im Zeitraum 2001–2009 registriert. Die Landkreise Neustadt an der Waldnaab und Cham kommen auf über 20 Fälle. In Niederbayern sind der Landkreis und die Stadt Passau die Gebiete mit den höchsten FSME-Fallzahlen (47 Fälle) gefolgt von Freyung-Grafenau und Deggendorf (je 28 Fälle), Rottal-Inn (29 Fälle) und Landshut (21 Fälle). In Kelheim und Dingolfing-Landau wurden 2001–2009 jeweils 18 und 17 Fälle registriert.

V rámci kraje byla pozorována obrovská variabilita v incidenci obou onemocnění. Za dané období bylo v případě KE v jednotlivých obcích dosaženo průměru 2,56 příp./1000 obyv. (maximum 34,18 – obec Malšín; minimum 0). Incidence LB pak dosáhla v průměru 1,83 příp./1000 obyv. (maximum 38,12 – obec Orlík nad Vltavou; minimum 0). Míra incidence je samozřejmě ovlivněna i rozdíly v turistické atraktivitě různých oblastí a obecně rozdílnou aktivitou člověka, dává však představu o prostorovém rozložení rizika nákazy.

3. Výběr lokalit pro terénní výzkum

Pro terénní výzkum bylo potřeba vybrat 30 lokalit, které by reprezentovaly různé biotopy klíšťat vyskytující se na území kraje, rovnoměrně pokrývaly celé území kraje, měly epidemiologickou významnost, splňovaly nároky na přístupnost a poskytovaly možnost získat dostatečné množství biologického materiálu pro následné analýzy. Pro výběr lokalit byla provedena automatizovaná analýza s využitím metod multikriteriálního hodnocení v prostředí geografického informačního systému (GIS). Vhodné oblasti byly pomocí GIS vybrány na základě analýzy následujících dat: topografická podkladová mapa (digitální vektorová databáze ArcČR), rastrový digitální model reliéfu (ArcDATA Praha, ČR), data o vegetačním krytu (CORINE Land Cover 2006), počet případů KE (SZÚ, Praha), data o turistickém ruchu (Atlas turistického ruchu České republiky (Vystoupil et al. 2006). Po hrubém výběru pomocí multikriteriálního hodnocení, byly ve vymezeném území vytipovány oblasti k terénnímu průzkumu, při kterém byly následně vybrány finální plochy pro terénní výzkum, které byly pomocí GPS zaměřeny a zevrubně popsány, co se týče fyzickogeografických, klimatických, ekologických a botanických charakteristik. V následných sběrech byla vhodnost všech vybraných 30 lokalit potvrzena výskytem dostatečného množství klíšťat. Rozmístění lokalit v rámci kraje je zobrazeno na Obr. 8. Metodika výběru lokalit byla podrobněji popsána v článku Švec et al. (2009).

4. Stanovení aktivity populací klíštěte *Ixodes ricinus*

Sběr vzorků a stanovení aktivity populací klíštěte *I. ricinus* se standardně provádí metodou tzv. „vlajkování". Metoda spočívá ve smýkaní bílého kusu technického flanelu o definované velikosti po vegetaci. Klíšťata číhající na vegetaci na hostitele

Im Gegensatz zur FSME ist die Lyme-Borreliose in Deutschland nur in 6 von 16 Bundesländern meldepflichtig: Berlin, Brandenburg, Mecklenburg-Vorpommern, Sachsen, Sachsen-Anhalt und Thüringen. Aus diesem Grund sind epidemiologische Gesamtdaten über Deutschland im Moment nicht verfügbar. 2003/2004 wurden 3 019/3 968 Fälle der Lyme-Borreliose in den meldepflichtigen Bundesländern registriert (Mehnert und Krause, 2005). Adlhoch und Poggensee (2010) vertreten die Ansicht, dass Lyme-Borreliose mit seinen 16 461 registrierten Fällen zwischen 2007 und 2009 (Daten aus den meldepflichtigen Bundesländern) zu den am meisten verbreiteten Vektor-übertragenen Infektionskrankheiten gehört. Diese Daten zeigen, dass die Lyme-Borreliose in Deutschland weit verbreitet ist, und Beobachtungen und Studien bezüglich Borrelien eine große Relevanz besitzen.

3. Auswahl der Standorte für die Zeckensammlung

Für die Auswahl von 20, in der Oberpfalz und Niederbayern gleichmäßig verteilten Standorte für das Sammeln von Zecken und der nachfolgenden Untersuchung von Zecken-übertragenen Infektionserregern wurde eine GIS-Analyse (ArcGIS 9.2) mit folgenden Kriterien durchgeführt: häufiges/geringes Auftreten von FSME-Erkrankungsfällen in Ostbayern in den letzten Jahren (2001–2009), Höhenlage bis 750m ü. d. M., Tourismusauslastung und Attraktivität von Ostbayern sowie Gebiete mit geeigneter Vegetation für Zecken. Die Informationen über die Verteilung der FSME-Fälle der letzten Jahre (2001-1009) wurden vom Robert-Koch-Institut in Berlin und von den lokalen Gesundheitsämtern der Landkreise von Niederbayern und der Oberpfalz zur Verfügung gestellt. Die Tourismusattraktivität wurde durch die Anzahl der Ankünfte und Abreisen sowie der Zahl der Übernachtungen in den Gemeinden Niederbayerns und der Oberpfalz bestimmt und vom bayerischen Landesamt für für Statistik und Datenverarbeitung erhalten. Geeignete Vegetationsbedeckung für Zecken wurde dem CORINE Land Cover der European Environment Agency entnommen (CORINE Land Cover 2006). Weitere erforderliche Daten waren Karten von Niederbayern und der Oberpfalz, wie die Vektor 500 Karte (Generalkarte von Bayern, 1:500 000), das digitale Lanschaftsmodell ATKIS® (Topographische Karte), das digitale Geländemodell, Zugang zu WMS-Servern (Web Mapping Service) von der bayerischen Vermessungsverwaltung. Nach durchgeführter Analyse konnten aus den Flächen, die in allen Kriterien übereinstimmem, 15 Standorte in

se na „vlajku“ zachytí a následně jsou pinzetou přemístěna do zkumavek. Aktivita klíšťat se vyjadřuje jako počet jedinců (daného stádia/pohlaví) vztažený na 1 pracovníka a na hodinu sběru nebo na plochu 100 m^2 („vlajkou“ o šířce 0,5 m se sbírá transekt o délce 100 m, tam a zpět). Během sběru byla zaznamenávána teplota a relativní vlhkost vzduchu. Ke klíšťatům ve zkumavce byl přidán drobný kousek vegetace, aby se zabránilo jejich vysychání při transportu do laboratoře, kde byla uložena v hluboko-mrazícím boxu při – 70°C až do zpracování (nízká teplota zabraňuje degradaci bio-molekul následně používaných k detekci patogenů).

Na 30 vybraných lokalitách proběhly sběry klíšťat ve třech etapách: jarní (konec května), letní (konec června) a podzimní (konec září). Celkem bylo získáno 20 057 jedinců (18 829 nymf, 578 samic a 650 samců) klíštěte *I. ricinus*. Aktivita klíšťat byla v rámci sezóny i v porovnání lokalit vysoce variabilní: 1–110 nymf/100 m^2 maximální rozsah v rámci sezóny a jedné lokality a 10–68 nymf/100 m^2 variabilita v porovnání lokalit. Aktivita nymf dosahovala v průměru (34,9 nymf/100 m^2) více než desetinásobku aktivity dospělců (2,27 dospělců/100 m^2). Průměrná aktivita všech vývojových stádií byla průkazně vyšší v jarním sběru než ve sběrech letních a podzimních.

Přes statisticky významné rozdíly v aktivitě jednotlivých stádií v rámci sezóny pořadí lokalit v jednotlivých sběrech bylo vysoce korelované. Z tohoto faktu lze vyvozovat, že aktivita klíšťat je specificky vázána na lokalitu a k sezónním fluktuacím dochází obecně na všech lokalitách na základě globálně působících faktorů. Výsledky z jednotlivých lokalit jsou uvedeny na Obr. 8.

5. Detekce viru klíšťové encefalitidy a spirochét lymeské boreliózy

Pro detekci patogenů v klíšťatech existuje celá řada možností, od klasických kultivačních metod umožňujících získání živých agens (v případě VKE izolace na sajících myškách či buněčných kulturách; v případě spirochét LB izolace v mediu na bázi BSK) přes mikroskopické zobrazovací metody (mikroskopie v zástinu pro průkaz borelií) metody využívající protilátek specificky interagujících s antigeny patogenů (nepřímá imunofluorescence) po metody molekulární biologie založené na polymerázové řetězové reakci (PCR).

Gebieten mit hohem Aufkommen von FSME-Erkrankungsfällen und 5 Standorte in Gebieten mit geringem Auftreten ausgewählt werden (Abb. 13).

4. Bestimmung der Aktivität von *Ixodes ricinus*

In 2010 wurden an den 20 Standorten jeweils im Mai, Juni und September auf einer Fläche von 600 m^2 *I. ricinus* Zecken gesammelt. Nymphen sowie weibliche und männliche Adulttiere wurden dabei getrennt. Die Sammlung der Zecken erfolgte, wie auch im Tschechischen Projektgebiet, mit der Flaggmethode. Für jeden Standort wurden die GPS-Koordinaten, Angaben zur Höhenlage sowie die Vegetationsbedeckung aufgezeichnet. Zusätzlich wurden während jeder Sammlung Temperatur-, Luftfeuchtigkeit – und Wetterdaten protokolliert.

Právě molekulárně-biologické metody se dnes používají téměř výhradně. Technika PCR je založena na přirozených mechanizmech kopírování genetické informace zejména pro účely dělení buněk. Umožňuje selektivní namnožení úseku genetické informace přítomné výlučně u daného druhu patogena. Vzorky klíšťat jsou homogenizovány, sérií biochemických postupů je z nich izolována celková DNA a RNA. RNA je pomocí reverzní transkripce přepsána do DNA (označované jako cDNA). Genetická informace ve formě DNA pak následně vstupuje do PCR, kde přítomnost nebo nepřítomnost specifického nukleotidového úseku umožní oddělit vzorky obsahující a neobsahující patogeny respektive jejich genetickou informaci. Výhodou metod založených na PCR je zejména jejich citlivost a univerzálnost aplikace.

Prevalence viru klíšťové encefalitidy na našich lokalitách dosahovala od 0 až po 1,22 %. Lokalit, na kterých nebyl virus zachycen, bylo celkem 9. Na zbývajících 21 lokalitách byl nalezen alespoň jeden pozitivní vzorek. Lokalizace na přítomnost viru pozitivních a negativních lokalit je zobrazena v mapě na Obr. 9.

Prevalence spirochét lymeské boreliózy dosahovala v rámci našich lokalit od 2 do 20 % s průměrem 12,13 %. Výsledky stanovení prevalence *B. burgdorferi* na jednotlivých lokalitách jsou uvedeny na Obr. 10. Dalším krokem v analýze borélií byla identifikace genomospecies. Ta byla prováděna pomocí techniky „reverse line blotting" (Gern et al. 2010). Tato metoda zahrnuje opět amplifikaci vybraného úseku DNA pomocí PCR, ovšem vnitřní část tohoto úseku se mezi jednotlivými genomospecies borélií liší. Pomocí hybridizace s jedno-vláknovými úseky DNA schopnými rozpoznat tyto odlišnosti je možné identifikovat různé druhy genomospecies borélií. Celkem byly genomospecies identifikovány 724 vzorků. Výsledky analýz potvrdily vysoký výskyt *B. afzelii* (61,7 %) a *B. garinii* (25,8 %). Méně byla zastoupena *B. burgdorferi* sensu stricto (8,2 %). Byl potvrzen výskyt *B. spielmanii* na území Jihočeského kraje, i když její celkové zastoupení je minoritní (0,69 %). V rámci ko-infekcí byly zachyceny i *B. valaisiana* a *B. lusitaniae*.

6. Faktory prostředí a modelování

Jak již bylo zmíněno výše, *I. ricinus* je klíště exofilní a je tedy ať již přímo nebo zprostředkovaně ovlivňováno faktory prostředí a to jak abiotickými: klimatické podmínky, mikroklima, podloží... tak biotickými: složení vegetačního krytu, dostupnost

Insgesamt wurden im Jahr 2010 8 805 *I. ricinus* Zecken gesammelt (8 203 Nymphen, 301 adulte Weibchen und 301 adulte Männchen). In der Oberpfalz wurden dabei 5 190 (4 808 Nymphen, 386 Adulte) und in Niederbayern 3 615 (3 399 Nymphen, 216 Adulte) Zecken gesammelt. Die maximale Gesamt-Zeckenaktivität (Durchschnitt der Zecken aller Stadien/100 m^2) konnte im Sommer beobachtet werden und betrug für die Oberpfalz 38,6 Zecken und für Niederbayern 23,0 Zecken. Die durchschnittliche Aktivität für Adulte betrug 2,6 Zecken für die Oberpfalz und 1,4 Zecken für Niederbayern. Auch das Nymphstadium war in der Oberpfalz aktiver mit 36,0 Zecken, während in Niederbayern hingegen nur 21,6 Zecken in den Sommermonaten verzeichnet werden konnten.

5. Nachweis des FSME-Virus und *Borrelia burgdorferi* sensu lato

Insgesamt 2 835 *Ixodes ricinus* Zecken vom Mai 2010 wurden auf das Vorhandensein von FSME-Virus und 2 045 Zecken auf *Borrelia burgdorferi* sensu lato untersucht. Für den Nachweis des FSME-Virus wurden die Zecken gepoolt (10 Nymphen oder fünf Adulte) und mit der Methode der „Realtime-RT-PCR" nach Schwaiger und Casinotti (2003) untersucht. In sieben Zecken-Pools konnte das FSME-Virus nachgewiesen werden, was einer Prävalenz von 0,25 % entspricht. Insgesamt konnten an fünf Standorten für das FSME-Virus positive Zecken gefunden werden (Abb. 14). Der Nachweis von *Borrelia burgdorferi* s.l. erfolgte in jeder Zecke individuell mit der molekularen Methode der „Nested PCR" (Rijpkema et al. 1995). Die Borrelia Spezies wurden durch die Auswertung der sequenzierten PCR-Produkte bestimmt. 14 % (n=286) der untersuchten Zecken waren positiv für *B. burgdorferi* s.l. Die totale Infektionsrate für die einzelnen Standorte reichte von 2,9 % bis 33.,9 % (Abb. 15). Die am häufigsten vertretene Spezies war *B. afzelii* (39,2 %), gefolgt von *B. garinii* (21,7 %), *B. valaisiana* (16,4 %) und *B. burgdorferi* s.s. (6,6 %). Nur eine Nymphe war mit *B. spielmanii* (0,3 %) und eine Nymphe mit *B. lusitaniae* (0,3 %) infiziert. Abweichende Infektionsraten wurden für Nittendorf und Saulburg gefunden, wo anstelle von *B. afzelii*, *B. garinii* am häufigsten vertreten war., gefolgt von *B. valaisiana*. 15,4 % der Zecken waren mit mehr als einer Art des *Borrelia burgdorferi* s.l. Komplex infiziert.

hostitelů.... Některé faktory se v populaci klíšťat projeví v reálném čase (např. ovlivnění aktivity klíšťat vlhkostí), jiné s určitým zpožděním (ovlivnění rychlosti vývoje teplotou). Vztahy klíšťat k některým z charakteristik prostředí, jako teplota nebo vlhkost, jsou poměrně dobře dobře popsány. Nicméně řada faktorů je obtížně sledovatelná (např. dostupnost a zastoupení hostitelů), jejich efekt je obtížně oddělitelný od dalších vlivů nebo nebyl jejich vliv dosud vůbec prokázán. Proto se většinou užívá dalších indikátorů, které charakterizují prostředí na úrovni celého biotopu. Pro tyto účely se využívá např. klasifikovaných satelitních snímků (v našem případě klasifikace vegetačního krytu z projektu CORINE), nebo vegetačních indexů (např. NDVI vypočtený ze satelitních dat (MODIS, LANDSAT), podkladů z pozemního mapování (lesnické typologické mapy), kartografických GIS podkladů (úroveň zalesnění, typy lesů, nadmořská výška, expozice, klon...). Faktory mající vztah k závisle proměnné (aktivita klíšťat, aktivita infikovaných klíšťat, počet případů KPN) jsou identifikovány pomocí lineárních, nebo nelinerárních regresí případně neparametrických metod typu klasifikačních a regresních stromů. Identifikace a případné matematické vyjádření těchto vztahů mají kromě obecného významu uplatnění při tvorbě modelů, kdy je pomocí známých nezávisle proměnných predikována hodnota závisle proměnné.

V našem případě jsme využili vazby klíšťat na specifické druhy habitatů a vztah aktivity klíšťat k nadmořské výšce pro konstrukci modelu rizika napadení klíštětem. Jednotlivým hladinám obou faktorů byla přidělena určitá hodnota rizika a následně bylo vypočteno celkové riziko napadení klíštětem. Mapový výstup modelu je uveden na Obr. 11. Následně byl model doplněn o charakteristiky aktivity člověka v podobě populační hustoty a intenzity turistického ruchu. Výsledek takto doplněného modelu byl porovnán s daty o výskytu klíšťové encefalitidy (R=0,76; Pearsonův korelační test). Detailnější popis modelu byl uveřejněn v článku Hönig et al. (2011).

7. Porovnání situace v Jihočeském kraji a Bavorsku

Přestože jsou území Jihočeského kraje a Bavorska v ohledu přírodních podmínek velmi podobná, významně se liší incidencí klíšťaty přenášených onemocnění, zejména klíšťové encefalitidy. Z epidemiologických map distribuce klinických

6. Vergleich der Ergebnisse in Ostbayern und Südböhmen

Obwohl sich Südböhmen und Bayern in ihren natürlichen Gegebenheiten gleichen, unterscheiden sie sich doch in den Inzidenzraten Zecken-übertragener Infektionskrankheiten (speziell FSME). Aus den epidemiologischen Karten geht hervor, dass sich die FSME-Erkrankungsfälle in Südböhmen über das gesamte Gebiet erstrecken und sich in Ballungszentren konzentrieren. In Bayern hingegen sind die FSME-Erkrankungsfälle nur auf einzelne Herde begrenzt. (Abb. 6, 12).

Auch die Zeckenaktivität war in Südböhmen höher (37,4 Zecken/100 m^2) als in Bayern (24,5/100 m^2). Nur die Zeckenaktivität in der Oberpfalz war mit der Aktivität in der Tschechischen Republik vergleichbar. Die maximale Zeckenaktivität wurde in Südböhmen für das Frühjahr beobachtet, wohingegen die maximale Aktivität in Bayern für den Sommer ermittelt werden konnte. Möglicherweise wurden die Ergebnisse durch saisonale Fluktuationen und dem unterschiedlichen Sammeljahr beeinflusst.

In Südböhmen wurde das FSME-Virus in Zecken aus 21 von 30 (70 %) Standorten gefunden, wohingegen in Bayern nur 5 von 20 (25 %) Standorte positiv für

případů je evidentní rozdíl v distribuci případů KE. Zatímco v případě Jihočeského kraje jsou případy evidovány téměř po celém území a mírně koncentrovány do oblastí větších sídel, v případě Bavorska je výskyt onemocnění omezen na několik drobných ohnisek (Obr. 6, 12).

V Jihočeském kraji byla zaznamenána vyšší průměrná aktivita klíšťat (37,4 klíšťat na 100 m^2) než v Bavorsku (24,5 na 100m^2). Ovšem aktivity klíšťat samostatně za region Oberpfalz dosahovala hodnot s Českou republikou srovnatelných. V Jihočeském kraji bylo maximum aktivity pozorováno v jarních sběrech, zatímco co v Bavorsku byl nejvyšší výskyt klíšťat posunut na sběr letní. Tyto rozdíly však mohou být způsobeny i meziročními fluktuacemi.

Přítomnost viru klíšťové encefalitidy v klíšťatech byla v případě Jihočeského kraje prokázána na 21 ze 30 sledovaných lokalit (70 %), zatímco v Bavorsku pouze na 5 lokalitách z 20 (25 %) (Obr. 9, 14). Tyto výsledky dobře korespondují s výše zmíněnými rozdíly v distribuci klinických případů onemocnění.

Spirochéty lymeské boreliózy byly detekovány na všech lokalitách v Bavorsku i v Jihočeském kraji, což potvrzuje teorii, že *Borrelia burgdorferi* se vyskytuje téměř všude, kde se vyskytuje klíště *I. ricinus*. Zastoupení genomospecies borelií bylo na obou stranách hranice srovnatelné až na mírně vyšší zastoupení *B. afzelii* v Jihočeském kraji. Tento rozdíl pravděpodobně ukazuje na vyšší zastoupení hlodavců, coby důležitých hostitelů klíšťat na území jižních Čech.

Celkově bylo prokázáno, že obě území vykazují zvýšené riziko infekce klíšťaty přenášenými patogeny. Původce lymeské boreliózy je prakticky všudypřítomný, výskyt viru klíšťové encefalitidy je ohniskový v případě Jihočeského kraje a velmi vysoce ohniskový v případě Bavorska.

das FMSE-Virus waren (Abb. 9, 14). Diese Ergebnisse decken sich mit der bereits erwähnten unterschiedlichen Verteilung der Erkrankungsfälle. Lyme-Borreliose Spirochäten scheinen hingegen ubiquitär präsent zu sein, da sie an allen Standorten in Südböhmen und Bayern nachgewiesen werden konnten. Die Verteilung der Borrelia-Genospezies ähnelte sich auf beiden Projektseiten, obwohl in Südböhmen häufiger *B. afzelii* nachgewiesen werden konnte. Dies lässt auf eine höhere Bedeutung der Nagetierwirte auf die Zirkulation des Infektionserregrs schließen.

Es konnte bei diesem Projekt gezeigt werden, dass beide Untersuchungsgebiete verstärktes Risiko für Infektionen durch Zecken-übertragene Erreger zeigen. Der Erreger der Lyme-Borreliose scheint dabei ubiquitär präsent zu sein, während die Verbeitung des FSME-Virus in Südböhmen und noch viel mehr in Bayern auf einige Naturherde begrenz ist.

KONFERENCE
KLÍŠŤATA A JIMI PŘENÁŠENÁ ONEMOCNĚNÍ V JIHOČESKÉM KRAJI A BAVORSKU

V rámci realizovaného projektu byla zorganizována konference za účasti českých, německých a dalších zahraničních odborníků z řad vědců, lékařů a epidemiologů. Konference zahrnovala tři hlavní příspěvky shrnující výsledky projektu, které byly následovány příspěvky českých a německých odborníků v oblasti biologie a ekologie klíšťat, klíšťaty přenášených patogenů a epidemiologie klíšťaty přenášených onemocnění. Konference se konala 27. září 2011 v Sále Zastupitelstva Jihočeského kraje v Českých Budějovicích.

KONFERENZ
ZECKEN UND ZECKEN-ÜBERTRAGENE INFEKTIONSKRANKHEITEN IN SÜDBÖHMEN UND BAYERN

Im Rahmen des Projektes wurde eine Konferenz unter Teilnahme der tschechischen und deutschen Wissenschaftler, Ärzten und Epidemiologen veranstaltet. Auf dem Program waren drei Hauptreferate mit den Ergebnissen des Projektes, sowie mehrere andere Vorlesungen über die Ökologie und Epidemiologie von Zecken und der von ihnen übertragenen Krankheiten. Die Konferenz fand am 27. September 2011 Im Saal der Vertretung des Südböhmischen Bezirkes in Ceske Budejovice statt.

Ticks and Tick-borne Pathogens in South Bohemia, 2008 - 2011

Václav Hönig

České Budějovice, 27.9.2011

The Project is co-financed by the European Union from the Regional Development Fund and by the Region of South Bohemia INVESTING IN YOUR FUTURE!

1. The Project

- Official project name:
  Ticks and tick-borne infectious diseases in the conditions of South Bohemia nad Bavaria
  Klíšťata a jimi přenášená infekční onemocnění v podmínkách Jihočeského kraje a Bavorska
  Zecken und Zecken-übertragene Infektionskrankheiten in Südböhmen und Bayern
- Duration of the project: 1.5.2009 - 31.10.2011
- Leading partner: University of South Bohemia (Faculty of Science)
- Project partner: Ludwig-Maximilian University (Faculty of Veterinary Medicine, Institute of Comparative Tropical Medicine and Parasitology)
- Financing: European regional development fund of the European Union, The Region of South Bohemia

The Project is co-financed by the European Union from the Regional Development Fund and by the Region of South Bohemia INVESTING IN YOUR FUTURE!

2. Ticks

- Chelicerata > Arachnida > Acarina > Ixodida
- hematophageous arthropods
- *Ixodes ricinus*
  - egg => larva => nymph => adult
  - 3 hosts, 3x feeding
  - life cycle 4-6 years
  - over 300 host species

The Project is co-financed by the European Union from the Regional Development Fund and by the Region of South Bohemia INVESTING IN YOUR FUTURE!

3. Tick-borne diseases in South Bohemia

- Tick-Borne Encephalitis
  - tick borne encephalitis virus
  - serious infection of CNS

  South Bohemia (2001-08):
  - total of 1307 TBE cases
  - avg. 160 cases/year (24 %)

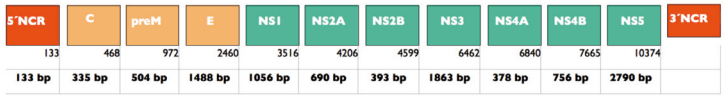
- Lyme Borreliosis (LB)
  - *Borrelia burgdorferi* sensu lato
  - multisystemic disorder

  South Bohemia(2001-08)
  - total of 1 172 LB cases
  - avg. 154 cases/year (4 %)

The Project is co-financed by the European Union from the Regional Development Fund and by the Region of South Bohemia INVESTING IN YOUR FUTURE!

4. Tick-borne encephalitis virus

- *Flaviviridae: Flavivirus*
- *+ ssRNA, ~ 10 kb*



- TBEV-Eu - *I. ricinus*
- TBEV-Sib - *I. persulcatus*
- TBEV-FE - *I. persulcatus*

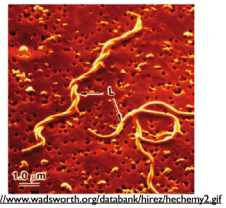
http://www.tbefacts.com/images/fig11_worldwide.gif

- infection of CNS of variable severity

The Project is co-financed by the European Union from the Regional Development Fund and by the Region of South Bohemia
INVESTING IN YOUR FUTURE!

5. *Borrelia burgdorferi*

- *Eubacteria > Spirochaetes > Spirochaetales > Spirochaetaceae, > Borrelia*
- linear chromosome, variable number of linear and circular plasmids
- spiral-shaped microaerophilic bacterium
- Europe - *I. ricinus*
- Asia - *I. persulcatus*
- N. America - *I. scapularis, I. pacificus*



http://www.wadsworth.org/databank/hirez/hechemy2.gif

- multisystemic infection (skin, joints, CNS, heart...)

The Project is co-financed by the European Union from the Regional Development Fund and by the Region of South Bohemia
INVESTING IN YOUR FUTURE!

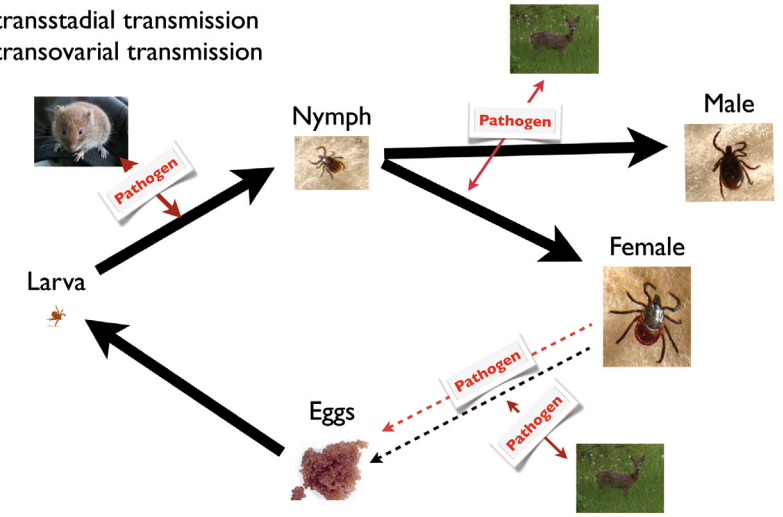
6. *Borrelia burgdorferi* sensu lato

Genospecies	Distribution	Host	Pathogenicity
B. burgdorferi s.s.	Europe, Asia, N. America	generalist	multisystemic
B. afzelii	Europe, Asia	rodents	skin
B. garinii	Europe, Asia	birds	joints
B. valaisiana	Europe, Asia	birds	probably pathogenic
B. lusitaniae	Europe, Asia	lizzards	probably pathogenic
B. spielmanii	Europe	dormice	pathogenic
B. bavariensis	Europe	birds	pathogenic
B. bissettii	Europe, N. America		probably pathogenic
B. americana	N. America		
B. andersonii	N. America		
B. carolinensis	N. America		
B. kurtenbachii	N. America		
B. japonica	Asia		
B. tanukii	Asia		
B. turdi	Asia		
B. sinica	Asia		
B. yangtze	Asia		
B. californiensis	USA		
Genomospecies 11	USA		
B. finlandensis?	Europe?		

The Project is co-financed by the European Union from the Regional Development Fund and by the Region of South Bohemia
INVESTING IN YOUR FUTURE!

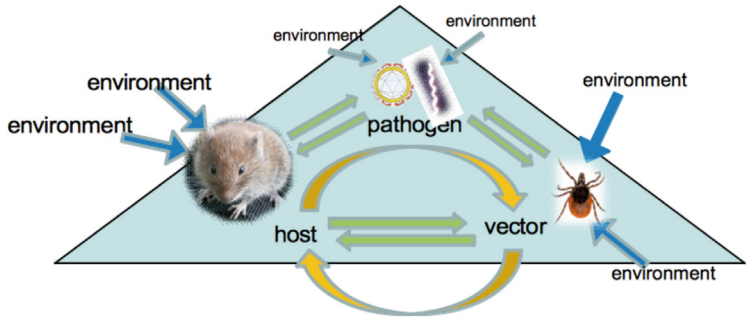
7. Transmission with ticks

- transstadial transmission
- transovarial transmission



The Project is co-financed by the European Union from the Regional Development Fund and by the Region of South Bohemia
INVESTING IN YOUR FUTURE!

8. Natural focus



The Project is co-financed by the European Union from the Regional Development Fund and by the Region of South Bohemia
INVESTING IN YOUR FUTURE!

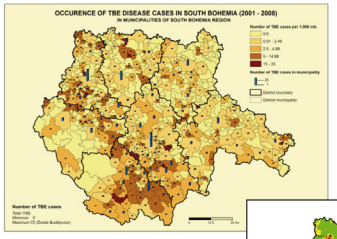
9. Project aims

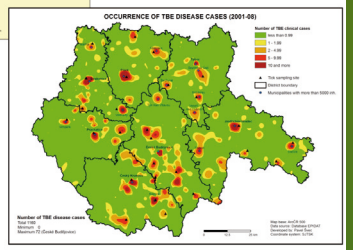
1. estimate distribution of TBD cases
2. characterize the activity of tick population
3. describe the intensity of TBD circulation in nature
4. describe the variability among the TBD causative agents
5. link environmental conditions with tick occurrence, TBD prevalence, and TBD cases incidence
6. build models to predict risk of TBD infection

The Project is co-financed by the European Union from the Regional Development Fund and by the Region of South Bohemia
INVESTING IN YOUR FUTURE!

10. Distribution of TBD cases

- data on probable location of infection of human (2001-08); National Institute of Public Health, Prague





TBE:

- total: 1 307 cases

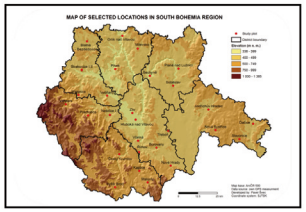
LB:

- total: 1 172 cases

The Project is co-financed by the European Union from the Regional Development Fund and by the Region of South Bohemia
INVESTING IN YOUR FUTURE!

11. Tick activity - methods

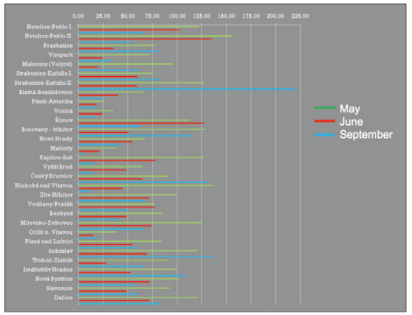
- 30 study sites
- 3 collection events (á 600 m^2)
- flagging => N/100 m^2

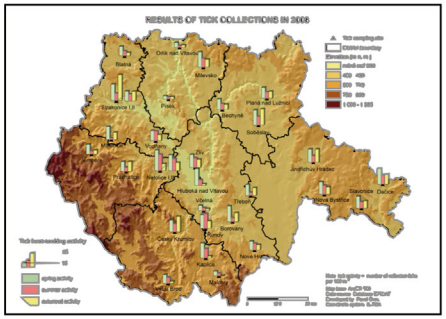


The Project is co-financed by the European Union from the Regional Development Fund and by the Region of South Bohemia
INVESTING IN YOUR FUTURE!

12. Tick activity - results

- high seasonal variability: 1-110 nymphs/100m^2
- high spatial variability: 10-68 nymphs/100m^2





The Project is co-financed by the European Union from the Regional Development Fund and by the Region of South Bohemia
INVESTING IN YOUR FUTURE!

13. Tick activity - results

	Activity of *I. ricinus* [N/100 m^2] (+/-s.d.)				
	nymphs	**females**	**males**	**adults**	**total**
spring	45.97 (16.3)	2.30 (1.23)	2.37 (1.23)	4.67 (2.38)	50.64 (17.43)
summer	27.82 (15.03)	0.55 (0.57)	0.86 (0.57)	1.41 (1.2)	30.03 (15.54)
autumn	30.81 (22.4)	0.36 (22.4)	0.38 (0.33)	0.74 (0.59)	31.56 (22.57)
average	**34.87**	**1.07**	**1.20**	**2.27**	**37.41**

- ranking tick activity on localities from 3 collection periods highly correlated => locality specific tick activity + global seasonal fluctuations

The Project is co-financed by the European Union from the Regional Development Fund and by the Region of South Bohemia
INVESTING IN YOUR FUTURE!

14. Detection of tick-borne pathogens

- PCR based molecular tools:

  - TBEV: 1. RNA isolation (Viral RNA kit, Qiagen)
    2. cDNA synthesis
    3. PCR

  - *B.b.s.l.*: 1. DNA isolation (Chelex method)
    2. PCR (*B. burgdorferi* s.s., *B. afzelii, B. garinii, B. spielmanii, B. bavariensis)*
    3. genospecies identification: reverse line blotting, sequencing

The Project is co-financed by the European Union from the Regional Development Fund and by the Region of South Bohemia
INVESTING IN YOUR FUTURE!

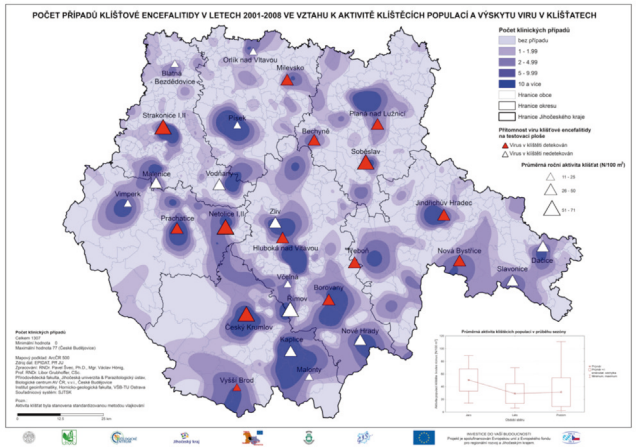
15. Detection of TBEV - results

- TBEV was detected in 21 of 30 sites
- prevalence of TBEV reached 0.4 % (ranging 0-1.22 %)

Stage	Tested	Positive	Prevalence
Adults	1138	12	1.05%
Nymphs	17624	54	0.31%
Total	18762	66	0.35%

The Project is co-financed by the European Union from the Regional Development Fund and by the Region of South Bohemia
INVESTING IN YOUR FUTURE!

16. Detection of TBEV - results



The Project is co-financed by the European Union from the Regional Development Fund and by the Region of South Bohemia
INVESTING IN YOUR FUTURE!

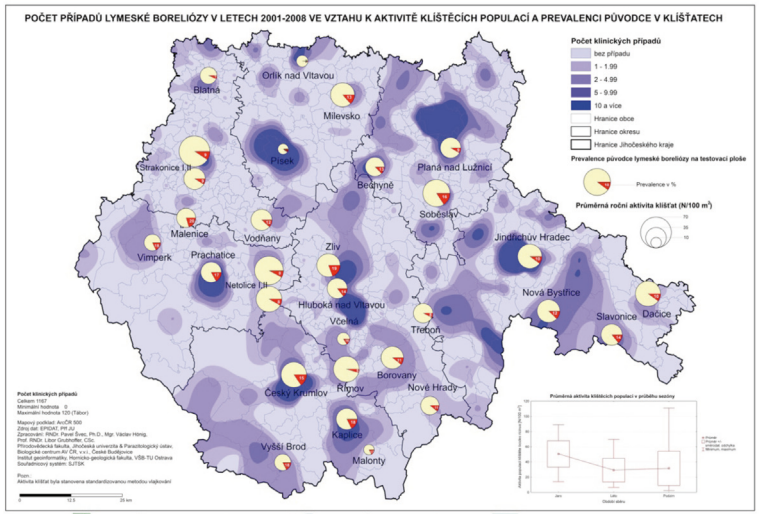
17. Detection of *Borrelia burgdorferi* - results

- *B. burgdorferi* was found at all 30 sites
- prevalence reached 12 % (range 2-20 %)
- prevalence in nymphs (12.6 %) significantly higher than in adults (8.2 %)

Stage	Tested	Positive	Prevalence
Adults	1219	100	8.20%
Nymphs	9961	1256	12.61%
Total	11180	1356	1.213%

The Project is co-financed by the European Union from the Regional Development Fund and by the Region of South Bohemia
INVESTING IN YOUR FUTURE!

18. Detection of *Borrelia burgdorferi* - results



The Project is co-financed by the European Union from the Regional Development Fund and by the Region of South Bohemia
INVESTING IN YOUR FUTURE!

19. *Borrelia burgdorferi* genospecies

- RLB - *5S-23S rDNA* intergenic spacer (Gern et al. 2010)
- confirmation by sequencing

Genospecies		
B. burgdorferi s.s.	59	8.2%
B. afzelii	447	61.7%
B. garinii	187	25.8%
B. valaisiana	17	2.4%
B. lusitaniae	9	1.2%
B. spielmanii	5	0.69%

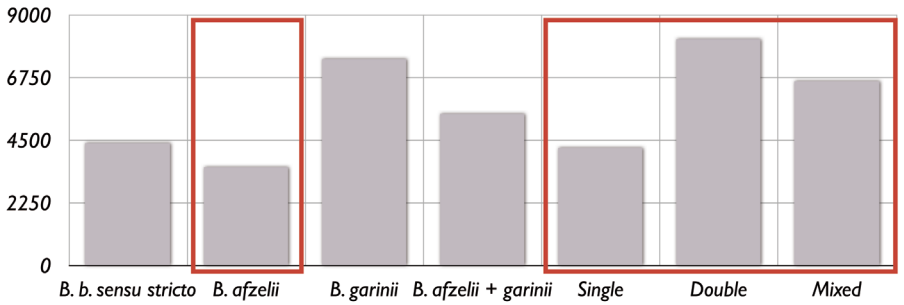
double infections:
13 % (N=96)

triple infections:
0.7 % (5)

The Project is co-financed by the European Union from the Regional Development Fund and by the Region of South Bohemia
INVESTING IN YOUR FUTURE!

20. *Borrelia burgdorferi* quantification

- real-time PCR
- no significant differences in number of borrelia cells in nymphs and adults



The Project is co-financed by the European Union from the Regional Development Fund and by the Region of South Bohemia
INVESTING IN YOUR FUTURE!

21. Environmental variables

- dependent: activity of ticks, prevalence of pathogens, activity of infected ticks, number of disease cases

	Variables	Source
Physical-geographical	elevation, slope, exposition	digital elevation model
Climatic	temperatures, precipitation	interpolated value from meteorological stations
Habitat classification	vegetation cover	CORINE, forest typology maps, own survey
Botanical data	phytocenological survey	own survey
Vegetation indices	NDVI	LANDSAT, MODIS
Demographic data	number of inhabitants, tourist activity	Czech Statistical Institute, Atlas Tourist Activity

The Project is co-financed by the European Union from the Regional Development Fund and by the Region of South Bohemia
INVESTING IN YOUR FUTURE!

22. Environmental variables vs. Tick activity

r =	Summer	Autumn	Total tick activity
% deciducous forest	0.421		
% northwards exposed		-0.399	
NDVI July		-0.512	
NDVI August		-0.451	
NDVI September		-0.376	-0.384
NDVI seasonal mean		-0.408	

The Project is co-financed by the European Union from the Regional Development Fund and by the Region of South Bohemia
INVESTING IN YOUR FUTURE!

23. Environmental variables vs. Prevalence

r =	*B. burgdorferi*	Tick-borne encephalitis
Log light E2E1	0.45	
Log humidity E2E1		0.44
precipitation annual sum	0.38	
temperature annual mean	0.40	
temperature seasonal mean	0.40	
NDVI July		0.40
altitude (mean)	0.41	

The Project is co-financed by the European Union from the Regional Development Fund and by the Region of South Bohemia
INVESTING IN YOUR FUTURE!

24. Environ. variables vs. Activity of infected

r =	*B. burgdorferi*	Tick-borne encephalitis
Light E2E1	-0.47	
Humidity E2E1	0.40	
Log humidity E2E1		0.44
% deciduous forest		0.38
NDVI July	-0.50	-0.40
NDVI seasonal mean	-0.41	

The Project is co-financed by the European Union from the Regional Development Fund and by the Region of South Bohemia INVESTING IN YOUR FUTURE!

25. Environmental variables vs. Nr. of TBE cases

r =	TBE cases absol. 01-08	TBE cases absol. 08	TBE cases/ 1000 inh. 01-08	TBE cases/ 1000 inh. 08
% mixed forests	0.43			
% coniferous forests	-0.46			
precipitation annual sum			0.42	0.37
precipitation seasonal sum			0.43	
temperature annual mean		-0.44		
temperature seasonal mean		-0.41		
NDVI July			0.53	
NDVI August			0.49	
NDVI September			0.50	
altitude (mean)		0.37		
nr. of inhabitants	0.71	0.52	0.71	0.73

The Project is co-financed by the European Union from the Regional Development Fund and by the Region of South Bohemia INVESTING IN YOUR FUTURE!

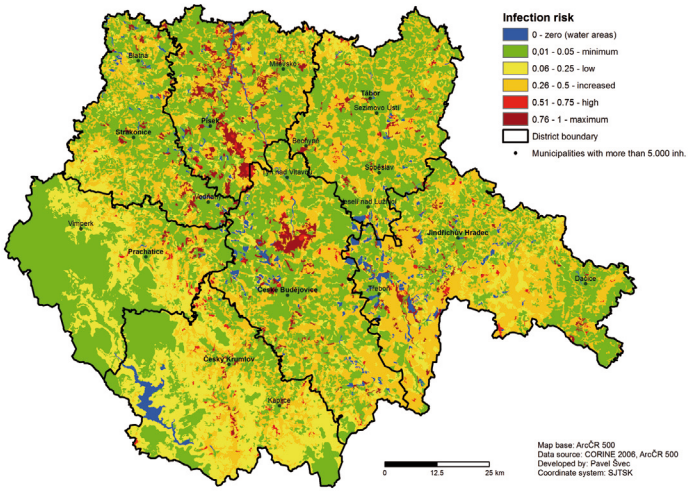
26. Model - risk of tick attack

biological risk - vegetation cover + elevation

Layer	Category	Risk index
Vegetation cover [Corine Land Cover 2006 classification]	1.4.1. Green urban areas	0.25
	2.3.1. Pastures	0.20
	2.4.3 Agriculture land	0.40
	3.1.1. Broad-leaved forest	0.80
	3.1.2. Coniferous forest	0.50
	3.1.3. Mixed forest	1.00
	3.2.1. Natural grassland	0.20
	3.2.4. Transitional woodland shrub	0.60
	5.1.1. Water courses	0.00
	5.1.2. Water bodies	0.00
	other	0.05
Elevation [m a. s. l.]	< 500	1.00
	501 – 850	decreasing from 1.00 to 0.05
	> 851	0.05

The Project is co-financed by the European Union from the Regional Development Fund and by the Region of South Bohemia INVESTING IN YOUR FUTURE!

27. Model - risk of tick attack



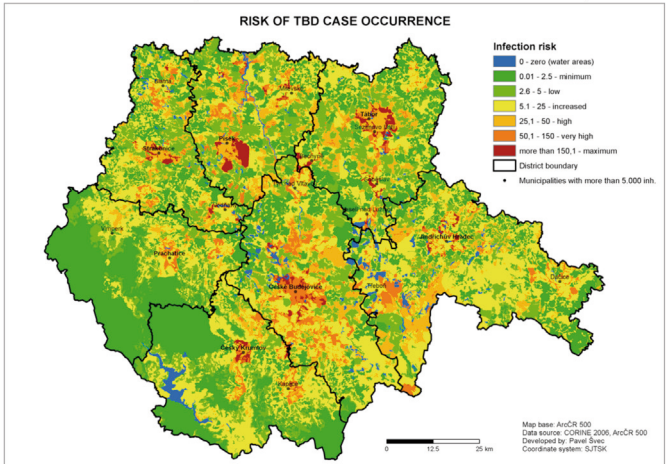
correlation of predicted risk with tick abundance:

r = 0.36, p<0.05

The Project is co-financed by the European Union from the Regional Development Fund and by the Region of South Bohemia INVESTING IN YOUR FUTURE!

28. Model - risk of TBD case occurence

- human activity - nr. of inhabitants + tourist activity

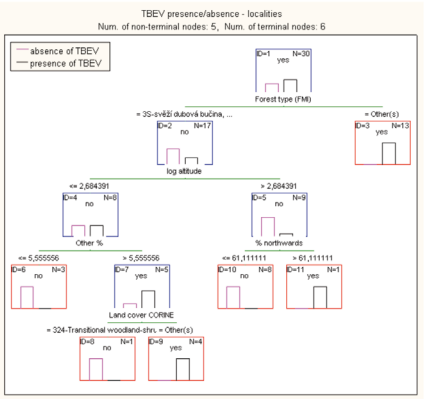


- correlation of predicted risk with TBE incidence:
- r = 0.76, p<0.05

The Project is co-financed by the European Union from the Regional Development Fund and by the Region of South Bohemia
INVESTING IN YOUR FUTURE!

29. Model - CART

- Classification and Regression Trees
  - nonparametric statistical tools
  - use of categorical and continual predictors and their combinations
  - directly transferable to GIS outputs



The Project is co-financed by the European Union from the Regional Development Fund and by the Region of South Bohemia
INVESTING IN YOUR FUTURE!

30. Final plans

1. **generation of models (GLM, CART...)**
2. **selection of best performance model**
3. **generation of final map outputs**
4. **Project proceedings**

The Project is co-financed by the European Union from the Regional Development Fund and by the Region of South Bohemia
INVESTING IN YOUR FUTURE!

Thank you.

Libor Grubhoffer (head of the project)
Radka Bunešová (project administration)

Zuzana Vavrušková, Vendula Vetišková, Helena Mondeková, Jarmila Dupejová, Veronika Dorňáková, Patrik Kilian, Martin Palus (tick collections, laboratory analysis)

Pavel Švec (Institute of Geoinformatics, GIS)
Daniela Szturcová (Institute of Geoinformatics, databases)
Vlasta Danielová, Milan Daniel (NIPH, epidemiological data, site selection)
Petr Halas (Geonika, botanical characteristics)
Aleš Farda (CHMI, climatic data)
Tomáš Mrkvička (spatial modeling)

Thank you for attention.

This project is co-financed by the European Union from the European Regional Development Fund and by the Region of South Bohemia.

The Project is co-financed by the European Union from the Regional Development Fund and by the Region of South Bohemia
INVESTING IN YOUR FUTURE!

The Project is co-financed by the European Union from the Regional Development Fund and by the Region of South Bohemia
INVESTING IN YOUR FUTURE!

Use of GIS based tools in the project „Ticks and tick-borne diseases in South Bohemia and Bavaria“

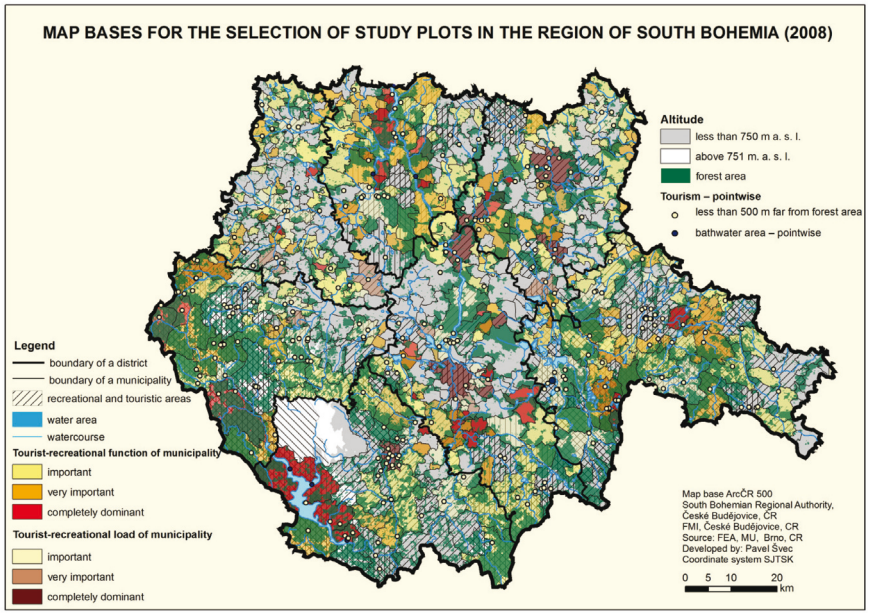
Pavel ŠVEC et al.

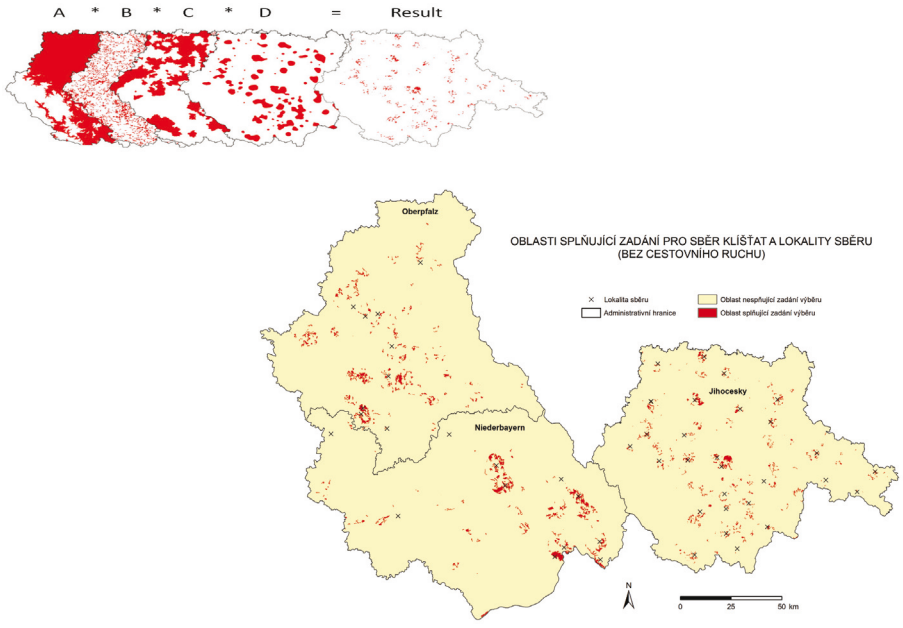
Institute of Geoiformatics, VŠB – Technical university of Ostrava

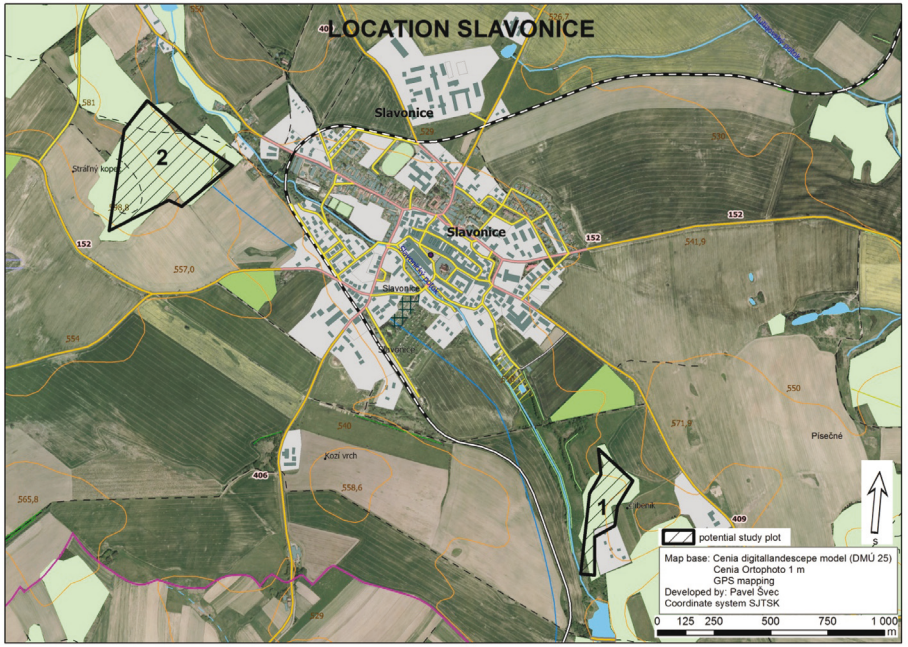
Ticks and tick-borne diseases in South Bohemia and Bavaria
27. 9. 2011 České Budějovice

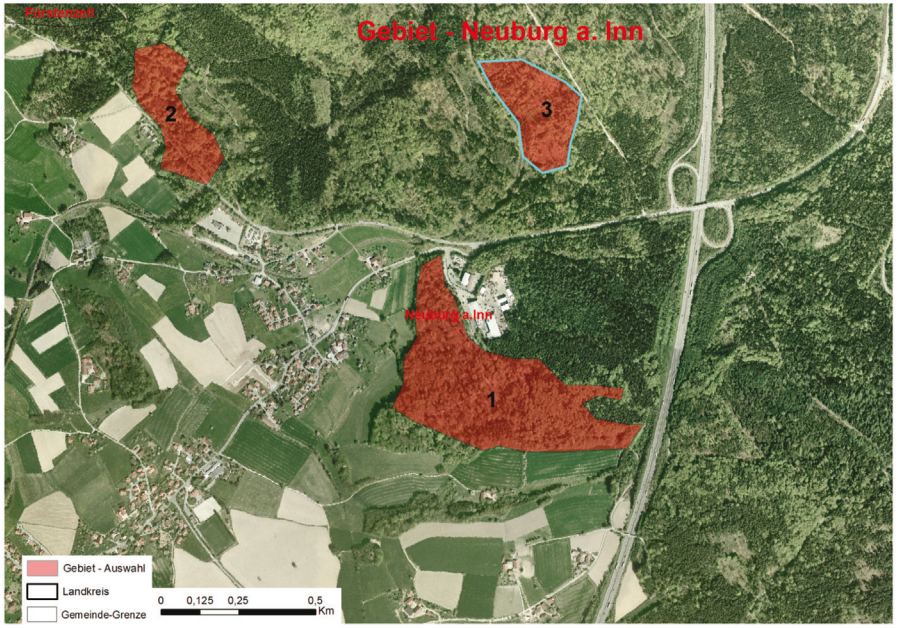
- GIS in the framework of the project: analysis and visualization of data of various character
- **Involved in following activities:**
- Analysis and selection of tick collection sites + research in the field including GPS measurement
- Preparation of a tick attack risk assessment model
- Visualization of results including visualization in 3D
- Cartographic and map support of the project (situations, analyses, results)

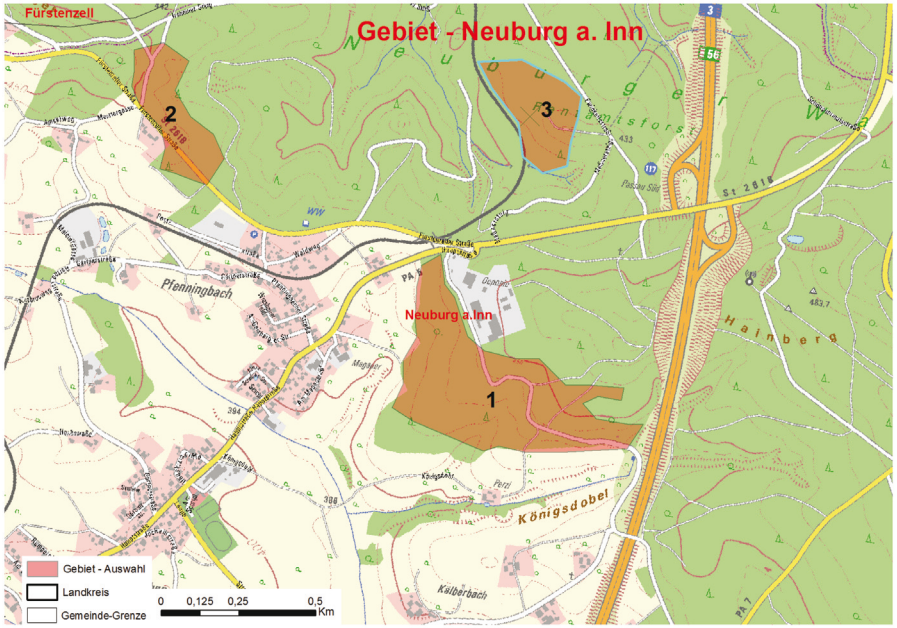
1. Selection of tick collection sites and field research

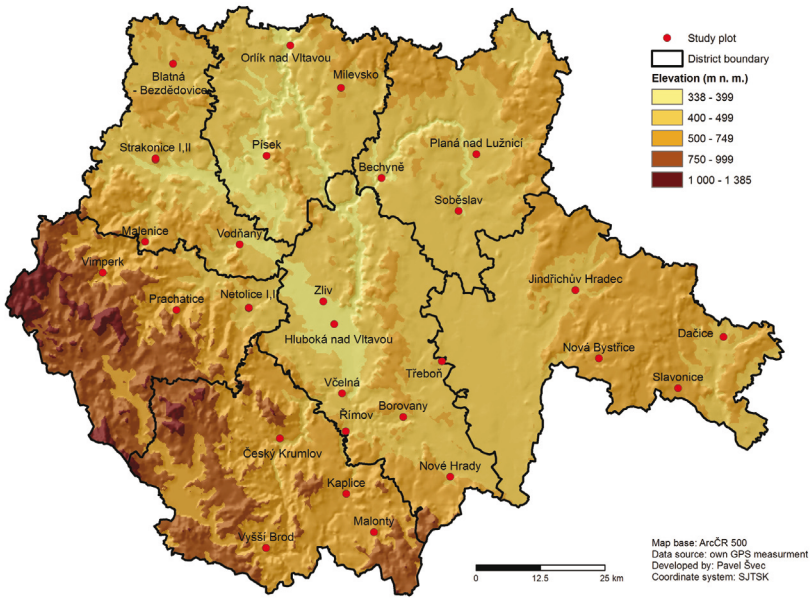





LOCATION SLAVONICE
Slavonice
Slavonice
Strážný kopec
Kozí vrch
Písečné
1
2
potential study plot
Map base: Cenia digitallandescepe model (DMÚ 25)
Cenia Ortophoto 1 m
GPS mapping
Developed by: Pavel Švec
Coordinate system SJTSK
0 125 250 500 750 1 000 m


Fürstenzell
Gebiet - Neuburg a. Inn
Neuburg a.Inn
1
2
3
Gebiet - Auswahl
Landkreis
Gemeinde-Grenze
0 0,125 0,25 0,5 Km


Fürstenzell
Gebiet - Neuburg a. Inn
Neuburg a.Inn
Pfenningbach
Königsdobel
Kalberbach
Hainberg
1
2
3
Gebiet - Auswahl
Landkreis
Gemeinde-Grenze
0 0,125 0,25 0,5 Km


MAP OF SELECTED LOCATIONS IN SOUTH BOHEMIA REGION
Study plot
District boundary
Elevation (m n. m.)
338 - 399
400 - 499
500 - 749
750 - 999
1 000 - 1 385
Orlík nad Vltavou
Milevsko
Blatná
- Bezdědovice
Strakonice I,II
Písek
Planá nad Lužnicí
Bechyně
Soběslav
Malenice
Vodňany
Vimperk
Prachatice
Netolice I,II
Zliv
Jindřichův Hradec
Hluboká nad Vltavou
Nová Bystřice
Dačice
Třeboň
Slavonice
Včelná
Římov
Borovany
Český Krumlov
Kaplice
Nové Hrady
Malonty
Vyšší Brod
0 12.5 25 km
Map base: ArcČR 500
Data source: own GPS measurment
Developed by: Pavel Švec
Coordinate system: SJTSK

2. Preparation of a tick attack risk assessment model

Data input

Modelling of tick activity

- vegetation cover: CORINE Land Cover 2006 (EEA 2006) (apparent association of ticks with certain vegetation types)
- altitude: Arc ČR500

Modelling of human activity

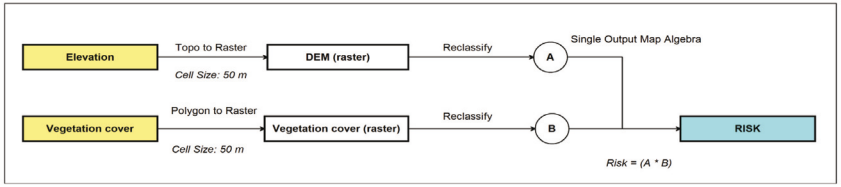
- population density (CSO, 2009)
- intensity of tourism (The Atlas of Tourism of the Czech Republic, Vystoupil et al. 2006))

Risk index assignment

Layer	Category	Risk index [0-minimum;1-maximum]
Vegetation cover	1.4.1. Green urban areas	0.25
[Corine Land Cover 2006 classification]	2.3.1. Pastures	0.20
	2.4.3. Land principally occupied by agriculture	0.40
	3.1.1. Broad-leaved forest	0.80
	3.1.2. Coniferous forest	0.50
	3.1.3. Mixed forest	1.00
	3.2.1. Natural grassland	0.20
	3.2.4. Transitional woodland shrub	0.60
	5.1.1. Water courses	0.00
	5.1.2. Water bodies	0.00
	other	0.05
Elevation	< 500	1.00
[m a. s. l.]	501 – 850	decreasing from 1.00 to 0.05
	> 851	0.05

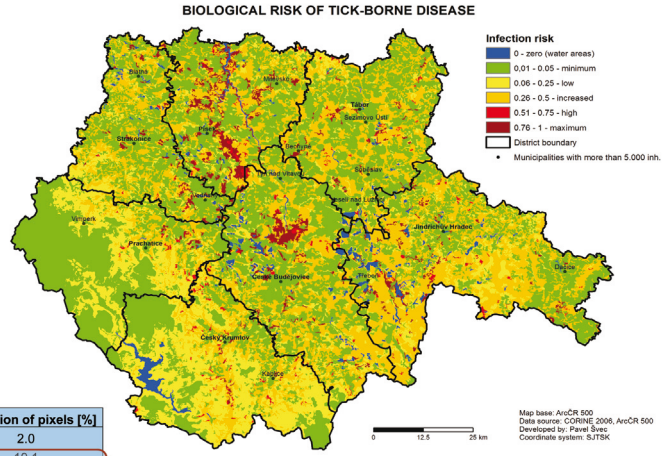
Model construction

- data transformation
- model construction (ESRI ArcGIS 9.3)
- pixel size 50 x 50 m

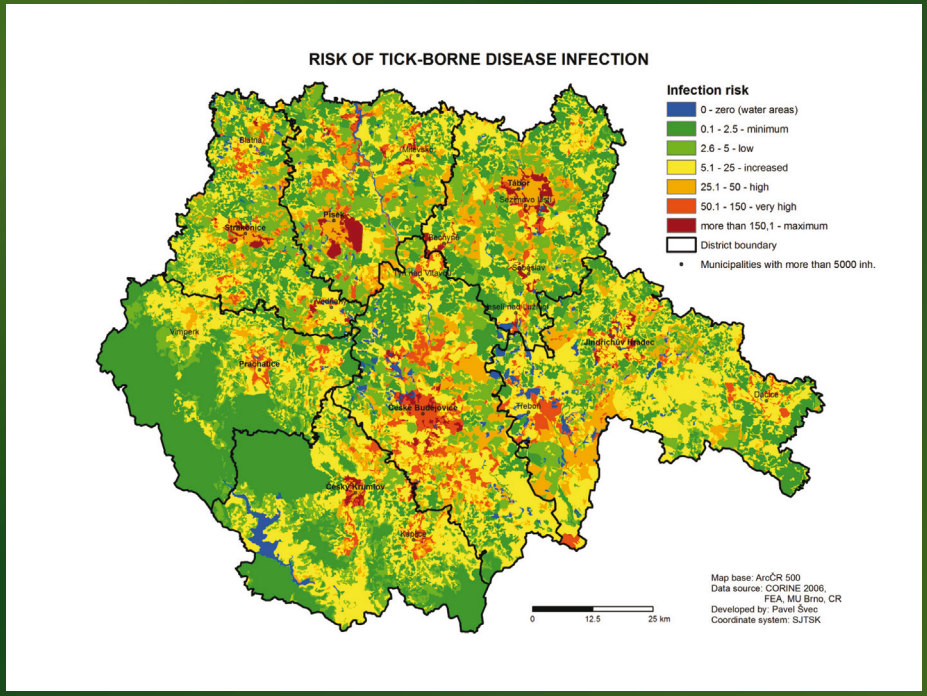


probability of tick occurrence = land cover risk index X altitude risk index

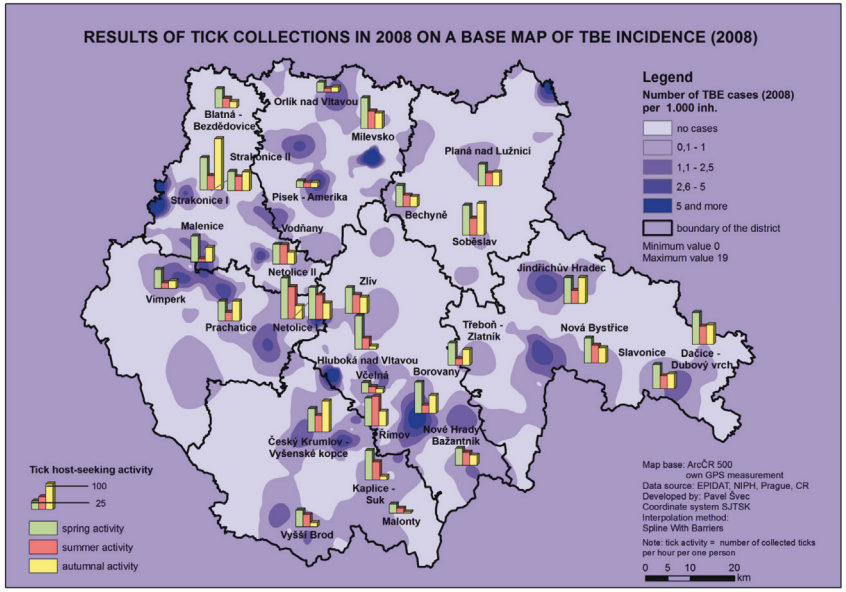
Map output

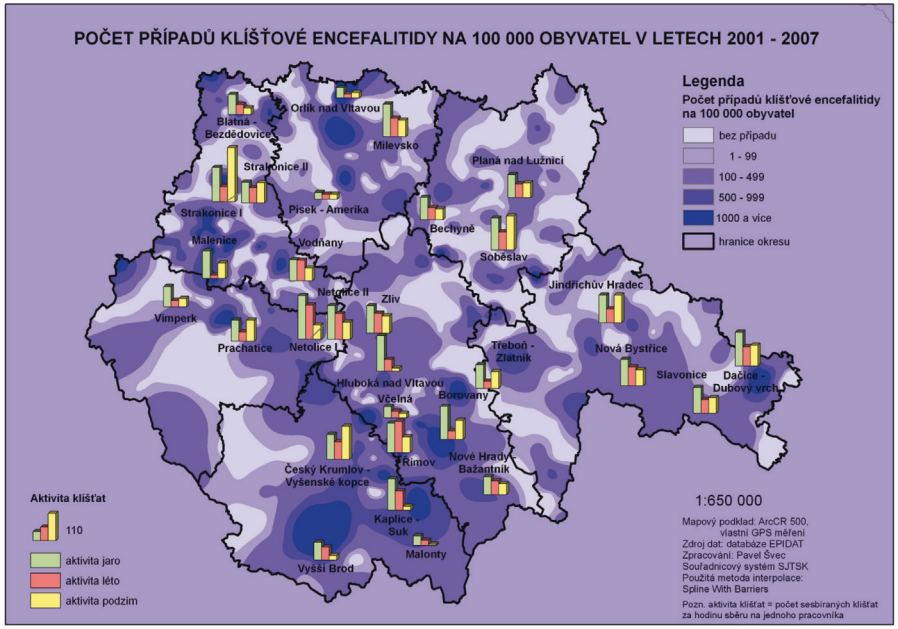


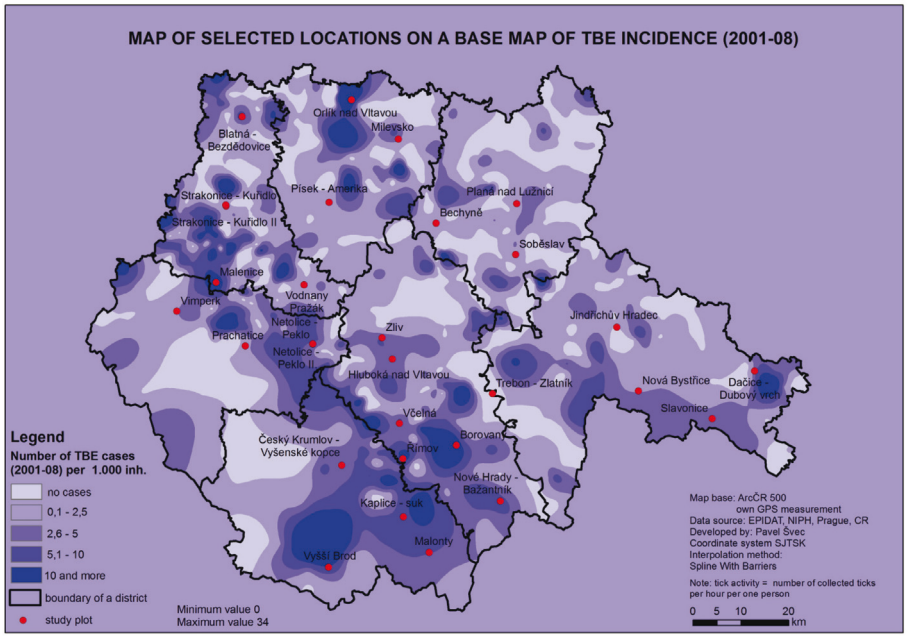
Risk category	Proportion of pixels [%]
zero (0)	2.0
minimum (0.01 - 0.05)	19.1
low (0.06 - 0.25)	45.2
increased (0.26 - 0.5)	29.7
high (0.51 - 0.75)	1.0
maximum (0.76 - 1)	3.0

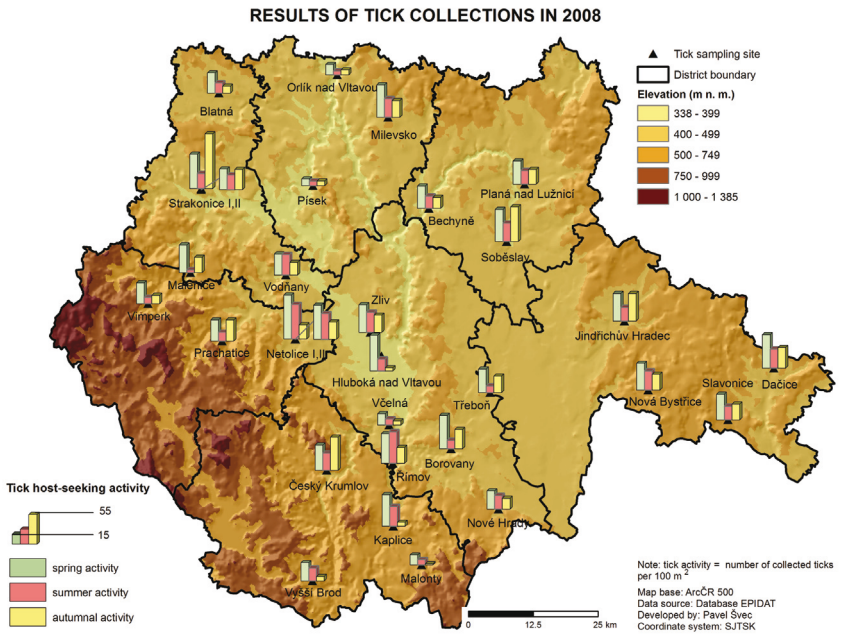


3. Visualization of results

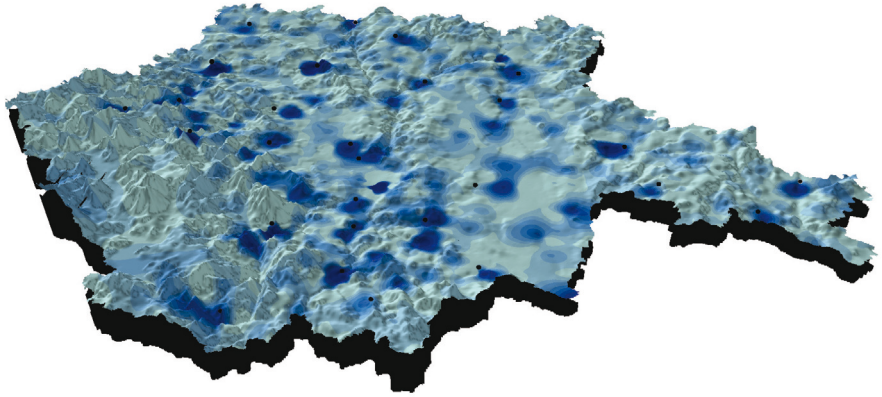




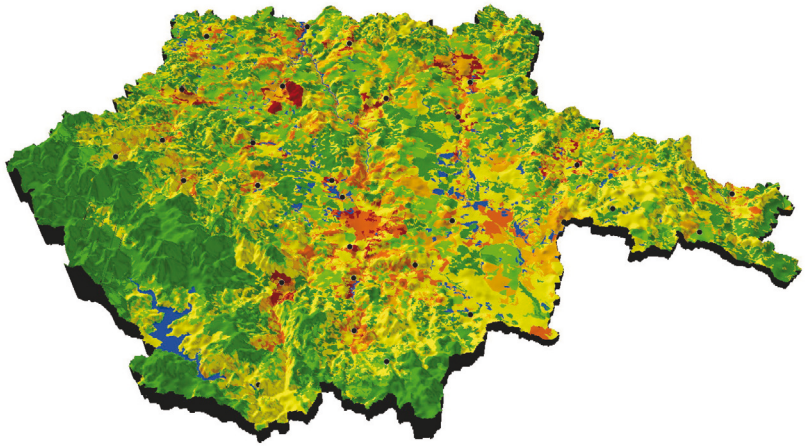




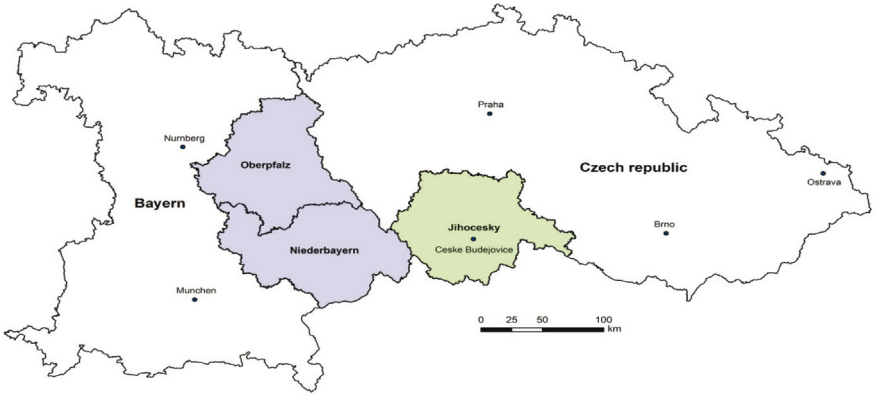
3D Modelling



Visualization of the risk model depending on the altitude



4. Cartographic and map support of the project (situations, analyses, results)



Šedesát let výzkumu klíšťové encefalitidy - cesta k analýze současné epidemiologické situace

Sixty years of tick-borne encephalitis research - a basis for the analysis of the current epidemiological situation

M. Daniel, B. Kříž, Č. Beneš, V. Danielová

Státní zdravotní ústav, Praha

National Institute of Public Health, Prague

27. 9. 2011

První izolace viru KE 1948 v Evropě z klíšťat a pacientů

The first isolation of TBE virus in Europe from ticks and patients in 1948

Rampas J., Gallia F. , 1949 – střední Čechy

Central Bohemia

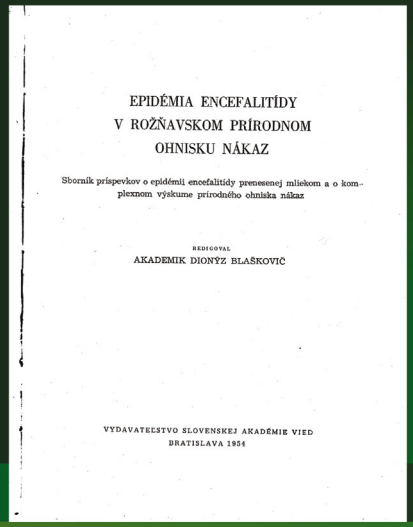
Gallia F., Rampas J., Hollender L., 1949

Krejčí J., 1949 - Morava

Moravia

Pamětní deska ve Státním zdravotním ústavu, Praha
F. Gallia memorial plaque in the National Institute of Public Health, Prague

Epidemie KE a alimentární přenos, Rožňava 1951
Epidemic of TBE and alimentary transmission, Rožňava 1951 (660 cases and of these 271 hospitalized)


EPIDÉMIA ENCEFALITÍDY
V ROŽŇAVSKOM PRÍRODNOM
OHNISKU NÁKAZ

Zborník príspevkov o epidémii encefalitídy prenesenej mliekom a o komplexnom výskume prírodného ohniska nákaz

REDIGOVAL
AKADEMIK DIONÝZ BLAŠKOVIČ

VYDAVATEĽSTVO SLOVENSKEJ AKADÉMIE VIED
BRATISLAVA 1954

První monografie o klíšťové encefalitidě v Evropě
Praha 1954
First Monograph on the tick-borne encephalitis in Europe
Prague 1954

MINISTERSTVO ZDRAVOTNICTVÍ

KOLEKTIV AUTORŮ

ČESKOSLOVENSKÁ
KLÍŠŤOVÁ ENCEFALITIS

PRAHA 1954

STÁTNÍ ZDRAVOTNICKÉ NAKLADATELSTVÍ

Řešená problematika a její autoři - I
Solved problems and their authors - I

Československá encefalitis, její klinický a morfologický obraz, diferenciální diagnosa a léčení (Fr. Hanzal, K. Henner) 3
I. Úvod 3
II. Klinika 3
III. Pomocná vyšetření 12
IV. Průběh a prognosa 14
V. Pathologické nálezy 16
VI. Diferenciální diagnosa 16
VII. Léčení 18
VIII. Souhrn 20
Písemnictví 21

Přírodní ohniskovost čs. klíšťové encefalitidy (B. Rosický, O. Havlík) . . 23
Methodika výzkumu ohniska 30
Charakteristika přírodních ohnisek encefalitidy v českých zemích . . 32
Charakteristika slovenských přírodních ohnisek encefalitidy 34
Možnosti ozdravění a likvidace ohnisek čs. klíšťové encefalitidy . . . 37
Písemnictví 39

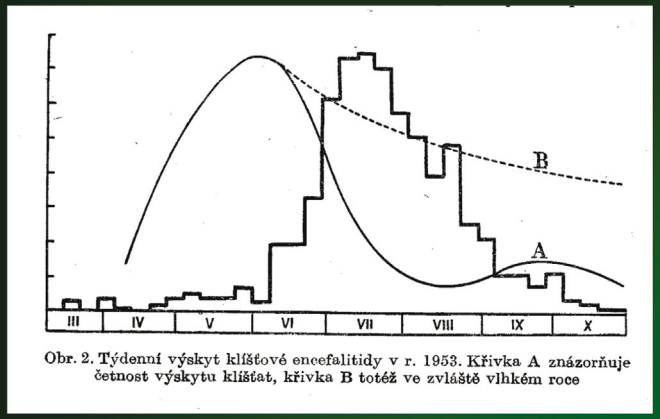
Řešená problematika a její autoři - II
Solved problems and their authors - II

Účast virologa při kontrole a diagnostice ohniskových encefalitid . . . 40
I. Úvod (H. Libíková) 40
II. Diagnostické metody vyšetřování u čs. klíšťové encefalitidy (J. Strauss a D. Slonim) 42
A) Pokus o isolaci virusu a jeho identifikace 42
B) Serologické reakce u čs. klíšťové encefalitidy 42
III. Laboratorní diagnostika lidských nákaz virusem čs. klíšťové encefalitidy (J. Strauss a D. Slonim) 45
IV. Vyšetření domácích a lesních zvířat na styk s virusy encefalitid (H. Libíková) 49
a) Domácí zvířata dávající mléko 50
b) Dlouhověká lesní zvířata 50
c) Krátkověká reservoárová lesní zvířata 50
V. Isolace encefalitických virusů z vektorů (J. Kolman) 52
Xenodiagnostika 53
VI. Komplexní výzkum přírodního ohniska encefalitid v Rožňavě a okolí v r. 1952 (H. Libíková) 54

Řešená problematika a její autoři - III
Solved problems and their authors - III

VII. Výzkum přírodního ohniska čs. klíšťové encefalitidy (J. Kolman) . 59
Epidemiologie československé klíšťové encefalitidy (K. Raška a V. Bárdoš) . 65
Původce nákazy 65
Inkubační doba 65
Zdroj nákazy 66
Přenos nákazy 67
Vnímavost 68
Výskyt 69
Zdravotnická opatření 74
A) Preventivní 74
B) Při výskytu onemocnění 76
Резюме 79
Summary 84

Sezónnost klíšťové encefalitidy a její ovlivnění meteorologickou situací
Seasonality of tick-borne encephalitis and its influence by meteorological situation



Obr. 2. Týdenní výskyt klíšťové encefalitidy v r. 1953. Křivka A znázorňuje četnost výskytu klíšťat, křivka B totéž ve zvláště vlhkém roce

Z. Hubálek, 1986: Czechoslovak bibliography on tick-borne encephalitis 1949 - 1985

Tato bibliografie obsahuje citace 998 původních prací 430 československých autorů, publikovaných v tuzemských i zahraničních časopisech a knihách

This bibliography includes a total of 998 original papers written by 430 Czechoslovak authors published in journals or books in this country or abroad

Z. Hubálek, 1986: Czechoslovak bibliography on tick-borne encephalitis 1949 - 1985

Z období před objevem viru KE počínaje r. 1922 je uvedeno 5 prací o letních virových meningoencefalitidách jako možných případech klíšťové encefalitidy

From the period before discovery of the TBE virus 5 publications on summer viral meningoencephalitis is selected as probable tick-borne encephalitis cases

Pelnář J., 1922, 1928; Servít Z., 1940; Henner K. et Šikl H., 1942; Šňupárek J., 1947

Hlavní směry výzkumu KE a dosažené výsledky v období 1948-1985
Main aims of TBE research and results within 1948-1985

- Databáze onemocnění KE (od r. 1971 laboratorně ověřená)
- Základní poznatky klinické, diagnostické, epidemiologické
- Studium fenoménu přírodní ohniskovosti a zoonotického koloběhu viru KE v přírodě

- Database of TBE human cases (since 1971 laboratory confirmed)
- Basic clinical, diagnostic, epidemiological findings
- Research of TBE natural focality fenomenon and zoonotic circulation of TBE virus in nature

Ixodes ricinus

Trojhostitelský vývojový cyklus

každé stadium saje 1x vždy na jiném hostiteli: u nás na 47 druzích savců, 55 druzích ptáků a 4 druzích plazů

Vývoj 1,5 – 2 (3) roky v našich podmínkách

střídání hostitelů spolu s transstadiálním a transovariálním přenosem má zásadní epidemiologický význam

Three-host developmental cycle

Each stage feeds once on different hosts: in our country on 47 mammal species, 55 bird species and 4 lizard species

Development 1.5 – 2 (3) years under our conditions

Basic epidemiological role of host changeover, transstadial and transovarial virus transmission

Živočišní hostitelé viru KE v ČR

Animal hosts of TBE virus in the Czech Republic

Drobní a střední savci	Lovná zvěř	Ptáci
Small & medium mammals	Game animals	Birds
15 species	3 species	8 species

Domácí zvířata: kozy, ovce, skot, psi

Domestic animals: goats, sheep, cattle, dogs

Experimentálně infikovány další druhy

Other animal species were experimentally infected

Zahraniční spolupráce
Collaboration with foreign countries

Terénní výzkum Field research

- 1957 – Slovenia: Kamniška Alps
- 1968 – 1970: Croatia, Bosna, Herzegovina, Montenegro, Macedonia
- 1965 – 1968: Bulgaria, Rhodope Mts.
- 1971, 1974: West Germany

Experimentální výzkum Experimental research

- UK, Oxford, Inst. of virology,NERC

Vzestup četnosti výskytu klíšťové encefalitidy v ČR od r. 1993
Increase of TBE incidence in the Czech Republic since 1993

1965 – 1992

(28 let) počet případů 8690; roční průměr 310,1

(28 years) 8690 cases; year average 310,1

1993 – 2006

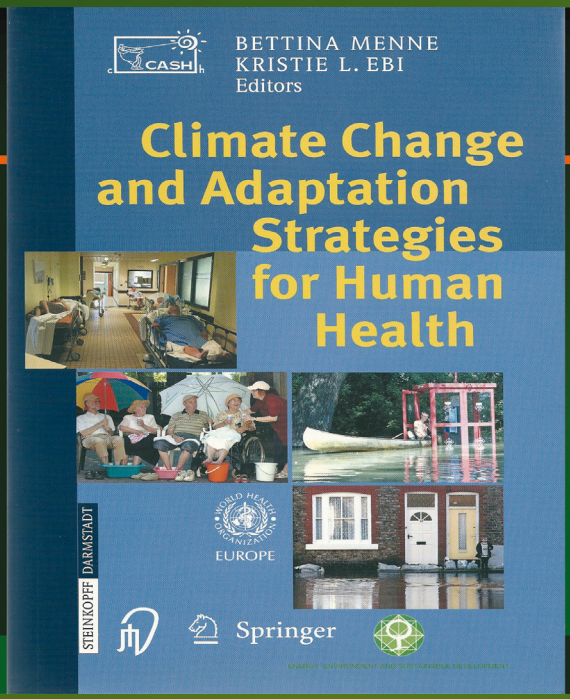
(14 let) počet případů **8674**; roční průměr **619,6**

(14 years) **8674 cases;** year average **619,6**

Projevy vzestupu incidence KE v ČR
Manifestation of increasing TBE occurrence in the CzR

- **zvýšení** počtu případů v místech stálého výskytu KE
- **znovuobjevení** KE v místech dlouhodobě bez výskytu, příp. pouze se sporadickým výskytem
- **v nových místech** ***(včetně vyšších poloh – dříve do 700 m n.m.)***
- **posun v sezónnosti** (do jara a podzimu)

- **higher numbers** in areas well-known for TBE occurrence
- **reemergence** in areas of former occurrence
- **emergence in new areas** including mountainous
- **shift towards spring and autumn months**



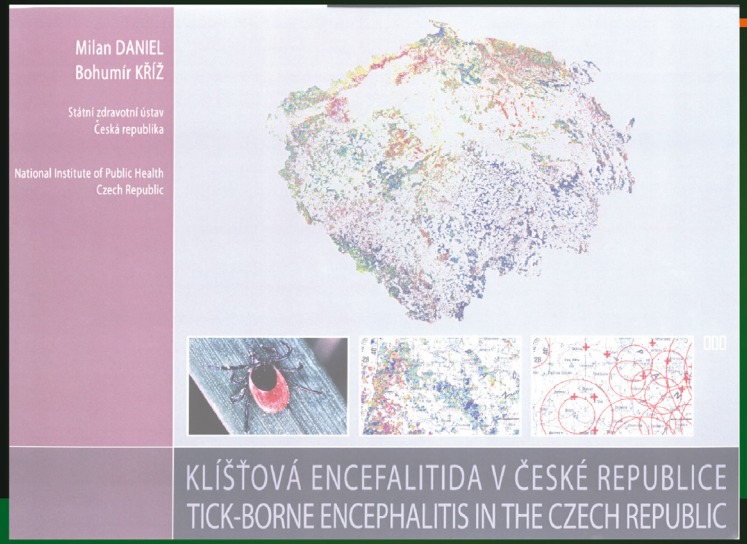
Recentní spolupráce Státního zdravotního ústavu, Praha
Recent collaboration of the National Institute of Public Health, Prague

Stanovení rizikových míst, predikce stupně aktivity klíštěte *Ixodes ricinus* a rizika nákazy lidí virem KE v prostoru a čase v ČR

Risk assessment and prediction of *Ixodes ricinus* tick questing activity and human tick-borne encephalitis infection in space and time in the Czech Republic

- Laboratoř Dálkového průzkumu Země, ČVUT, Praha
  Laboratory of Remote Sensing, Czech Technical University, Prague
- Katedra aplikované geoinformatiky a kartografie, PřF UK, Praha
  Department of Applied Geoinformatics and Cartography, Faculty of Sciences, Charles University, Prague
- Český hydrometeorologický ústav, Praha
  Czech Hydrometeorological Institute, Prague

Atlas rizikových míst a výskytu KE v ČR
Atlas of risk areas and TBE distribution in the CzR



TICK-BORNE ENCEPHALITIS IN THE CZECH REPUBLIC

Milan DANIEL, Bohumír KŘÍŽ

Czech Republic - National Institute of Public Health, The Organizational Establishment of the State

Project: Climate Change and Adaptation Strategies for Human Health in Europe, EVK2-2000-00670

Predictive maps of *Ixodes ricinus* tick high-occurrence habitats and a tick-borne encephalitis risk assessment in Czech regions

Authors: M. Daniel, J.Kolář, Č.Beneš, V. Danielová

Background data for predictive maps: School of Public Health, Institute for Postgraduate Medical Education, Prague

(Background data were obtained thanks to grant No 4385-3, Internal Grant Agency, Ministry of Health, Czech Republic)

Maps of tick-borne encephalitis incidence in the Czech Republic in 1971-2000

Authors: M. Pejčoch, Č. Beneš, J. Vymazal

Background data on tick-borne encephalitis incidence: National Institute of Public Health, CZ and Regional Public Health Institute, Brno

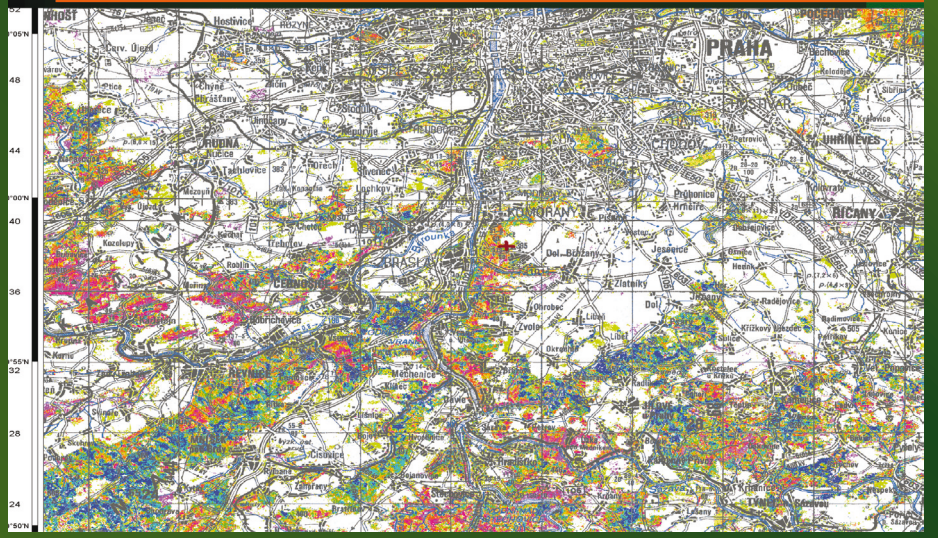
Prague 2002

Performed by: GISAT Ltd., Prague

Topographic layer © MO ČR/HÚVG 2001

Copyright CZ - National Institute of Public Health, The Organizational Establishment of the State, 2002

Predictive map of *Ixodes ricinus* high-occurrence habitats and TBE risk assessment: TBE natural focus territory in the southern periphery of Prague, a favourite recreational area of Prague inhabitants. (Nine categories)



TICKPRO – ukázky předpovědí aktivity klíšťat

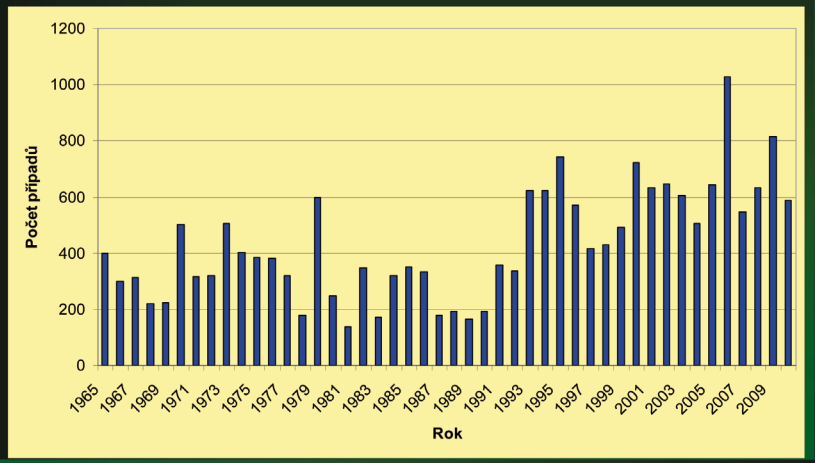
TICKPRO – ten levels of *I. ricinus* attack risk prediction presented on websites and supplemented with brief recommendation for behavior on visits of tick habitats

Předpověď aktivity klíšťat					
úterý	středa	čtvrtek	pátek	sobota	neděle
14. 6. 2011	15. 6. 2011	16. 6. 2011	17. 6. 2011	18. 6. 2011	19. 6. 2011
10	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**

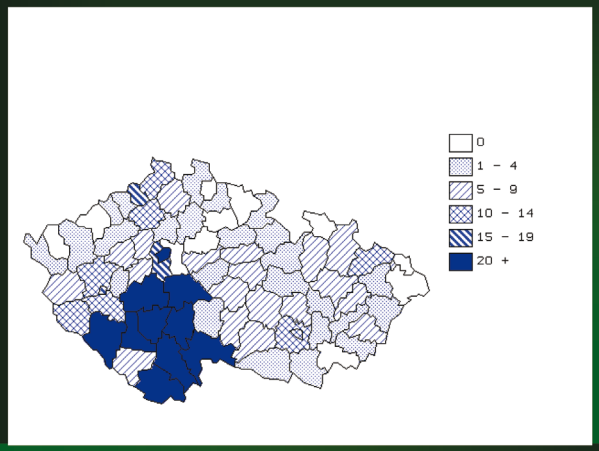
Předpověď aktivity klíšťat			
pátek	sobota	neděle	pondělí
23. 9. 2011	24. 9. 2011	25. 9. 2011	26. 9. 2011
3	**3**	**4**	**4**

Počet hlášených případů KE v ČR 1965 – 2010

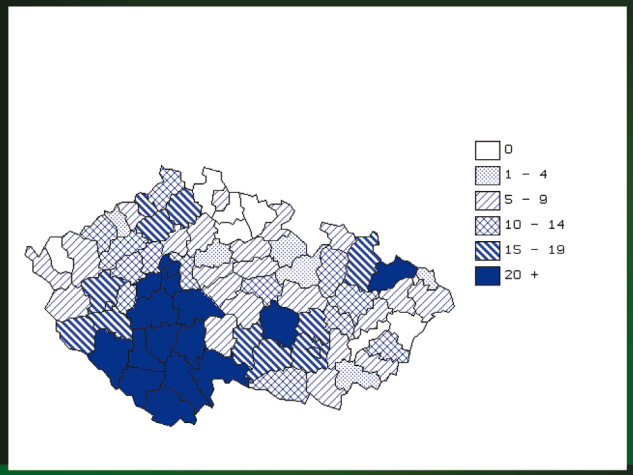
Number of registered cases of TBE in the CzR 1965 – 2010



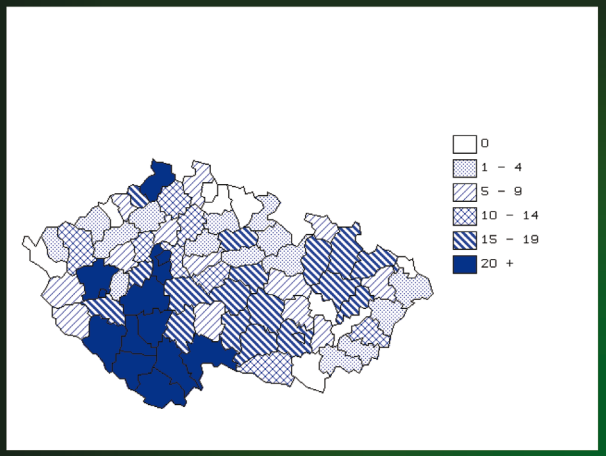
Počet případů KE v r. 2000 podle okresu pravděpodobné infekce
Number of TBE cases in the Czech Republic in 2000, by district of infection / exposure



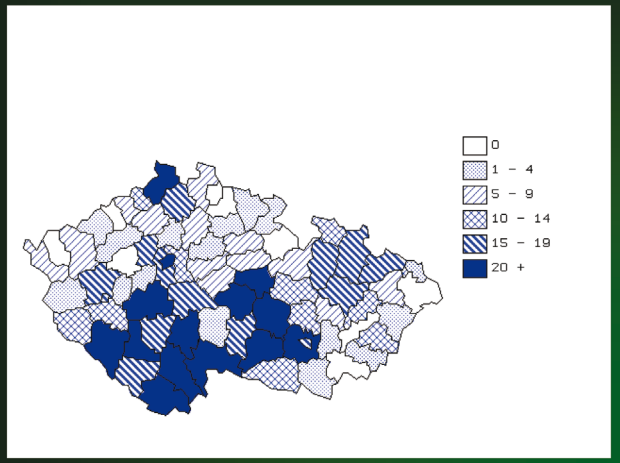
Počet případů KE v r. 2002 podle okresu pravděpodobné infekce
Number of TBE cases in the Czech Republic in 2002, by district of infection / exposure



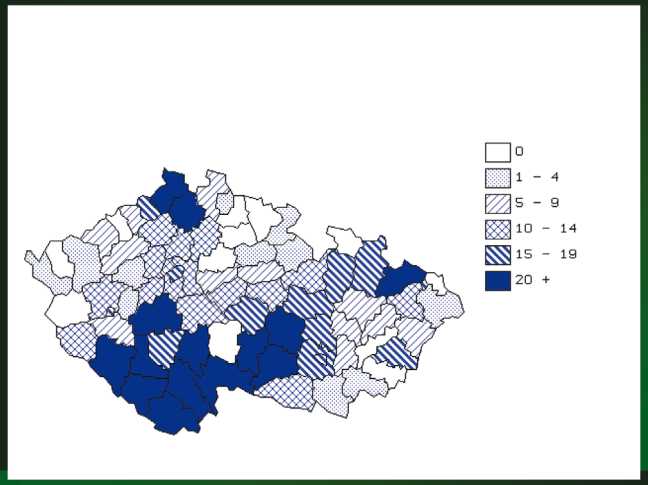
Počet případů KE v r. 2004 podle okresu pravděpodobné infekce
Number of TBE cases in the Czech Republic in 2004, by district of infection / exposure



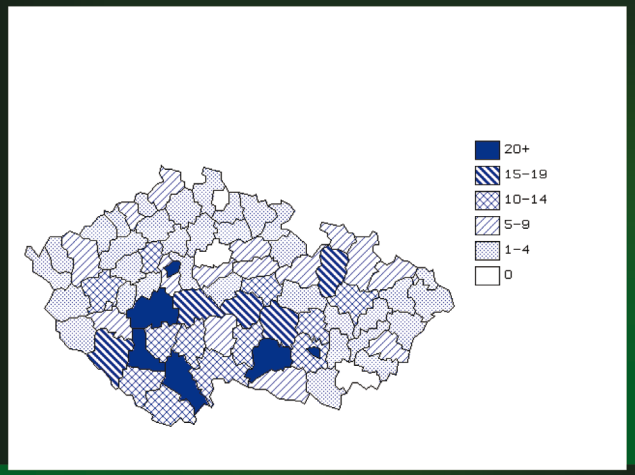
Počet případů KE v r. 2006 podle okresu pravděpodobné infekce
Number of TBE cases in the Czech Republic in 2006, by district of infection / exposure



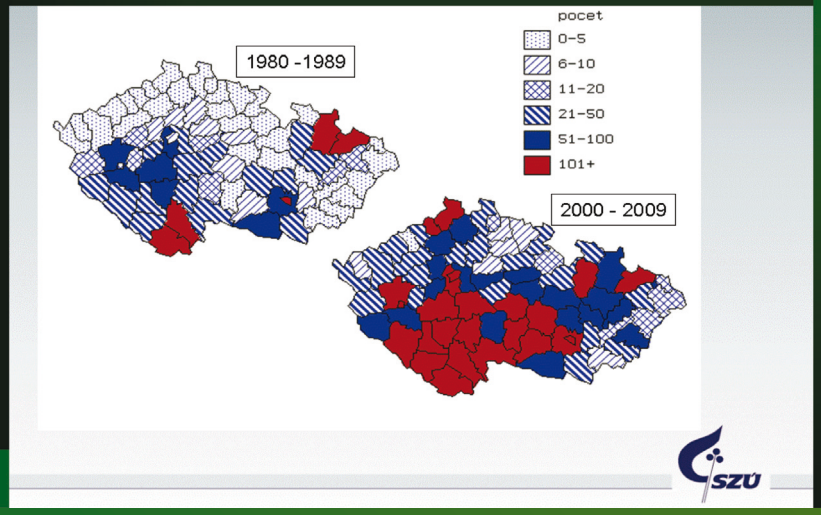
Počet případů KE v r. 2008 podle okresu pravděpodobné infekce
Number of TBE cases in the Czech Republic in 2008, by district of infection / exposure



Počet případů KE v r. 2010 podle okresu pravděpodobné infekce
Number of TBE cases in the Czech Republic in 2010, by district of infection / exposure



Počet případů KE 1980 – 1989 a 2000 - 2009 podle okresu pravděpodobné infekce
Number of TBE cases in the Czech Republic in 1980 – 1989 and 2000 – 2009 by district of infection / exposure



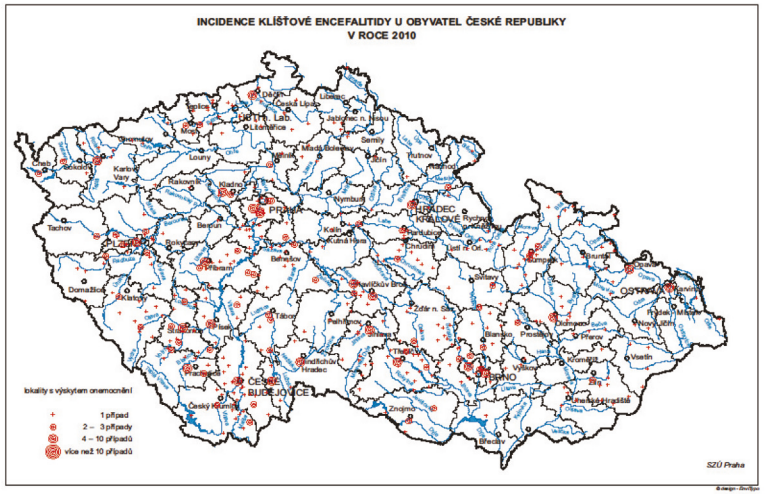
Přírodní podmínky ovlivňující výskyt klíšťové encefalitidy v Jihočeském kraji v porovnání s celostátní situací

Landscape characteristic influencing tick-borne encephalitis occurrence in the South Bohemia Region compared to countrywide situation

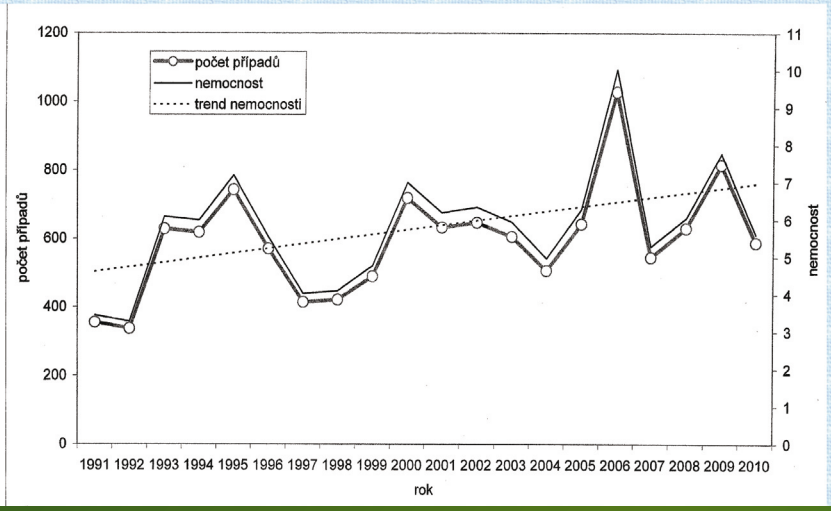
M. Daniel, V. Danielová, Č. Beneš, B. Kříž
Státní zdravotní ústav, Praha
National Institute of Public Health, Prague

27. 9. 2011

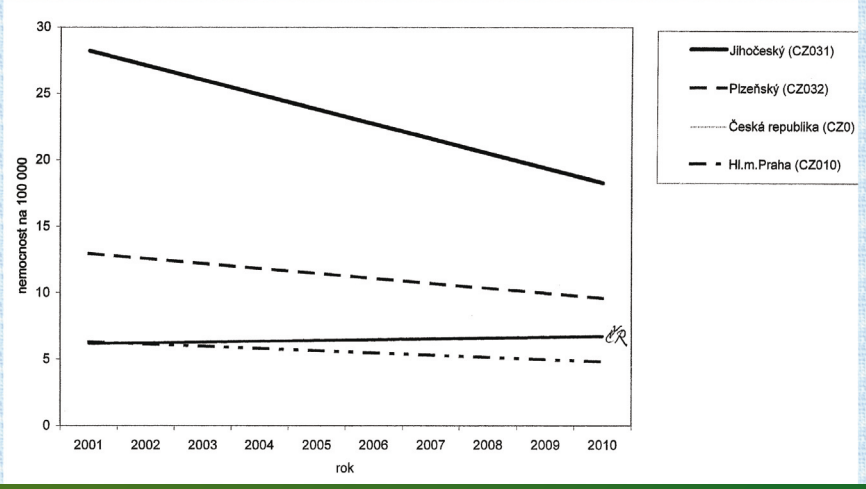
Tick-borne encephalitis incidence in the Czech Republic in 2010 (localities with number of cases)



KE v ČR 1991 – 2010. Počet případů (kroužky), incidence/100 000 (plná), lineární trend (tečkovaná)
TBE in the CzR 1991 – 2010. Number of cases (circlets), incidence/100 000 (solid), linear trend (dotted)

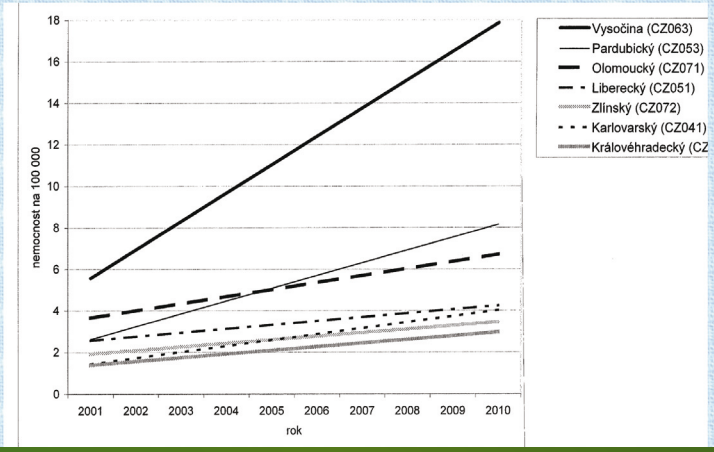


KE 2001 – 2010. Linearní trend nemocnosti v ČR a vybraných krajích
TBE 2001 – 2010. Linear trend of incidence/100 000 in the CzR (solid thin) and in South Bohemia (solid thick), Plzeň (dashed). Prague (dash-and-dot) Regions



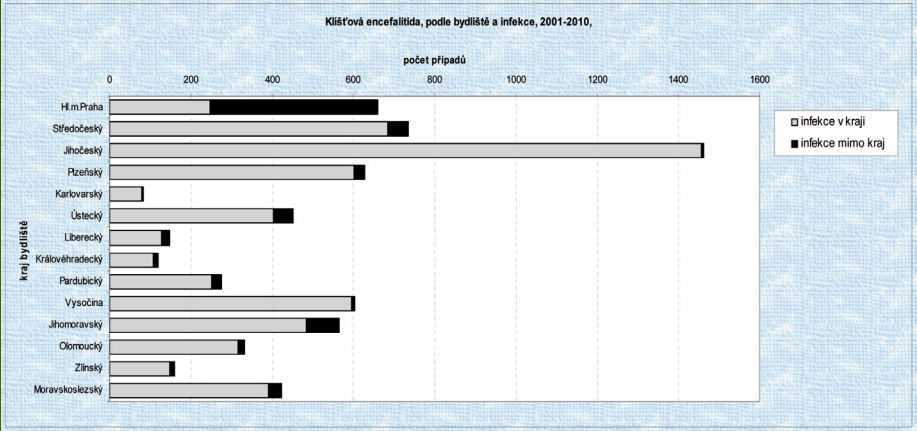
KE v ČR 2001 – 2010. Lineární trendy incidence ve vybraných krajích

TBE in the CzR 2001 – 2010. Linear trends in Vysočina (solid thick), Pardubice (solid thin), Olomouc (dashed) and other Regions



KE v ČR 2001 – 2010. Počet případů v krajích podle bydliště a místa infekce

TBE in the CzR 2001 – 2010. Number of cases in Regions according to infection inside (grey) and outside (black) of residence

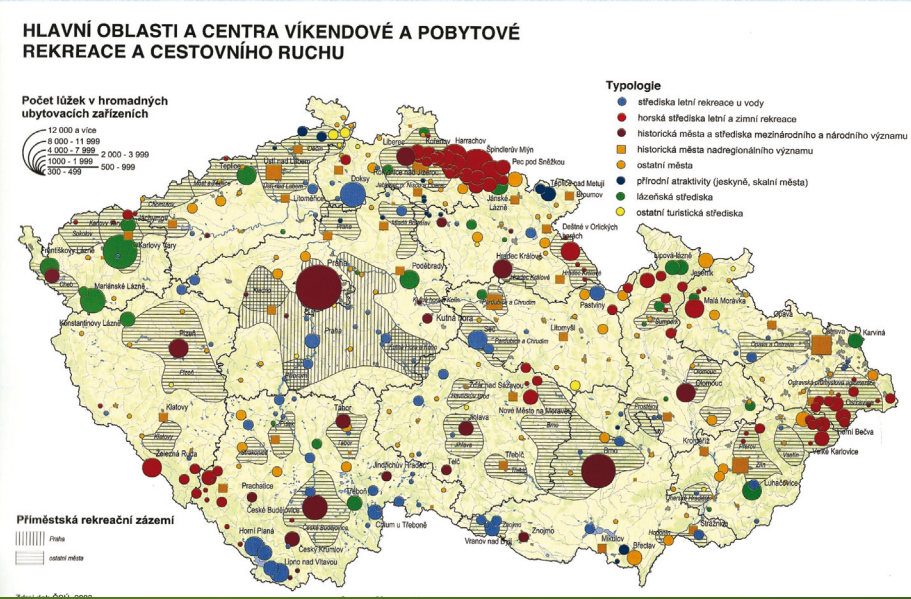


KE v ČR 2001 – 2010. Procento případů podle kraje bydliště/infekce

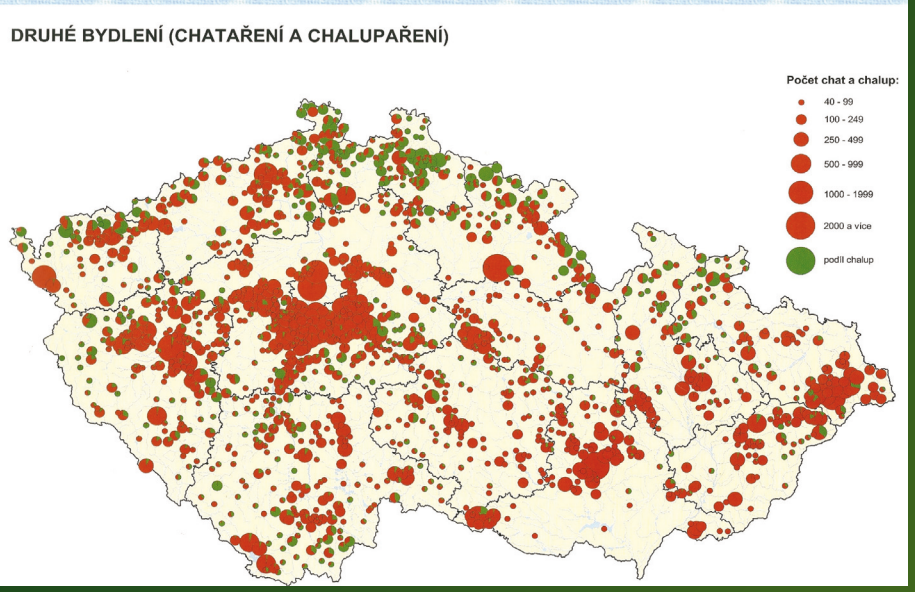
TBE in the CzR 2001 – 2010. Percentage of registered cases in Region of residence/infection

	Kraj infekce Region of infection			
Kraj bydliště Region of residence	Praha	Středočeský	Jihočeský	Plzeňský
Praha	**37,7**	**33,4**	**13,9**	**3,4**
Středočeský	0,1	**93,2**	3,3	0,7
Jihočeský	0,0	0,0	**99,5**	0,0
Plzeňský	0,0	0,5	2,4	**95,9**

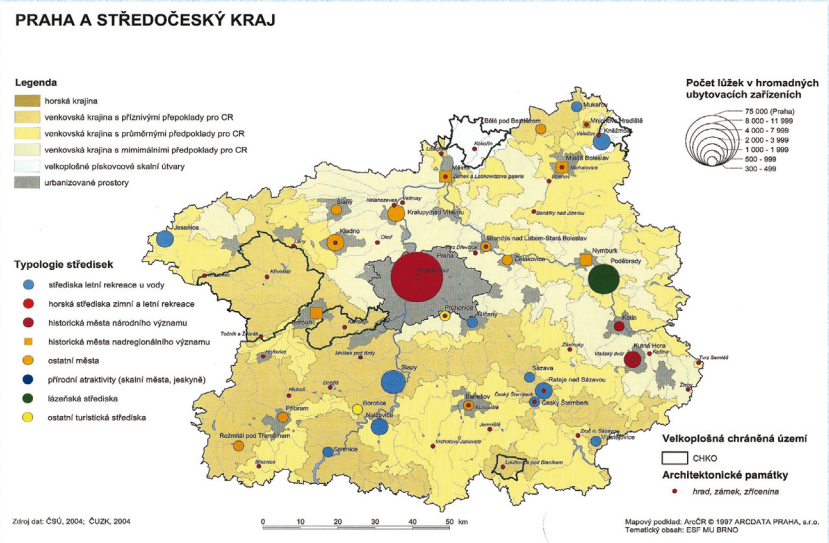
Main areas of weekend and other recreational activities in the CzR (Atlas of tourism, CzR 2006)



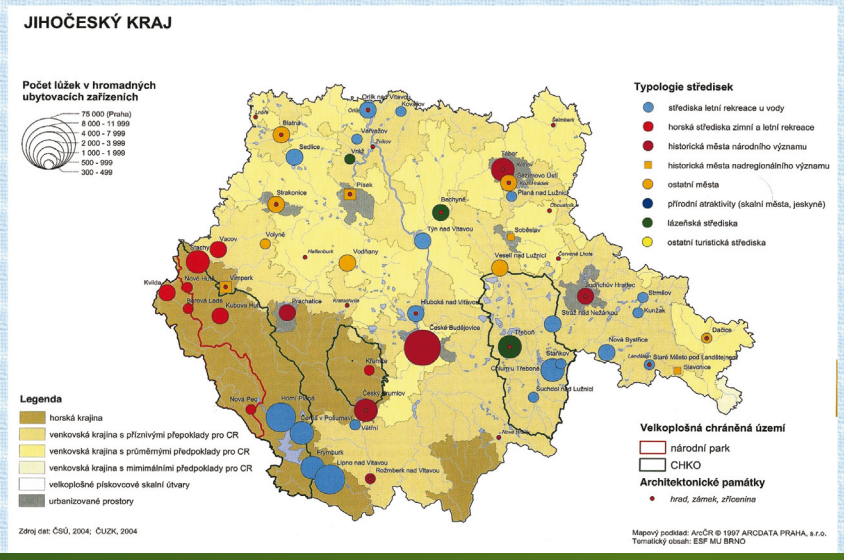
Secondary residences: weekend houses (brown), farm houses (green) (Atlas of tourism, CzR 2006)



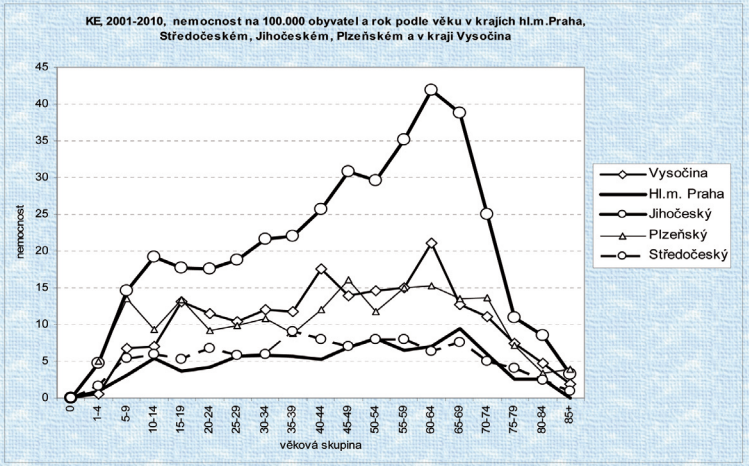
Krajinná rekreační typologie Prahy a Středočeského kraje
Landscape recreational typology of Prague and Central Bohemia Region (Atlas of tourism, CzR 2006)



Krajinná rekreační typologie Jihočeského kraje
Landscape recreational typology of SouthBohemia Region (Atlas of tourism, CzR 2006)

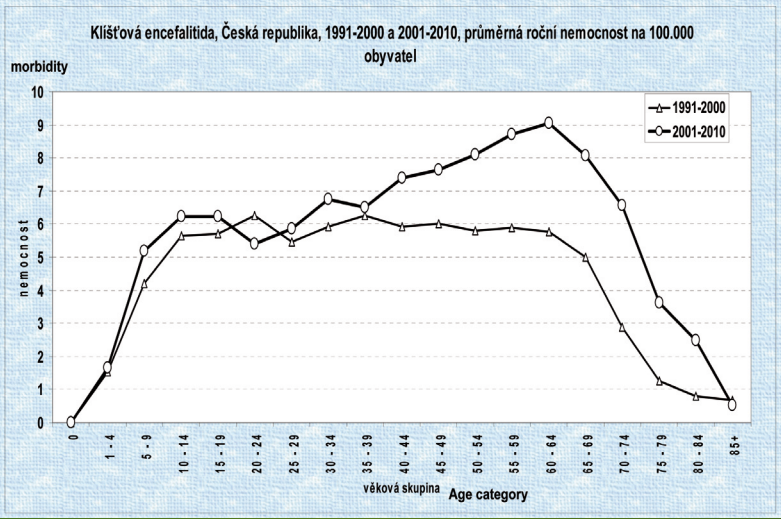


Nemocnost KE/100 000 podle věku ve vybraných krajích, 2001 – 2010
TBE incidence /100 000 by age in selected Regions, 2001 – 2010



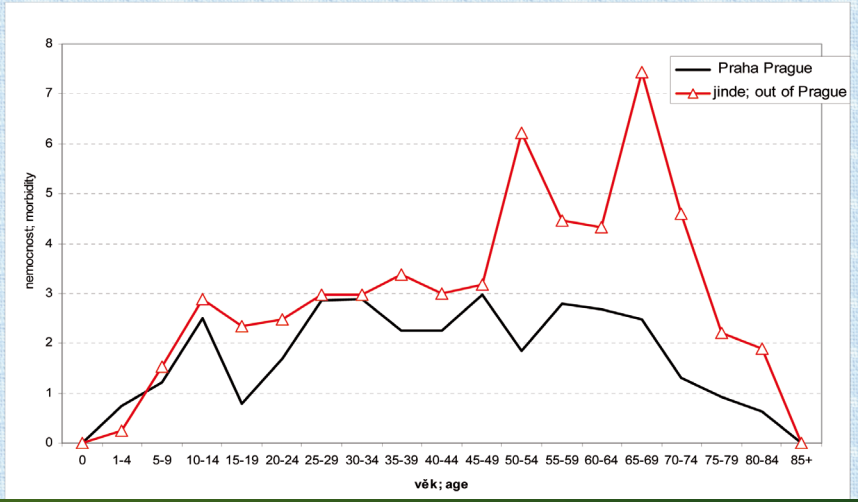
Průměrná roční nemocnost KE/100 000 podle věku v ČR, 1991 – 2000 a 2001 – 2010

Annual average TBE morbidity/100 000 by age in the CzR, 1991 – 2000 a 2001 – 2010

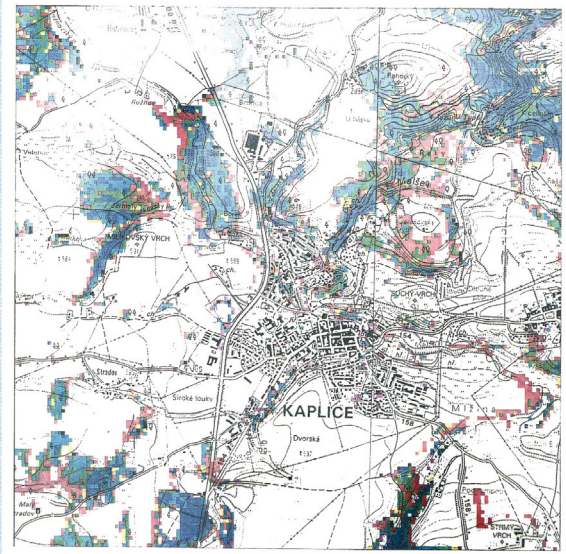


Průměrná roční nemocnost KE/100 000 podle věku v Praze a mimo, 2001 – 2010

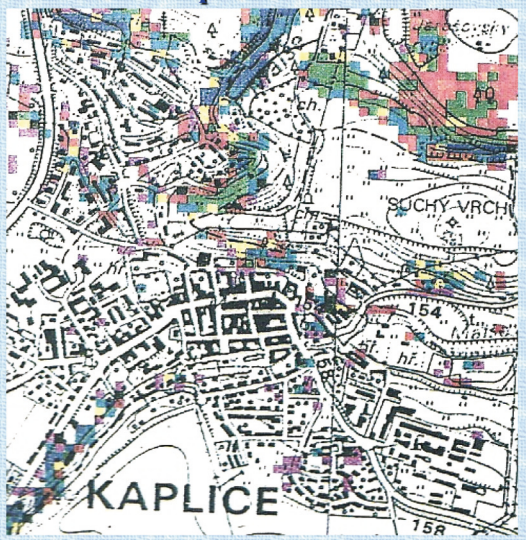
Annual average TBE morbidity/100 000 by age in Prague and outside, 2001 – 2010



Landsat 5TM: Predictive map of *I. ricinus* high-occurrence habitats and TBE risk assessment. Landscape mosaic pattern near Kaplice (Nine categories)



Landsat 5TM: Predictive map of *I. ricinus* high-occurrence habitats and TBE risk assessment. Landscape mosaic pattern near Kaplice in detail



Kaplice – výskyt *I. ricinus* v izolovaném lesíku obklopeném poli

Kaplice – occurrence of *I. ricinus* in forest island surrounded by field

Rok/měsíc Year/month	Počet klíšťat Number of ticks			Průměr/100 m² Average/100 m²		
	N	F	M	N	F	M
2000/5	170	5	4	28.3	0.,8	0.7
2001/5	104	10	9	34.8	0.9	1.4
2002/5	333	7	14	66.6	1.4	2.8
2008/5	382	2	2	63.6	0.33	0.33
2008/6	234	1	2	39.0	0.16	0.33
2008/9	48	0	0	8.0	0.0	0.0

Porovnání typu krajiny s odlišným výskytem KE, 1993 - 1996

Comparison of landscape types with different TBE occurrence, 1993 -1996

Trhové Sviny 39 případů/cases

Vacov 1 případ/case

Landsat 5 TM prostorové rozlišení 30x30 m (pixel)

Porovnávané plochy 6x6 km, tj. 198x198 pixelů = 39 204 pixelů
9 kategorií rizikových habitatů. Každý pixel kontakt s 8 sousedními - míra heterogenity = 313 632 vstupních dat

Landsat 5 TM spatial resolution 30x30 m (pixel)

Compared sites 6x6 km, i.e. 198x198 pixels = 39 204 pixels
9 categories of risk habitats. 8 contacts of each pixel – heterogeneity degree = 313 632 input data

Výsledek Result

Statistická analýza (normovaný počet kontaktů, faktorová analýza, regresní analýza) prokázala **lesní okraje a fragmenty lemované bohatou vegetací ekotonů** jako **nejrizikovější** místa

Statistic analyses (normalized number of contacts, factor analysis, regress analysis) proved **forest borders and fragments surrounded by rich vegetation of ecotons** as the **most risk habitat**.

Tick-borne encephalitis: situation in Europe and Germany

Dr. Oliver Donoso Mantke
German Consultant Laboratory for TBE
Robert Koch Institute, Berlin

"Ticks and tick-borne diseases in South Bohemia and Bavaria"
Ziel-3 conference in Budweis, 27.09.2011

2nd survey on cases of TBE in Europe*

- **Aim:** Get a TBE situation report from focal points in all EU member states and other European countries on diagnostics, surveillance and prevention
- Update of our knowledge based on a former questionnaire for EC DG SANCO project 2005-2008: „Improving the diagnostic and monitoring of encephalitis viruses in Europe with the support of the ENIVD"**
- Questionnaire-based survey study
- 2-part questionnaire was mailed to contact points of EU-27, Norway, Russia, Switzerland and Bosnia & Herzegovina based on an ENIVD database of expert microbiologists and epidemiologists
- Completed questionnaires were returned during the spring trimester of 2010 and TBE case numbers for 2009 were added afterwards in summer 2010
- 24 EU member states and four non-EU countries participated [recovery rate: 90%; first survey in 2008: 22/30 contacted countries, 73%]

* Donoso Mantke et al. Tick-borne encephalitis in Europe, 2007 to 2009. Euro Surveill. (in press).
** Donoso Mantke et al. A survey on cases of tick-borne encephalitis in European countries. Euro Surveill. 2008 Apr 24;13(17). pii: 18848. Review.

Inquired items (part 1)

1. Is TBE a notifiable disease in your country? (Since when?)
2. Is there an official reference base to which the annual number of cases is reported?
3. Does a clear case definition for TBE exist? (If yes, what is it?)
4. What kind of diagnostic assays are used most often to diagnose TBE?
5. Is there an expert or reference laboratory for TBE infections in your country? (If yes, what are their contact details?)
6. What was the annual number of human cases between 2007 and 2009?
7. Are there any regular investigations regarding tick-transmitted diseases? (If yes, what kind of investigations?)
8. Do you map endemic foci/risk areas? (If yes, based on what kind of data?)
9. Is there an official vaccination programme for TBE in your country?
10. Are there official recommendations regarding TBE vaccination for travellers to TBE endemic areas?

Inquired items (part 2)

New

To identify trends for TBE on a more detailed scale:

1. Did you observe a change in the known geographic distribution of TBE in your country? (If yes, is the range expanding or decreasing?)
2. Did you register human cases during winter?
3. Which TBE subtypes are involved in general?
4. Did you register imported cases?
5. Do you have reports of clusters of cases?
6. Do you have reports of cases in livestock or companion animals (pets)?
7. Do you have information regarding prevalence in ticks/wildlife hosts? (If yes, for which region? If not, do there exist plans to monitor ticks/wildlife hosts in the near future?)

Notification of TBE

- TBE cases are specifically notifiable in 16/28 participating countries (57%)
- Notification is not mandatory in BE, BA, BG, DK, FR, IT, MT, PT, ES, NL and UK (no data from RO)*
- 5/16 countries have a case definition based on clinical criteria and laboratory confirmation (AT, DE, HU, NO, SI)**
- 5/16 countries also included an epidemiological link in the case definition, e.g. tick exposure or travel (CZ, EE, FI, GR, PL)**
- 6/16 countries have no official or clearly formulated case definition (LV, LT, RU, SK, SE, CH)

* Six additional countries participated compared to the first survey
** Changes compared to the first survey are underlined

Country	Notifiable disease	Case definition
AT	Yes[1)]	Serological proven hospitalized TBE cases
BE	No	No
BG	No[2)]	No
CZ	Yes, since 1971	Positive anamnestic data, symptoms of aseptic meningitis or meningo-encephalitis and laboratory confirmation - specific anti-TBE virus antibodies
DK	No	No
EE	Yes, since 1970	Possible case: Typical clinical case history (biphasic course of infection), epidemiological links (e.g. tick sting). Confirmed case: with laboratory confirmation: not less than 4-fold increase in antibody titre in pair-serums or IgM-antibodies in serum/CSF or positive PCR[3)]
FI	Yes, since 1996	TBE virus-IgM positive, and compatible infection and anamnesis[4)]
FR	No	No
DE	Yes, since 2001	Clinical symptomatic case with positive PCR in blood/CSF or IgM- and IgG-antibodies in blood/CSF or increase in IgG-antibody titre or intrathecal antibody production[5)]
GR	Yes[6)]	Patients with fever, headache, and CNS involvement, especially if exposed to ticks or travelled recently in TBE endemic areas
HU	Yes, since 1977	Aseptic meningitis, encephalitis or meningoencephalomyelitis confirmed by laboratory tests
IT	No[2)]	No
LV	Yes, since 1999	No
LT	Yes, since 1969	No
MT	No[2)]	No
NO	Yes, since 1975	Clinical cases with encephalitis are notified based on laboratory confirmation, either by serological detection of specific IgM or significant increase of IgG or TBE virus detection in serum/CSF
PL	Yes, since 1970	Possible: Clinically compatible case, AND onset of illness during a period of increased tick activity (between April and November). Probable: Clinically compatible case, AND increased probability of infection during previous 6 weeks (living in or visit to endemic area), AND demonstration of specific IgM antibodies in serum, with no history of vaccination against any flavivral disease during previous 3 months. Confirmed: Clinically compatible case, AND demonstration of specific IgM and IgG antibodies in serum, OR demonstration of intrathecal synthesis of specific IgM or IgG antibodies, OR detection of specific anti-TBE virus antibodies by neutralization test, OR positive virus isolation from tissues, blood, or CSF
PT	No[2)]	No
RU	Yes, since 1950	Case definition is not formalized
SK	Yes, since 1950	No official case definition
SI	Yes, since 1977	A case of TBE is considered to be confirmed by the following findings: fever, clinical signs/symptoms of meningitis or meningoencephalitis, an elevated CSF cell count (>5x10^6 cells/L), and serum IgM antibodies to TBE virus and/or IgG seroconversion.
ES	No	No
SE	Yes, since 2004[10)]	No
CH	Yes, since 2001	No, official standards are missing
NL	No	No
UK	No	No

Survey data regarding case reporting*

- Still differences in the classification of relevant TBE cases according to clinical symptoms: e.g. AT, CZ, HU, NO or SI

1) Notified if meningoencephalitis. Start of notification not further specified.
2) Reports on viral meningitis and encephalitis, not specifically TBE.
3) Case definition used since 2004.
4) A Baltic/Nordic working group on Tick-borne diseases since 2007 holds annual meetings and case definitions are under discussion.
5) Case definition of the Robert Koch Institute (RKI) according to the Law for the Prevention of Infections (Infektionsschutzgesetz, IfSG), 2007.
6) Notification as arboviral encephalitis since 2002 as part of the Commission decision 2002/253/EC.
7) Notification is not mandatory. The disease is notifiable in some regions, but not at the national level and only on a voluntary basis.
8) Not specifically TBE, though acute encephalitis is notifiable.
9) Diagnostic since 1993, TBE is included in the arbovirus serology panel.
10) Notifiable along with other viral meningoencephalitic infections since July 1, 2004.

* Data provided by all participants except BA and RO

Survey data regarding diagnostic assays*

Methods	ELISA	PCR	SEQ	NT	IFT	VI	HI	CFT WB
Countries (N= 26)	25	17	13	6	5	5	4	1
% (2008)	96 (91)	65 (45)	50 (<5)	23 (18)	19 (23)	19 (14)	15 (18)	4 (<5)

- Differences in the application of laboratory tests for case confirmation
- Overall increase in diagnostic activities! Especially, PCR and SEQ for particular investigations (e.g. tick/host infectivity studies; severe cases)

* No data from MT and UK

Country	Investigations regarding tick transmitted diseases	Mapping of endemic foci/risk areas
AT	TBE clinical case survey	For human TBE cases (see map)
BE	Research on TBE, borreliosis, anaplasmosis, rickettsiosis, babesiosis	In progress for prevalences in humans and ticks
BG	Survey on borreliosis and rickettsiosis	Done for borrelia and rickettsia. Planned for TBE
CZ	Tick surveillance (TBE virus, borrelia and others), TBE virus serosurveys in wild animals and livestock	For human TBE cases and infected ticks (see map)
DK	No	Planned for TBE cases
EE	Detection and genetic analysis of TBE virus, Borrelia spp., Anaplasma phagocytophilum and Babesia spp. in ticks	In progress for incidences/ prevalences in humans and ticks
FI	Interviews of all TBE patients. Tick field surveys (TBE virus, anaplasma, babesia and borrelia) not regular	For human TBE cases, infected ticks and seroprevalence in animals (see map)
FR	No, only if there is a notion of clustered cases	Not available
DE	Research based on funds, not systematically (prevalence studies in humans, animals and ticks for tick-borne diseases)	For human TBE cases (see map)
GR	Surveys on apparently healthy population, patients and ticks for TBE, CCHF, rickettsia, anaplasma, ehrlichia and borrelia	In progress based on human serology and tick infectivity in northern Greece, but no TBE virus found
HU	Regular: suspected cases, serosurveys (TBE). HERN project on collected ticks (until 2008)	For human TBE cases and natural foci (see map)
IT	No	Not known
LV	Survey in human specimens (TBE, borreliosis, anaplasmosis), survey in ticks (TBE, borrelia, anaplasma)	For human TBE cases and infected ticks (map not provided)
LT	Seasonal ticks activity in observation sites	No
MT	Even Mediterranean spotted fever is endemic locally, there are no ongoing specific investigations	No. Limited information on local ticks)
NO	Tick field studies (TBE, borrelia, anaplasma, babesia), survey on human TBE and borreliosis cases, serosurvey on TBE in human and deer	For human TBE cases (see map)
PL	Surveys on TBE, borreliosis, rickettsiosis	Based on reported TBE incidences. No official definition of endemic area, and maps are not officially published (see map)
PT	Research and epidemiological studies on rickettsia, borrelia, arboviruses	No
RU	Research and epidemiological studies on TBE, borrelia and rickettsia in natural foci	Based on human TBE cases (see map)
SK	In content of scientific projects (eg. HERN), not regular	No, not updated
SI	Ongoing investigations on natural foci (TBE, borreliosis, rickettsiosis, anaplasmosis), routine laboratory surveillance activities on all tick-borne pathogens	For human TBE cases, ticks infectivity and reservoirs (map not provided)
ES	Surveys on borreliosis, rickettsiosis and other bacterial tick-borne diseases	No
SE	No, not any regular	Based on human TBE cases from 2008 (map not provided)
CH	No	Mapping based on human TBE cases exists, mapping based on tick infectivity recently published
NL	Diagnostic services at Erasmus MC and RIVM. Other than that, no special services	No, not planned
UK	Borreliosis laboratory diagnosis and epidemiology (by Health Protection Agency), research at few universities on tick infectivity with borrelia, anaplasma, Louping ill virus	No. Distribution of ticks in the UK is recorded incompletly

Survey data regarding surveillance activities*

- 21/28 (2008: 19/22) countries provided information on further investigations regarding tick-transmitted diseases:
  - Human surveys on TBE (11), borreliosis (12), rickettsiosis (7), anaplasmosis/ehrlichiosis (4), CCHF (1), other arboviruses (2)
  - Tick surveys on TBEV (10), borrelia (11), anaplasma/ehrlichia (11), babesia (6), rickettsia (4), CCHFV (1), LIV (1), and tick density/ activity (2)
  - Animal/livestock serosurveys on TBE (3)
- Most of these investigations are based on research funds and hence not systematically done
- 17/28 (2008: 19/22) countries provided information on what kind of data they (will) carry out risk assessments for TBE:
  - On geographical incidence of autochthonous clinical cases (14); on human seroprevalence data (4)
  - On infected ticks (9); on natural animal reservoirs pre-valence data, e.g. rodents (2)

* Data from BA and RO are partially answered (not shown)

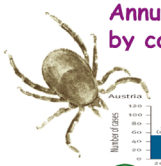
Country	Vaccination programme	Recommendations for travellers
AT	Yes	Yes
BE	No (optional)	Yes
BG	No (optional)	No
CZ	No, but recommended	Not known
DK	No (optional)	Yes
EE	No, just recommendations	Yes
FI	Yes, only for Åland islands, for other regions there are recommendations	Yes
FR	No (optional)	Yes
DE	Yes	Yes
GR	No (optional)	Yes
HU	Yes, for occupationally endangered persons	No
IT	In selective regions, such as Veneto	No
LV	Yes, for children (since 2007). For adults only recommended	Yes
LT	No (optional)	Yes
MT	No (optional)	No
NO	No (optional)	Yes
PL	No, but recommended for risk groups	Yes
PT	No (optional)	Yes
RU	Yes, in natural foci regions	No
SK	No (optional)	Yes
SI	Yes	Yes
ES	No (optional)	Yes
SE	No (optional)	Yes
CH	Yes	Yes
NL	No (optional)	No
UK	No (optional)	No

Survey data regarding vaccination policy & travel recommendations*

- TBE vaccination forms part of an official governmental vaccination program under certain country-specific conditions only in AT, FI, DE, HU, IT, LV, RU, SI and CH**
- In the remaining 17 countries, it is available as an optional vaccination, partly recommended, but not re-imbursed by national health systems
- 18/26 (2008: 13/22) countries have more or less official recommendations regarding TBE vaccination for people traveling to endemic areas:
  either included in a vaccination program OR information on endemic status OR information for citizens traveling abroad

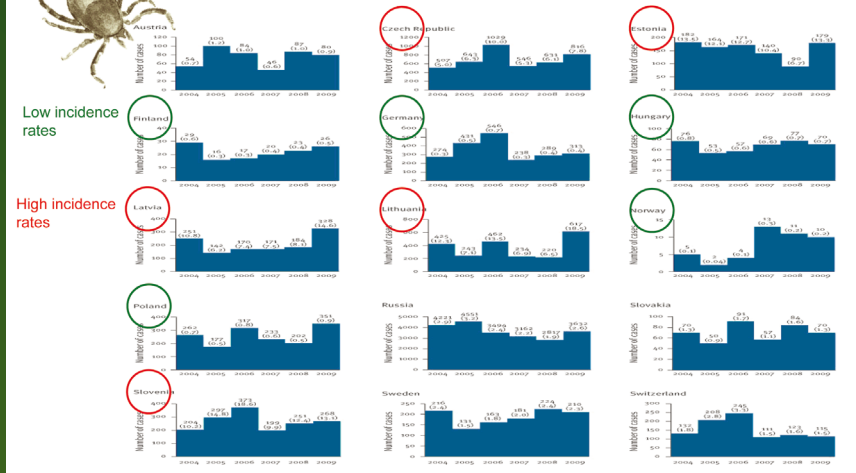
* Data provided by all participants except BA and RO
** Changes compared to the first survey are underlined

Annual case numbers and incidence rates per 100,000 population, by country where TBE is mandatorily notifiable, 2004-2009 (N= 16)



Low incidence rates

High incidence rates



Greece not included due to no reported tick-borne encephalitis cases up to date.
Numbers in parentheses are the incidence rates per 100,000 population.
The scale for the y-axis differs between each graph.

► Epidemiology of TBE is characterized by the fluctuations in case numbers, that have not followed a uniform trend throughout endemic areas

Country	Change in distribution	Cases during winter
AT	Expanding in western Austrian states, e.g. Tirol and Vorarlberg	No
BE	No	No
BG	No information	No
CZ	Yes, expanding	Yes
DK	Yes, first TBE cases outside of Bornholm, in northern Zealand	No
EE	Expanding on Saaremaa and Hiiuma islands	No
FI	Yes, known range is increasing (more north)	No
FR	Classical endemic regions Alsace and Vosges. Detection of one single case for the first time in Gironde in 2006, and for the second time in Rhône-Alpes in 2007	No information
DE	Slowly expanding inside the known risk areas	Sporadically
GR	No	No
IT	Expanding in Friuli and Trentino regions in the last 5 years	Yes
LV	Extended distribution of cases in the central and also western parts of the country	Rare, in mild winters
LT	Yes, expanding	Yes
MT	No information	No
NO	Due to very few cases a trend towards spread of the virus is not possible to be concluded	No
PL	No information	No
RU	Yes, expanding	No
SK	No	1-3 cases per winter
SI	Yes, expanding	Yes, rarely
ES	No	No cases
SE	Yes, the range is expanding especially to the north. TBE is also becoming more prevalent on the west coast of Sweden.	Single cases at the end of March and beginning of December
CH	Yes, TBE virus circulates in tick populations in new areas (e.g. Valais)	Yes, few
NL	No	No
UK	Not available	Not available

Survey data regarding trends of TBE I*

- 19/28 countries provided data on changes in geographic distribution of TBE:
  - 14 countries informed about expanding ranges (Map)
  - 5 countries did not observe any changes
  - 9 countries have no information
- 22/28 countries provided data on registered TBE cases during winter:
  - 9 countries have (sporadically) human cases during winter
  - 13 countries did not observe cases during winter
  - 6 countries have no information

* Data provided by all participants except BA, HU, PT and RO

Country	TBE subtypes	Imported cases	Clusters of cases
AT	European	No	Milk-borne TBE cases in Vorarlberg in 2008
BE	European	Yes	No
BG	No information	No	No
CZ	European	Rarely	Yes
DK	European	Yes	Yes
EE	Only European subtype was sequenced from patients, but Siberian subtype also circulates in ticks	No	Yes
FI	European and Siberian	Occasional imports from Russia and Switzerland	Few
FR	Not provided	One case from Poland in 2008	One cluster in 2003
DE	European	Yes (e.g. 11 cases in 2009)	Yes, in southern Germany
GR	Not available	Up to now, no	No
IT	European	Yes, from Slovenia	Yes, in Friuli region
LV	All three TBE virus subtypes	Yes, but rarely	Rarely, in case of alimentary infection with goat milk
LT	Not available	Yes	Yes
MT	No information	No	No information
NO	European	Yes, few cases from Austria, Hungary, Germany and Latvia	No
PL	European	No	No information
RU	All TBE subtypes	No	In some regions, more than just clusters
SK	European	Not distinguished	Not recently
SI	European	No	No
ES	None	Yes	No
SE	European	Yes	Yes
CH	European	No	Yes (4-5 cases in the same area and year)
NL	No information	Yes	No
UK	Not available	Not available	Not available

Survey data regarding trends of TBE II*

- 17/28 countries (incl. ES) provided data on TBE subtypes involved in human cases:
  - European subtype registered in 13 countries
  - European and Siberian subtypes circulating in FI (and EE)
  - All three subtypes circulating in LV and RU
- 23/28 countries provided data on imported TBE cases:
  - 13 countries have (occasionally) imported cases
  - 10 countries did not observe or distinguish imported cases
  - 5 countries have no information
- 21/28 countries provided data regarding reports on TBE clusters:
  - 13 countries have registered clusters
  - 8 countries do not have reports on clusters
  - 7 countries gave no information

* Data provided by all participants except BA, HU, PT and RO

Country	Cases in animals	Prevalences in ticks and wildlife hosts
AT	Yes	No plans to monitor ticks but occasionally investigated
BE	No	Monitoring in progress
BG	No	Planned investigations in ticks, reservoirs and suspected patients
CZ	Yes	Information for the northeast part of the country
DK	No	No
EE	Not available	No
FI	Only seroprevalences	Yes, for all Finnish foci
FR	No	No, a study will start in coming months
DE	Not known	Yes, for several regions
GR	No	Low prevalence of Greek Goat Encephalitis Virus in ticks was found for Vergina, Vavdos and Kastoria
IT	Only antibodies found in sheep	No
LV	No information	Yes, long-term monitoring sites were located in the central and eastern part of the country
LT	No information	Yes, planned to be expanded from 5 to 10 regions
MT	No information	Not available
NO	No	Yes, for the region of Aust-Agder
PL	No	Incomplete data from different regions available for goats and ticks
RU	No information	Incomplete data on regional level. Ticks are monitored, animals not
SK	No	Yes, from scientific studies but only from few selected localities
SI	No	Yes, for the whole country from ticks and hosts
ES	No	No
SE	Previously, occasional diagnoses in dogs	No data with reasonable coverage at present. Further sampling is planned.
CH	Yes	Yes
NL	No	No information
UK	Not available	Not available

Survey data regarding trends of TBE III*

- 17/28 countries provided data regarding reports on TBE cases in livestock or companion animals (pets):
  - 4 countries have registered cases
  - 11 countries do not have reports on cases in animals
  - 2 countries respond only with seroprevalence data
  - 11 countries gave no information

► Often veterinary data are not known or available

- 21/28 countries provided data on TBE prevalence in ticks/wildlife hosts:
  - 16 countries have done or will do such kind of studies
  - 5 countries have not done or have not planned
  - 7 countries gave no information

► Only patchwork of information, not systematic overview

* Data provided by all participants except BA, HU, PT and RO

Discussion*

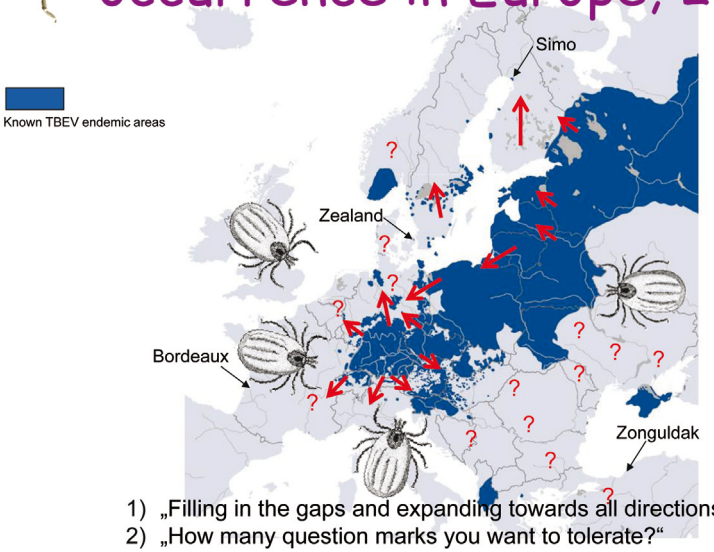
► Knowledge about TBE endemic foci needs to be expanded and regularly updated in order to identify the risk for the exposed population and to apply vaccines optimally

- **For appropriate collection of epidemiological data, we still need a broad standard case definition incl. all possible clinical signs of laboratory-confirmed TBE in order to avoid under-ascertainment of cases and to increase the knowledge on the true incidence**
- **Serological and/or molecular testing should be performed using standard operation protocols (SOPs) and should be regularly monitored by EQA programs to guarantee the comparability of data** [Donoso Mantke et al. Int J Med Microbiol (2008), 298 (S1): 333-5]
- **Investigations on tick-transmitted diseases should be done more systematically (e.g. prevalence studies on ticks, animals/livestock and humans as EU action) to improve the surveillance and to get more information on trends of TBE, borreliosis, rickettsiosis etc.**
- **Thus, we need a multidisciplinary approach including epidemiologists, physicians, veterinarians, biologists, entomologists, laboratory experts, climatologists and others**
- **TBE vaccination should be recommended and reimbursed for residents of and travelers to TBE endemic areas, who are at risk of tick bites**
- **TBE has become an international public health problem with relation to travel medicine, therefore doctors and travelers need to be more aware and general recommendations/maps valid for all European countries should be created**

► Above recommendations could be helpful, to gain more valuable clinical & epidemiological data on TBE, to improve national surveillance systems and to reduce the incidence rate for the most important flavivirus CNS infection in Europe

* ECDC expert consultation on Tick-borne diseases, Stockholm, 23.-24. Nov. 2010

Areas of known TBE occurrence in Europe, 2010



1) „Filling in the gaps and expanding towards all directions“
2) „How many question marks you want to tolerate?“

The issue of a TBE case definition

► Yes, we need a case definition that is valid throughout Europe!

It has to consist of a mixture of clinical picture:

- Influenza-like symptoms,
- CNS symptoms (i.e. meningitis, encephalitis, myelitis, radiculitis)

and laboratory confirmation (at least one of the following tests):

- RT-PCR in blood or liquor; tissue (post-mortem)
- IgM & IgG in blood or liquor (one, but clearly elevated value)
- Increase in IgG titers between two samples (4-fold)
- Detection of intrathecally generated TBE-specific antibodies

An epidemiological link:

Is a nice add-on, but should not be considered a must for a case definition!

Endemic areas of TBE in Germany, 04/2011

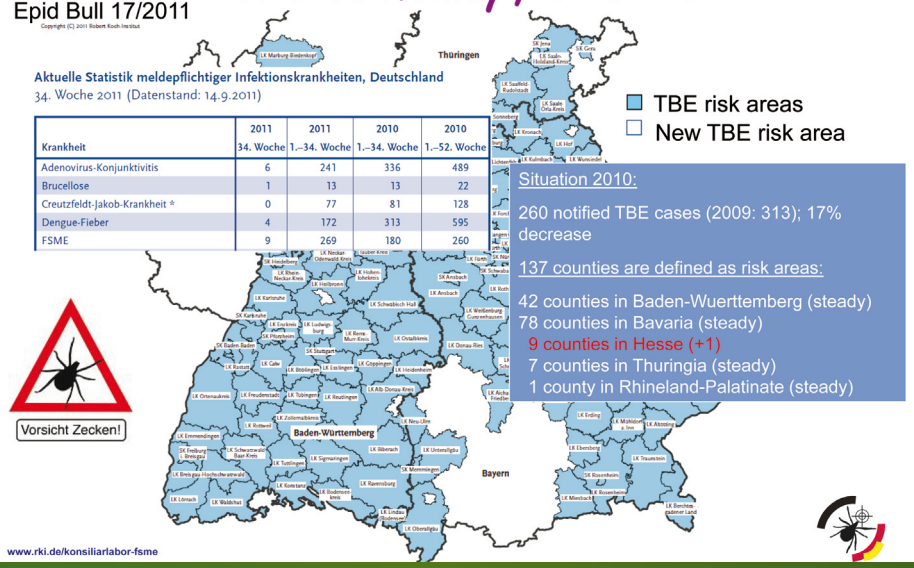
ROBERT KOCH INSTITUT

Epid Bull 17/2011

Copyright (C) 2011 Robert Koch Institut

Aktuelle Statistik meldepflichtiger Infektionskrankheiten, Deutschland
34. Woche 2011 (Datenstand: 14.9.2011)

Krankheit	2011 34. Woche	2011 1.–34. Woche	2010 1.–34. Woche	2010 1.–52. Woche
Adenovirus-Konjunktivitis	6	241	336	489
Brucellose	1	13	13	22
Creutzfeldt-Jakob-Krankheit *	0	77	81	128
Dengue-Fieber	4	172	313	595
FSME	9	269	180	260



TBE risk areas
New TBE risk area

Situation 2010:

260 notified TBE cases (2009: 313); 17% decrease

137 counties are defined as risk areas:

42 counties in Baden-Wuerttemberg (steady)
78 counties in Bavaria (steady)
9 counties in Hesse (+1)
7 counties in Thuringia (steady)
1 county in Rhineland-Palatinate (steady)

www.rki.de/konsiliarlabor-fsme

Epidemiology and protection

- Risk areas are endemic areas of TBE, in which people exposed to ticks are at risk to get infected and for which preventive measures (vaccination) are recommended
- Risk assessment based on the surveillance of human TBE cases (notified cases since 2002: N= 2,444)
- Disease burden calculated by the 5-years incidence of one county OR county region during 2002-2006, 2003-2007, 2004-2008, 2005-2009, and 2006-2010

(2007-DEF. risk area: >1 case per 100,000 population in at least one period; p<0.05)

► Under evaluation and discussion by RKI expert consultation in November 2011

ROBERT KOCH INSTITUT

Epid Bull 17/2011

Limitations of the current risk assessment for TBE

- Increase in number of people vaccinated against TBE virus in regions of high TBE risk decreases the number of TBE cases
- New regions of TBE risk are not recognized due to low case numbers or unawareness

→ Additional indicators for TBE will be necessary in the future (e.g. virus detection in ticks, rodents, or small mammals)

ROBERT KOCH INSTITUT

Surveillance of clinical cases should be backed up by vector and indicator host surveillance

e.g. rodents as sentinels for the prevalence of TBEV (Achazi et al., 2011)

Lab

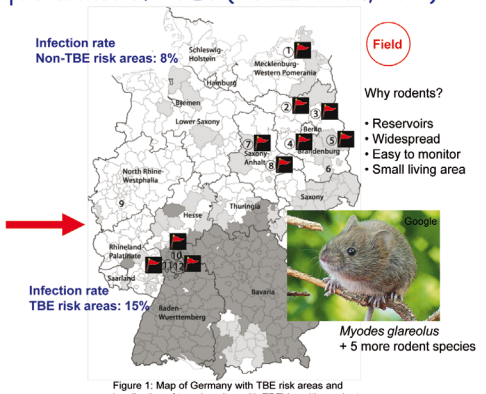
Table 1: Analysis of different organs of *Microtus arvalis* voles experimentally infected with TBEV over a period of three month post infection by TBEV-specific RT-qPCR. [a]

organ	no. of samples found positive for TBEV / total no. of samples tested (mean copy no. of samples tested positive / mg organ or ml blood)				
	5 dpi	*20 dpi*	*50 dpi*	*100 dpi*	*control*
blood	1 / 2 (6x 10^2)	0 / 3 (0)	1 / 3 (8x 10^2)	0 / 3 (0)	0 / 1 (0)
brain	1 / 2 (3x 10^6)*	1 / 3 (9x 10^4)	2 / 3 (2x 10^2)	2 / 3 (4x 10^3)*	0 / 1 (0)
heart	0 / 2 (0)	1 / 3 (3x 10^1)	1 / 3 (6x 10^1)	2 / 3 (7x 10^1)	nd
liver	1 / 2 (7x 10^1)	2 / 3 (6x 10^1)	1 / 3 (2x 10^2)	3 / 3 (6x 10^2)*	nd
spleen	1 / 2 (4x 10^2)	1 / 3 (5x 10^1)	1 / 3 (1x 10^2)	2 / 3 (5x 10^2)	0 / 1 (0)
kidney	0 / 2 (0)	0 / 3 (0)	2 / 3 (6x 10^1)	3 / 3 (1x 10^2)	0 / 1 (0)

[a] Samples were analyzed in duplicate. * Isolation of TBEV was performed successfully by incubating the homogenized organ (tested positive for TBEV by RT-qPCR) on VeroE6 cells.

no., number; nd, not done; dpi, days post infection.

Field



Why rodents?

- Reservoirs
- Widespread
- Easy to monitor
- Small living area

Myodes glareolus
+ 5 more rodent species

Figure 1: Map of Germany with TBE risk areas and localization of trapping sites with TBEV-positive rodents.

- Wild rodents (and ticks) are useful alternative and/or additional indicators to assess risk of tick-borne diseases in certain regions
- May help to detect new risk areas
- Extensive area coverage is laborious and expensive (needs funding for systematic investigation)

Supporting data

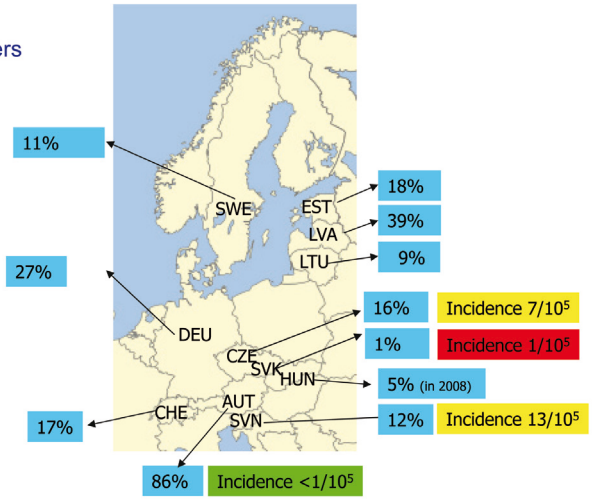
- Substantial seroprevalence (9.1%) for TBE was demonstrated in unvaccinated forestry workers employed in the federal state of Brandenburg
- TBE seroprevalence compares well to seroprevalence found a decade ago in Baden-Wuerttemberg (today a risk area)
- Data indicate that TBE virus is endemic in Brandenburg
- So far, clinical cases of TBE have been only rarely diagnosed in Brandenburg

Wohlfahrt K et al., 2009. X Int. Jena Symp. on tick-borne diseases (IJSTBD-X 2009)

ROBERT KOCH INSTITUT

Correlation of vaccine coverage and TBE incidence

Vaccination rate – household members for 2009



Information by Dr. P. Gerold, Baxter Vaccines, and Petri et al., (2010) Trav Med Infect Dis 8; 233-245

Acknowledgements:

Camille Escadafal (RKI, EUPHEM)

Katharina Achazi (RKI)

Matthias Niedrig (RKI)

Martin Pfeffer (University Leipzig)

Daniel Růžek (USB)

And other collaborators

Thank you for your attention.

Questions???

donosoo@rki.de

The studies received funding by: ECDC (ECDC/2008/011); BMBF (1363120); German National Academic Foundation; Czech Science Foundation (P302/10/P438); and Czech Ministry of Education, Youth, and Sports (Z60220518 and LC06009).

GENETIC DIVERSITY OF BORRELIA BURGDORFERI SENSU LATO SPIROCHETES IN EUROPE AND IN NORTH AMERICA

Rudenko N., Golovchenko M., J. H. Oliver Jr., Grubhoffer L.

Biology Centre AV CR, Ceske Budejovice, Czech Republic
Faculty of Sciences University of South Bohemia, Ceske Budejovice, Czech Republic
Georgia Southern University, James H. Oliver Jr. Institute of Arthropodology and Parasitology, Statesboro, Georgia, USA

In the US, Steere was the first American to recognize the importance of this disease in 1975, although he thought it was "new disease". He named it LYME ARTHRITIS.

Two years later, Spielman described a new tick specie, which was later found to be the vector of the disease.

Subsequent identification of the etiologic agent, *Borrelia burgdorferi*, in the gut of the tick by Burgdorfer followed in 1982.

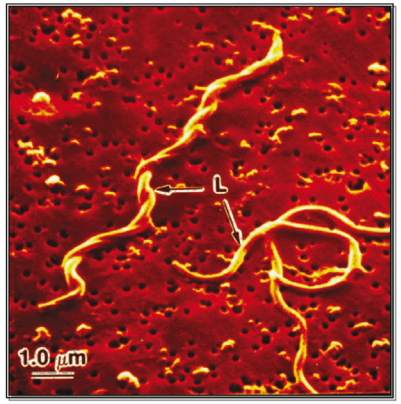
LYME DISEASE - THE GREAT IMITATOR!!!

…become clearly a problem of worldwide concern…

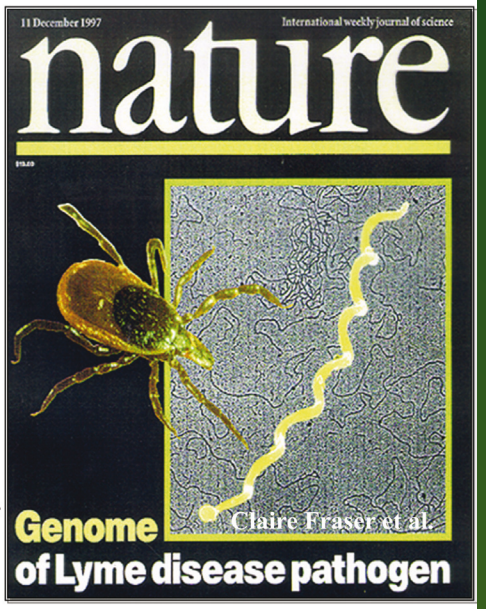
Table 1.1 European hallmarks of Lyme borreliosis (Benach & Garcia-Marko, 2010, Borrelia; Caister Acad.Press)

Year	Author, country of origin	Hallmark
1883	Alfred Buchwald, Germany	Description of acrodermatitis chronicum atrophicans (ACA)
1902	Herxheimer and Hartman	Further characterization of ACA
1910	Arvid Azfelius, Sweden	Description of the erythema migrans (EM)
1918	Lipschütz, Austria	Suggested the term erythema chronicum migrans
1922	Garin and Bujadoux, France	Description of meningopolyneuritis after tick bite and probable EM
1930	Hellerström, Sweden	Description of meningitis following EM. Suggested common aetiology for both conditions
1943	Bo Bäfverstedt, Sweden	Description of lymphadenosis benigna cutis
1944	Bannwarth, Germany	Further descriptions of meningopolyneuritis after EM
1948	Carl Lennhoff, Germany	Reported seeing spirochaetes in biopsy specimens (turned out to be artefacts)
1949	Hellerström, Sweden	Suggested that a spirochaete might be involved
1949	Thyresson, Sweden	Successful treatment of ACA with penicillin
1951	Hollström, Sweden	Successful treatment of EM with penicillin
1954	Gotz, Germany	Transmission of ACA among humans
1955	Binder *et al.*, Germany	Transmission of EM among humans
1974	Weber, Germany	Successful response of ECM to antibiotics
1985	Ackermann *et al*, Germany	Description of central nervous system involvement
1984–1985	Ackermann *et al.*, Asbrink *et al.*, Wislke *et al.*, Germany and Sweden	Cultivation of *B. burgdorferi* in skin and fluids

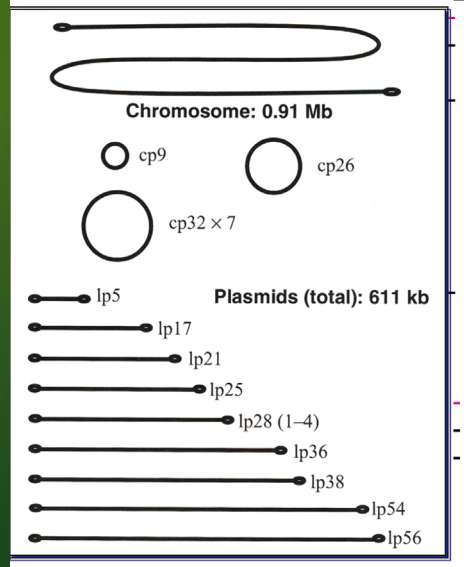
Early 1980s -isolation of new extracellular pathogen



- **highly specialized, motile, two-membrane, spiral-shaped gram-negative bacterium, 10-30 µm in length, 0,2-0,5 µm in width**



***Borrelia burgdorferi*, causative agent of Lyme disease**



Unusual genome, which includes:

- a linear chromosome of 910,725 bp
- an average G+C content of 28.6%

- 853 chromosomal ORFs
  59% - identified
  12% - hypothetical coding sequences
  29% - new genes, genes encoding a basic set of proteins for DNA replication, transcription, translation, transport, energy metabolism

- contains NO GENES for cellular biosynthetic reactions

- 9 circular+12 linear plasmids of 611,000 bp
- G+C content from 23.1% to 32.3%
- 430 plasmid ORFs
  16% - identified
  23%+2.3% - hypothetical coding sequences
  58% - unknown functions

Borrelia burgdorferi, causative agent of Lyme disease

Chromosome...

-chromosomes of all *Borrelia* spp. have highly similar gene orders...

- sequences of the chromosomes of all *Borrelia* spp. are 91-93% identical...

-cca. 60% of chromosome genes have some similarity to a gene in another organism whose role is at least partially understood....

-cca. 10% are similar to known genes with unknown functions...

-cca. 30% are unique to Borrelia and have unknown function...

-the chromosomes of different isolates are known to have an extra DNA fragments (between 7 and 20 kb) added to the chromosomal 3′-end...

-chromosomal genes code proteins necessary for replication, transcription, translation, energy metabolism, and transport of nutrients and ions, DNA repair, homologous recombination, heat-shock response, and chemotactic factors coding genes. Neither chromosomes nor plasmids contain genes for cellular biosynthetic reactions....

Plasmids....

- *Borrelia* plasmids vary in stability; some of them are unstable and lost during cultivation...

Borrelia plasmids are divided into three groups:

1) lp25 and lp28–1, which are absolutely necessary for persistent infection of a mammalian host.

2) includes plasmids not required for infectivity (cp9, cp32–3, lp21, lp28–2, lp28–4, lp56);

3) plasmids that are present in all isolates (cp26, cp32–1, cp32–4, cp32–6, cp32–7, cp32–8, cp32–9, lp17, lp28–3, lp36, lp38, and lp54).

A family of closely related 32-kb circular plasmids are regarded as "mini chromosomes" ...these have been found to be prophage genomes and are involved in the horizontal transfer of DNA among spirochetes that share a common geographical and ecological niche.

The worldwide distribution of the primary vectors of Lyme disease spirochetes, *Borrelia burgdorferi*.

Major vectors of *Borrelia burgdorferi* sensu lato to humans

Ticks, important as maintenance vectors of *Borrelia burgdorferi* (usually non-human biting)

I. hexagonus, I. trianguliceps, I. uriae, H. concinna, **–Europe**

I. minor, I. affinis, I. dentatus, I. spinipalpis **- USA**

I. turdus, I. ovatus, I. columnae, I. tanuki **– Japan**

I. nipponensis **–Korea, Japan**

I. granulatus, I. monospinosus **– China, Korea**

I. moschiferi, H. concinna, H. longicornis, H. bispinosa **- China**

In some areas maintenance vectors appear to be more important in the enzootic cycle of *B. burgdorferi* s.l. than the 'bridge' vectors that feed on the same hosts and bite humans (Oliver, 1996).

Tick species experimentally confirmed as vectors of *Borrelia burgdorferi* sensu lato (Eisen&Lane)

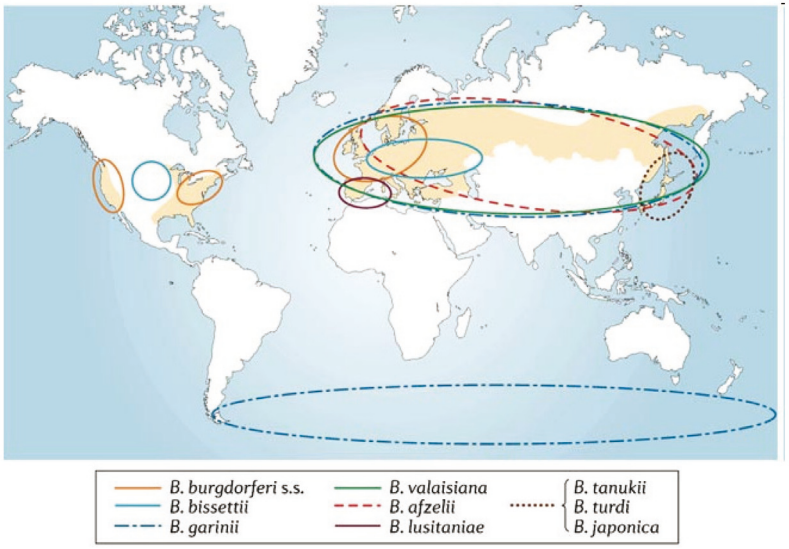
Tick specie	*Bb SL*	*Bb ss*	*B.afzelii*	*B.garinii*	*B.bissettii*
I.affinis		☺			
I.angustus		☺			
I.dentatus	☺				
I.hexagonus		☺			
I.jellisoni	☺				
I.minor		☺			☺
I.muris		☺			
I.pacificus		☺			☺
I.persulcatus				☺	
I.ricinus	☺	☺	☺	☺	☺
I.scapularis	☺	☺	☺	☺	☺
I.spinipalpis		☺			☺
I.sinensis				☺	

Currently known spirochete species from the *B. burgdorferi* sensu lato complex

Borrelia species	Vector	Hosts/reservoirs	Geographical distribution	Reference
B. afzelii	*I. ricinus, I. persulcatus*	rodents	Asia, Europe	Canica et al. (1993
B. americana	*I. pacificus, I. minor*	birds	United States	Rudenko et al. (2009c)
B. andersonii	*I. dentatus*	cotton tail rabbit	United States	Marconi et al. (1995)
B. bavariensis	*I. ricinus*	rodents	Europe	Margos et al. (2009)
B. bissettii	*I. ricinus, I. scapularis, I.pacificus, I. minor*	rodents	Europe, United States	Postic et al. (1998)
B. burgdorferi ss	*I. ricinus, I. scapularis, I. pacificus*	rodents, birds, lizards, big mammals	Europe, United States	Baranton et al. (1992)
B. californiensis	*I. pacificus, I. jellisonii, I. spinipalpis*	Kangaroo rat, mule deer	United States	Postic et al. (2007)
B. carolinensis	*I. minor*	rodents, birds	United States	Rudenko et al. (2009b)
B. garinii	*I. ricinus, I. persulcatus, I. hexagonus, I. nipponensis*	birds, lizards, rodents	Asia, Europe	Baranton et al. (1992)
B. japonica	*I. ovatus*	rodents	Japan	Kawabata et al. (1993)
B. kurtenbachii	*I. scapularis*	rodents	Europe, United States	Margos et al. (2010)
B. lusitaniae	*I. ricinus*	rodents, lizards	Europe, North Africa	Le Fleche et al. (1997)
B. sinica	*I. ovatus*	rodents	China	Masuzawa et al. (2001)
B. tanukii	*I. tanuki*	unknown (possibly dogs and cats)	Japan	Fukunaga et al. (1996)
B. turdi	*I. turdus*	birds	Japan	Fukunaga et al. (1996)
B. spielmanii	*I. ricinus*	rodents	Europe	Richter et al. (2006)
B. valaisiana	*I. ricinus, I. granulatus*	birds, lizards	Asia, Europe	Wang et al. (1997)
B. yangtze	*Haemaphysalis longicornis, I. granulatus*	rodents	China	Chu et al. (2008)
Genomospecies 2	*I. pacificus*	unknown	United States	Postic et al. (2007)

The geographical distribution of *Borrelia burgdorferi* sensu lato

(K. Kurtenbach, 2006)



Kurtenbach et al., 2006

The geographical distribution of *Borrelia burgdorferi* sensu lato

(Dykhuizen and Brisson, 2010)

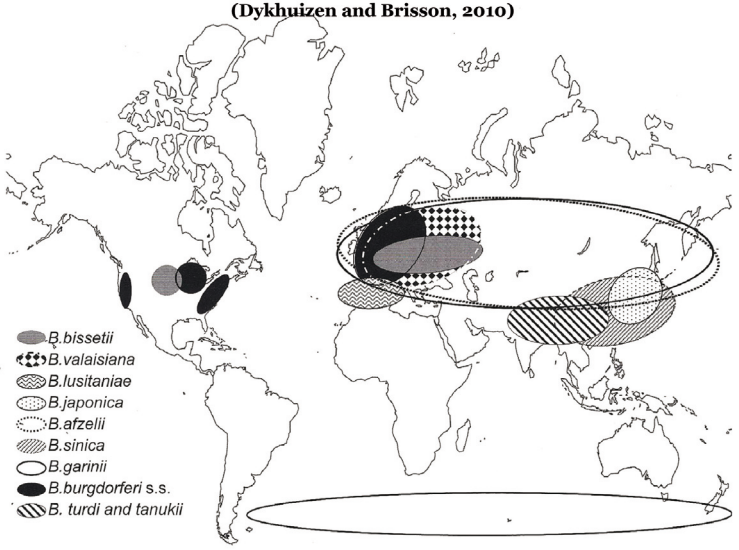
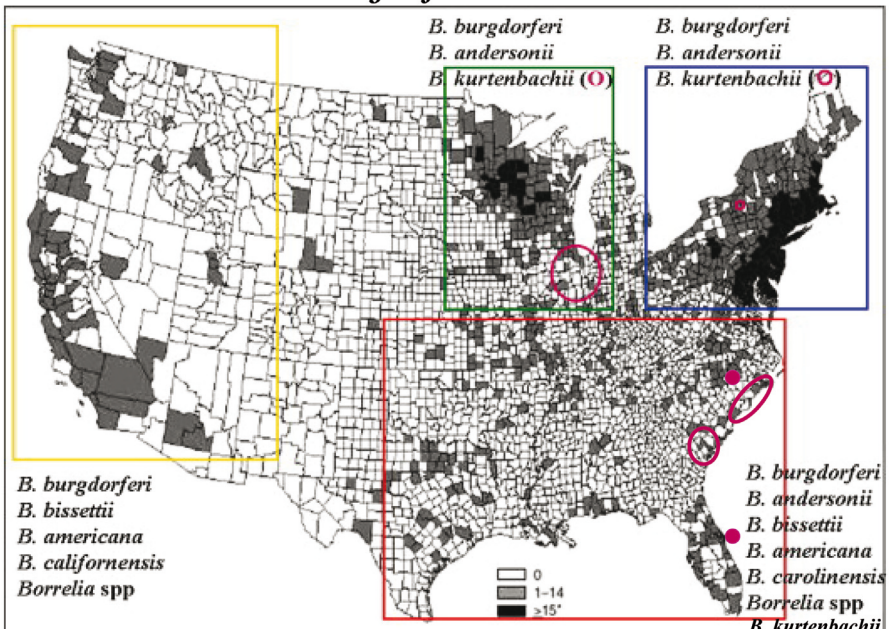


Figure 9.3 *Borrelia* species distributions. The geographical distribution of *B. burgdorferi s.l.* is shown on this map, which is redrawn from Kurtenbach *et al.* (2006) with additional data on *B. sinica* from Masuzawa *et al.* (2001).

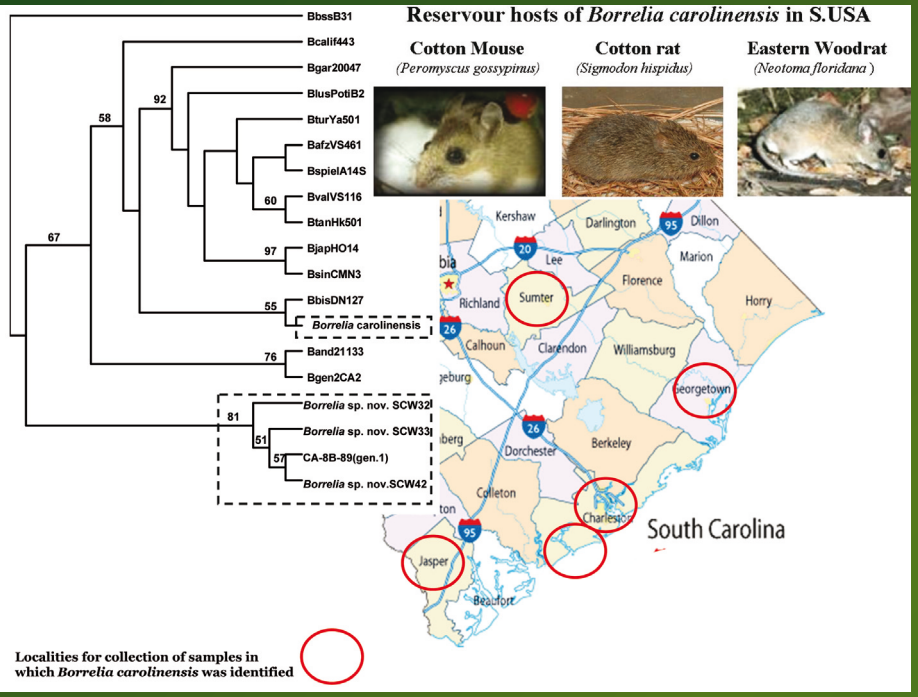
Dykhuizen & Brisson, 2010, Borrelia (edited by D.Samuels & J. Radolf)

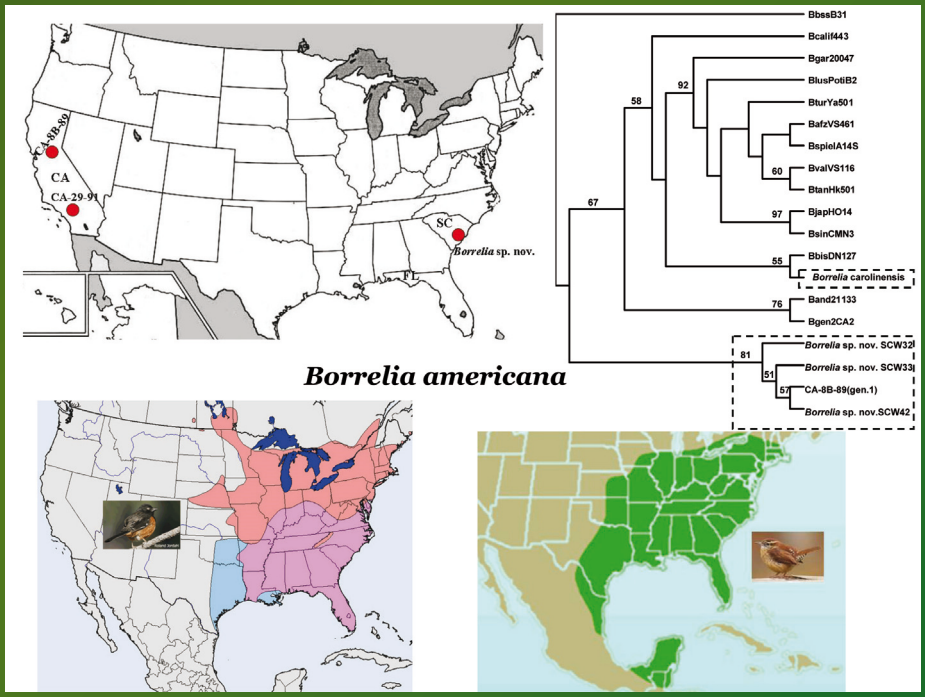
Distribution of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in the United States



Margos et al., 2010; TTBDIS, 1:151-158

Reservour hosts of *Borrelia carolinensis* in S.USA

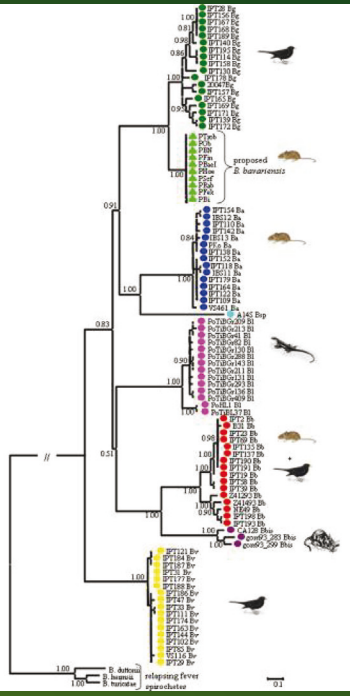




The expanding Lyme complex

N	1982	1984	1992	1993	1995	1996	1997	1998	2001	2006	2007	2008	2009	2010
19														*Borrelia kurtenbachii*
18													*Borrelia americana*	
17													*Borrelia bavariensis*	
16													*Borrelia carolinensis*	
15												*Borrelia yangtze*		
14											genomo-species 2			
13											*Borrelia californiensis*			
12										*Borrelia spielmanii*				
11									*Borrelia sinica*					
10								*Borrelia bissettii*						
9							*Borrelia lisitanie*							
8							*Borrelia valaisiana*							
7						*Borrelia tanuki*								
6						*Borrelia turdi*								
5					*Borrelia andersonii*									
4				*Borrelia japonica*										
3				*Borrelia afzelii*										
2			*Borrelia garinnii*											
1	Lyme spirochaete	*Borrelia burgdorferi*	*B. burgdorferi* sensu stricto											
	1982	1984	1992	1993	1995	1996	1997	1998	2001	2006	2007	2008	2009	2010

Europe
USA
Asia
Africa
Japan
China

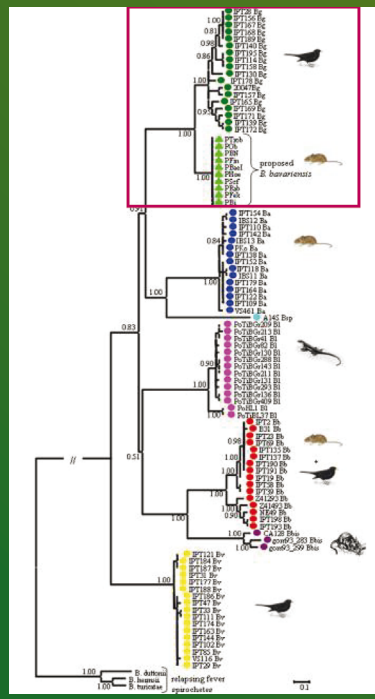


B. burgdorferi sl spirochetes differ significantly in their host association pattern

Rooted Bayesian phylogenetic inference of concatenated housekeeping gene sequences of LB group spirochetes. Posterior probability values of clades are provided.

The tree was rooted with sequences of the relapsing fever spirochetes *Borrelia duttonii*, *B. hermsii*, and *B. turicatae*. The branch length of the outgroup is not according to scale as indicated by the slashes. The bar labeled 0.1 depicts 10% divergence.

Margos et al., 2009, Appl Environ Microbiol. 2009; 75(16): 5410–5416



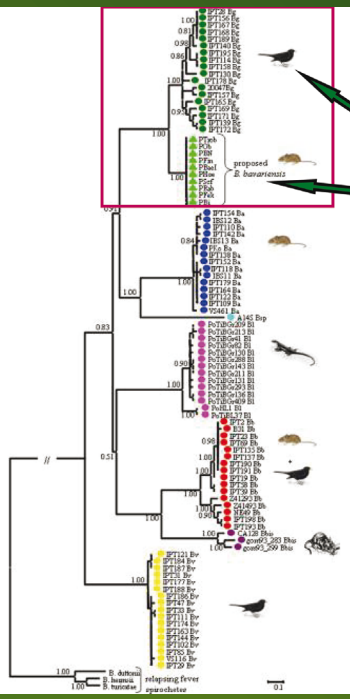
B. garinii as it was know earlier represents at least 2 ecotypes,- bird- and rodent-associated.....

OspA proteins of _B. garinii_ are antigenically diverse and divided into 5 distinct serotypes (3-7):

Previously assigned _Borrelia_ species are color coded as follows:

green, _B. garinii_ (Bg) or _B. bavariensis_ sp. nov.;
blue, _B. afzelii_ (Ba);
sky blue, _B. spielmanii_ (Bsp);
pink, _B. lusitaniae_ (Bl);
red, _B. burgdorferi_ (Bb) sensu stricto;
purple, _B. bissettii_ (Bbis);
yellow, _B. valaisiana_ (Bv);

Margos et al., 2009, Appl Environ Microbiol. 2009; 75(16): 5410–5416



B. garinii as it was know earlier represents at least 2 ecotypes,- bird- and rodent-associated.....

OspA proteins of _B. garinii_ are antigenically diverse and divided into 5 distinct serotypes (3-7):

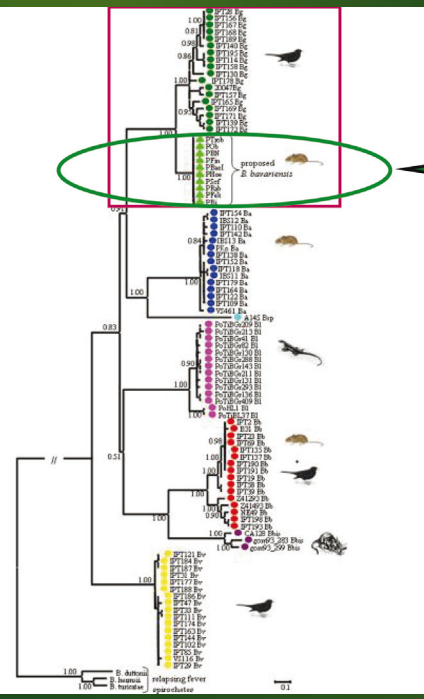
-serotypes 3, 5, 6 and 7 are maintained by birds;

-serotype 4 strains are associated with rodents.....
- highly pathogenic to humans....
- cultivated from CSF of European patients with neuroborreliosis...

Previously assigned _Borrelia_ species are color coded as follows:

green, _B. garinii_ (Bg) or _B. bavariensis_ sp. nov.;
blue, _B. afzelii_ (Ba);
sky blue, _B. spielmanii_ (Bsp);
pink, _B. lusitaniae_ (Bl);
red, _B. burgdorferi_ (Bb) sensu stricto;
purple, _B. bissettii_ (Bbis);
yellow, _B. valaisiana_ (Bv);

Margos et al., 2009, Appl Environ Microbiol. 2009; 75(16): 5410–5416

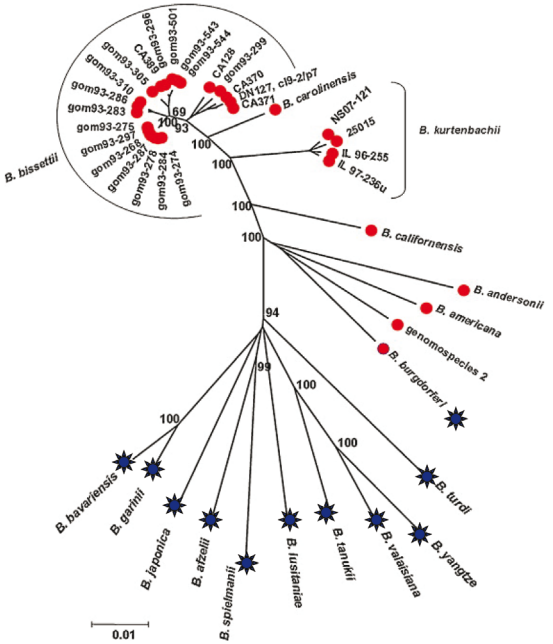


Borrelia bavariensis

A new species, proposed as *B. bavariensis* (former *B. garinii* OspA serotype 4 strains) was recognized as separate from *B. garinii* based on genetic distance and ecological differences.

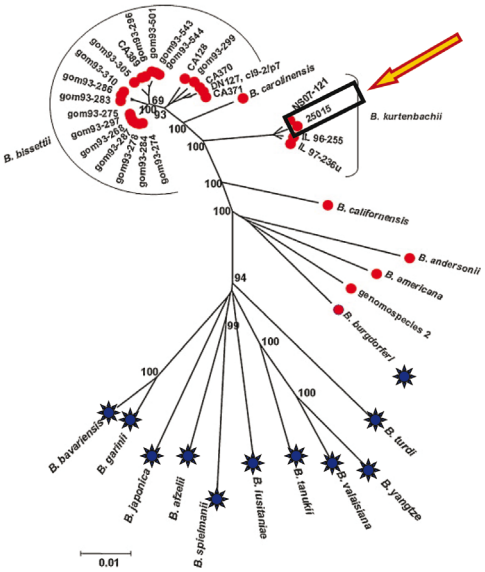
All known *B. bavariensis* strains were isolated from samples of human origin.

Margos et al., 2009, Appl Environ Microbiol. 2009; 75(16): 5410–5416



Phylogenetic analysis of Lyme borreliosis genospecies based on analysis of concatenated sequences of 8 chromosomally located housekeeping gene fragments. Scale bar indicates 1% divergence.

Margos et al., TTBDIS, 2010, 1:151-158



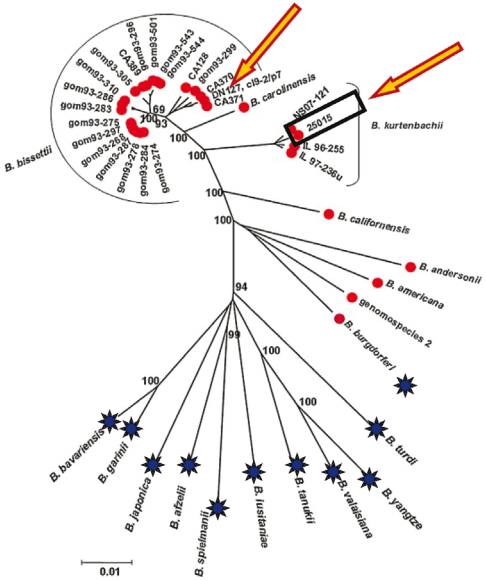
1988 – isolation of strain 25015 from the fully fed *I. scapularis* larva removed from the white-footed mouse captured in Millbrook, NY,USA.

1990 - J. Anderson and colleagues reported the results of their studies on pathogenicity of strain 25015...

...infectivity but not pathogenicity of strain 25015 was confirmed years ago...

Phylogenetic analysis of Lyme borreliosis genospecies based on analysis of concatenated sequences of 8 chromosomally located housekeeping gene fragments.

Margos et al., TTBDIS, 2010, 1:151-158



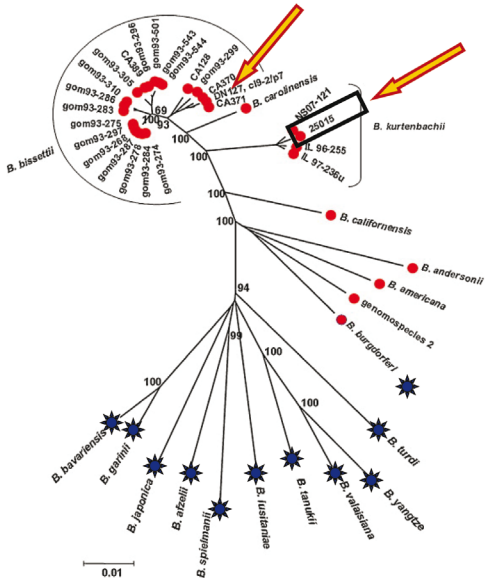
1988 – isolation of strain 25015 from the fully fed *I. scapularis* larva removed from the white-footed mouse captured in Millbrook, NY,USA.

1990 - J. Anderson and colleagues reported the results of their studies on pathogenicity of strain 25015...

...infectivity but not pathogenicity of strain 25015 was confirmed years ago...

Phylogenetic analysis of Lyme borreliosis genospecies based on analysis of concatenated sequences of 8 chromosomally located housekeeping gene fragments.

Margos et al., TTBDIS, 2010, 1:151-158

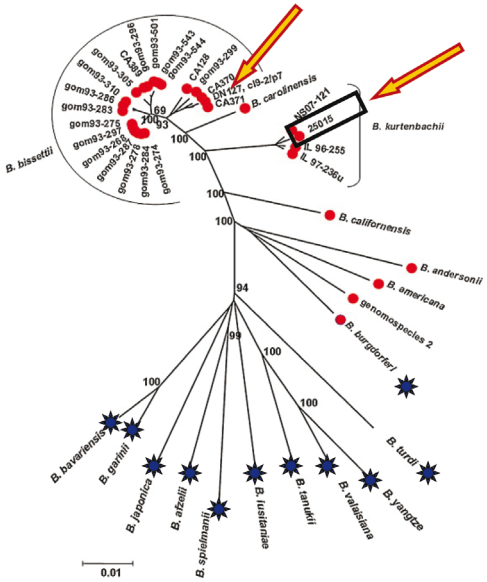


1997 - Strle presented the clinical findings for patients from Slovenia with LD caused by species with genotypic and phenotypic similarity to strain 25015, the member of DN127 genomic group...

2008-2009 – Rudenko and colleagues detection of *B. bissettii* in cardiac valve tissue of a patient with endocarditis and aortic valve stenosis and in serum samples of LD patients in the Czech Republic...

Phylogenetic analysis of Lyme borreliosis genospecies based on analysis of concatenated sequences of 8 chromosomally located housekeeping gene fragments.

Margos et al., TTBDIS, 2010, 1:151-158

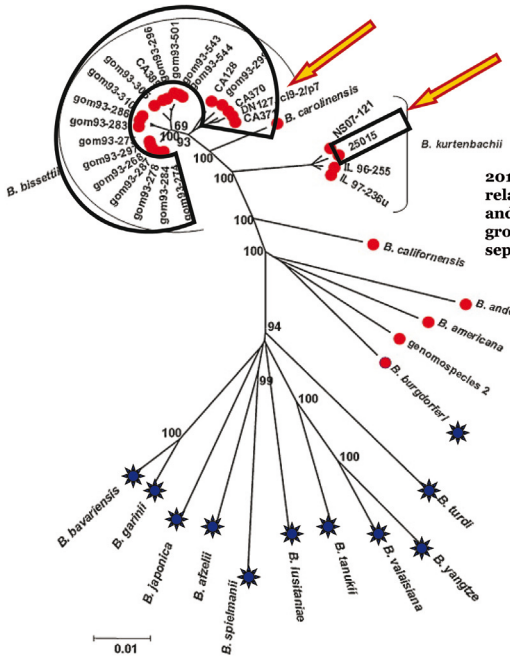


Re-evaluation of the pathogenic potential of *B. bissettii* showed that rodent-originated strains of *B. bissettii* were capable of inducing disease, causing pathology within the bladder, heart, and femorotibial joint...

...tick-originated strains did not disseminate or induce pathology to the above tissues.

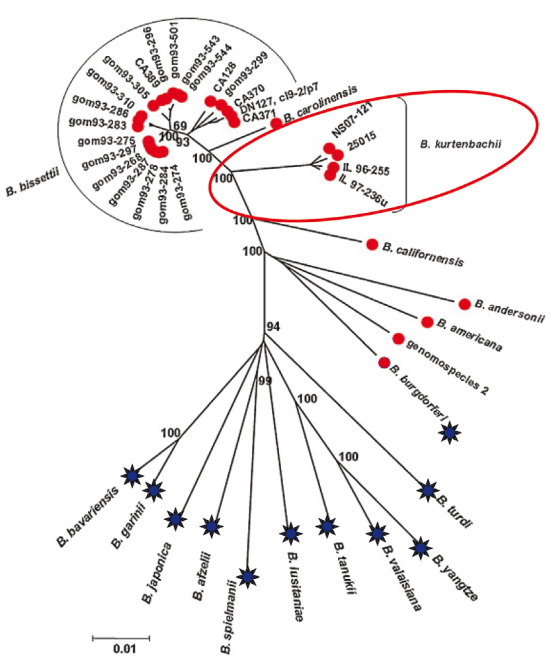
Phylogenetic analysis of Lyme borreliosis genospecies based on analysis of concatenated sequences of 8 chromosomally located housekeeping gene fragments.

Margos et al., TTBDIS, 2010, 1:151-158



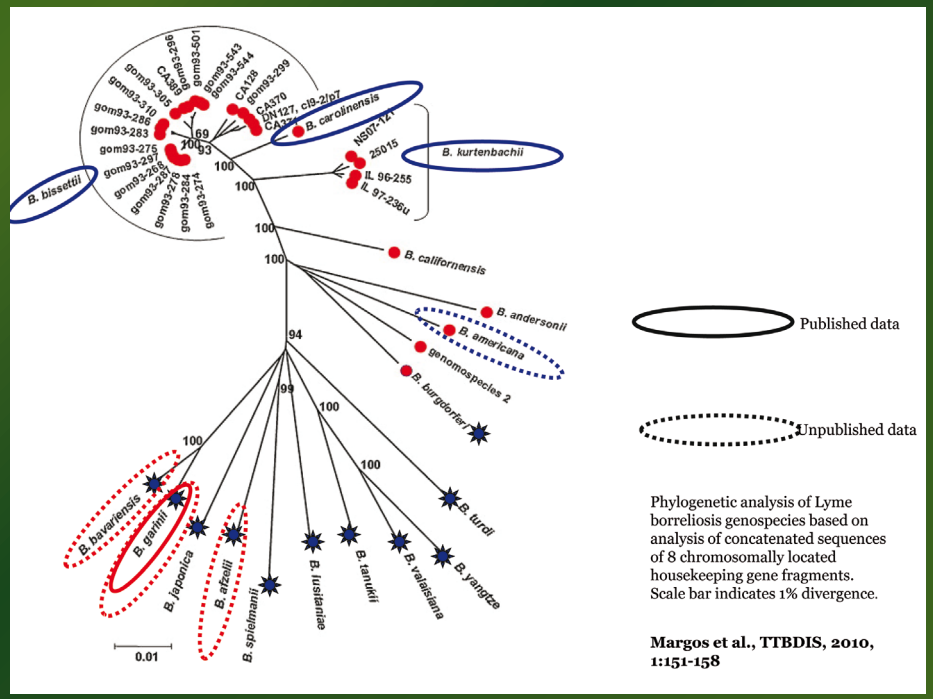
2010 – re-investigation of the phylogenetic relatedness of several strains from CA, IL, NY (USA) and strain 25015, previously included into *B. bissettii* group showed that they represent a distinct group, separate from *B. bissettii*.

Margos et al., TTBDIS, 2010, 1:151-158

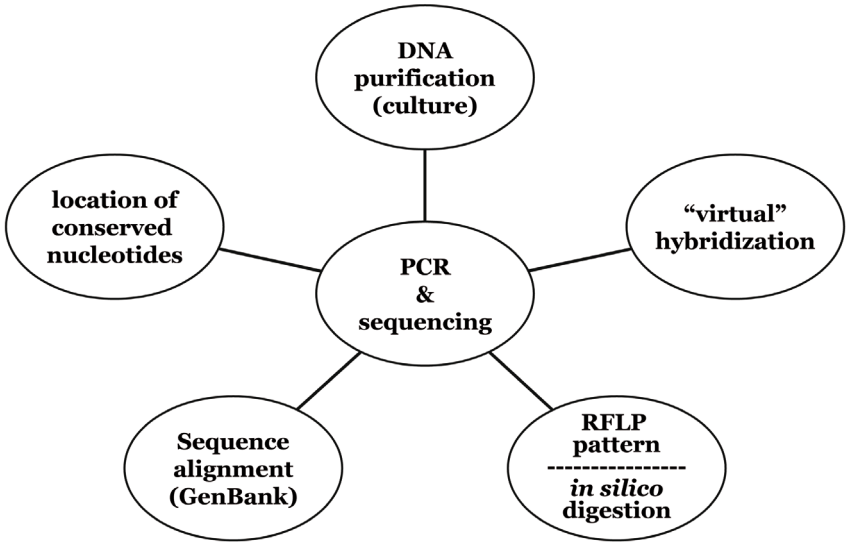


Phylogenetic analysis of Lyme borreliosis genospecies based on analysis of concatenated sequences of 8 chromosomally located housekeeping gene fragments. Scale bar indicates 1% divergence.

Margos et al., TTBDIS, 2010, 1:151-158



Standard procedure for isolates analysis in our lab.



Sequences, used for analysis and classification of *Borrelia burgdorferi* SL.

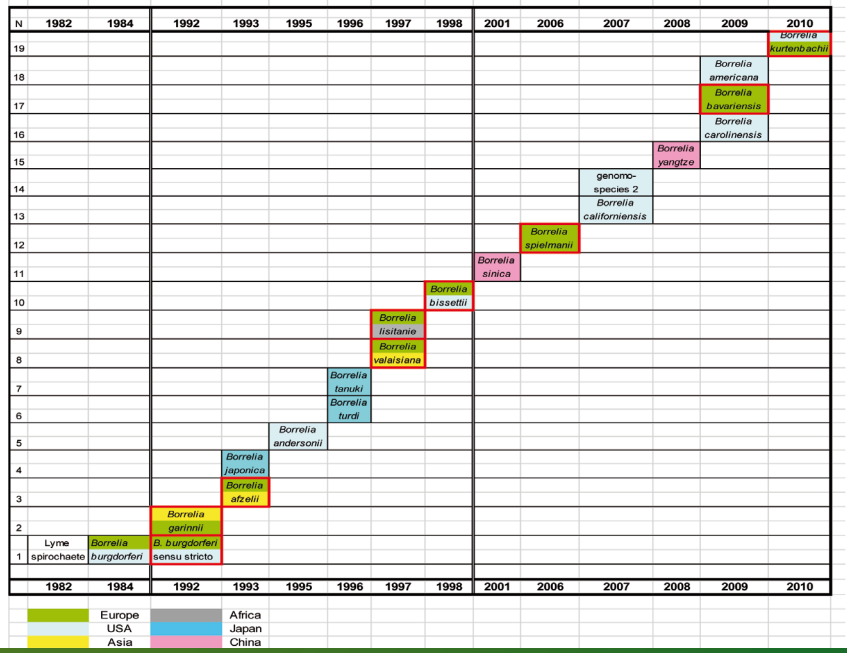
...frequently used loci..

- ***rrf-rrl*** **intergenic spacer;**
- **16S rRNA;**
- **Osp A;**
- **Osp C;**
- **flagellin;**
- **p66;**
- ***rec A*;**
- ***rpoB*;**
- ***groEL*;**
- ***hbb*;**

...frequently used techniques...

-PCR, sequence, PCR-RFLP, hybridization, MLSA, MLST, phylogenetic analysis, etc

The expanding Lyme complex



Pathogenic potential of *Borrelia* genospecies

Borrelia species	Organotropism	Source
B.burgdorferi sensu stricto	musculoskeletal symptoms (Lyme arthritis)	multiple confirmations
B. garinii	neuroborreliosis	multiple confirmations
B. afzelii	skin lesions	multiple confirmations
Borrelia spielmanii	??? reported cases of patients with EM in the Netherlands, Germany, Hungary and Slovenia	Maraspin et al., 2006
Borrelia valaisiana	??? Erythema migrans (EM)	Rijpkema et al., 1997; Ryffel et al., 1999
Borrelia lusitaniae	??? clinical pattern different from the other Borrelia spp examined so far	Collares-Pereira et al., 2004
Borrelia bissettii	arthritis; joints problems??? detection of DNA in clinical samples of patients in Slovenia and Czech Rep.	Strle et al., 1997; Rudenko et al., 2008, 2009 Girard et al., 2010
Borrelia bavariensis	??? neuroborreliosis	Wilske et al., 1995 Marconi et al., 1999
Borrelia kurtenbachii	??? ???	Margos et al., 2010

New face of human Lyme borreliosis

Diagnosis	Location	Source
central nervous system lymphoma	Washington, DC, USA	Bahrain et al., 2007
lupus-like syndrome	Munich, Germany	Molin et al., 2010
distal axonal polyneuropathy and chronic encephalopathy	France	Créange, 2007
pontine tumour	Germany	Latsch et al., 2006
intracranial lymphoma	Paris, France	Louis et al., 2005
prostate carcinoma with a painless paraparesis	the Netherlands	Ruitenberg et al., 2005
multiple sclerosis associated with primary effusion lymphoma	Croatia	Batinac et al., 2007
carditis and psychiatric disorders	Poland	Legatowicz-Koprowska et al., 2008
hypersomnia	Switzerland	Dalal et al., 2010
necrotizing granulomatous hepatitis	New York, USA	Zanchi et al., 2007
cerebral sinuvenous thrombosis	East Germany	Adamaszek et al., 2010
paralytic strabismus	France	Sauer et al., 2009
Horner syndrome	USA	Morrison et al., 2009

Involvement of new or unknown *Borrelia* species in LB changes drastically the understanding and recognition of the clinical manifestation.

More definite evidence of spirochete etiology in the above cited diseases is needed before general acceptance of the link between any of them and spirochete from *Borrelia burgdorferi* sensu lato complex can be made.

Prof. James H. Oliver Jr.

Acknowledgements

- This work was supported by:
- the GSU Foundation;
- the grants MSM 6007665801 & LC06009 (MEYS, Czech Republic);
- Z60220518 & 206/09/1782 (Czech Science Foundation);
- CZB1-2963-CB-09 & CZB1-2966-CB-09 (CRDF, U.S.A.);
- partially by grant R37AI-24899 (NIH) & U50/CCU410282 (CDC).

Prolonged Abstract

Actual investigations on the phylogeny and biological characteristics of tick borne encephalitis virus

Essbauer S.[1], Frey S.[1], Ruzek D.[2], Krivanec K.[3], Dobler G.[1]

1 Bundeswehr Institute of Microbiology, Munich, Germany
2 Institute of Parasitology, Biology Centre of the Czech Academy of Sciences, Ceske Budejovice
3 Central Military Institute of Health, Army Forces of the Czech Republic, Ceske Budejovice

Introduction

Tick-borne encephalitis virus (TBEV), *Flaviviridae*, causes one of the most important inflammatory diseases of the central nervous system (CNS), namely severe encephalitis in Europe and Asia. TBE virus occurs in natural foci characterized by ecologic habitats favorable for ticks and is transmitted mainly by Ixodes spp. ticks over a wide area from Western Europe to the eastern coast of Japan. The virus transmission cycle is shown in Fig. 1.

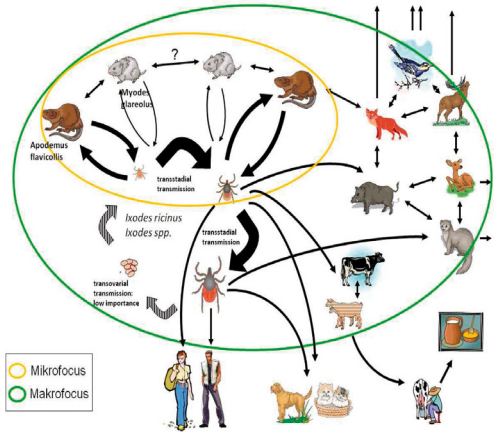


Fig. 1: Micro- and macrofocus of TBEV. See also Dobler G., Hufert F., Pfeffer M., Essbauer S., 2010. Chapter 17: Tick-borne encephalitis: From microfocus to human disease. In: Mehlhorn, H. (ed.): Progress in Parasitology, Parasitology Research Monographs 2,Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2011, p. 323–332.

In Germany in the last decade, approximately 3470 human clinically apparent TBE infections with 240 up to 550 cases are reported each year, with affected regions shown in Fig. 2. Until 2004 only the TBEV strain K23 was available, but no other isolates or actual sequences of TBEV strains were accessible.

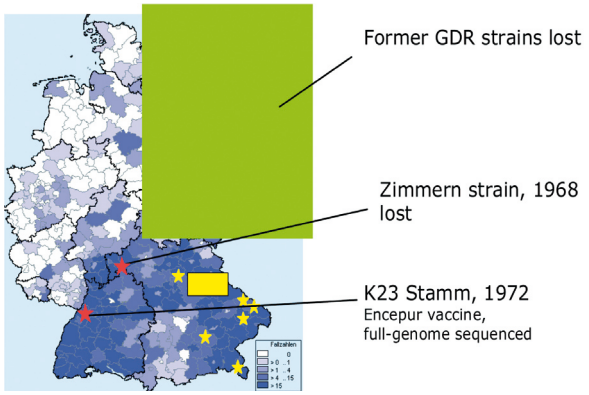


Fig. 2: TBEV in Germany (cumulative cases 2001 – Oct. 12th 2011). Regions with investigation of TBEV in ticks and/or rodents are marked with yellow star. The focus area Amberg is marked with a yellow box.

The main focus of our studies is to investigate the structure and dynamics of TBE foci, the abundance of ticks, the tick stages in natural TBEV foci, to perform longitudinal prevalence of TBEV in ticks (2009-2011), to investigate the seasonal prevalence of TBEV in ticks. Further we are interested in doing a molecular biological characterization of TBEV and in isolating TBEV strains from different and most important unknown endemic regions. Further presently in depth studies on the differences in replication and virulence of different TBEV strains are performed.

Investigations on TBEV in Bavaria

Since the year 2005 in our institute intense studies in different TBEV hotspots are performed. In the administrative district Amberg severe and an unusual accumulation of clinically apparent TBE cases in a small village have been reported by the local health authorities (Brey, Gesundheitsamt Amberg; Fig. 3). Therefore we started to look for the responsible virus. Subsequently ticks were collected in the area around the cases in order to find the causative TBEV. Several ticks carrying TBEV were repeatedly found only in a small area close to the outbreak hotspot. A TBEV strain was isolated from ticks collected and was the first German TBEV isolate since 20 years. Longitudinal studies show that even in 2010, five years after the first evidence of TBEV in ticks, the TBEV occurs stable in this natural focus.

For further details see publication: Kupca A.M., Essbauer S., Zoeller G., de Mendonca P.G., Brey R., Pfeffer M., Rinder M., Pfister K., Spiegel M., Doerrbecker B., Dobler G., 2010: Isolation and molecular characterization

of an unusual tick-borne encephalitis virus strain from a focus in South-Eastern Germany. Ticks and Tick-Borne Diseases 1, 44-51.

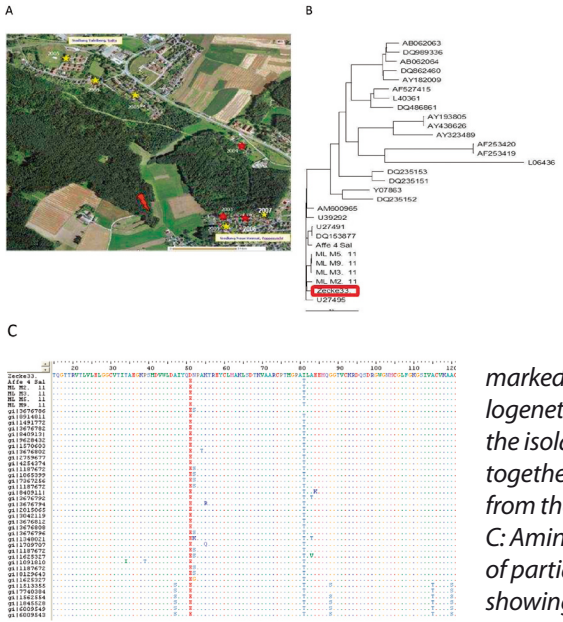
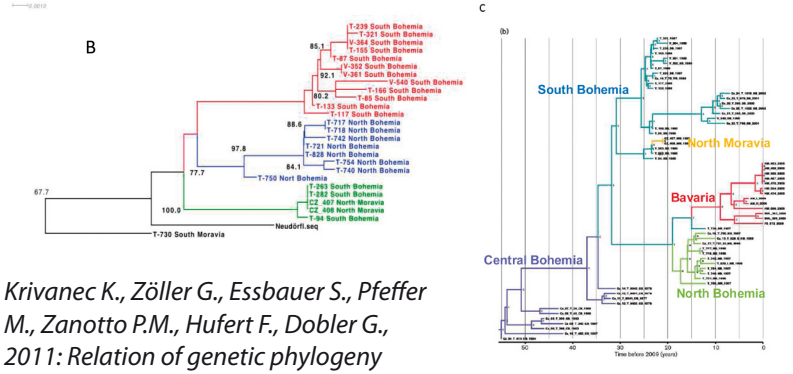


Fig. 3: A: Cumulative cases of TBE in Amberg. Clinically apparent cases are shown with year, yellow star clinical case, red star shows cases with fetal outcome. Site with positive ticks where TBEV could be isolated is marked by red arrow. B: Phylogenetic tree showing that the isolate (E-gene) groups together with other viruses from the Western subtype. C: Amino acid alignment of partial envelope protein showing the unique feature of the TBEV Amberg isolate.

TBEV E-gene sequences of isolates from the Czech Republic

In a collaboration between the Czech Republic and Germany, a molecular investigation of TBEV isolates originating from South Bohemia, North Bohemia, North Moravia and Bavaria from 1954 – 2009, was performed. Interestingly it could be shown that there exist at least four genetic clusters (see Fig. 4) in the Czech Republic.

Fig. 4: A: Phylogenetic groups of TBEV found in the Czech Republic. B: There are four different clusters from South Bohemia (red), North Bohemia (blue), one mixed cluster with samples from South Bohemia – North Moravia (green) and South Moravia (black). C: Time-dependent development of TBEV subgroups in Czech Republic and Bavaria (picture taken from publication: Weidmann M., Ruzek D.,



Krivanec K., Zöller G., Essbauer S., Pfeffer M., Zanotto P.M., Hufert F., Dobler G., 2011: Relation of genetic phylogeny and geographical distance of tick-borne encephalitis virus in Central Europe. J Gen. Virol. 92(8), 1906-1916).

Outlook

Presently TBEV isolates from the Western and Siberian subtype are compared with two reference strains *in vitro* (see Table 1). In order to get an impression on the virulence and differences of biological effects all viruses were adapted to cell lines of different origin (glioblastome, neuroblastome). For example one step growth curves, cytopathogenic changes, plaque sizes and apoptotic events are investigated.

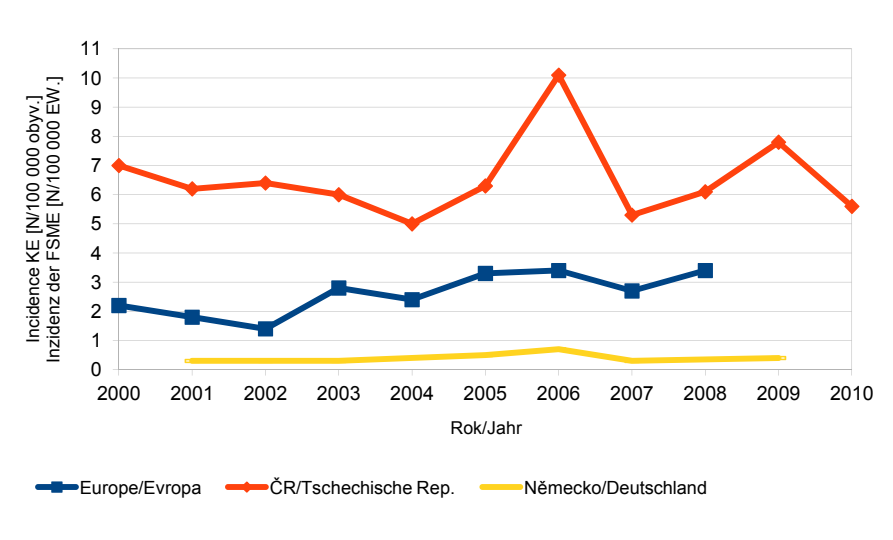
TBEV strain	VeroB4	human glioblastoma DBTRG-05 MG	human neuroblastoma SIMA
Langatvirus	x	x	x
Hypr	x	x	x
AS33 (Isolate Amberg, Western subtype)	x	x	x
M14/10 (Isolate Mongolia, Siberian subtype)	x	x	x

Table 1: Investigation of biological characteristics of TBEV, used strains and cell lines

Acknowledgement:

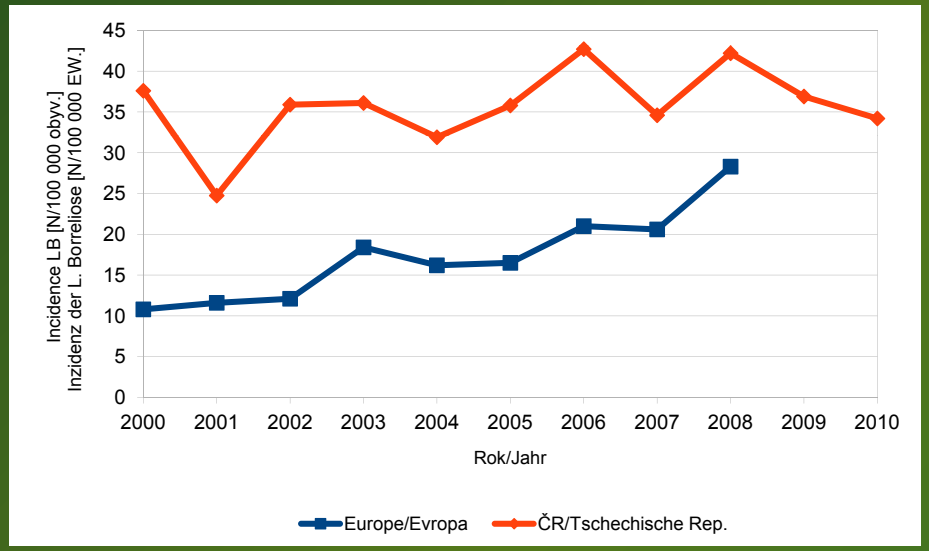
This work was supported by the German Federal Ministry of Education and Research (BMBF), grant number 01KI0710, 'Research on Zoonotic Infectious Diseases' programme, 'Emerging arthropodborne viral infections in Germany: pathogenesis, diagnostics and surveillance'.

Obrazová příloha / Bildbeilage



Obr. 1: Incidence KE v Evropě, České republice a Německu

Abb. 1: Inzidenzrate für FSME in Europa, der Tschechischen Republik und Deutschland

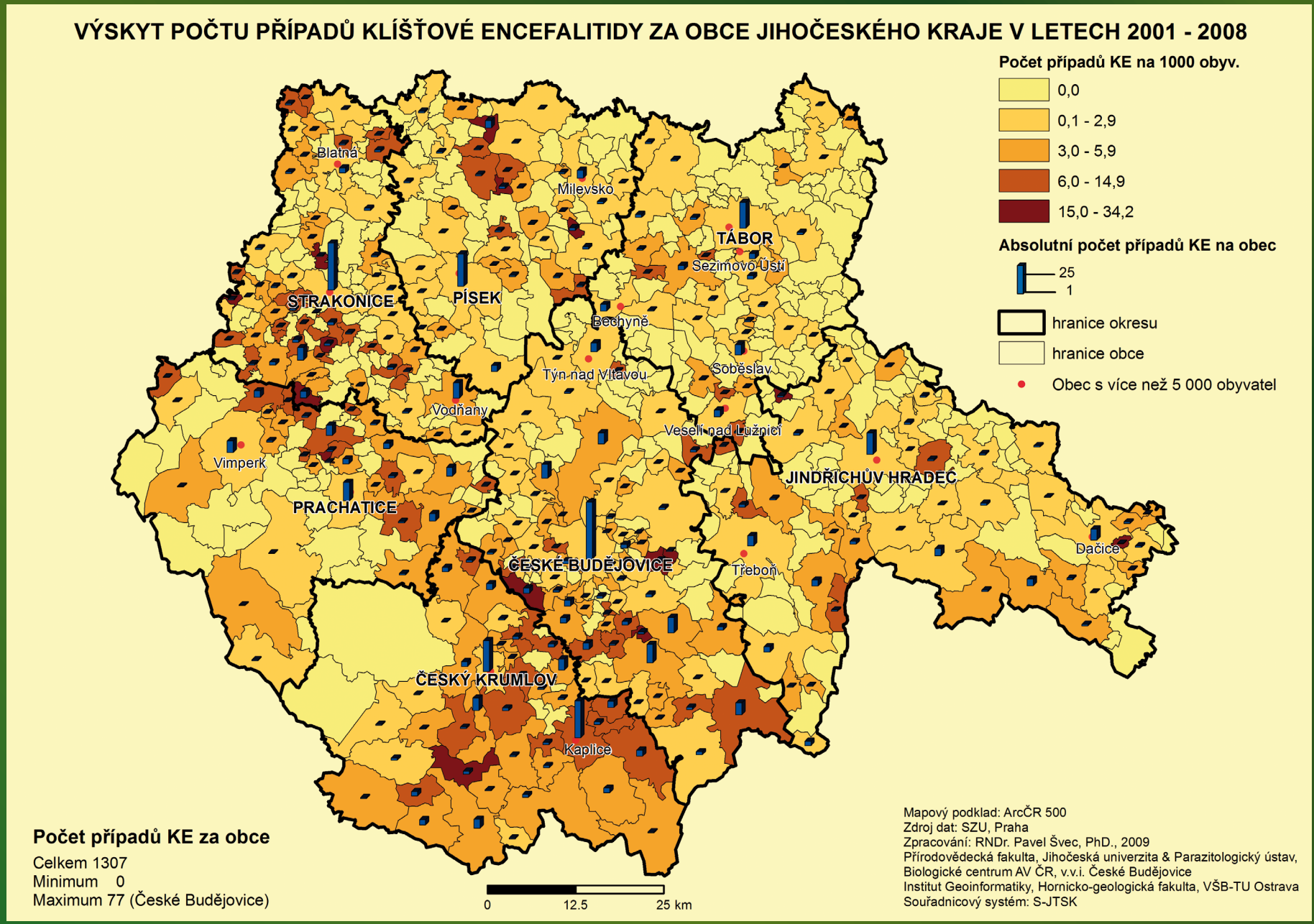


Obr. 2: Incidence lymeské boreliózy v Evropě, České republice

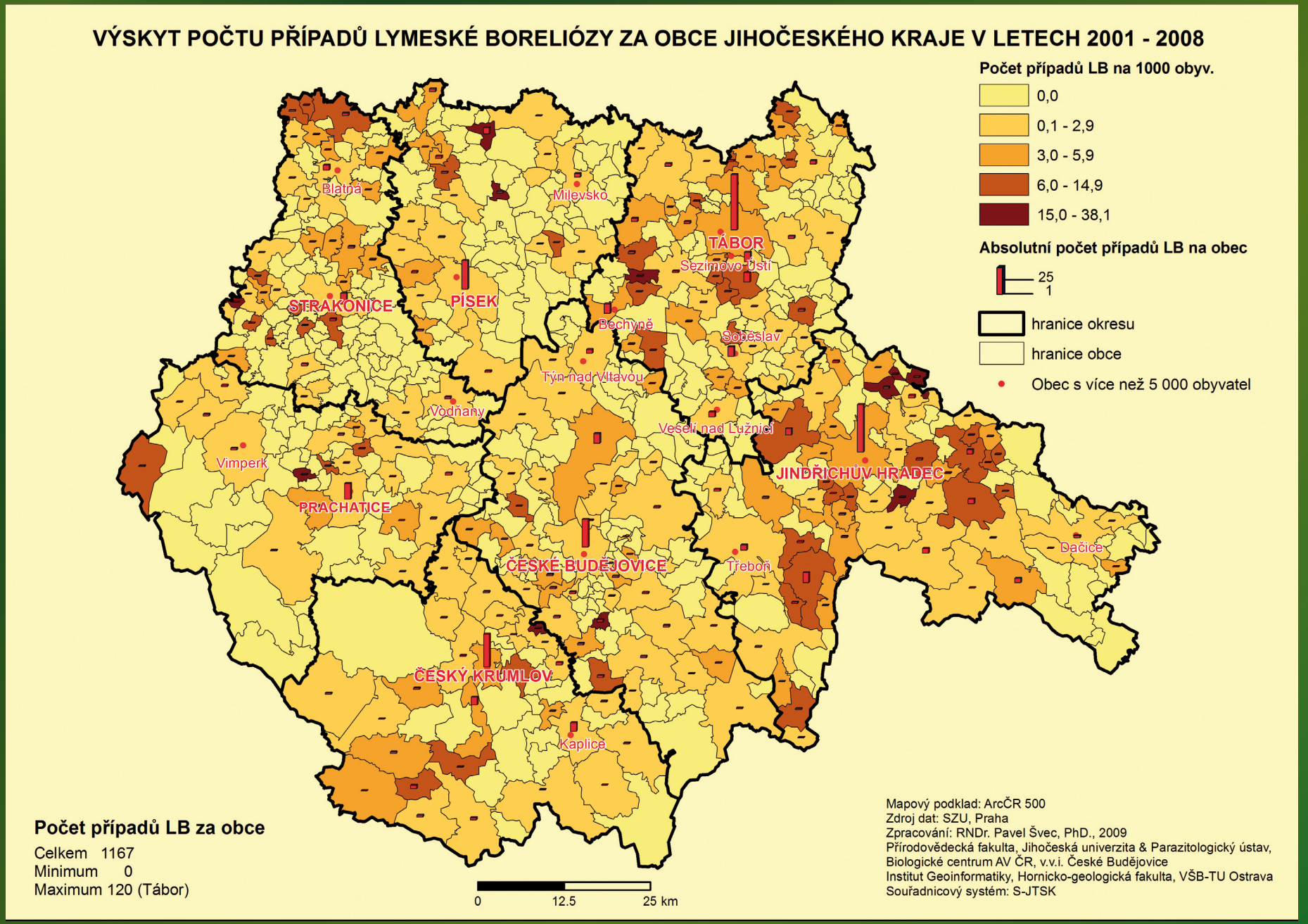
Abb. 2: Inzidenzrate für Lyme-Borreliose in Europa und der Tschechischen Republik

Obr. 3: Samice, samec a nymfa klíštěte *Ixodes ricinus*

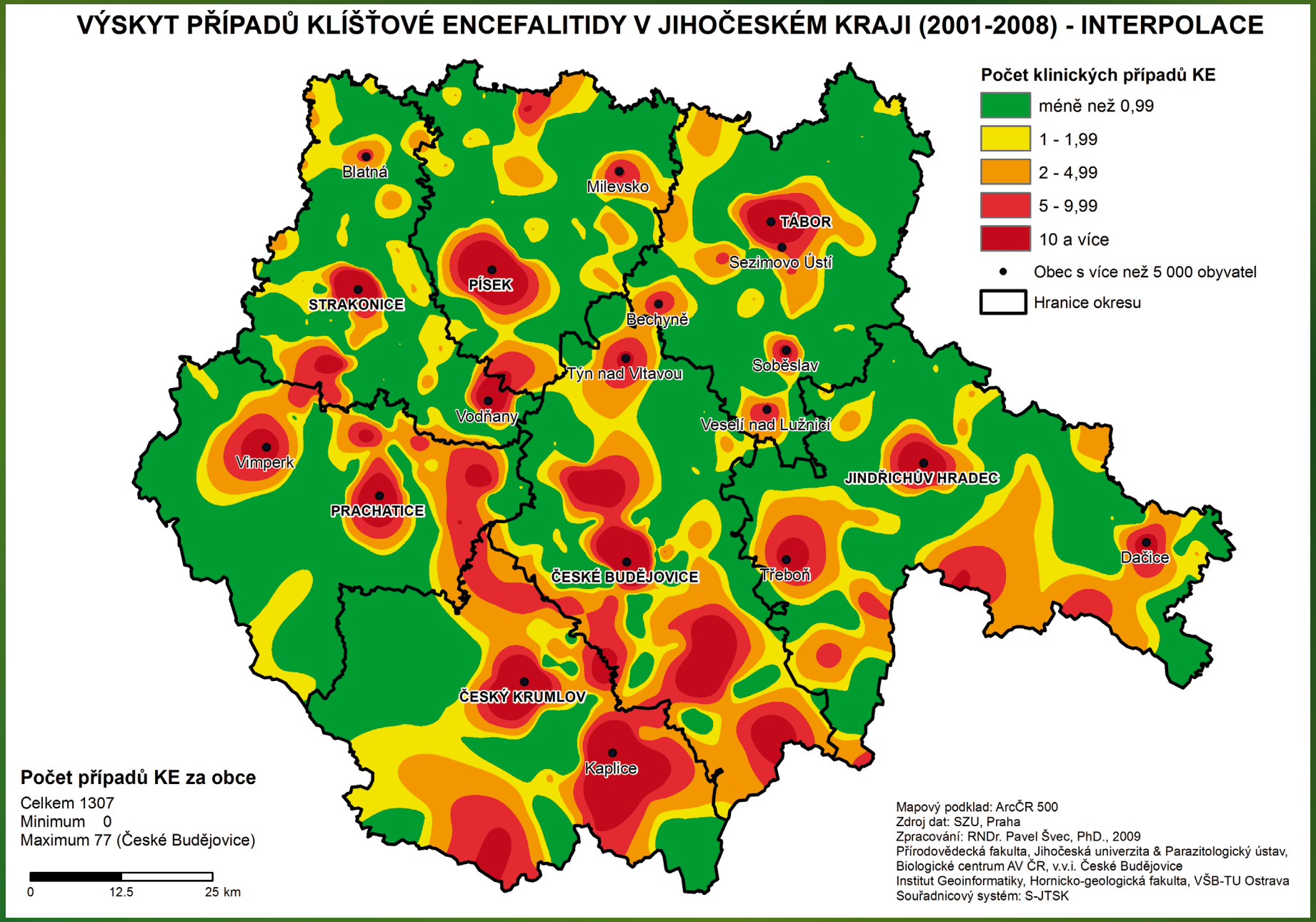
Abb. 3: Weibchen, Männchen und Nymphe der *Ixodes ricinus* Zecke



Obr. 4: Výskyt případů klíšťové encefalitidy v Jihočeském kraji (2001-2008) / Abb. 4: Verteilung der FSME-Erkrankungsfälle in Südböhmen (2001-2008)

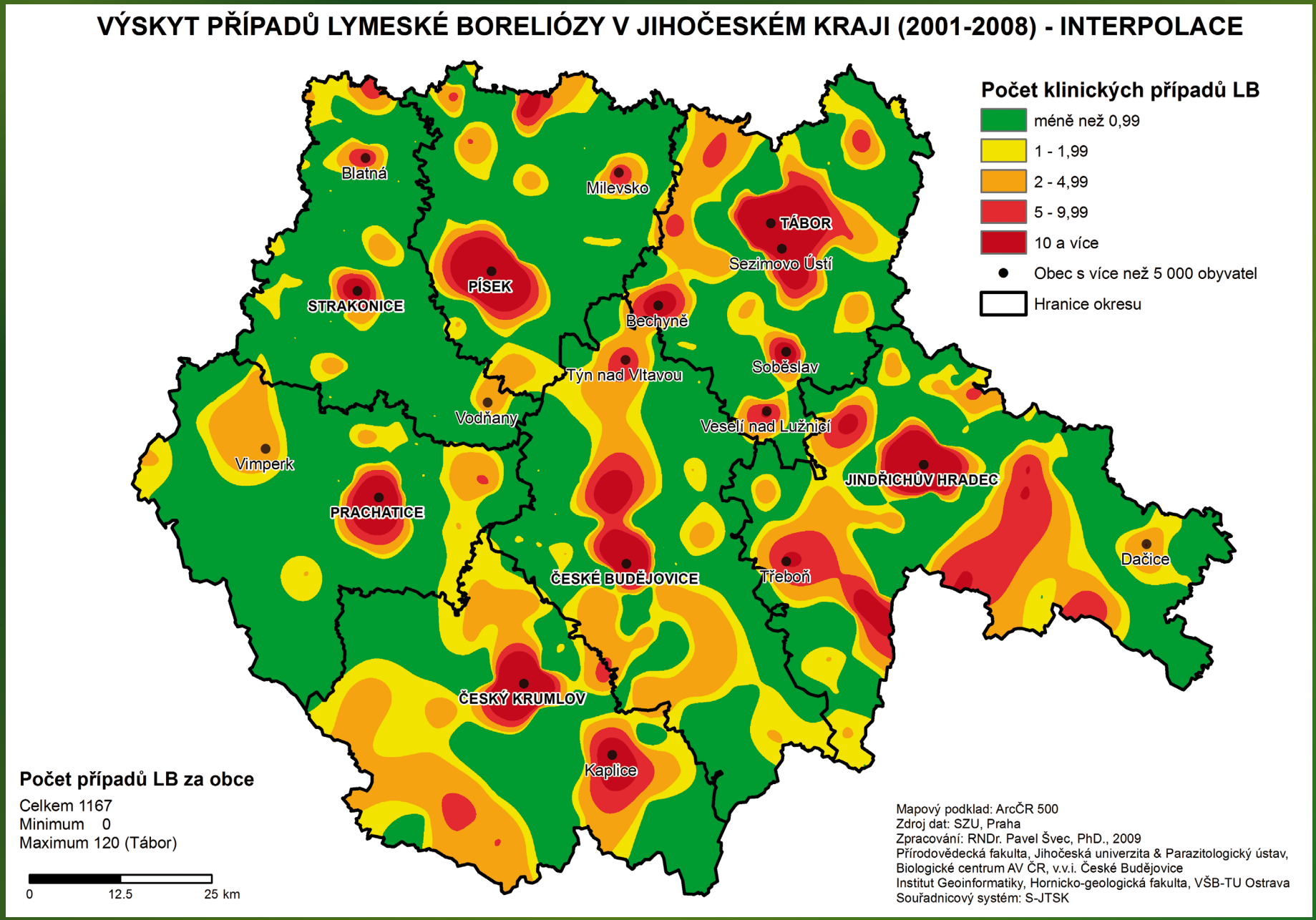


Obr. 5: Výskyt případů lymeské boreliózy v Jihočeském kraji (2001-2008) / Abb. 5: Verteilung der LB-Erkrankungsfälle in Südböhmen (2001-2008)



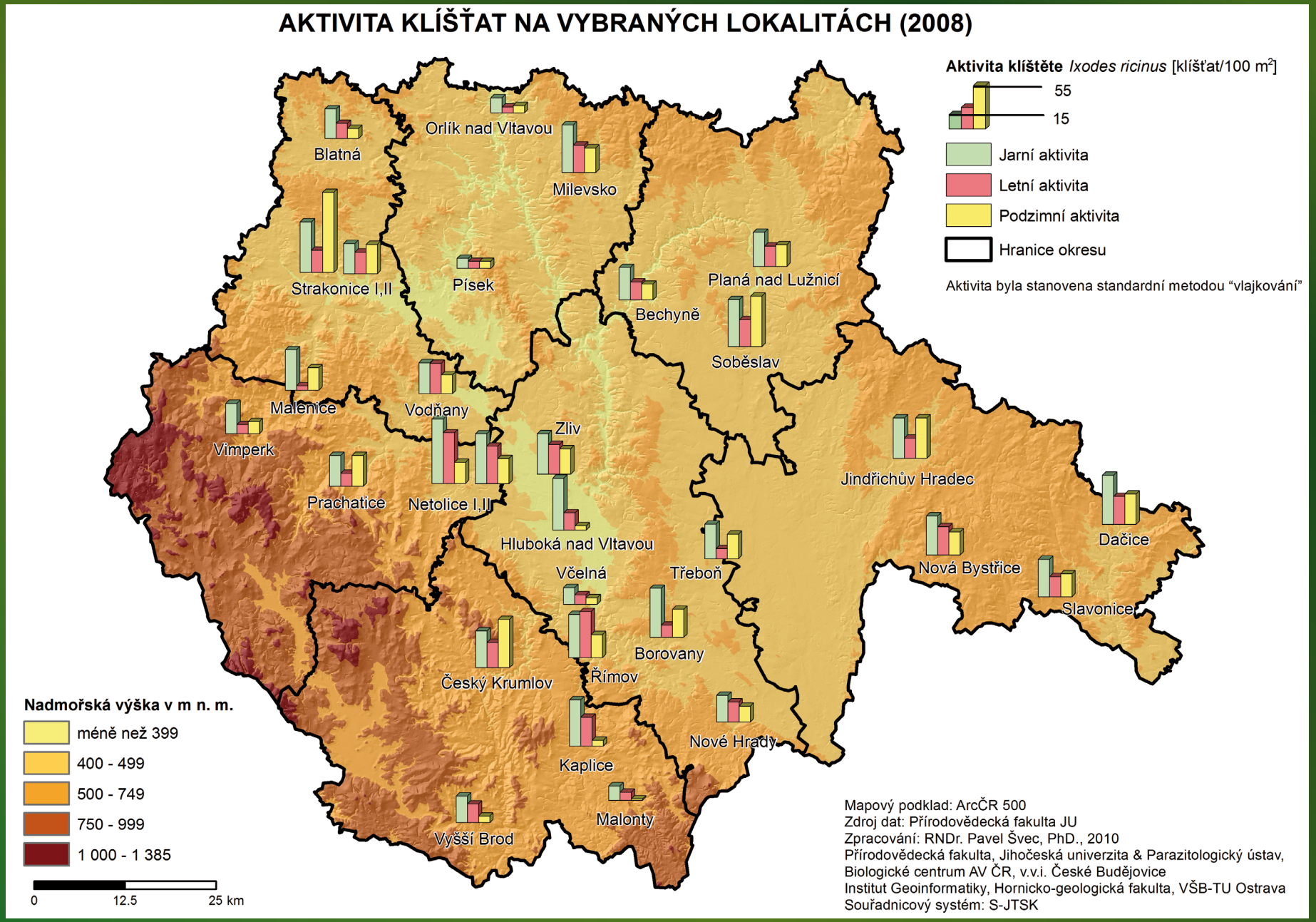
Obr. 6: Výskyt případů klíšťové encefalitidy v Jihočeském kraji (2001-2008) – interpolace

Abb. 6: Verteilung der FSME-Erkrankungsfälle in Südböhmen (2001-2008) – Interpolation



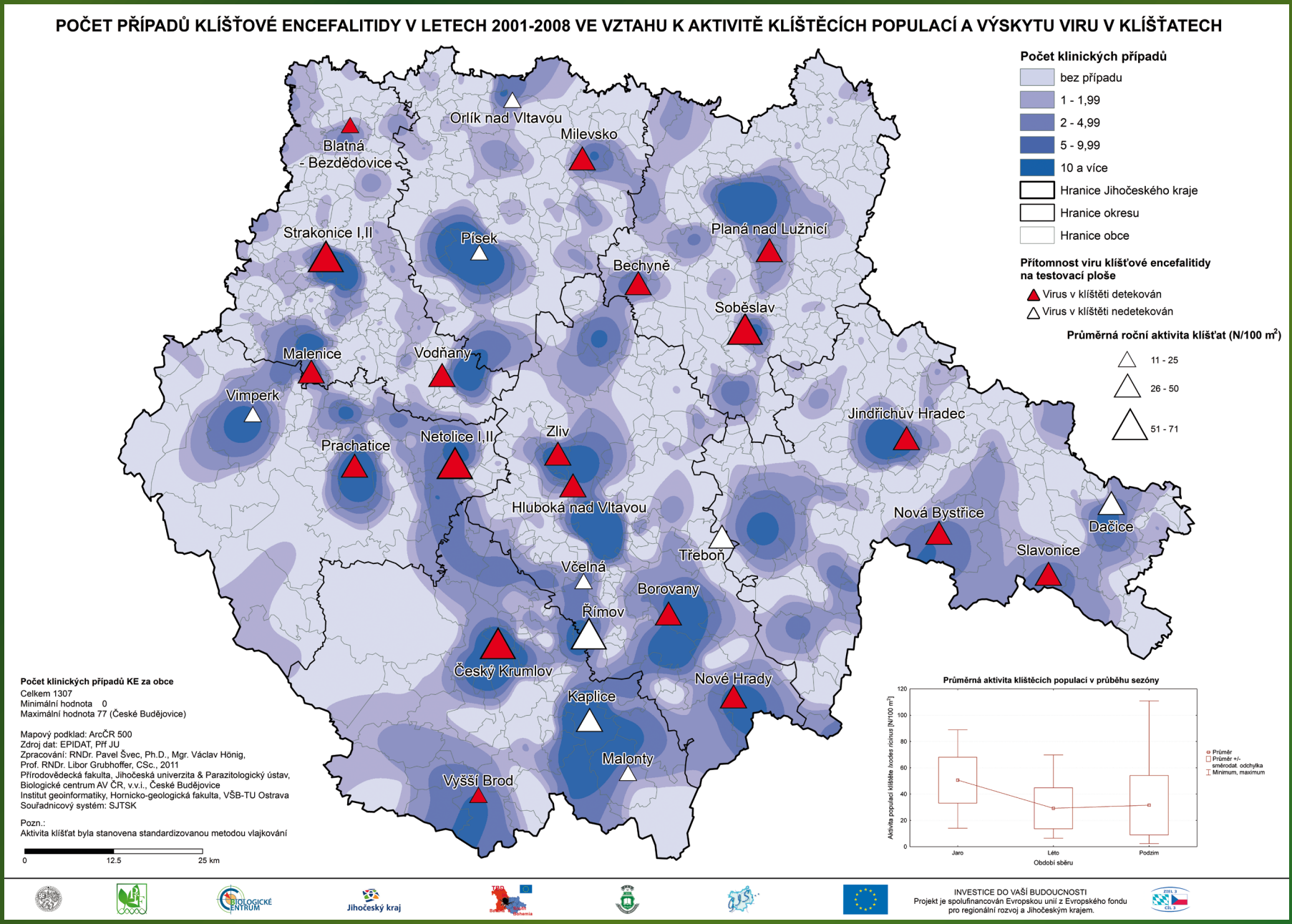
Obr. 7: Výskyt případů lymeské boreliózy v Jihočeském kraji (2001-2008) – interpolace

Abb. 7: Verteilung der LB-Erkrankungsfälle in Südböhmen (2001-2008) – Interpolation



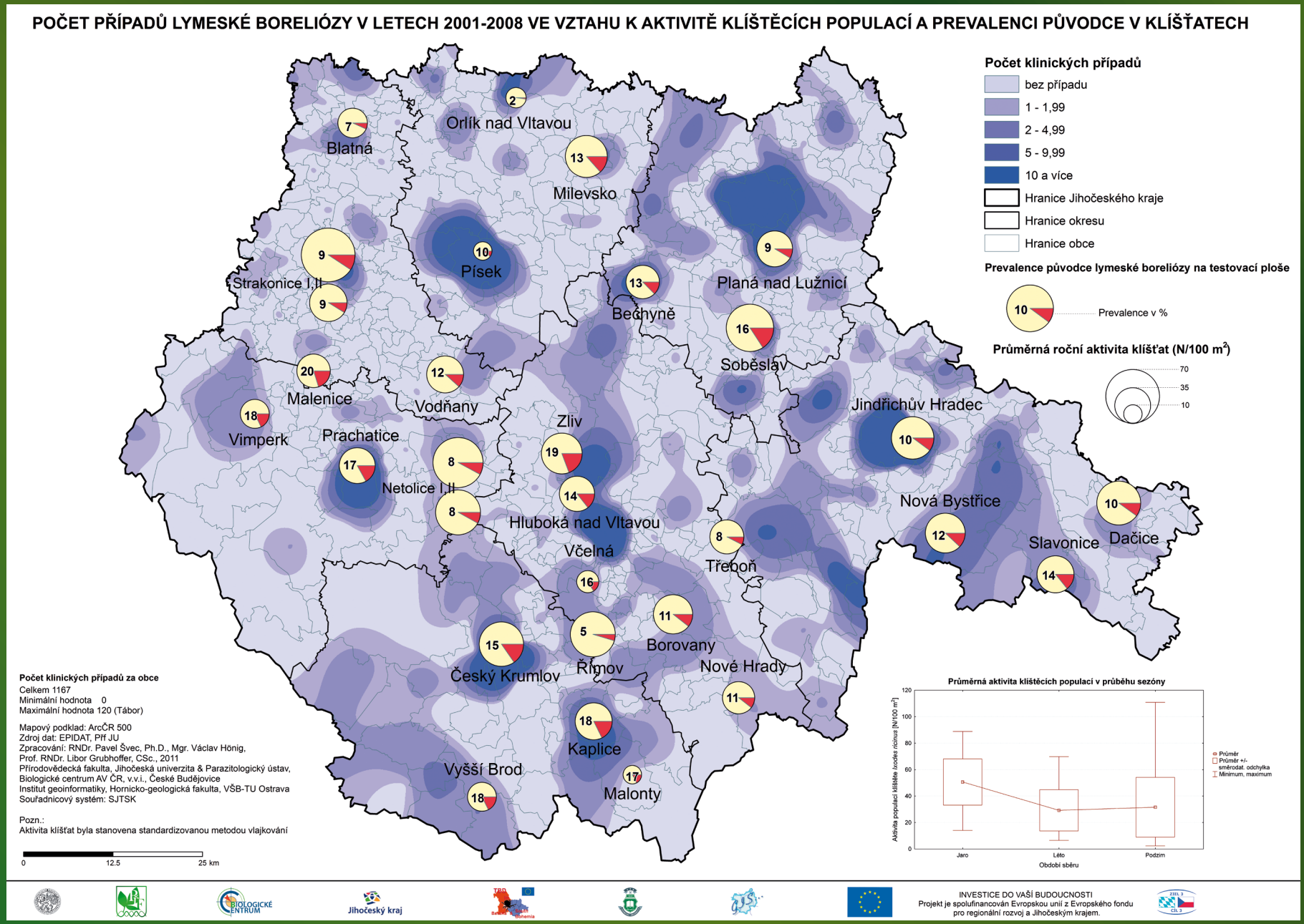
Obr. 8: Aktivita klíšťat na vybraných lokalitách Jihočeského kraje (2008)

Abb. 8: Zeckenaktivität an den ausgewählten Standorten in Südböhmen (2008)



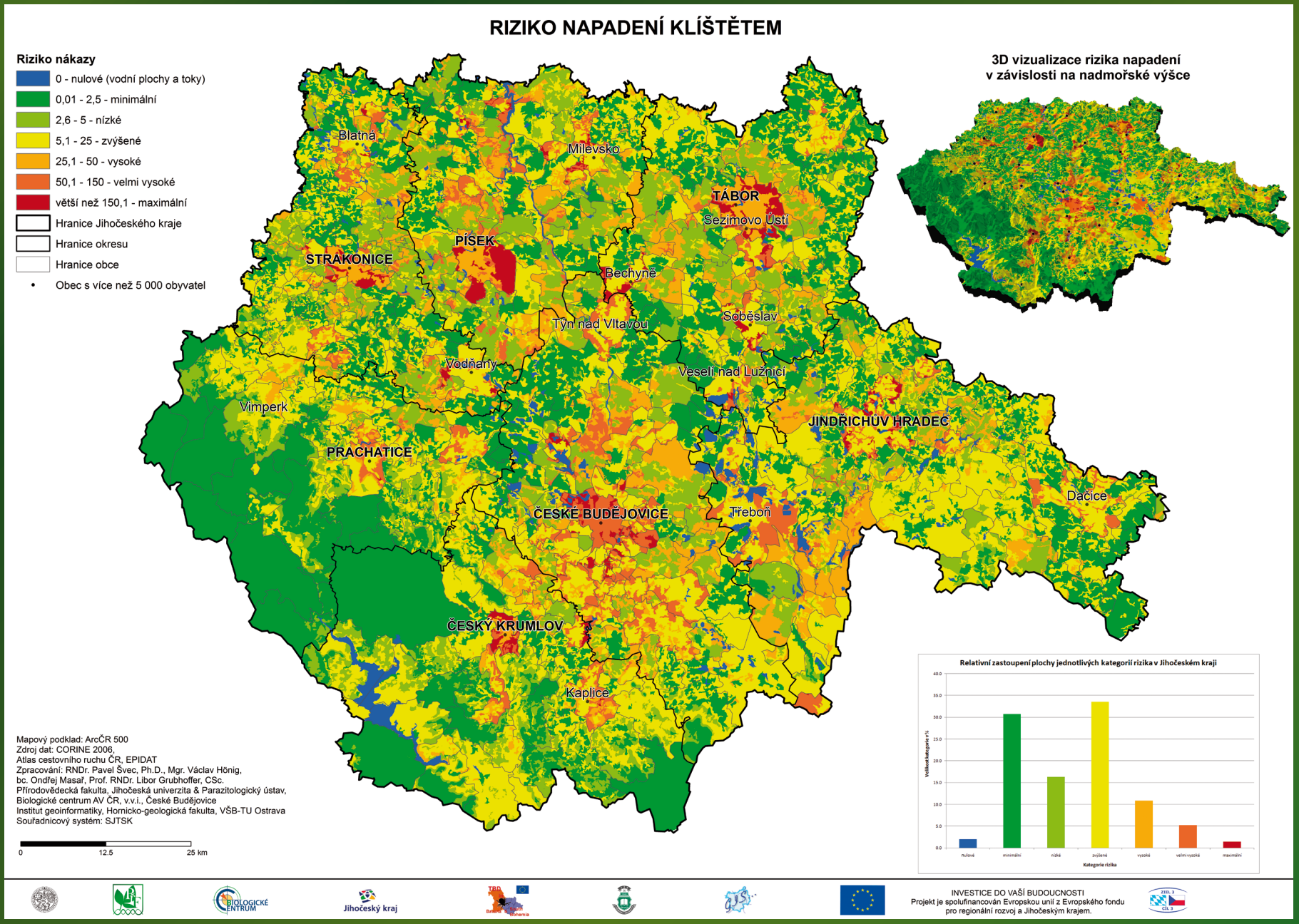
Obr. 9: Detekce viru klíšťové encefalitidy v klíšťatech z vybraných lokalit Jihočeského kraje

Abb. 9: Nachweis des FSME-Virus in Zecken an den ausgewählten Standorten in Südböhmen



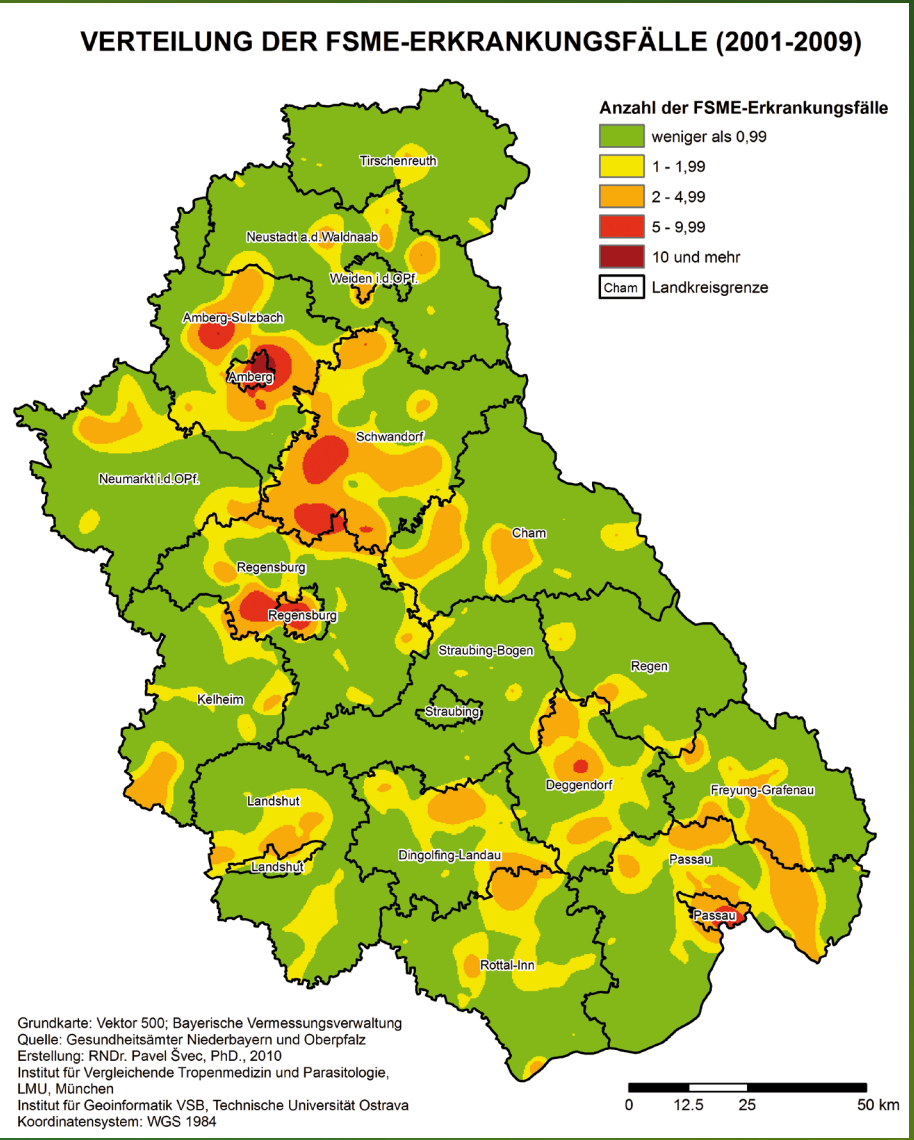
Obr. 10: Prevalence původce lymeské boreliózy v klíšťatech z vybraných lokalit Jihočeského kraje

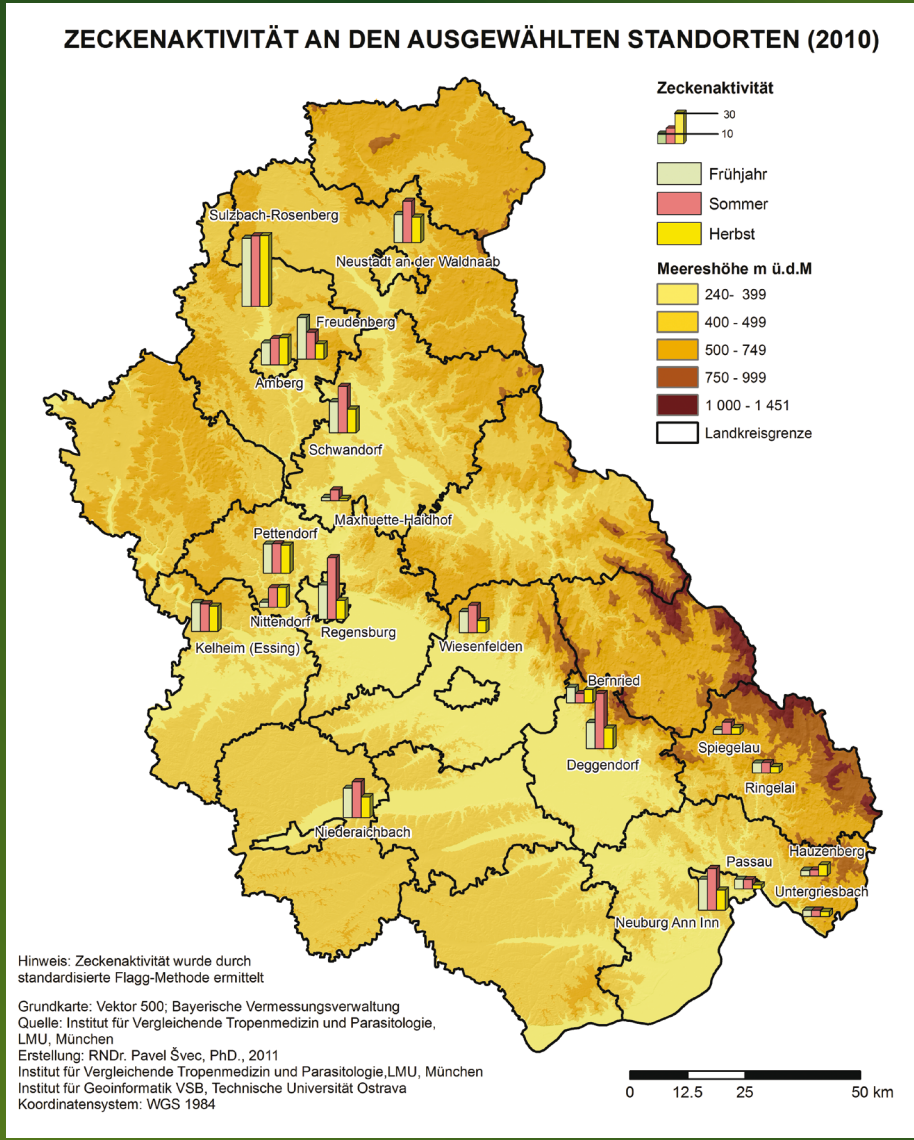
Abb. 10: Prävalenz von Lyme-Borreliose-verursachenden Spirochäten an den ausgewählten Standorten in Südböhmen



Obr. 11: Model rizika napadení klíštětem v Jihočeském kraji

Abb. 11: Modell des Risikos eines Zeckenstichs in Südböhmen



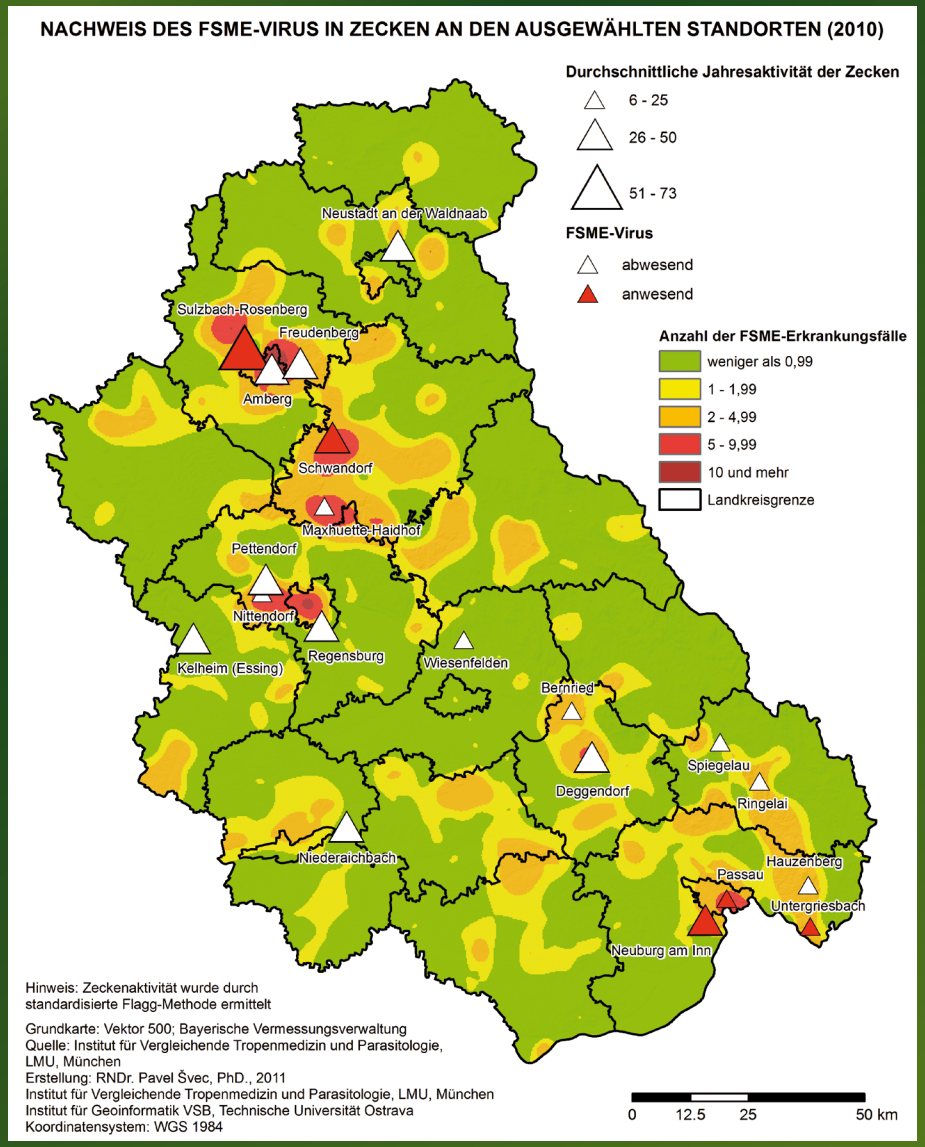


Obr. 12: Výskyt případů onemocnění klíšťovou encefalitidou (2001–2009) v Bavorsku

Abb. 12: Verteilung der FSME-Erkrankungsfälle (2001–2009) in Ostbayern

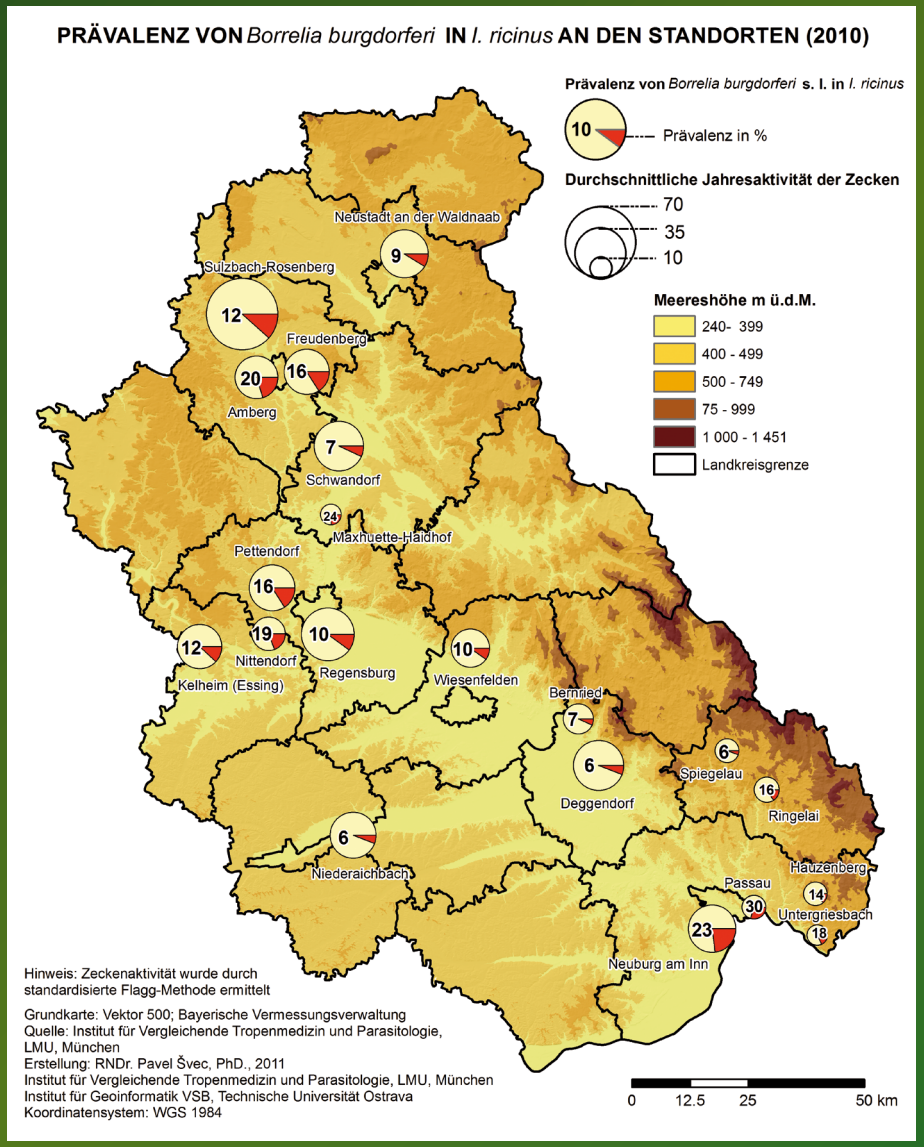
Obr. 13: Aktivita klíšťat na vybraných lokalitách v Bavorsku (2010)

Abb. 13: Aktivität der Zecken an den ausgewählten Standorten in Ostbayern (2010)



Obr. 14: Detekce viru klíšťové encefalitidy v klíšťatech z vybraných lokalit v Bavorsku (2010)

Abb. 14: Nachweis des FSME-Virus in Zecken an den augewählten Standorten in Ostbayern (2010)



Obr. 15: Prevalence původce lymeské boreliózy v klíšťatech z vybraných lokalit v Bavorsku (2010)

Abb. 15: Prävalenz von Lyme-Borreliose-verursachenden Spirochäten an den ausgewählten Standorten in Ostbayern (2010)

Literatura / Literatur

Adlhoch C., Poggensee G. (2010): Lyme Borreliosis: Situation report from the Federal States of Berlin, Brandenburg, Mecklenburg-West-Pomerania, Saxony, Saxony-Anhalt and Thuringia, 2007–2009. UMID Umwelt und Mensch Informationsdienst. 2: 5–8.

Blaškovič D. (1967): The public health importance of tick-borne encephalitis in Europe. Bull. Wld. Hlth. Org. 36: Suppl. 1: 5–13.

Černý V. (1972): The tick fauna of Czechoslovakia. Folia Parasitol (Praha): 19: 81–92

Chambers T.J., Hahn C.S., Galler R., Rice C.M. (1990): Flavivirus genome organization, expression and replication. Annu. Rev. Microbiol. 44: 649–88.

Charrel R.N., Attoui H., Butenko A.M. et al. (2004): Tick-borne virus diseases of human interest in Europe. Clin. Microb. Inf. 10: 1040–55.

Colebrook E., Wall R. (2004): Ectoparasites of livestock in Europe and the Mediterranean region. Vet. Parasitol. 120: 251–74.

CORINE 2006: [online], 20.1.2009. CORINE vegetation landcove project, European Environmental Agency, http://www.eea.europa.eu/data-and-maps/data/corine-land-cover-2006-clc2006-100-m-version-12 2009

ČSÚ, JK: [online], 1.9.2011, Český statistický úřad, Jihočeský kraj. http://www.czso.cz/xc/redakce.nsf/i/home

Daniel M., Danielová V., Kříž B., Jirsa A., Nožička J. (2003): Shift of the tick *Ixodes ricinus* and tick-borne encephalitis to higher altitudes in central Europe. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 22: 327–28.

Daniel M., Materna J., Hönig V., Metelka L., Danielová V., Harčarik J., Kliegrová S., Grubhoffer L. (2009): Vertical distribution of the tick Ixodes ricinus and tick-borne pathogens in the northern Moravian mountains correlated with climate warming (Jeseníky Mts., Czech Republic). Cent. Eur. J. Public Health. 17:1 39–45.

Danielová V., Holubová J. (1991): Transovarial transmission rate of tick-borne encephalitis virus in *Ixodes ricinus* ticks. In: Dusbábek F., Bukva V. (ed.): Modern acarology. Academia, Prague and SPB Academic Publishing bv, The Hague. Vol. 2.: 7–10.

Danielová V., Holubová J., Daniel M. (2002): Tick-borne encephalitis virus prevalence in *Ixodes ricinus* ticks collected in high risk habitats of the South-Bohemian region of the Czech Republic. Exp. Appl. Acarol. 26: 145–151.

Danielová V., Rudenko N., Daniel M., Holubová J., Materna J., Golovchenko M., Schwarzová L. (2006): Extension of *Ixodes ricinus* ticks and agents of tick-borne diseases to mountain areas in the Czech Republic. Int. J. Med. Microbiol. 296: S1: 28–53.

Dib L., Bitam I., Bensouilah M., Parola P., Raoult D. (2009) First description of *Rickettsia monacensis* in *Ixodes ricinus* in Algeria. Clin Microbiol Infect. 2: 261–2.

Ecker M., Allison S.L., Meixner T., Heinz F.X. (1999): Sequence analysis and genetic classification of tick-borne encephalitis viruses from Europe and Asia. J. Gen. Virol. 80: 179–85.

Estrada-Peña A., Jongejan F. (1999): Ticks feeding on humans: a review of records on human-biting Ixodoidea with special reference to pathogen transmission. Exp. Appl. Acarol. 23: 685–715.

Fraser C.M., Casjens S., Huang W.M., Sutton G.G., Clayton R., Lathigra R. et al. (1997): Genomic sequence of a Lyme Disease spirochaete *Borrelia burgdorferi*. Nature. 390: 580–6.

Gern L. (2008): *Borrelia burgdorferi* sensu lato, the agent of Lyme borreliosis: Life in the wilds. Parasite: 15: 244–7.

Gern L., Douet V., López Z., Rais O., Morán-Cadenas F. (2010): Diversity of *Borrelia* genospecies in *Ixodes ricinus* in a Lyme borreliosis nedemic area in Switzerland identified by using new probes for reverse line blotting. Ticks Tick Borne Dis. 1: 23–19.

Goldstein S.F., Charon N.W, Kreiling J.A. (1994): *Borrelia burgdorferi* swims with a planar waveform similar to that of eukaryotic flagella. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 91: 3433–7.

Goldstein S.F., Buttle K.F., Charon N.W. (1996): Structural analysis of the Leptospiraceae and *Borrelia burgdorferi* by high-voltage electron microscopy. J. Bacteriol.178: 6539–45.

Gray J.S., Kirstein F., Robertson J.N., Stein J., Kahl O. (1999): *Borrelia burgdorferi* sensu lato in *Ixodes ricinus* ticks and rodents in a recreational park in south--western Ireland. Exp. Appl. Acarol. 23: 717–29.

Gritsun T.S., Lashkevich V.A., Gould E.A. (2003a): Tick-borne encephalitis. Antiviral res. 57: 129–146.

Haglund M., Günther G. (2003): Tick-borne encephalitis – pathogenesis, clinical course and long-term follow up. Vaccine 21: S1/11-8.

Holzman H., Aberle S.W., Stiastny K., Werner P., Mischak A., Zainer B., Netzer M., Koppi S., Bechter E., Heinz F.X. (2009): Tick-borne encephalitis from eating goat cheese in a mountain region of Austria. Emerg. Inf. Dis. 15: 1671–3.

Hönig V., Švec P., Masař O., Grubhoffer L. (2011): Tick-borne diseases risk model for South Bohemia (Czech Republic). In: Ruzicka J., Peskova K. Symposium GIS Ostrava 2011 – Proceedings, VSB – Technical University of Ostrava, ISBN 978-80-248-2366-9.

Horak I.G., Camicas J.L., Keirans J.E. (2002): The Argasidae, Ixodidae and Nuttalliellidae (Acari: Ixodida): a world list of valid tick names. 28: 27–54.

Hubálek Z., Halouzka J., Juřicová Z. (2003): Host-seeking activity of ixodid ticks in relation to weather variables. J. Vector Ecol. 28: 159–65.

Kunz C. (2002): Vaccination against TBE in Austria: The success story continues. Int. J. Med. Microbiol. 291, Suppl. 33: 56–7.

Kunz C. (2003): TBE vaccination and the Austrian experience. Vaccine 21: S1: 50–55.

Labuda M., Austyn J.M., Zuffova E., Kožuch O., Fuchsberger N., Lysý J., Nuttall P.A. (1996): Importance of localized skin infection in tick-borne encephalitis virus transmission. Virology 219: 357–66.

Labuda M., Kožuch O., Zuffová E., Elecková E., Hails R.S., Nuttall P.A. (1997): Tick-borne encephalitis virus transmission between ticks cofeeding on specific immune natural rodent hosts. Virology 235: 138–43.

Lehrer A.T., Holbrook M.R. (2011): Tick-borne encephalitis vaccines. J. Bioterr. Biodef: S1: 003.

Lindgren E., Jaenson T.G.T. (2006): Lyme borreliosis in Europe: influences of climate and climate change, epidemiology, ecology and adaptation measures. WHO, Copenhagen, Denmark. 34 p.

Logar M., Bogovic P., Cerar D., Avsic-Zupanc T., Strle F. (2006) Tick-borne encephalitis in Slovenia from 2000 to 2004: comparison of the course in adult and elderly patients. Wien. Klin. Wochenschr. 118: 702–7.

Luňáčková J., Chmelík, V., Šípová I., Žampachová E., Bečvářová J. (2003): Epidemiologické sledování klíšťové encefalitidy v jižních Čechách – lokalita Římov. Epidemiol. Mikrobiol. Imunol. 52: 51–8.

Materna J., Daniel M., Danielová V. (2005): Altitudinal distribution limit of the tick *Ixodes ricinus* shifted considerably towards higher altitudes in central Europe: results of three years monitoring in Krkonose Mts. (Czech Republic). Centr. Eur. J. Public Health. 13: 24–8.

Materna J., Daniel M., Metelka L., Harčarik J. 2008. The vertical distribution, density and the development of the tick *Ixodes ricinus* in mountain areas influenced by climate changes (The Krkonoše Mts., Czech Republic). Int. J. Med. Microbiol. 289:25–37.

Mehnert W. H., Krause G. (2005). Surveillance of Lyme borreliosis in Germany, 2002 and 2003. Euro Surveill.10:pii=531.

Nosek J., **Grulich I.** (1967): The relationship between the tick-borne encephalitis virus and the ticks and mammals of the Tribeč mountain range. Bull. Wld. Hlth. Org. 36: Suppl.1:36–47.

Ostfeld R.S., Keesing F. (2000): The function of biodiversity in the ecology of vector-borne zoonotic diseases. Can. J. Zool. 78: 2061-78.

Parola P. and Raoult D. (2001): Tick-borne bacterial diseases emerging in Europe. Clin. Microbiol. Infect. 7: 80–3.

Paulauskas A., Radzijevskaja J., Rosef O. (2009): Anaplasma in ticks feeding on migrating birds and questing ticks in Lithuania and Norway. Clin. Microbiol. Infect. 15 Suppl 2:34–6.

Pietzsch M.E., Medlock J.M., Jones L., Evenelli D., Abbott J., Harding P., Leach S. (2005): Distribution of *Ixodes ricinus* in British Isles: investigation of historical records. 19: 306–314.

Randolph S.E., Green R.M., Hoodless A.N., Peacey M.F. (2002): An empirical quantitative framework for the seasonal population dynamics of the tick *Ixodes ricinus*. Int. J. Parasitol. 979–89.

Randolph S.E. (2009): Epidemiological consequence of the ecological physiology of ticks. Advances in Tick Physiology 37: 297–339.

Rijpkema S. G. T., . Molkenboer, M. J. C. H., Schouls, L. M., Jongejan F., Schellekens J. F. P. (1995). Simultaneous Detection and Genotyping of Three Genomic Groups of *Borrelia burgdorferi* Sensu Lato in Dutch *Ixodes ricinus* Ticks by Characterization of the Amplified Intergenic Spacer Region between 5S and 23S rRNA Genes. J. Clin. Microbiol. 33: 3091–5.

Rizzoli A., Hauffe H.C., Carpi G., Vourch G.I., Neteler M., Rosa R. (2011). Lyme borreliosis in Europe. Eurosurveilance. 16: pii=19906

Sarih M., Jouda F., Gern L., Postic D. (2003): First isolation of *Borrelia burgdorferi* sensu lato from *Ixodes ricinus* ticks in Morocco. Vector Borne Zoonotic Dis. 3:133–9.

Schwaiger M., Cassinotti P. (2003). Development of a quantitative real-time RT-PCR assay with internal control for the laboratory detection of tick borne encephalitis virus (TBEV) RNA. J. Clin. Virol. 27: 136–45.

Stanek G., Fingerle V., Hunfeld K.-P., Jaulhac B., Kaiser R, Krause A., Kristoferitsch, O'Connel S., Ornstein K., Strle F., Gray J. (2011): Lyme borreliosis: Clinical case definition for diagnosis and management in Europe. Clin. Microbiol. Infect. 17: 69–79.

Stünzner D., Hubálek Z., Halouzka J., Wendelin I., Sixl W., Marth E. (2006): Prevalence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in the *Ixodes ricinus* in the Styrian mountains of Austria. Wien. Klin. Wochensch. 118: 682–5.

Süss J. (2003): Epidemiology and ecology of TBE relevant to the production of effective vaccines. Vaccine: 21:S1 19–35.

Süss J. (2008): Tick-borne encephalitis in Europe and beyond – the epidemiological situation as of 2007. Eurosurveillance:13(26): pii=18916.

Süss J. (2011). Tick-borne encephalitis 2010: Epidemiology, risk areas, and virus strains in Europe and Asia – An overview. Ticks and Tick-borne Dis. 2: 2–15.

Švec P., Hönig V., Daniel M., Danielová V. Grubhoffer L. (2009): Využití GIS pro mapování klíšťat a klíšťaty přenášených patogenů v Jihočeském kraji. V: Geografie-sborník České geografické společnosti. 114: 157–68.

SZÚ, EPIDAT: [online], 1.9.2011, Státní zdravotní ústav Praha, http://www.szu.cz/publikace/data/infekce-v-cr

Vatansever Z., Gargii A., Aysul N.S., Sngoz G., Estrada-Peña A. (2008): Ticks biting humans in the urban area of Istanbul. Parasitol. Res. 102: 551-3.

WHO, CISID: [online], 1.9.2011, World Health Organisation, http://data.euro.who.int/cisid/

Yasuykevich V.V., Kazakova E.V:, Popov I.O., Semenov S.M. (2009): Distribution of *Ixodes ricinus* L., 1758 and *Ixodes persulcatus* Schulze, 1930 (Parasitoformes, Ixodidae) in Russia and adjacent countries in view of observable climate changes. Doklady Earth Sciences. 427: 1030–4.

Younsi H., Postic D., Baranton G., Bouattour A. (2001): High prevalence of *Borrelia lusitaniae* in *Ixodes ricinus* ticks in Tunisia. Eur. J. Epidemiol. 17: 53–6.

Seznam zkratek

ACA	acrodermatitis chronica atrophicans
B.	Borrelia
B.b. s.l.	*Borrelia burgdorferi* sensu lato
ČR	Česká republika
EM	erythema migrans
GIS	geografické informační systémy
obyv.	obyvatel
KPN	klíšťaty přenášené nákazy
KPP	klíšťaty přenášené patogeny
KE	klíšťová encefalitida
PCR	polymerázová řetězová reakce (ang. „polymerase chain reaction“)
VKE	virus klíšťové encefalitidy
LB	lymeská borelióza

Liste der Abkürzungen

B.	Borrelia
B.b.s.l.	*Borrelia burgdorferi* sensu lato
EW.	Einwohner
FSME	Frühsommer-Meningoenzephalitis
GIS	Geographische Informationssysteme
LB	Lyme Borreliose
PCR	Polymerase-Kettenreaktion (englisch “Polymerase Chain Reaction”)
real-time RT-PCR	real-time Reverse Transkription PCR

KLÍŠŤATA A JIMI PŘENÁŠENÁ ONEMOCNĚNÍ V JIHOČESKÉM KRAJI A BAVORSKU /
ZECKEN UND ZECKEN-ÜBERTRAGENE INFEKTIONSKRANKHEITEN IN SÜDBÖHMEN UND BAYERN

Václav Hönig, Dana Zubriková, Maria Vögerl, Pavel Švec, Kurt Pfister, Libor Grubhoffer

Vydala Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Přírodovědecká fakulta, Branišovská 31, 370 05 České Budějovice
*ve spolupráci s / in Kooperation m*it
Institut für Vergleichende Tropenmedizin und Parasitologie, Tierärztliche Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität, München

halama
Grafické studio a nakladatelství

Obálka, grafická úprava, sazba a zlom Grafické studio a nakladatelství Tomáš Halama, Klaricova 888/5, České Budějovice
Vytiskla tiskárna PBtisk Příbram, vydání první, České Budějovice 2011, počet stran 80, náklad 500 výtisků
ISBN 978-80-7394-309-7

9 788073 943097

LMU LUDWIG-MAXIMILIANS-UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Jihočeský kraj