

Prva izolacija borelije (*Borrelia afzelii*) iz likvora bolesnika s neuroboreliozom u Hrvatskoj

Tomislav MARETIĆ, mr. sc., dr. med.,
specijalist infektologije
Branka BENIĆ, prim. dr. med.,
specijalist infektologije,
Oktavija ĐAKOVIĆ-RODE, mr. sc.,
dr. med., specijalist mikrobiologije
Dubravka BERITIĆ, dr. med.,
specijalist infektologije
Eva RUŽIĆ-SABLJIĆ¹, prof. dr. sc.,
dr. med., specijalist mikrobiologije

Klinika za infektivne bolesti "Dr. Fran
Mihaljević, Zagreb, Mirogojska 8, Hrvatska
¹Mikrobiološki Institut, Ljubljana, Zaloška 4
10 000 Slovenija

Ključne riječi

neuroborelioza
Borrelia afzelii
cerebrospinalni likvor

Key words

neuroborreliosis
Borrelia afzelii
cerebrospinal fluid

Primljeno: 2009-04-30

Received: 2009-04-30

Prihvaćeno: 2009-06-12

Accepted: 2009-06-12

Prikaz bolesnika

Opisan je bolesnik s lajmskom boreliozom koja se manifestirala eritemom migrans na licu mjesec dana nakon uboda krpelja te poslije jednog mjeseca razvitkom faciopareze po perifernom tipu uz limfocitni meningitis (127 stanica/ μ L i 78 % limfocita). Klinička slika neuroborelioze bila je razmjerno blaga. Bolesnik je liječen parenteralno ceftriaksonom kroz tri tjedna, uz dobar učinak antibiotske terapije te gotovo potpuno povlačenje klijenuti ličnog živca do kraja hospitalizacije. Bolesnik je imao reaktivna protutijela IgG na *B. burgdorferi* u serumu. Utvrđen je pozitivan indeks intratekalne sinteze protutijela IgM i IgG za borelije (specifičan test IDEIA Lyme Neuroborreliosis Oxoid, Velika Britanija). Imunosne pretrage na krpeljni meningoencefalitis, varicela-zoster virus i herpes simplex bile su negativne u serumu i u likvoru. U Mikrobiološkom institutu Medicinskog fakulteta u Ljubljani obrađen je likvor specifičnim uzgojnim metodama te je kultivirana *B. burgdorferi* sensu lato. Poslije kultivacije uzročnika izvršena je identifikacija borelijske vrste restrikcijom cjelokupnog borelijskog genoma enzimom *MluI* čime je utvrđen uzročnik bolesti: *Borrelia afzelii*. Premda se u Hrvatskoj neuroborelioza dijagnosticira i liječi preko dvadesetak godina, borelija dosada nije bila izolirana iz cerebrospinalnog likvora u naših pacijenata.

First isolation of *Borrelia* sp. (*Borrelia afzelii*) from cerebrospinal fluid in a patient with neuroborreliosis in Croatia

Case report

We describe a patient with lyme borreliosis that manifested with facial erythema migrans one month after tick bite and consequently with peripheral facial paresis with lymphocyte meningitis (127 cells/ μ L and 78 % lymphocytes). Clinical picture of neuroborreliosis was relatively mild. The patient received ceftriaxone parenterally for three weeks, with beneficial effect of antibiotic therapy and almost complete resolution of facial paresis until discharge from hospital. Reactive IgG antibodies to *B. burgdorferi* were found in the patient's serum. A positive index of intrathecal synthesis of IgM and IgG antibodies to borreliae was determined (specific test IDEIA Lyme Neuroborreliosis Oxoid, Great Britain). Immunological examination for detection of tick-borne meningoencephalitis, varicella-zoster virus and herpes simplex proved negative in both serum and cerebrospinal fluid (CSF). *B. burgdorferi* sensu lato was isolated from CSF using specific culturing techniques at the Institute of Microbiology and Immunology of the Medical Faculty, University of Ljubljana. After cultivation of the pathogen, identification of *Borrelia* species was performed by using restriction enzyme *MluI* thus determining the causative agent of neuroborreliosis: *Borrelia afzelii*. Although neuroborreliosis has been diagnosed and treated for over twenty years in Croatia, so far *Borrelia* has never been isolated from cerebrospinal fluid in our patients.

Uvod

Lajmska boreliozna zoonoza je izazvana borelijama iz kompleksa *Borrelia burgdorferi* sensu lato, a na čovjeka je prenose šumski krpelji, za vrijeme krvnog obroka [1]. Lajmska boreliozna je najraširenija „krpeljna“ bolest kako u Europi tako i u Sjevernoj Americi [2]. Kao takva u Hrvatskoj višestruko nadmašuje krpeljni meningoencefalitis koji prenose isti vektori, to jest krpelji *Ixodidae* [3]. Odnos lajmske boreliozne i krpeljnog meningoencefalitisa u sjeverozapadnoj Hrvatskoj iznosi 3:1 [4]. Premda se najčešće očituje samo kliničkom slikom „širećeg“ crvenila – erythema migrans, riječ je o multistemskoj bolesti, koja se dijeli na ranu (1. i 2. stadij) i kasnu infekciju (3. stadij) (Tablica 1) sa zahvaćanjem kože, zglobova, živčanog sustava i srca [2, 5], a znatno rjeđe oka, bubrega i jetre [2]. Bolest samo u iznimnim slučajevima izaziva kronične neurološke posljedice [6], a iznimno rijetka smrtnost bila je načelno vezana uz prateće i kronične bolesti [7]. Opisana je smrtonosna dvojna infekcija krpeljnog encefalitisa s lajmskom boreliozom [8].

U Hrvatskoj se godišnje prosječno bilježi oko 300 slučajeva lajmske boreliozne (100 do preko 500) (Slika 1) [9], najčešće u proljetno ljetnim mjesecima u doba učestalijih krpeljnih uboda, što je dakako, vezano kako uz aktivnost krpelja tako i uz boravak ljudi u prirodi [10–18], no vjerojatno i uz neke neistražene epizootske čimbenike.

Uzročnik lajmske boreliozne *B. burgdorferi* sensu lato se danas dijeli na 14 genospecijesa. Od njih su četiri vrste patogene za čovjeka: *B. burgdorferi* sensu stricto (SAD i Europa), *B. afzelii* (Europa i Azija), *B. garinii* (Europa i Azija) [19, 20], te razmjerno novo otkrivena kao humani patogen: *B. spielmanii* (Europa) [21–23]. Premda sve

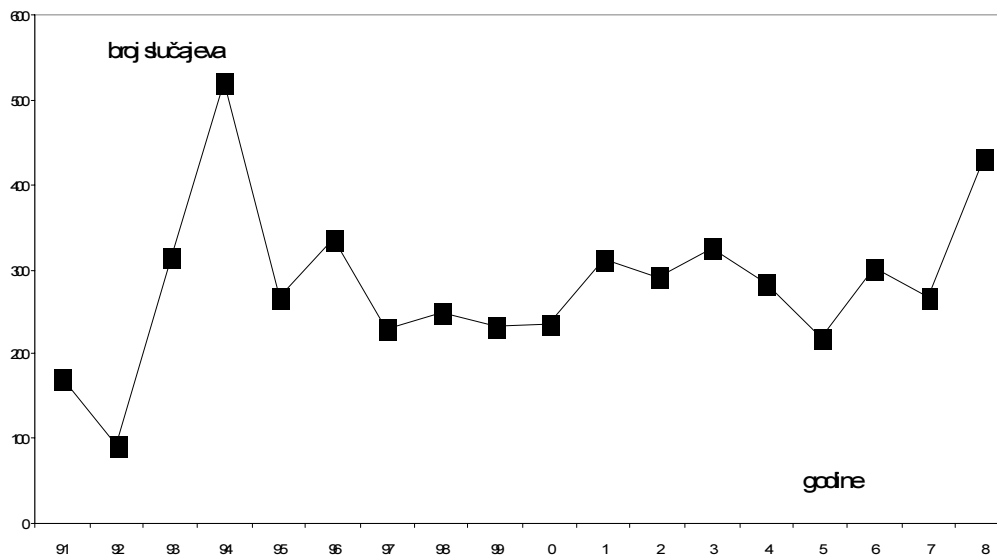
borelije mogu izazvati cjelokupni spektar kliničkih manifestacija vezanih za taj entitet, *B. burgdorferi* sensu stricto izaziva pretežito reumatske manifestacije, *B. afzelii* kožne, *B. garinii* neurološke [19], a *B. spielmanii* je za sada, kao što govore novija otkrića iz Nizozemske, Mađarske, Slovenije i Njemačke, vezana samo uz kožne promjene, to jest erythema migrans [21–23]. Za patogenost inih genospecijesa, prije svega *B. bissettii*, potom *B. valaisiana* i *B. lusitaniae* postoje određeni podaci i izolacije, no još zasa-da ne i jasne potvrde o patoetiologiji [24–27].

U Hrvatskoj prvi opis erythema migrans (Afzelii-Lipschütz) datira iz 1940. [28]. Morbus Lyme, to jest borelijska infekcija s erythema migrans, reumatskim i blagim neurološkim manifestacijama opisana je 1986. [29], a Bannwarthov sindrom 1988. [30]. Uzročnika je u nas prvi put izolirala 1992. S. Bolanča-Bumber [31], godine 1998. genotipizacijom iz kože bolesnice s erythema migrans utvrđena je *B. afzelii* [32], dok je iste godine lančanom polimeraznom reakcijom na temelju sekvencija i filogenetske raščlambe utvrđena *B. afzelii* u krvi 10 bolesnika s erythema migrans [33]. Godine 2002. prvi je put u Hrvatskoj izolirana *B. garinii* iz kože bolesnice s klinički jasnim erythema migrans, bez popratnih neuroloških i/ili inih manifestacija [34].

Do sada *B. burgdorferi* sensu lato nije u nas izolirana u likvorskom materijalu bolesnika s neuroboreliozom.

Prikaz bolesnika

Bolesnik, osmogodišnji dječak, hospitaliziran je 7. studenoga 2006., trećeg dana bolesti koja se očitovala kao klinički lijevog ličnog živca po perifernom tipu, bez drugih simptoma bolesti.



Slika 1. Lajmska boreliozna u Hrvatskoj (1991.–2008.) [9]

Figure 1. Lyme borreliosis in Croatia (1991–2008) [9]

Tablica 1. Kliničke manifestacije lajmske borelioze [5]**Table 1.** Clinical manifestations of Lyme borreliosis [5]

SUSTAV / SYSTEM	Rana infekcija / Early infection		Kasna infekcija / Late infection
	Lokalna infekcija stadij 1. / Localized infection, Stage 1.	Diseminirana infekcija, stadij 2./ Disseminated infection, Stage 2	Perzistentna infekcija, stadij 3./ Persistent infection, Stage 3.
Koža/Skin	Erythema migrans	Multipli eritemi, limfocitom, urtikarija, makulozni osip/ Multiple erythema, lymphocytoma, urticaria, macular rash	Acrodermatitis chronica atrophicans (ACA)
Mišićno koštani sustav/ Musculoskeletal system		Migratorne artralgijske boli u mišićima, tetivama, burzama, kostima, kratkotrajni artritis / Migratory arthralgias, pain in muscles, tendons, bursae, bone, short term arthritis	Produženi napadaji artritisa, kronični artritis, periferne entezopatije, periostitis ili luksacije vezane za ACA/ Prolonged arthritis attacks, chronic arthritis, peripheral enthesopathy, periostitis or joint subluxations below acrodermatitis
Neurološki sustav/ Neurologic system		Meningitis, kranijalni neuritis, Bellova kljenut, motorni i senzorni radikuloneuritis, blagi encefalitis, mononeuritis multiplex (rjetko: mijelitis, korea, cerebelarna ataksija) / Meningitis, cranial neuritis, Bell's palsy, motor or sensory radiculoneuritis, subtle encephalitis, mononeuritis multicomplex (rarely: myelitis, corea, cerebellar ataxia)	Kronični encefalomijelitis, spastička parapareza, ataktički hod, blagi mentalni poremećaji, kronična aksonalna poliradikulopatija/ Chronic encephalomyelitis, spastic parapareses, ataxic gait, subtle mental disorders, chronic axonal polyradiculopathy
Limfatički sustav/Lymphatic system	Regionalna limfadenopatija / Regional lymphadenopathy	Regionalna i generalizirana limfadenopatija Splenomegalija/ Regional or generalized lymphadenopathy Splenomegaly	
Srce/Heart		AV-blokovi pankarditis / Atrioventricular nodal block, pancarditis	
Konstitucionalni simptomi/ Constitutional symptoms	Minorni / minor	Teška nevoljkost i umor/ Severe malaise and fatigue	Umor/Fatigue

Bolesnika je 6. rujna 2006. krpelj ubo za lijevu ušku, a krpelj je stečen u okolici Bjelovara. Početkom listopada, mjesec dana poslije uboda pojavilo se crvenilo na lijevom obrazu („kao da je ošinit šibom po licu!“), erythema migrans i to u obliku polukružne vrpce, koja se, poslije pet

dana bila spontano povukla. No poslije nekoliko dana crvenilo se opet pojavljuje na istom mjestu i poslije 3–4 dana konačno spontano nestaje. Bolesnik nije radi erythema migrans liječen antibioticima. Mjesec dana kasnije, točnije, dne 5. studenoga 2009. roditelji zamjećuju dječā-

kovo „kreveljenje“, što se uskoro dijagnosticira kao kljevnut lijeve strane lica, odnosno lijevostrana faciopareza po perifernom tipu. Dječak nije imao glavobolju, nije zamijećena povišena temperatura, ni opći infektivni simptomi. Nije imao radikularne bolove kao ni artralgijske te se uopće ni na što nije tužio.

Najčešće dječje bolesti nije prebolio. Osim češćih streptokoknih angina inače je bio zdrav. U ranijem djetinjstvu laserski mu je odstranjen hemangioma na glavi. Uredno je procijepljen. Nije alergičan na lijekove ni druge agense.

U kliničkom statusu bio je supfebrilan (37,5 °C), pokretan, bistre svijesti, s vidljivom parezom lijevog facijalnog živca po perifernom tipu, uz blagi lagofthalmus. Meningitički sindrom bio je negativan, uz urednu bulbomotoriku i uredan ostali neurološki i somatski status. Osnovni serumski laboratorijski nalazi bili su kod dolaska uredni (GUK 5,3 mmol/L, urea-N 6,0 mmol/L, kreatinin 89 μmol/L, Na 141 mmol/L, K 4,2 mmol/L, Cl 101 mmol/L, ASAT 28 U/L, ALT 20 U/L, gGT 11 U/L, LDH 190 U/L), uz niske upalne parametre (SE 5 mm/h, CRP 0,3 mg/L, E $4,95 \times 10^{12}$, Hgb 139 g/L, HCT 0,404 L/L, MCV 81,6 fL, TRC 269×10^9 , L: $8,9 \times 10^9$, ne 55,5 %, ly 34,4 %, mo 7,1 %, eo 2,3 %, ba 0,7 %), kao i kasnije nalazi kod otpusta (SE 3/h, CRP 0,4 mg/L, E $4,86 \times 10^{12}$, Hgb 138 g/L, HCT 0,388 L/L, MCV 79,9 fL, TRC 222×10^9 , L: $7,5 \times 10^9$, neutrofili 41,0 %, limfociti 42,7 %, monociti 10,1 %, eozinofili 4,0 %, GUK 4,3 mmol/L, urea-N 4,8 mmol/L, Na 141 mmol/L, K 4,0 mmol/L, Cl 103 mmol/L, ASAT 30 U/L, ALT 25 U/L, urin biokemijski uredan, bakteriološki sterilan). Lumbalnom punkcijom dobio se bistar cerebrospinalni likvor, urednog tlaka, uz mononuklearnu, to jest pretežito limfocitnu pleocitozu s 127 stanica/μL, od čega 3 % polinukleara, 97 % mononukleara. U citološkom nalazu limfociti su bili zastupljeni u 78 %, plazma stanice 3 %, mononukleari 16 %, eozinofil 1 %, bazofil 1 %, neutrofili 1 %. Likvor je bio bakteriološki sterilan. Nalaz očne pozadine bio je uredan, kao i EEG. U elektrokardiogramu je postojala tendencija bradikardiji, bez produženja pQ-intervalu i drugih poremećaja.

Dijagnostičke metode

Zbog sumnje na moguću neuroboreliozu 7. studenoga 2006. uzet je likvor i serum za određivanje specifičnih borelijskih protutijela IgM i IgG (LIAISON *Borrelia* IgM/IgG DiaSorin, Saluggia, Italija). Reaktivna protutijela IgG za borelije nađena su u serumu, dok su protutijela IgM bila negativna. Protutijela IgM i IgG u likvoru bila su nereaktivna. Reaktivni rezultat iz seruma provjeren je imunoblot testom (recomBlot *Borrelia* IgM/IgG, Mikrogen, Neuried, Njemačka) koji je bio negativan kako za IgM tako i za IgG. Za određivanje intratekalnih protutijela napravljen je dodatni specifični test (IDEIA Lyme Neuroborreliosis Oxoid,

Velika Britanija) koji definira indeks intratekalne sinteze protutijela budući da se temelji na istovremenom testiranju likvora i seruma i preračunavanju odnosa izmjerenih ekstinkcija u specifičan indeks. Test je pokazao pozitivan indeks intratekalne sinteze protutijela IgM i IgG za borelije.

Imunosne pretrage iz seruma na druge možebitne infektološke uzročnike seroznog meningitisa (krpeljni meningoencefalitis, varicela-zoster virus, herpes simplex) bile su negativne u serumu i u likvoru.

Kontrolni serum uzet je 4. siječnja 2007. i testiran na borelije. Nalaz se nije bitno razlikovao od prvog nalaza, samo s reaktivnim odgovorom protutijela IgG u serumu i bez potvrde u imunoblot testu.

Prilikom lumbalne punkcije 2 mL likvora zasađena su na MKP (modificiranu Kelly-Pottenkofer) podlogu te pohranjeni na 33 °C. Poslije nekoliko dana hranilište je upućeno na obradu u Mikrobiološki institut Medicinskog fakulteta u Ljubljani. Jednom tjedno kulture se precijepuju na svježe hranilište i mikroskopiraju u tamnom polju. Uzgoj obično uspijeva poslije 14 do 20 dana, no ponekad je potrebno i do 9 tjedana kultivacije [35]. Nakon što se uzgoji *Borrelia burgdorferi* sensu lato određuje se identifikacija borelijske vrste restrikcijom cjelokupnog borelijskog genoma s restriksijskim enzimom *MluI*, poslije čega se elektroforezom u pulzirajućem električnom polju (engl. pulsed-field gel electrophoresis, PFGE) određuje borelijska vrsta na temelju nazočnosti genomskih fragmenata specifičnih za svaki species. Izolacija kromosomske DNK i plazmida iz kulture borelije učinjena je metodom insercije u gelu. Metodom PFGE moguće je definirati i podskupinu unutar određene borelijske vrste, što može imati i epidemiološko-epizootski odjek. Različitost plazmidnih profila borelija može omogućiti razlikovanje različitih sojeva unutar iste borelijske vrste [35]. Učinjen je i prikaz bjelančevina nakon obrade uzorka natrijevom-dodecil sulfatom (SDS) i merkaptetanom elektroforezom u 12 % poliakrilamidnom gelu (PAGE) sa sistemom „mini Protean II“ (BioRad Lab, München). Pri svakoj separaciji koristio se standard molekulske mase [35].

Spomenutim metodama ustanovljeno je da se radi o uzročniku: *Borrelia afzelii*.

Liječenje i tijek bolesti

Na temelju kliničke slike, laboratorijskih nalaza i epidemiološke anamneze u bolesnika se odmah posumnjalo na neuroboreliozu te je bolesnik od dolaska liječen antibioticima. Primao je hospitalno ceftriakson 1×2 grama i.v. za boravka, tj. od 7. do 22. studenoga 2006., a potom još do 7. prosinca 2006. u „Dnevnoj bolnici“, ukupno 21 dan antibiotske terapije. Osim supfebriliteta kod dolaska, bolesnik je kasnije bio stalno afebrilan, uz postlumbalne tegobe prvih dana zbog čega je dobivao analgetike. Radi nazna-

čenog lagoftalmusa 2 puta dnevno primjenjivana je očna mast tobramicin (Tobrex). Tijekom liječenja pareza ličnog živca gotovo se u potpunosti povukla, a na kontrolnom pregledu poslije mjesec dana neurološki je nalaz bio uredan.

Rasprava

Zahvaćanje živčanog sustava u lajmskoj boreliozu može se dogoditi s prethodnom pojavom erythema migrans ili bez nje. U svakom slučaju erythema migrans jasan je označitelj borelijske infekcije te se susljedne pojave neuroloških i reumatoloških manifestacija mogu i trebaju već na temelju kliničkog promatranja prihvatiti kao vjerojatna neuroboreliozna [2]. U praksi najvažnija dijagnostička potvrda borelijske etiologije zahvaćenog živčanog sustava jest dokaz intratekalnog stvaranja specifičnih protuborelijskih protutijela [36, 37]. U početku bolesti to ne uspijeva uvijek te je za dijagnostiku ponekad potrebna kasnija lumbalna punkcija uz ponovljenu pretragu likvora na intratekalnu proizvodnju protutijela [36, 37]. Preporučljivo je u međuvremenu isključiti moguće druge uzročnike neuroloških manifestacija radi mogućnosti preklapanja simptoma različitih bolesti. Definitivna je dijagnoza neuroborelioze izolacija borelije iz bolesnikova likvora, što u praksi rijetko dolazi u obzir s obzirom na rijetke laboratorije koji su osposobljeni za taj postupak, a i osjetljivost metode nije visoka (zbog primjerice problema oko količine uzorka, obrade, dugotrajnosti i složenosti metode). Međutim, izolacija borelije iz likvora osim što daje konačnu dijagnozu može biti istraživački itekako zanimljiva u usporedbi različitih vrsta borelija i kliničkih manifestacija neuroborelioze.

Naš bolesnik je bio dječak iz bjelovarskog kraja, iz čije je uže i šire regije referirana lajmska boreliozna kao i krpeljni meningoencefalitis [10, 11]. Krpelj ga je ubo početkom rujna, što je razmjerno kasno budući da se najviše krpeljnih uboda događa u lipnju i srpnju. Ubodi krpelja događaju se tijekom cijele godine, no neusporedivo manje u hladnom dijelu godine. Poznata je činjenica da djeca za razliku od odraslih bivaju znatno češće ubodeni za glavu, uz pojavu erythema migrans na licu [2]. Zanimljivo je da je dječak bio uboden za ušku, inače predilekcijskom mjestu za nastanak borelijskog limfocitoma (Lymphadenosis cutis benigna) [38]. No do razvitka ovoga nije došlo. Namjesto toga razvila se, po opisu roditelja, tipična „borelijska vrpca“ na licu, uz pojavu istostrane kljenuti n. facijalisa, i uz kasnije utvrđen lajmski meningitis, bez radikularnih bolova, što u odraslih inače pravi trojstvo kojim je definiran Bannwarthov sindrom [39]. Erythema migrans se ubrzo povukao i recidivirao, no kao takav nije bio dijagnosticiran te dječak nije dobio potrebnu antibiotsku terapiju (azitromicin, amoksicilin ili cefuroksim) koja bi mogla spriječiti prijelaz u drugi stadij s neurološkim manifestacijama.

Pozitivan indeks intratekalne sinteze protutijela (u IgM, a pogotovo u IgG razredu) ustanovljen je 2 mjeseca poslije uboda krpelja, a 1 mjesec od pojave erythema migrans.

Ranije spomenutim uzgojnim metodama kultivirana je *B. burgdorferi* sensu lato, a nakon kultivacije uzročnika izvršena je identifikacija vrste te plazmidni i proteinski profil. Profil s *MluI* razrezane borelijske DNK utvrdio je genospecies *B. afzelii*.

U Sloveniji od 40 borelijskih sojeva izoliranih iz cerebrospinalnog likvora 25 (62 %) su bile *B. garinii*, 14 (35 %) *B. afzelii* te jedna (2,5 %) *B. burgdorferi* sensu stricto [40].

Posebnu organotropiju za živčani sustav među borelijskim vrstama, kako je dobro poznato, pokazuje *B. garinii*, međutim, i druge vrste izazivaju kliničke manifestacije iz cjelokupnog poznatog spektra lajmske borelioze [19], uključujući neurološke manifestacije, kao i u našeg bolesnika.

Do sada u Hrvatskoj još nije bio izoliran uzročnik borelijske infekcije iz likvora, te ova izolacija vrste *B. afzelii* predstavlja prvi takav izvještaj.

Literatura

- [1] Burgdorfer W. Lyme borreliosis of ticks and spirochetes. Acta Dermatoven A.P.A. 1996; 5(3-4): 87-92.
- [2] Stanek G, Strle F. Lyme borreliosis. Lancet 2003;362:1639-47.
- [3] Borčić B. Epidemiologija zaraznih bolesti (odabrana predavanja), Zagreb, 1998: 176-187.
- [4] Golubić D i sur. Lajmska boreliozna u djece u sjeverozapadnoj Hrvatskoj. Pediatr Croat 2000;44:151-5.
- [5] Steere AC. Lyme disease. N Engl J Med 1989; 321:586.
- [6] Seltzer EG, Gerber MA, Cartter ML, Freudigman K, Shapiro ED (February 2000). "Long-term outcomes of persons with Lyme disease". JAMA 2000; 283(5): 609-616.
- [7] Cary NR, Fox B, Wright DJ, Cutler SJ, Shapiro LM, Grace AA. Fatal Lyme carditis and endodermal heterotopia of the atrioventricular node. Postgrad Med J 1990;66(772):134-136.
- [8] Oksi J, Viljanen MK, Kalimo H, Peltonen R et al. Fatal encephalitis causes by concomitant infection with tick-borne encephalitis virus and *Borrelia burgdorferi*. Clin Infect Dis 1993; 16: 392-396.
- [9] Aleraj B. Registar zaraznih bolesti, Služba za epidemiologiju Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo. Osobno priopćenje (2009.).
- [10] Margetić T, Ropac D, Kršić B, Cvirm P i sur. Epidemiološke značajke Lyme borelioze u centralnoj Hrvatskoj. U: Lyme boreliozna u Jugoslaviji. Zbornik MAH, Ropac D, ur. Zagreb 1989: 23-34.
- [11] Mišić-Majerus Lj, Bujčić N, Mađarić V, Knežević V. Lyme boreliozna na području Kalničke panonije. Lyme boreliozna u Jugoslaviji, Zbornik MAH, D. Ropac ur., Zagreb 1989: str. 101-107.
- [12] Golubić D, Rijpkema S, Tkalec N and Ružić-Sabljčić E. Epidemiologic, ecologic and clinical characteristic of Lyme borreliosis in northwest Croatia. Acta Med Croat 1998; 52: 7-13.
- [13] Golubić D. Epidemiološke, ekološke i kliničke karakteristike Lyme borelioze u sjeverozapadnoj Hrvatskoj. Zagreb, Hrvatska: Sveučilište u Zagrebu 1996. Doktorska dizertacija.

- [14] Mulić R, Antonijević S, Klismanić Z, Ropac D, Lucev O. Epidemiological characteristics and clinical manifestations of Lyme borreliosis in Croatia. *Mil Med* 2006;171(11):1105–9.
- [15] Rakušić S, Maretić T. Erythema migrans u odraslih bolesnika iz Centralne prijemne ambulante u Klinici za infektivne bolesti "Dr Fran Mihaljević". Prvi hrvatski simpozij o Lyme-boreliozu s međunarodnim sudjelovanjem. Požega 2002. Knjiga sažetaka; 49–50.
- [16] Maretić T, Kršić B, Makek N. Bolesnici s Lyme-boreliozom liječeni u Klinici za infektivne bolesti "Dr. Fran Mihaljević" u razdoblju od 1984.–1989., U: Lyme boreliozu u Jugoslaviji, Zbornik MAH, Ropac D, ur., Zagreb 1989.; 83–92.
- [17] Maretić T, Kršić B, Begovac J et al. Lyme borreliosis at The University Hospital for Infectious Diseases in Zagreb. IV International Conference on Lyme borreliosis, Stockholm, Sweden, 1990. Book of Abstracts 126.
- [18] Maretić T, Begovac J, Burek V, Majerus Mišić Lj, Bolanča-Bumber S, Kansky A. Lyme borreliosis in Croatia. *Mediterr J Infect Dis* 1992; 7 (1): 41–44.
- [19] van Dam A.P, Kuiper H, Vos K, Widjojokusumo A et al. Different genospecies of *Borrelia burgdorferi* are associated with distinct clinical manifestations of Lyme borreliosis. *Clin Infect Dis* 1993; 17: 708–717.
- [20] Wang G, van Dam AP, Dankert J. Phenotypic and genetic characterization of a novel *Borrelia burgdorferi sensu lato* isolate from a patient with Lyme borreliosis. *J Clin Microbiol* 1999;37:3025–8.
- [21] Földvári G, Farkas R, Lakos A. *Borrelia spielmanii erythema migrans*, Hungary. *Emerg Infect Dis* 2005;11(11):1794–5.
- [22] Maraspin V, Ruzic-Sabljić E, Strle F. Lyme borreliosis and *Borrelia spielmanii*. *Emerg Infect Dis* 2006;12(7):1177.
- [23] Fingerle F, Schulte-Spechtel UC, Ruzic-Sabljić E, Leonhard S, Hofmann H, Weber K, Pfister K, Strle F, Wilske B. Epidemiological aspects and molecular characterization of *Borrelia burgdorferi* s.l. from southern Germany with special respect to the new species *Borrelia spielmanii* sp. nov. *Int J Med Microbiol* 2008; 298: 279–290
- [24] Rudenko N, Golovchenko M, Mokráček A. Detection of *Borrelia bissettii* in cardiac valve tissue of a patient with endocarditis and aortic valve stenosis in the Czech Republic. *J Clin Microbiol* 2008;46(10):3540–3543.
- [25] Saito K, Ito T, Asashima N, Ohno M, Nagai R, Fujita H, Koizumi N, Takano A, Watanabe H, Kawabata H. Case report: *Borrelia valaisiana* infection in a Japanese man associated with travelling to foreign countries. *Am J Trop Med Hyg* 2007;77(6):1124–7.
- [26] Collares-Pereira M, Couceiro S, Franca I, Kurtenbach K, Schaefer SM, Vitorino L, Goncalves L, Baptista S, Vieira ML, Cunha C. First isolation of *Borrelia lusitanae* from human patient. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 1316–8.
- [27] de Carvalho IL, Fonseca JE, Marques JG, Ullmann A, Hojgaard A, Zeidner N, Nuncio MS. Vasculitis-like syndrome associated with *Borrelia lusitanae* infection. *Clin Rheumatol* 2008;27(12): 1587–91.
- [28] Forenbacher G. Erythema chronicum migrans Lipschütz. *Zbl Haut Geschlechtskrankheit* 1940; 64: 273–5.
- [29] Maretić T, Maretić Z. Morbus Lyme (Lyme disease). Povodom jednog slučaja. *Liječ Vjesn* 1986; 108: 480–483.
- [30] Maček P, Maretić T, Košutić Z, Šarunić D i sur. Lyme-boreliozu s Bannwarthovim sindromom – u povodu prvih registriranih bolesnika u SR Hrvatskoj. *Liječ Vjesn* 1988; 110: 269–273.
- [31] Bolanča-Bumber S, Šitum M, Balić-Winter A, Skerlev M, Lipozenčić J, Dobrić I, Marinović B, Presečki V, Baričević B, Basta-Juzbašić A. First isolation of *Borrelia burgdorferi sensu lato* in Croatia. *Acta Dermatovenerolog Croat* 1997;5(3):95–9.
- [32] Majerus-Mišić Lj, Ružić-Sabljić E. Usmeno priopćenje.
- [33] Šitum M. Dijagnostika lajmske bolesti pomoću lančaste polimerazne reakcije – istraživanje u Hrvatskoj. Zagreb, Hrvatska: Sveučilište u Zagrebu, 1998. Doktorska dizertacija.
- [34] Maretić T, Ružić-Sabljić E, Vince A, Đaković-Rode O. Prva izolacija *Borreliae garinii* u Hrvatskoj. *Infektol Glasn* 2002; 22(2): 65–69.
- [35] Ružić-Sabljić E. Microbiological diagnosis of Lyme borreliosis. *Acta Dermatoven Alp Pann et Adr* 2001;10(4):143–147.
- [36] Wilske B, Bader L, Pfister HW, Preac-Mursic V. Diagnosis of Lyme borreliosis. Detection of intrathecal antibody formation. *Fortschr Med* 1991; 109: 441–446.
- [37] Đaković-Rode O, Židovec Lepej S, Maretić T. Poteškoće u dijagnostici neuroborelioze. *Infektol Glasn* 2006; 26(2):55–60.
- [38] Strle F, Pleterski-Rigler D, Stanek G, Pejovnik-Pustinek A, Ruzic E, Cimperman J. Solitary borrelial lymphocytoma: report of 36 cases. *Infection* 1992;20(4):201–6.
- [39] Haass A, Treib J. Neurologic manifestation and classification of borreliosis. *Infection* 1996;24(6):467–9.
- [40] Ružić-Sabljić E, Lotric-Furlan S, Maraspin V, Cimperman J, Pleterski-Rigler D, Strle F. Analysis of *Borrelia burgdorferi sensu lato* isolated from cerebrospinal fluid. *Act Pathol Microb Immun Scand* 2001; 109(10): 707–713.