

616.98:576.895.421

IMUNOLOGICKÉ ASPEKTY KOMPLEXNÍ INTERAKCE HOSTITELE-KLIŠTĚ-MIKROORGANISMUS

¹Aleš MACELA, ²Jan KOPECKÝ, ¹Lenka HERNYCHOVÁ, ²Marie KUTHEJLOVÁ, ¹Michal KROČA,
¹Zuzana KROČOVÁ

¹Ústav radiobiologie a imunologie Vojenské lékařské akademie J. E. Purkyně, Hradec Králové

²Parazitologický ústav Akademie věd ČR, České Budějovice

Souhrn

Interakce hostitel-vektor-mikroorganismus, během nichž dochází k přenosu mikrobiálního agens z vektoru na hostitele, jsou velice komplexní. Ze strany vektoru se komplexních interakcí účastní složky slin, případně hemolymfy, které jsou schopny modulovat přirozené i adaptivní obranné mechanismy hostitelů. V případě modulační imunitní odezvy se jedná o modulaci exprese humorálních i buněčných obranných mechanismů v důsledku posunu rovnováhy Th1 a Th2 imunoregulační větve. Ze strany hostitele se těchto interakcí účastní složky komplementu, protilátky a buňky interakcí indukovaného zánětu. Změny v obranných mechanismech hostitele i změny indukované faktory hostitele ve vektoru navozené primárními i následnými vzájemnými interakcemi ovlivňují molekulární a buněčné pozadí, do kterého vstupuje mikroorganismus přenášený a předávaný vektorem.

Klíčová slova: Klišťaty přenášené infekce; Modulace imunity klišťacími slinami; Imunitní odpověď na klišťata.

Immunological Aspects of Complex Host-Tick-Microorganism Interaction

Summary

The process of microorganism transmission during host-vector-microorganism interactions is extremely complex. The saliva and haemolymph components that are able to modulate innate and acquired defence mechanisms participate in these interactions from the standpoint of the vector. In the case of immune response, modulation of both the humoral and cellular defence mechanisms are targeted due to a shift in the Th1 and Th2 immunoregulatory pathway balance. The components of the complement system, the antibodies and the cells of interaction induced inflammation participate in these complex interactions from the standpoint of the host. Changes in the defence mechanisms of the host and also changes induced by factors of the host in vectors that originate on the basis of primary and consequent mutual interactions influence the molecular and cellular background of the microorganisms that enter a host from a vector.

Key words: Tick-borne infections; Immune modulations by tick saliva; Immune response to ticks.

Úvod

Kůže je dnes bezesporu chápána jako neobyčejně složitý, dobře regulovaný orgán homeostázy zajišťující v tom nejširším smyslu slova integritu organismu a jako zásadní rozhraní organismu s okolním prostředím. Aby mohl vykonávat takto složité funkce, musel být adaptován na potenciálně kontinuální působení proměnlivého spektra stresových signálů zahrnujících fyzikální stresy včetně fyzického poškození, chemické inzulty a mikroorganismy s jejich potenciálně toxickými produkty. Z čistě biologického hlediska je kůže keratinizující epitel pokrývající povrch těla s otevřenými výstupy

v podobě vývodů kožních žláz a vlasových folikulů. Kůže je na svých okrajích ukončena mukokutánním přechodem v mukózní sliznice. Hlavní buněčnou složkou kůže jsou keratinocyty, minoritními buněčnými složkami pak Langerhansovy buňky, dendritické T-lymfocyty, polymorfonukleární leukocyty a další minoritní buněčné typy, které se v kůži objevují pouze přechodně. Z nebuněčných elementů dominují kolagen a elastická vlákna. Epidermis se vyznačuje nepřítomností cévních mikrokapilár a permanentní obměnou buněk, pro dermis jsou charakteristické krevní a lymfatické mikrokapiláry a nervová zakončení (21).

Interakce *Arthropod*, v našem případě zastoupe-

ných klíšťat, s hostitelem, které se odehrávají právě na kůži, jsou nesmírně komplexní a dynamické. Kromě samotné strukturální a funkční komplexnosti kůže je složitost těchto interakcí dána také komplexností klíštěcích faktorů, které se těchto interakcí účastní. Kromě samotných imunogenních molekul to jsou farmakologicky účinné složky klíštěcích slin a mikroorganismy, pro které představují klíšťata přirozené vektory a které jsou přenášeny na hostitele v pozdějších fázích sání - viz například *Borrelia sp.* (34). Mezi mikroorganismy přenášené klíšťaty patří viry - nejznámější je virus klíšťové encefalitidy, a četné bakterie, mezi nimiž má v našich podmínkách dominující postavení původce boreliózy (*Borrelia burgdorferi*) a původce tularémie (*Francisella tularensis*), ale i protozoa.

Tato práce je věnována současným poznatkům, které se týkají vzájemných interakcí faktorů klíštěcích vektorů s hostitelskými obrannými mechanismy končícími na jedné straně infekcí organismu mikroorganismy přenášenými vektorem, na straně druhé indukcí imunitních mechanismů, které v konečné fázi rozhodují o osudu „transdermálně“ infikovaného organismu.

Indukce adaptivní imunity proti klíšťatům

Již velmi dlouhou dobu je známo, že při opakovaném sání klíšťat (*Dermacentor variabilis*) vzniká rezistence hostitelů na klíšťata stejného druhu, která parazitovala na hostiteli primárně. Paralelně s tím bylo zjištěno, že tato rezistence na klíšťata je doprovázena neschopností klíšťat přenést infekci na hostitele (32). Později byl tento poznatek potvrzen za použití modelové kombinace: klíště druhu *Dermacentor andersoni*, mikroorganismus *Francisella tularensis tularensis* a hostitel králík (2). Podle některých novějších studií však vznik rezistence na klíšťata závisí na genotypu hostitele. V myším modelu tak některé myši i po opakovaném sání klíšťat druhu *Ixodes ricinus* zvýšenou rezistencí proti nim nezískávají, dochází však u nich s opakovaným sáním k postupnému zvýšení produkce imunoglobulinů izotypu IgE (10). Při sání klíšťat na hostiteli dochází k vzájemné výměně imunoreaktivních molekul. Ze strany klíštěte to jsou antigenní složky produktů slinných žláz a složky hemolymfy, které jsou prostřednictvím slinných žláz do slin předávány (33), ze strany hostitele pak humorální složky

imunitních mechanismů, složky komplementu a protilátkové molekuly. Všechny tyto „vyměňené“ imunoreaktivní molekuly podmiňují reakce vektoru i hostitele na vzájemnou primární interakci a následně hrají důležitou roli v modulaci dějů, které nastávají opakovaným sáním klíšťat na hostiteli. Hostitel reaguje na sání klíšťat modulací funkce buněk imunoregulačního systému: změnou aktivit antigen prezentujících buněk, B- i T-buněk, granulocytů a produkcí intercelulárních regulačních molekul (cytokiny) a celého spektra dalších biologicky aktivních molekul.

Tvorba protilátek proti molekulám obsaženým ve slinách klíšťat byla v posledních několika letech opakovaně potvrzena. Právě hladina produkovaných protilátek proti antigenům klíštěcích slin koreluje se vznikem rezistence hostitele na klíšťata (3) a podle některých starších prací ji lze pasívně přenést séry obsahujícími protilátky proti složkám klíštěcích slin na naivní recipienty (7).

Imunizace hostitelů extraktem slinných žláz omezuje jak přichycení klíšťat na hostitele (téměř 50% inhibice), tak jejich sání, jehož intenzita se u imunizovaných hostitelů snižuje a zkracuje se i doba sání. Navíc je imunizací hostitelů omezena ovipozice (kladení vajíček) i samotná fertilita (26).

Pomocí elektroseparačních metod a Western blotové analýzy bylo zjištěno, že králíci, na kterých parazitovala klíšťata druhu *Amblyomma americanum* a *Dermacentor variabilis*, tvoří protilátky proti spektru proteinových antigenů slinných žláz v rozmezí molekulových hmotností 12,2-125 kDa, přičemž některé protilátkové klony mohou být tzv. druhově specifickým biologickým znakem vystavení hostitele určitému druhu klíšťat. Jinými slovy, některé protilátkové klony rozpoznávají proteinové antigeny slinných žláz pouze určitého druhu klíšťat (27).

K podobnému závěru dospěla i další studie, v níž byla testována produkce protilátek proti extraktu slinných žláz dvou příbuzných druhů klíšťat - *Ornithodoros erraticus* a *O. moubata* - a jejich křížová reaktivita. Bylo prokázáno, že řada vzniklých protilátkových klonů skutečně nerozpoznává antigenní determinanty druhu druhého a že protilátková specifická je namířena na proteinovou složku slinných glykoproteinů (1).

Tyto nálezy mají nesporně praktické uplatnění. Pokud by byly nalezeny obecné i druhově specifické antigenní znaky proteinových složek klíště-

cích slin, bylo by možné jich využít jako jednoduchých biologických znaků expozice jedinců klíšťaty a k odhadu rizika vzniku (mikro)epidemií infekcí přenášených klíšťaty. Jedním z proteinů klíštěcích slin nalezených mezi proteiny odvozenými z cDNA-knihovny slinných žláz klíšťat je kalretikulin, vápník vázající protein, který je dobrým imunogenem.

Rekombinantní klíštěcí kalretikulin (rTC) byl pak použit i ve studii testující sérokonverzi 192 amerických vojáků během manévru v klíšťaty zamořeném prostoru ve Fort Chaffee. Výsledek studie byl pak konfrontován s výsledky modelových studií se závěrem, že je možné považovat séropozitivitu na rTC za biologický znak expozice jedince klíšťatům (28).

Druhým možným praktickým výstupem je konstrukce vakcín proti klíšťatům (30). Vzhledem k výše uvedenému faktu vzniku rezistence na klíšťata po jejich opakovaném sání na též hostiteli by bylo možné těmito vakcínami omezit možnost vzniku infekcí přenášených klíšťaty.

Tvorba protilátek je však až výsledná reakce hostitele na produkty slinných žláz klíšťat. V první fázi po přichycení a sání klíštěte vzniká v místě proniknutí produktů slinných žláz akutní zánětlivá reakce, které se účastní granulocyty i monocyty (34). Vzhledem k tomu, že cyklosporin A tlumí jak akutní zánětlivou reakci v kůži na sání klíšťat (typ I hypersenzitivní reakce), tak oddálený typ reakce (hypersenzitivita typu IV), má se za to, že se časných buněčných reakcí účastní také T-lymfocyty (8). Teprve pak na tuto, svým charakterem přirozenou (nespecifickou) reakci, navazuje polyklonální protilátková odpověď hostitele. Má se tedy za prokázané, že komplexních interakcí klíště-hostitel-mikroorganismus se účastní i buněčné složky obranných mechanismů. Jak aktivita buněčné složky imunitních reakcí, tak výsledná humorální odpověď organismu je komplexní interakcí klíště-hostitel modulována.

Modulace mechanismů přirozené a adaptivní imunity slinami klíšťat

Jak již bylo zmíněno v úvodu, do interakcí klíštěte s imunoregulačním systémem hostitele vstupují farmakologicky aktivní molekuly klíštěcích slin, které kromě antihemostatických (25), hemolytických

(viz níže) a vazoaktivních efektů jsou schopny modulovat mechanismy přirozené (innate) i adaptivní imunity. Klíště reaguje na obranné reakce hostitele tím, že inhibuje některé základní imunoregulační a efektorové mechanismy hostitelovy imunitní reakce, jako je produkce protilátek, aktivace komplementu, lymfoblastická reakce T-buněk a cytokinová produkce makrofágů a Th1-lymfocytů (přehled viz např. 35 nebo 36).

U jednoduchých efektů, jako je např. hemolýza, jsou efektorové molekuly klíštěcích slin známy. V případě hemolýzy je za tuto aktivitu odpovědná molekula o velikosti 55 kDa, která byla ztotožněna s fosfolipázou A2 (38). V případě modulací komplexních imunologických dějů je situace složitější a údajů o jednotlivých složkách slin, které jsou schopny modulace imunoregulace, je nedostatek.

Jednou z molekul, která je produkována klíšťaty do místa sání, je prostaglandin E2 (PGE2). Tato molekula je produktem cyklooxygenázové cesty metabolismu kyseliny arachidonové a sama o sobě má výrazné tlumivé účinky na funkci buněk imunoregulačního systému. Množství PGE2, který klíšťata produkují a přenášejí na hostitele, není zanedbatelné. Bylo změřeno, že do místa sání přeneseno klíště až 1,8 ng PGE2, což je množství dostatečné k lokální modulaci imunitních reakcí v kůži (12).

Aby byla klíšťata schopna efektivního a dlouhodobého přichycení a sání na hostiteli, což je základní podmínkou přenosu patogenů z klíštěte na hostitele, musí překonat přirozené obranné bariéry, z nichž velmi efektivní ve vztahu k parazitismu klíšťat je komplement. Obsah slinných žláz klíšťat inhibuje alternativní dráhu komplementu (23) a intenzita této inhibice kolísá jak podle zdroje komplementu, tak podle testovaných druhů klíšťat (16).

Další mechanismy přirozené obrany hostitelů, které musí být překonány vektorem, jsou mechanismy spojené s aktivitou buněčné složky přirozených obranných systémů. Interference složek klíštěcích slin s imunoregulačním systémem hostitelů není dosud příliš dobře prostudována.

Například se ví, že sliny klíštěte *Ixodes dammini*, což je jeden z hlavních vektorů lymeské nemoci, hluboce potlačují produkci N-oxidů makrofágy stimulovanými lipopolysacharidem (LPS). Inhibují tedy jeden ze základních makrofágových „smrticích“ nástrojů namířený proti bakteriím a transformovaným buňkám. Tato inhibice není zprostředkována prostá-

glandinem E2, ale spíše proteinovou molekulou o velikosti 5 kDa.

U jiného druhu klíštěat - *Ixodes ricinus* - bylo prokázáno, že extrakt připravený z jejich slinných žláz tlumí aktivitu přirozených zabíječů neboli NK-buněk (14, 15), produkci interferonů a N-oxidů buňkami (14). Všechny uvedené a SGE modulované parametry obranných reakcí patří mezi efektorové mechanismy přirozené, geneticky podmíněné imunitní obrany proti virům (interferony, NK-buňky) i bakteriím (NK-buňky a produkce N-oxidů). Rovněž funkce neutrofilních granulocytů je klíštěcími slinami modulována ve smyslu snížení jejich metabolických a funkčních aktivit. Kryší peritoneální neutrofilů, na které bylo působeno slinami klíštěat *Ixodes dammini* indukovanými pilocarpinem, vykazují sníženou schopnost agregace indukované anaphylatoxinem, sníženou indukovanou sekreci granulárních enzymů, sníženou indukovanou produkci superoxidového aniontu a sníženou schopnost fagocytovat spirochety *Borrelia burgdorferi* (24).

S ohledem na indukci mechanismů adaptivní imunity hostitelů je významné, že sliny klíštěat *Rhipicephalus sanguineus* zvyšují produkci růst transformujícího faktoru beta (TGF- β) a potlačují sekreci interleukinu 12 (IL-12) makrofágy myši C3H/HeJ stimulovanými infekcí intracelulárním parazitem *Trypanosoma cruzi* (6).

Tyto cytokiny se významnou měrou podílejí na regulaci indukce adaptivní imunity, přičemž cytokin IL-12 má rozhodující úlohu v indukci buňkami zprostředkovaných imunitních reakcí. Modulace procesu indukce adaptivní imunity je patrná zejména při sledování transformační reakce lymfocytů na mitogeny. Kromě potlačení samotné transformační reakce dochází k modulaci produkce dalších cytokinů, které jsou základními mezibuněčnými signálními molekulami buněk imunitního systému.

Extrakt slinných žláz klíštěat *Ixodes ricinus* potlačuje sekreci interferonu gama (IFN- γ), IL-10 a IL-13 myšími slezinovými buňkami po stimulaci mitogenem konkanalinem A (Con A). Podobně je potlačena produkce cytokinu IL-12 peritoneálními makrofágy stimulovanými LPS či produkce cytokinů IL-10 a IL-12 epidermálními buňkami stimulovanými LPS.

Podobná situace nastává při monitorování modulace antigen-specifické T-buněčné transformační reakce slezinových buněk na antigen a s tím související produkce cytokinů (5). Dalším příkladem tak-

véto modulace je snížení produkce růstového faktoru pro granulocytové-makrofágové kolonie (GM-CSF) po stimulaci myších slezinových buněk živými spirochetami *Borrelia afzelii* extraktem klíštěcích slin. To, že modulace indukce adaptivní imunity na proteinové a mikrobiální antigeny složkami klíštěcích slin může souviset s modulací mechanismů přirozené imunity, dokumentuje modulace produkce makrofágových cytokinů SGE, který inhibuje jak produkci IL-1 β , tak produkci TNF- α během aktivace pomocí spirochet *Borrelia afzelii*. Rovněž protilátková odpověď na sekundárně podaný antigen je modulována. Hostitelé, na nichž parazitují klíštěata, mají sníženou odpověď na ovalbumin po sekundární imunizaci (11).

Klíštěcí sliny samotné i extrakty připravené ze slinných žláz však mají rovněž stimulační, resp. aktivační účinky. Bez ohledu na inhibici aktivace alternativní dráhy komplementu složkami klíštěcích slin dochází k aktivaci C5 složky komplementu, kdy následně C5a složka realizuje uvolnění histaminu z žírných buněk, chemotaxi a anafylaktickou reakci (9). Rovněž posun imunoregulační rovnováhy ve prospěch Th2-imunoregulační větve monitorované produkcí cytokinu IL-4 lze považovat za stimulační působení složek klíštěcích slin na Th2-lymfocyty, resp. na Th0-lymfocyty, které jsou společným prekurzorem obou typů T-helper buněk.

Posun imunoregulační rovnováhy ve prospěch humorální imunity na úkor buňkami zprostředkovaných reakcí, které jsou závislé na aktivaci Th1-lymfocytů, je pak konečným výsledkem modulace obranných reakcí hostitele. Dokladem toho je pak zvýšená citlivost hostitelů na infekce intracelulárními bakteriálními patogeny, kdy je pro vznik protektivní imunity nutné zapojení mechanismů buňkami zprostředkované imunity.

Dosud není zcela jasné, na které buněčné úrovni je tato modulace iniciována. Fakt, že dojde k posunu imunoregulační rovnováhy na úrovni T-buněk ještě neznamená, že to jsou právě lymfocyty, které jsou primárním objektem modulace, posun může být navozen zprostředkovaně přes intercelulární komunikaci granulocytů či mononukleárních fagocytů s T-lymfocyty. Modulace imunoregulační rovnováhy na úrovni Th1/Th2-buněk ve prospěch Th2-imunoregulační větve může být jedním z faktorů usnadňujících přenos mikrobů z klíštěte na hostitele, proliferaci a diseminaci mikroorganismů v tká-

ních hostitelů, jejichž obrana je modulována složkami slin vektorů infekcí.

Mikroorganismus jako partner komplexní interakce klíště-hostitel

Onemocnění přenášená klíšťaty (tick-borne infections) jsou z hlediska profylaxe i terapie velmi problematická a není proto divu, že jim je věnována značná pozornost. Za poslední dva roky (1998 a 1999) bylo ve vědeckých časopisech publikováno téměř 13 000 prací věnovaných těmto infekcím.

V poslední době těmto infekcím věnují pozornost i vojenští epidemiologové a mikrobiologové. Ve Švýcarsku a Německu jsou např. mapovány výcvikové prostory z hlediska zamoření klíšťaty a jejich nosičství infekcí. Kromě již zmíněné klíšťové encefalitidy, tularémie a boreliózy jsou klíšťaty přenášeni původci hemoragických horeček a dále *Ehrlichia phagocytophila*, *Cowdria ruminantium*, *Babesia bovis* a *B. bigemina*, *Theileria lestoquardi* a *T. annulata* a řada dalších původců virových, bakteriálních i parazitárních infekcí hospodářských zvířat. Pro celou řadu z nich jsou klíšťata a jejich vývojové fáze významným, nikoli však stálým přirozeným přírodním rezervoárem.

U většiny patogenů byl popsán transstadiální i transovariální přenos (viz např. studie transstadiálního a transovariálního přenosu krymsko-konžské hemoragické horečky) (4). Pro udržení přírodních ohnisek klíšťaty přenášených infekcí je dále důležitá přítomnost infikovaných hostitelů sání klíšťat, tedy nositelů procesu, během kterého jsou mikroorganismy předávány spolu s krví z hostitele na klíštěcí vektory.

Jak přenos z hostitele na vektor, tak proces opačný, tedy přenos infekce z vektoru na hostitele, jsou procesy závislé na imunitním profilu hostitelů. Bylo prokázáno, že přenos parazitů *Ehrlichia phagocytophila* z imunizovaných myšek na klíšťata je ze 70 % redukován v porovnání s přenosem na klíšťata sající na neimunních myších (17). Přirozená či umělá imunizace hostitelů tak znamená značné omezení perzistence klíšťaty přenášených infekcí v přírodě i omezení rizika přenosu infekcí z klíšťat na hostitele.

Jedním z dobře fungujících systémů imunoprofylaxe klíšťaty přenášených infekcí je vakcína při-

pravená proti *Borrelia burgdorferi*, tedy původci boreliózy, na základě rekombinantního proteinu OspA - protein vnějšího povrchu tohoto mikroorganismu. Tento protein je vysoce imunogenní a protilátky proti němu vytvořené usmrcují mikroorganismy *Borrelia burgdorferi* na komplementu závislým procesem (19). V současnosti některé vakcíny podstupují licenční proces pro humánní použití (37) - v USA a Kanadě jsou již registrovány od roku 1998 (22) - přesto, že protektivní efekt není sto procentní (29).

Zdá se, že v zabránění přenosu infekce z vektorů na hostitele je účinná, podobně jako humorální imunita proti mikrobům, samotná imunitní reakce na sání klíšťat (18). To by znamenalo, že pomocí imunoprofylaktických prostředků se specifickostí na složky klíšťat by bylo možné nepřímo chránit hostitele proti klíšťaty přenosným onemocněním bez ohledu na jejich typ. Jinými slovy, aplikací jediné vakcíny proti klíšťatům by bylo možné chránit hostitele proti přenosu celé řady klíšťaty přenášených infekcí bez ohledu na jejich taxonomické zařazení a imunologické (antigenní) charakteristiky.

Závěr

Podrobných údajů týkajících se komplexních interakcí klíště-mikroorganismus-hostitel je dosud málo k tomu, aby byla pochopena molekulární podstata dějů podmiňujících a regulujících dominantní imunitní děje, k nimž v průběhu interakcí dochází a které zpětně ovlivňují osud všech tří zúčastněných organismů.

Praktický význam těchto poznatků pro člověka spočívá nejen v ochraně jeho zdraví v případě kontaktu s klíšťaty, ale i ochraně zdroje jeho potravy v podobě volně se pasoucích hospodářských zvířat v oblastech s endemickým výskytem klíšťaty přenosných infekcí. To vede jak k pokusům, tak matematickému modelování reálných situací ochrany stád dobytka pomocí očkování a k přípravě strategie imunoprofylaxe těchto infekcí (20).

Je však možné považovat za prokázané, že protizánětlivé účinky klíštěcích slin, zasahující zejména mechanismy časné nespecifické obrany hostitele (komplement, interferony, fagocyty, NK-buňky), výrazným způsobem usnadňují přenos patogenů z klíštěte na hostitele a jejich šíření z místa sání do organismu. Slinami aktivovaný přenos arbovirů nebo

borrelií mezi společně sajícími klíšťaty má i nesporný ekologický a epidemiologický význam (13).

Proto se jako velmi perspektivní jeví idea takzvané transblock vakcíny, založené na imunizaci hostitelů modifikovanými imunomodulačními molekulami z klíštěcích slin (31). Tímto způsobem indukovaná imunita by mohla chránit hostitele nejen proti samotným klíšťatům, ale především proti celé řadě patogenů klíšťaty přenášených.

Tato práce vznikla s podporou grantu IGA MZ ČR č. NI/4700-3.

Literatura

- BARANDA, JA., et al.: Antigen of interest for the diagnosis of parasitism in pigs by *Ornithodoros erraticus* and *Ornithodoros moubata*. J. Parasitol., 1997, vol. 83, no. 5, p. 831-838.
- BELL, JF. - STEWART, SJ. - WIKEL, SK.: Resistance to tick-borne *Francisella tularensis* by tick-sensitized rabbits: Allergic klendusity. Am. J. Trop. Med. Hyg., 1979, vol. 28, no. 5, p. 878-880.
- CRAIG, LE., et al.: Acquired resistance and antibody response of raccoons (*Procyon lotor*) to sequential feedings of *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae). Vet. Parasitol., 1996, vol. 63, no. 3/4, p. 291-301.
- FAYE, O., et al.: Experimental transmission of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus: role of 3 vector species in the maintenance and transmission cycles in Senegal. Parasite, 1999, vol. 6, no. 1, p. 27-32.
- FERREIRA, BR. - SILVA, JS.: Saliva of *Rhipicephalus san-guineus* tick impairs T cell proliferation and IFN-gamma-induced macrophage microbicidal activity. Vet. Immunol. Immunopathol., 1998, vol. 64, no. 3, p. 279-293.
- FERREIRA, BR. - SILVA, JS.: Successive tick infestations selectively promote a T-helper 2 cytokine profile in mice. Immunology, 1999, vol. 96, no. 3, p. 434-439.
- GILL, HS. - LUCKINS, AG.: *Hyalomma anatolicum anatolicum*: the role of humoral factors in the acquisition of host resistance. Exp. Parasitol., 1987, vol. 64, no. 3, p. 430-437.
- GIRARDIN, P. - BROSSARD, M.: Effect of cyclosporin A on humoral immunity to ticks and on cutaneous immediate and delayed hypersensitivity reactions to *Ixodes ricinus* L. salivary gland antigens in re-infested rabbits. Parasitol Res., 1989, vol. 75, no. 8, p. 657-662.
- GORDON, JR. - ALLEN, JR.: Nonspecific activation of complement factor 5 by isolated *Dermacentor andersoni* salivary antigens. J. Parasitol., 1991, vol. 77, no. 2, p. 296-301.
- CHRISTE, M. - RUTTI, B. - BROSSARD, M.: Influence of the genetic background and parasite load of mice on the immune response developed against nymphs of *Ixodes ricinus*. Parasitol. Res., 1999, vol. 85, no. 7, p. 557-561.
- INOKUMA, H. - KEMP, DH. - WILLADSEN, P.: Prostaglandin E2 production by cattle tick (*Boophilus microplus*) into feeding sites and its effect on the response of bovine mononuclear cells to mitogen. Vet. Parasitol., 1994, vol. 53, no. 3/4, p. 293-299.
- INOKUMA, H., et al.: Effects of cattle tick (*Boophilus microplus*) infestation on the bovine immune system. Vet. Parasitol., 1993, vol. 47, no. 1/2, p. 107-118.
- JONES, LD., et al.: Saliva-activated transmission (SAT) of Thogoto virus: relationship with vector potential of different hematophagous arthropods. Med. Vet. Entomol., 1992, vol. 6, no. 3, p. 261-265.
- KOPECKÝ, J. - KUTHEJLOVÁ, M.: Suppressive effect of *Ixodes ricinus* salivary gland extract on mechanisms of natural immunity in vitro. Parasite Immunol., 1998, vol. 20, p. 169-174.
- KUBEŠ, M., et al.: Salivary gland extracts of partially fed *Dermacentor reticulatus* ticks decrease natural killer cell activity in vitro. Immunology, 1994, vol. 82, no. 1, p. 113-116.
- LAWRIE, CH. - RANDOLPH, SE. - NUTTALL, PA.: *Ixodes* ticks: serum species sensitivity of anticomplement activity. Exp. Parasitol., 1999, vol. 93, no. 4, p. 207-214.
- LEVIN, ML. - FISH, D.: Immunity reduces reservoir host competence of *Peromyscus leucopus* for *Ehrlichia phagocytophila*. Infect. Immunology, 2000, vol. 68, no. 3, p. 1514-1518.
- NAZARIO, S., et al.: Prevention of *Borrelia burgdorferi* transmission in guinea pigs by tick immunity. Am. J. Trop. Med. Hyg., 1998, vol. 58, no. 6, p. 780-785.
- NOWLING, JM. - PHILIPP, MT.: Killing of *Borrelia burgdorferi* by antibody elicited by OspA vaccine is inefficient in the absence of complement. Infect. Immun., 1999, vol. 67, no. 1, p. 443-445.
- O'CALLAGHAN, CJ., et al.: Predicting the effect of vaccination on the transmission dynamics of heartwater (*Cowdria ruminantium*) infection. Prev. Vet. Med., 1999, vol. 42, no. 1, p. 17-38.
- ODLAND, GF.: Structure of the skin. In Structure of the skin. Ed.: Goldsmith, LA. Oxford, Oxford University Press, 1991, p. 3-62.
- ONRUST, SM. - GOA, KL.: Adjuvanted Lyme disease vaccine: a review of its use in the management of Lyme disease. Drugs, 2000, vol. 59, no. 2, p. 281-299.
- RIBEIRO, JM. - ENDRIS, TM. - ENDRIS, R.: Saliva of the soft tick, *Ornithodoros moubata*, contains anti-platelet and apyrase activities. Comp. Biochem. Physiol., 1991, vol. A 100, no. 1, p. 109-112.
- RIBEIRO, JM. - WEIS, JJ. - TELFORD, SR III.: Saliva of the tick *Ixodes dammini* inhibits neutrophil function. Exp. Parasitol., 1990, vol. 70, no. 4, p. 382-388.
- RIBEIRO, JM.: *Ixodes dammini*: salivary anti-complement activity. Exp. Parasitol., 1987, vol. 64, no. 3, p. 347-353.
- SAHIBI, H. - RHALEM, A. - BARRIGA, OO.: Comparative immunizing power of infestations, salivary extracts, and intestinal extract of *Hyalomma marginatum marginatum* in cattle. Vet. Parasitol., 1997, vol. 68, no. 4, p. 359-366.
- SANDERS, ML., et al.: Kinetics and cross-species comparison of host antibody responses to lone star ticks and American dog ticks (Acari: Ixodidae). J. Med. Entomol., 1998, vol. 35, no. 5, p. 849-856.
- SANDERS, ML., et al.: Antibody to a cDNA-derived calreticulin protein from *Amblyomma americanum* as a biomarker of tick exposure in humans. Am. J. Trop. Med. Hyg., 1998, vol. 59, no. 2, p. 279-285.

29. SHIH, CM. - LIU, LP.: Differential efficacy of passive immunisation against infection by Lyme disease spirochaetes transmitted by partially fed vector ticks. *J. Med. Microbiol.*, 1998, vol. 47, no. 9, 773-779.
30. TELLAM, RL., et al.: Vaccination against ticks. In Yong, WK. (ed.). *Animal Parasite Control Utilizing Biotechnology*. Florida, USA, Boca Raton, CRC Press, 1992, p. 303-331.
31. TITUS, RG. - RIBEIRO, JMC.: The role of vector saliva in transmission of arthropod-borne disease. *Parasitol. Today* vol. 6, 1990, p. 157-160.
32. TRAGER, W.: Acquired immunity to ticks. *J. Parasitol.*, 1939, vol. 25, p. 57-81.
33. WANG, H. - NUTTALL, PA.: Comparison of the proteins in salivary glands, saliva and haemolymph of *Rhipicephalus appendiculatus* female ticks during feeding. *Parasitology*, 1994, vol. 109, (Pt 4), p. 517-523.
34. WHEELER, CM., et al.: Adult *Ixodes dammini* on rabbits: development of acute inflammation in the skin and immune responses to salivary gland, midgut, and spirochetal components. *J. Infect. Dis.*, 1989, vol. 159, no. 2, p. 265-273.
35. WIKEL, SK.: Tick modulation of host immunity: an important factor in pathogen transmission. *Int. J. Parasitol.*, 1999, vol. 29, no. 6, p. 851-859.
36. WILLADSEN, P. - JONGEJAN, F.: Immunology of the tick-host interaction and the control of tick and tick-borne diseases. *Parasitol Today*, 1999, vol. 15, no. 7, p. 258-262.
37. WORMSER, GP.: Vaccination as a modality to prevent Lyme disease. A status report. *Infect. Dis. Clin. North Am.*, 1999, vol. 13, no. 1, p. 135-148.
38. ZHU, K., et al.: Identification of hemolytic activity in saliva of the lone star tick (*Acari: Ixodidae*). *J. Med. Entomol.*, 1997, vol. 34, no. 2, p. 160-166.

Korespondence: Doc. RNDr. Aleš Macela, CSc.
Vojenská lékařská akademie J. E. Purkyně
500 01 Hradec Králové
e-mail: amacela@pmfhk.cz

Do redakce došlo 10. 4. 2000