

# NOVI PATOFIZIOLOŠKI MEHANIZMI RAZVOJA MIGRATORNOG ERITEMA KOD LAJMBORELIOZE

KORESPONDENT

Pavle Banović  
Medicinski fakultet Novi Sad  
Univerzitet u Novom Sadu  
Republika Srbija

## AUTORI

Pavle Banović<sup>1,2</sup>, Dragana Mijatović<sup>1,3</sup>, Dušan Lalošević<sup>4,5</sup>

<sup>1</sup> Ambulanta za lajmboreliozu, Služba za prevenciju besnila i drugih zaraznih bolesti, Pasterov zavod Novi Sad, Republika Srbija

<sup>2</sup> Medicinski fakultet Novi Sad, Univerzitet u Novom Sadu, Republika Srbija

<sup>3</sup> Medicinski fakultet Univerziteta u Prištini sa privremenim sedištem u Kosovskoj Mitrovici, Republika Srbija.

<sup>4</sup> Služba za mikrobiološku i drugu dijagnostiku, Pasterov zavod Novi Sad, Republika Srbija

<sup>5</sup> Katedra za histologiju i embriologiju, Medicinski fakultet Novi Sad, Univerzitet u Novom Sadu, Republika Srbija

## SAŽETAK

Migratorni eritem predstavlja najčešću manifestaciju prve (rane) faze lajm boreliozе. Definisan je kao crvenilo na mestu uboda krpelja koje se širi. Iako pojava migratornog eritema upućuje na postojanje lokalne infekcije patogenim sojevima bakterija iz *Borrelia burgdorferi sensu lato* kompleksa, tačan mehanizam kojim spirohete ostvaruju širenje u koži čoveka nisu razjašnjeni. U ovom radu će biti izvršen pregled literature, na početku vezane za interakciju na nivou krpelj-patogen-domaćin, nakon čega će se predstaviti najčešće teorije razvoja specifične morfologije migratornog eritema, kao i diferencijalno dijagnostički problemi koji mogu nastati usled infekcije drugim patogenima ili razvoja različitih alergijskih i autoimunih stanja.

**Ključne reči:** migratorni eritem; erythema migrans; borelija; lajm boreliozа

## ENGLISH

### NEW PATHOPHYSIOLOGICAL ASPECTS OF MIGRATORY ERYTHEMA DEVELOPMENT IN LYME BORRELIOSIS

Pavle Banović<sup>1,2</sup>, Dragana Mijatović<sup>1,3</sup>, Dušan Lalošević<sup>4,5</sup>

<sup>1</sup> Lyme Borreliosis Outpatient Clinic, Department for Prevention of Rabies and Other Infectious Diseases, Pasteur Institute Novi Sad, Republic of Serbia.

<sup>2</sup> Medical faculty Novi Sad, University of Novi Sad, Republic of Serbia.

<sup>3</sup> Faculty of Medical Sciences, University of Pristina - Kosovska Mitrovica, Republic of Serbia.

<sup>4</sup> Department for microbiological and other diagnostics, Pasteur Institute Novi Sad, Republic of Serbia.

<sup>5</sup> Department for histology and embryology, Medical faculty Novi Sad, University of Novi Sad, Republic of Serbia

### SUMMARY

Migratory erythema is the most common manifestation of the first (early) phase of Lyme borreliosis. It is defined as the spreading rash or redness at the site of the tick bite. Although the occurrence of migratory erythema indicates the presence of local infection with pathogenic strains of bacteria from *Borrelia burgdorferi sensu lato* complex, the exact mechanism by which spirochetes conduct spreading in human skin has not been elucidated. This paper will review the literature, initially related to tick-pathogen-host interaction, after which the most common theories of the development of specific morphology of migratory erythema will be presented, as well as differential diagnostic problems that may arise from infection with other pathogens or the development of various allergic and autoimmune conditions.

**Keywords:** migratory erythema; lyme borreliosis; borrelia

Migratornieritem predstavljana najčešću manifestaciju prve faze lajm borelioze. Definisan je kao crvenilo na mestu uboda krpelja koje se širi. Može biti solitarni ili multipli, čije postojanje upućuje na verovatnu diseminaciju spiroheta sa mesta insercije u sistemsku cirkulaciju. Pojava migratornog eritema je rezultat postojanja lokalne infekcije patogenim sojevima bakterija iz *Borrelia burgdorferi sensu lato* kompleksa, tačan mehanizam kojim spirohete ostvaruju širenje u koži čoveka još uvek nisu razjašnjeni.

### INTERAKCIJA KRPELJ-PATOGEN-DOMAĆIN

Sposobnost određene vrste krpelja da zauzme ulogu vektora zavisi od toga ga li patogen može da preživi i zaobiđe imunološke barijere unutar samog krpelja [1]. Pored toga, krpelji sa sobom nose sinbiote, koji mogu imati bitnu ulogu u biološkim mehanizmima i ostvariti uticaj na održavanje broja patogena u krpelju i njihov dalji prenos tokom uzimanja krvnog obroka [2,3].

Tačka u kojoj se ukrštaju sva tri "sveta" krpelja, patogena i domaćina je trenutak prodora rilice krpelja kroz epiderm i laceracija dermalnih krvnih sudova domaćina. Glavna odbrana domaćina u slučaju uboda krpelja se ogleda u hemostazi i pokretanju akutnog zapaljenskog procesa, sa aktivacijom urođenog imunog odgovora. Tokom pripreme faze, mnogi krpelji iz porodice Ixodidae (u koje spada i *Ixodes ricinus*), proizvode cement koji im pomaže da se na mestu parazitiranja zadrže i preko nedelju dana [4]. U takvim slučajevima se krpelj mora suočiti i sa humoralnim i ćelijskim imunim odgovorom, kako bi uspešno završio proces hranjenja.

Kao kontra-odgovor na odbrambene mehanizme domaćina, krpelj od trenutka pripreme za proboj kože počinje da luči svoju pljuvačku, u početku radi anestetiranja mesta uboda, a zatim u cilju ostvarivanja imunosupresornog, imunomodulatornog, vazodilatacionog antiagregacionog i anti-koagulacionog, i antireparatornog efekta [5-8]. Finalni rezultat dejstva pljuvačke krpelja je stvaranje imunoprivilegovane sredine na mestu insercije rilice.

Pljuvačka krpelja je izuzetno kompleksna mešavina koja se sastoji od bioaktivnih proteina, lipida i nukleozida. Proteini pljuvačke krpelja se smatraju lošim imunogenima kod ljudi. Nasuprot tome, opisani su slučajevi razvoja specifičnih imunih odgovora na ugljenohidratnu struktur galaktoza-alfa-1,3-galaktoza ( $\alpha$ -Gal), koja se nalazi u rilici krpelja. A-Gal je generalno prisutan u ćelijskoj membrani većine sisara, ali ne i primata, koji su tokom evolucije izgubili GGTA-1 gen. Usled toga, imuni sistem ljudi  $\alpha$ -Gal prepoznaje kao strano telo i razvija specifična antitela usmerena protiv njega. Osobe koje su razvile specifična anti- $\alpha$ -Gal antitela postaju alergične na namirnice porekla sisara (crveno meso), te dolazi do razvoja gastrointestinalnih tegoba i kožnih reakcija prilikom konzumacije tih namirnica [9-12]. Trenutni zlatni standard za postavljanje dijagnoze ovog poremećaja je ELISA test i detekcija specifičnih antitela. Kako u Republici Srbiji nije moguće izvršiti tu analizu, Pasterov zavod u Novom Sadu je obezbedio testiranje suspektnih slučajeva u istraživačkoj stanici osnovanoj u sklopu Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (ANSES), Pariz, Francuska.

Jedan od glavnih faktora koji utiče na preživljavanje patogena koje prenose krpelji (Tick-Borne Pathogens - TBP)

je sposobnost iskorišćavanja farmakoloških efekata koje ostvaruju molekuli njegove pljuvačke. Fenomen olakšavanja prenosa TBP dejstvima pljuvačke krpelja na organizam domaćina nazvan je prenos aktiviran pljuvačkom (PAP), i prvi put je definisan na primeru prenosa Thogoto virusa uz pomoć ekstrakta pljuvačnih žlezda krpelja *Ripicephalus appendiculatus* [1]. Slični fenomeni su opisani i kod drugih patogena, pre svega virusa krpeljskog meningoencefalitisa (Tick-Borne Encephalitis Virus-TBEV) i spiroheta uzročnika lajm borelioze - *Borrelia afzelii*, *Borrelia burgdorferi sensu stricto* i *Borrelia lusitaniae* [13].

Fenomen PAP je detektovan i kod ostvarivanja transmisije patogena između zaraženog i nezaraženog krpelja koji parazitiraju na jednom domaćinu istovremeno, bez indukcije viremije/bakterijemije kod te jedinke, tj. prodora agensa u sistemsku cirkulaciju. Transmisija bez detektovane viremije je dokazana kod nekoliko agenasa: TBEV, virusa Kongo-Krimske hemoragične groznice, Louping ill virusa i virusa Zapadnog Nila. Takođe, posredstvom PAP fenomena uočen je prenos *B. burgdorferi sensu stricto*, *B. garinii* i *B. afzelii* sa zaraženog krpelja na nezaraženog, bez izazivanja bakterijemije. Laboratorijskim ispitivanjima na glodarima je podržana hipoteza fenomena PAP, gde je ostvarena transmisija TBEV sa jednog krpelja na drugog, čak i u prisustvu virus-neutralizacionih antitela u cirkulaciji domaćina [14-16].

### NASTANAK I RAZVOJ MIGRATORNOG ERITEMA

Uzrokovani migratornog eritema kao rane faze lajm borelioze su patogeni genospecijesi iz *Borrelia burgdorferi sensu lato* kompleksa. To su Gram-negativne, spiralno zavijene spirohete, u proseku široke 0,5  $\mu$ m i duge 20 $\mu$ m. Poseduju flagelu postavljenu ispod spoljašnje membrane, koja se prostire celom dužinom bakterije i prominira na oba kraja, što omogućava njihovo kretanje u medijumu u kome se nalaze.

Centalni momenat iniciranja procesa transmisije borelija od strane krpelja je proboj kože čoveka i započinjanje hranjenja. Tokom uzimanja prvih porcija krvi, dolazi do promena u genskoj ekspresiji strukturnih proteina borelija koje se nalaze u srednjem crevu krpelja. Borelije migriraju ka pljuvačnim žlezdama i počinju da ekspimiraju Outer surface C protein (OspC protein), neophodan za ostvarivanje patogenosti kod sisara. Uporedo sa tim, u sve manjoj meri se ekspimiraju outer surface A i B proteini (OspA i OspB proteini), ključni za adheriranje za TROSPA receptore na ćelijama krpelja u srednjem crevu i pljuvačnim žlezdama (17,18). Neophodnost OspC proteina za ostvarivanje infekcije kod sisara je dokazano na animalnim modelima, gde borelije nisu uspele da izazovu infekciju kod jedinki zaštićenih anti-OspC antitelima [19]. Smatra se da je povišenje temperature unutar krpelja tokom ingestije krvi jedan od ključnih momenata koji dovodi do aktivacije procesa ekspimiranja novih setova proteina na površini borelije [20].

Borelija se u domaćina izlučuje zajedno sa pljuvačkom krpelja, najčešće vezana za pljuvačni protein SALP 15 (Salivary protein 15), koji inhibira aktivaciju CD4+ limfocita. Protein SALP 25D (Salivary protein 25), takođe prisutan u pljuvački krpelja neutrališe oksidativni stres koji nastaje reakcijom neutrofilnih granulocita domaćina i ometa njihovu hemotaksiju, dok protein Sialostatin L ometa aktivaciju mastocita inhibicijom interleukina 9 (21,22). Istovremeno, borelije ekspimiruju OspE, p21, kao i CRASP proteine (complement regulator-acquiring surface proteins), kojima adheriraju za faktor H i blokiraju aktivaciju C3b komponente sistema

komplemenata [23,24]. U prvih par dana nakon uzlučivanja u organizam domaćina borelije su u stadijumu inkubacije, zbog njihove prirodne rezistencije na antibiotike u tom periodu, davanje preventivne antibiotske terapije je kontraindikovano.

Genom borelija *sensu lato* kompleksa je lišen gena za sintezu toksina, ili enzima za razgranju tkiva domaćina. Ispitivanjem referentnog soja B31 detektovan je 1 linearan hromozom koji se sastoji od približno 1 megabaze, na kome je većina housekeeping gena, kao i 21 plazmid (12 linearnih i 9 cirkularnih) na kojima su smešteni geni čijom ekspresijom borelija ostvaruje svoju virulenciju [25]. U plazmidima se nalaze geni za ekspresiju Osp proteina i pokazuju visok stepen varijabilnosti među različitim sojevima bakterija. Do sada nije detektovana nijedna bakterija koja poseduje veći broj plazmida od borelija *sensu lato* kompleksa.

Kao posledica nedostatka gena za sintezu toksina i enzima za razgradnju ekstraćelijske supstance domaćina, smatra se da patogeni sojevi borelija dovode do infekcije i daljeg širenja posredstvom ćelija domaćina i njihovih enzima, kako u ranoj, tako i u kasnijim fazama oboljenja.

U zavisnosti od organskog sistema u kome se nalaze i od pritiska imunog odgovora domaćina, spirohete ekspresuju niz lipoproteinskih struktura na svojoj ćelijskoj membrani u različitim vremenskim intervalima. Najvažniji antigeni specifični za borelije među njima su Decorin-binding protein A (DbpA), OspC, BBF01 i VlsE (Vmp-like sequence, expressed) [24,26]. Smatra se da oni stimulišu imuni odgovor domaćina posredstvom Tool-like receptora 1 i 2 (TLR1 i 2). Pored mehanizama za izbegavanje TLR aktivacije imunog odgovora, sposobnost kretanja borelije kroz tkivo domaćina (oko 4  $\mu\text{m/s}$ ) obezbeđuje dodatnu zaštitu od fagocitoze [27].

Histopatološki, klasični opis migratornog eritema je lezija sa prisustvom površinskog i dubokog perivaskularnog mononuklearnog zapaljenskog infiltrata, u čijoj periferiji dominiraju plazmociti i mastociti, a u centru eozinofili. Takođe, u biopsijama migratornih eritema tokom ranih faza češće su detektovani eozinofili, dok su kasnije dominantniji plazmociti. Dodatni opis uključuje moguće prisustvo i polimorfnog infiltrata neutrofila, eozinofila, mononukleara i mastocita, kao i oštećenje epiderma i prisustvo spongioznih promena na mestu uboda [28]. Korišćenjem specijalnih histohemijskih, imunoperoksidaznih i imunofluorescentnih tehnika moguće je izvršiti vizuelizaciju spiroheta u biopsatu.

Ipak, pored svih dostupnih informacija, nejasno je kako borelija uspeva da izazove tako specifičnu leziju kao što je migratorni eritem, a da ne poseduje nijedan enzim koji bi joj omogućio prodor u dubinu tkiva i diseminaciju po organizmu domaćina. Trenutno aktuelna teorija olakšane penetracije kroz tkivo domaćina se bazira na iskorišćavanju specifičnih enzima domaćina - matriks metaloproteaza, od strane borelija. U skladu sa tom teorijom, borelija modulira funkciju fibroblasta, neutrofila i makrofaga domaćina, koji luče seriju tih enzima, na prvom mestu matriks metaloproteinazu 1 i 9, koje imaju sposobnost razgradnje kolagenih i elastičnih vlakana [29,30]. Dejstvom tih enzima, borelijama se otvara put za širenje per continuitatem, kao i mogućnost diseminacije kroz krvotok i limfotok domaćina [31].

## DIFERENCIJALNA DIJAGNOSTIKA MIGRATORNOG ERITEMA

Migratorni eritem (erythema migrans - EM) je karakteristična promena na koži koja se javlja kao pokazatelj ranog stadijuma lajm borelioze. Javlja se u prvih mesec dana od uboda krpelja kod 70-80% pacijenata, u početku kao crvena bezbolna makula ili papula, koja se centrifugalno širi. Može da regresira u centru i poprima izgled prstena [32].

EM može biti hemoragične boje, posebno na donjim ekstremitetima, sredina može poprimiti tamnoljubičastu boju, ivica može biti blago uzdignuta. Crvenilo se može javiti kao homogeno ili prstenasto, najčešće okruglastog oblika. EM se može javiti kao atipična promena na koži, te se teško može razlikovati od eritematoznih promena koje se javljaju na mestu uboda krpelja unutar nekoliko sati. Takve promene su manje od 5 cm i polako se povlače u roku od nekoliko dana [33,34]. Dijagnoza EM mora biti postavljena klinički, jer su serološki testovi u ovoj fazi bolesti najčešće negativni. Kod nespecifičnih slučajeva preporučuje se uzimanje biopsije i izolacija uzročnika [32].

Određeni broj promena može podsećati na EM, kao što su reakcije hiperosetljivosti na ubod insekata i atropoda. Najvažniji diferencijalno dijagnostički parametar je vreme. Eritem nastao ubodom insekata i artropoda će se smanjivati u roku od nekoliko dana, dok će EM da se širi [34]. Važno je imati na umu moguće diferencijalno dijagnostičke opcije, pre svega zbog racionalne upotrebe antibiotika i izbegavanja razvoja rezistentnih sojeva mikroorganizama.

### Gljivična oboljenja

Tinea corporis/gljivična je bolest neobraslih delova kože koja se manifestuje u vidu crvenih žarišta u obliku pravilnog kruga sa uzdignutim, infiltriranim i ljuskavim ivicama i središnjom regresijom. Dijagnoza se postavlja na osnovu karakterističnog izgleda, ova promena je za razliku od EM prekrivena ljuspicama. Dodatno se može uraditi ispitivanje kliničkog materijala u 10% kalijum hidroksidu (KOH) [35]. Najčešći uzročnici su *Trichophyton* i *Epidermophyton*.

### Alergijske reakcije i autoimuni poremećaji

Numularni ekcem (Nummular eczema) se javlja na ekstremitetima, ređe na trupu u vidu okruglih, jasno ograničenih eritematoznih plakova sa vezikulama i krustama. Promene su praćene svrabom, javlja se u zimskim mesecima, često je povezan sa atopijskim dermatitisom i astmom [36].

Granuloma annulare je idiopatski poremećaj najčešće se javlja na dorzalnim stranama ekstremiteta karakterišu ga čvrste, sjajne papule koje se šire stvarajući uzdignuti obruč oko normalne kože. Od EM se razlikuje po prisustvu papula, koje su u ranoj fazi lajm borelioze odsutne [37].

Ekcem (eczema) je promena na koži u vidu crvenila različitog intenziteta i oblika, obično ne prelazi 5 cm u prečniku. Od EM se razlikuje po tome što se ne širi i ne reaguje na lokalne kortikosteroide [38]. Javlja se kod osoba sa atopijskom konstitucijom.

Osip kod alergije na lekove se javlja nakon uzimanja leka i manifestuje se kao jasno ograničeno crvenilo različitog intenziteta praćeno svrabom, prečnika najčešće 2-5 cm. Najčešći primer je koprivnjača nastala nakon uzimanja leka.

## Bakterijske infekcije

Crveni vetar (erysipelas) je infektivno oboljenje kože koju uzrokuju bakterije iz porodice streptokoka. Karakteriše se crvenilom koje je toplo i bolno na dodir, jasno ograničeno od okolnog zdravog tkiva i opštim znacima infekcije [34].

Erizipeloid se obično javlja na rukama nakon povrede, opisuje se kao oštro ograničena crvena mrlja koja počinje da bledi u sredini. EM se retko javlja na rukama, pored toga pacijenti sa erizipeloidom su bili u kontaktu sa mesom, što nije faktor rizika za obolevanje od lajm borelioze. Izaziva ga *Erysipelothrix rhusiopathiae* [39].

Nekrotični migratorni eritem (Necrolytic migratory erythema) se javlja kod glukagonoma (tumor  $\alpha$ -ćelija pankreasa) u vidu eritematozne, uzdignute ljuspaste ili bulozne promene na koži praćene hiperglikemijom [40]. Dijagnoza se postavlja na osnovu povišenih vrednosti glukagona i CT nalaza.

Pored EM, kod rane lajmske borelioze na koži se retko javlja i borelijski limfocitom. Obično se javlja od 30 do 45 dana od uboda krpelja, ali se može javiti i kasnije. Tipično se javlja na ušnoj resici, bradavicama ili testisima [41]. Ova regionalna specifičnost podrazumeva da se bakterija bolje razmnožava na nižim temperaturama.

Borelijski limfocitom se češće javlja kod dece nego kod odraslih. Javlja se kao solitarna lokalizovana promena plavo-crvene boje, prečnika najčešće od 1 do nekoliko centimetara

[42]. Diferencijalno dijagnostički u obzir dolazi limfom, eritematozni lupus, sarkoidoza, facijalni granulom ili polimorfna erupcija svetlosti. Kod borelijskog limfocitoma se u krvi pojavljuje porast titra IgG bez obzira na dužinu infekcije [43].

Dijagnoza BL se može potvrditi histološki. Histopatološki nalaz pokazuje guste dermalne infiltrate limfocita u nakupinama sa dobro razvijenim folikulima i pseudogerminativnim centrima. Infiltrat čine T i B limfociti, makrofagi, plazma ćelije i eozinofili [44]. Antibiotici dovode do povlačenja lezije za 3 nedelje.

## ZAKLJUČAK

Razvojem modernih dijagnostičkih i istraživačkih metoda obim znanja o biologiji uzrokača lajm borelioze i patofiziološkim mehanizmima migratornog eritema je znatno proširen, te je lekaru olakšan proces postavljanja dijagnoze i ordiniranja terapije. Pri postavljanju dijagnoze migratornog eritema, lekar treba imati na umu trenutno aktuelne preporuke, koje više ne obuhvataju preventivno davanje antibiotika. Serološke analize u ranoj fazi treba tumačiti oprezno i odgovorno. U cilju smanjivanja rizika postavljanja pogrešne dijagnoze, lekar se na prvom mestu treba osloniti na klinički pregled i anamnezu, koji su ostali zlatni standard za postavljanje dijagnoze migratornog eritema.

## LITERATURA

1. Nuttall PA, Labuda M. Tick-host interactions: saliva-activated transmission. *Parasitology*. 2004 Oct;129(S1):S177-89.
2. Moutailler S, Valiente Moro C, Vaumourin E, Michelet L, Tran FH, Devillers E, et al. Co-infection of Ticks: The Rule Rather Than the Exception. *Vinetz JM, editor. PLoS Negl Trop Dis*. 2016 Mar 17;10(3):e0004539.
3. Bonnet SI, Binetruy F, Hernández-Jarguín AM, Duron O. The Tick Microbiome: Why Non-pathogenic Microorganisms Matter in Tick Biology and Pathogen Transmission. *Front Cell Infect Microbiol*. 2017;7. <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fcimb.2017.00236/full>
4. Suppan J, Engel B, Marchetti-Deschmann M, Nürnberger S. Tick attachment cement - reviewing the mysteries of a biological skin plug system: Tick attachment cement. *Biol Rev*. 2018 May;93(2):1056-76.
5. Šimo L, Kazimirova M, Richardson J, Bonnet SI. The Essential Role of Tick Salivary Glands and Saliva in Tick Feeding and Pathogen Transmission. *Front Cell Infect Microbiol*. 2017;7. <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fcimb.2017.00281/full>
6. Blisnick AA, Foulon T, Bonnet SI. Serine Protease Inhibitors in Ticks: An Overview of Their Role in Tick Biology and Tick-Borne Pathogen Transmission. *Front Cell Infect Microbiol*. 2017;7. <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fcimb.2017.00199/full>
7. Kazimirová M, Štibrániová I. Tick salivary compounds: their role in modulation of host defences and pathogen transmission. *Front Cell Infect Microbiol*. 2013;3. <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fcimb.2013.00043/abstract>
8. Brossard M, Wikel SK. Tick immunobiology. *Parasitology*. 2004 Oct;129(S1):S161-76.
9. Cabezas-Cruz A, Hodžić A, Román-Carrasco P, Mateos-Hernández L, Duscher GG, Sinha DK, et al. Environmental and Molecular Drivers of the  $\alpha$ -Gal Syndrome. *Front Immunol*. 2019;10:1210.
10. Crispell G, Commins SP, Archer-Hartman SA, Choudhary S, Dharmarajan G, Azadi P, et al. Discovery of Alpha-Gal-Containing Antigens in North American Tick Species Believed to Induce Red Meat Allergy. *Front Immunol*. 2019;10:1056.
11. de la Fuente J, Pacheco I, Villar M, Cabezas-Cruz A. The alpha-Gal syndrome: new insights into the tick-host conflict and cooperation. *Parasit Vectors*. 2019 Apr 3;12(1):154.
12. Mabelane T, Basera W, Botha M, Thomas HF, Ramjith J, Levin ME. Predictive values of alpha-gal IgE levels and alpha-gal IgE: Total IgE ratio and oral food challenge-proven meat allergy in a population with a high prevalence of reported red meat allergy. *Pediatr Allergy Immunol Off Publ Eur Soc Pediatr Allergy Immunol*. 2018;29(8):841-9.
13. Nuttall PA. Tick saliva and its role in pathogen transmission. *Wien Klin Wochenschr*. 2019. <https://doi.org/10.1007/s00508-019-1500-y>
14. Labuda M, Kozuch O, Zuffová E, Elecková E, Hails RS, Nuttall PA. Tick-borne encephalitis virus transmission between ticks co-feeding on specific immune natural rodent hosts. *Virology*. 1997;235(1):138-43.

15. Voordouw MJ. Co-feeding transmission in Lyme disease pathogens. *Parasitology*. 2015;142(2):290-302.
16. Hermance M, Thangamani S. Tick-Virus-Host Interactions at the Cutaneous Interface: The Nidus of Flavivirus Transmission. *Viruses*. 2018 Jul 7;10(7):362.
17. Sonenshine DE, Macaluso KR. Microbial Invasion vs. Tick Immune Regulation. *Front Cell Infect Microbiol*. 2017;7. <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fcimb.2017.00390/full>
18. Figlerowicz M, Urbanowicz A, Lewandowski D, Jodynis-Liebert J, Sadowski C. Functional Insights into Recombinant TROSPA Protein from *Ixodes ricinus*. *PLoS ONE*. 2013;8(10). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3800121/>
19. Mbow ML, Gilmore RD, Titus RG. An OspC-Specific Monoclonal Antibody Passively Protects Mice from Tick-Transmitted Infection by *Borrelia burgdorferi* B31. *Infect Immun*. 1999;67(10):5470-2.
20. Ojaimi C, Brooks C, Casjens S, Rosa P, Elias A, Barbour A, et al. Profiling of Temperature-Induced Changes in *Borrelia burgdorferi* Gene Expression by Using Whole Genome Arrays. *Infect Immun*. 2003;71(4):1689-705.
21. Ramamoorthi N, Narasimhan S, Pal U, Bao F, Yang XF, Fish D, et al. The Lyme disease agent exploits a tick protein to infect the mammalian host. *Nature*. 2005;436(7050):573-7.
22. Hovius JW, Schuijt TJ, de Groot KA, Roelofs JJTH, Oei GA, Marquart JA, et al. Preferential Protection of *Borrelia burgdorferi* *Sensu Stricto* by a Salp 15 Homologue in *Ixodes ricinus* Saliva. *J Infect Dis*. 2008;198(8):1189-97.
23. Kraiczy P, Stevenson B. Complement regulator-acquiring surface proteins of *Borrelia burgdorferi*: Structure, function and regulation of gene expression. *Ticks Tick-Borne Dis*. 2013;4(0):26-34.
24. von Lackum K, Miller JC, Bykowski T, Riley SP, Woodman ME, Brade V, et al. *Borrelia burgdorferi* Regulates Expression of Complement Regulator-Acquiring Surface Protein 1 during the Mammal-Tick Infection Cycle. *Infect Immun*. 2005;73(11):7398-405.
25. Fraser CM, Casjens S, Huang WM, Sutton GG, Clayton R, Lathigra R, et al. Genomic sequence of a Lyme disease spirochaete, *Borrelia burgdorferi*. *Nature*. 1997;390(6660):580-6.
26. Lovrich SD, Jobe DA, Schell RF, Callister SM. *Borrelia burgdorferi* OspC Antibodies Specific for a Highly Conserved Epitope Are Immunodominant in Human Lyme Disease and Do Not Occur in Mice or Hamsters. *Clin Diagn Lab Immunol*. 2005;12(6):746-51.
27. Aslam B, Nisar MA, Khurshid M, Farooq Salamat MK. Immune escape strategies of *Borrelia burgdorferi*. *Future Microbiol*. 2017;12(13):1219-37.
28. Wilson TC, Legler A, Madison KC, Fairley JA, Swick BL. Erythema migrans: a spectrum of histopathologic changes. *Am J Dermatopathol*. 2012;34(8):834-7.
29. Gebbia JA, Coleman JL, Benach JL. *Borrelia Spirochetes* Upregulate Release and Activation of Matrix Metalloproteinase Gelatinase B (MMP-9) and Collagenase 1 (MMP-1) in Human Cells. *Infect Immun*. 2001;69(1):456-62.
30. Vieira ML, Nascimento ALTO. Interaction of spirochetes with the host fibrinolytic system and potential roles in pathogenesis. *Crit Rev Microbiol*. 2016;42(4):573-87.
31. Lalosevic D, Lalosevic V, Stojic-Milosavljevic A, Stojic D. *Borrelia*-like organism in heart capillaries of patient with Lyme-disease seen by electron microscopy. *Int J Cardiol*. 2010;145(3):e96-98.
32. Strle F, Stanek G. Clinical manifestations and diagnosis of lyme borreliosis. *Curr Probl Dermatol*. 2009;37:51-110.
33. Hofmann H, Fingerle V, Hunfeld K-P, Huppertz H-I, Krause A, Rauer S, et al. Cutaneous Lyme borreliosis: Guideline of the German Dermatology Society. *GMS Ger Med Sci*. 2017;15.
34. Wormser GP, Dattwyler RJ, Shapiro ED, Halperin JJ, Steere AC, Klempner MS, et al. The clinical assessment, treatment, and prevention of lyme disease, human granulocytic anaplasmosis, and babesiosis: clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 2006;43(9):1089-134.
35. Ely JW, Rosenfeld S, Seabury Stone M. Diagnosis and management of tinea infections. *Am Fam Physician*. 2014;90(10):702-10.
36. Halberg M. Nummular Eczema. *J Emerg Med*. 2012;43(5):e327-8.
37. Leung AKC, Barankin B. An Annular Lesion on the Elbow. *Am Fam Physician*. 2016;93(5):397-8.
38. Weber K, Neubert U, Büchner SA. Erythema Migrans and Early Signs and Symptoms. In: Weber K, Burgdorfer W, Schierz G, editors. *Aspects of Lyme Borreliosis*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 1993. p. 105-21. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-77614-4\\_8](https://doi.org/10.1007/978-3-642-77614-4_8)
39. Niemeyer-Corbellini JP, Lupi O, Klotz L, Montelo L, Elston DM, Haddad V, et al. 36 - Environmental Causes of Dermatitis. In: Tyring SK, Lupi O, Hengge UR, editors. *Tropical Dermatology (Second Edition)*. Elsevier; 2017. p. 443-70.
40. Rodríguez G, Vargas E, Abaúnza C, Cáceres S. Necrolytic migratory erythema and pancreatic glucagonoma. *Biomed Rev Inst Nac Salud*. 2016;36(2):176-81.
41. Mullegger RR. Dermatological manifestations of Lyme borreliosis. *Eur J Dermatol EJD*. 2004;14(5):296-309.
42. Strle F, Pleterski-Rigler D, Cimperman J, Pejovnik-Pustinek A, Ruzic E, Stanek G. Solitary borrelial lymphocytoma: Report of 36 cases. *Infection*. 1992;20(4):201-6.
43. Glatz M, Resinger A, Semmelweis K, Ambros-Rudolph CM, Müllegger RR. Clinical spectrum of skin manifestations of Lyme borreliosis in 204 children in Austria. *Acta Derm Venereol*. 2015;95(5):565-71.
44. Asbrink E, Hovmark A. Early and late cutaneous manifestations in *Ixodes*-borne borreliosis (erythema migrans borreliosis, Lyme borreliosis). *Ann N Y Acad Sci*. 1988;539:4-15.