

Aus dem Institut für
Vergleichende Tropenmedizin und Parasitologie
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München
Vorstand: Prof. Dr. K. Pfister

UNTERSUCHUNGEN ZUM ZECKENBEFALL
UND ZUR PRÄVALENZ VON
BORRELIA BURGDORFERI SOWIE *BABESIA DIVERGENS*
BEIM RIND IM BAYERISCHEN VORALPENLAND

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Heidi Lengauer
aus Prien am Chiemsee

München 2004

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan:	Univ.-Prof. Dr. A. Stolle
Referent:	Univ.-Prof. Dr. K. Pfister
Korreferentin:	Univ.-Prof. Dr. H. Roos

Tag der Promotion: 23. Juli 2004

Meinen Eltern gewidmet

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung und Aufgabenstellung	1
2. Einführung (Schrifttum)	3
2.1 Zecken	3
2.1.1 Systematik der in Deutschland heimischen Zecken	3
2.1.2 <i>Ixodes ricinus</i>	4
2.1.2.1 Geographische Verbreitung	4
2.1.2.2 Biotop	4
2.1.2.3 Morphologie	5
2.1.2.4 Wirtsfindung und Wirtsspektrum	6
2.1.2.5 Stichmechanismus und Saugakt	7
2.1.2.6 Entwicklungszyklus	8
2.1.3 <i>Ixodes ricinus</i> als Vektor	10
2.2 <i>Borrelia burgdorferi</i>	11
2.2.1 Definition und Geschichte	11
2.2.2 Systematik	11
2.2.3 Morphologie und Biologie	12
2.2.4 Geographische Verbreitung	13
2.2.5 Infektionsspektrum	14
2.2.6 Häufigkeit Borrelien-infizierter Zecken	14
2.2.7 Übertragungswege	16
2.2.8 Erkrankungen beim Menschen	17
2.2.8.1 Pathogenese und pathologische Anatomie	17
2.2.8.2 Klinisches Bild	18
2.2.9 Verbreitung, Infektionsraten und klinische Symptome der Borreliose des Rindes	22
2.2.10 Diagnose	26
2.3 <i>Babesia divergens</i>	29
2.3.1 Allgemeines	29
2.3.2 Systematik	30
2.3.3 Morphologie und Entwicklung	30
2.3.4 Pathogenese	32
2.3.5 Klinik und Pathologie	33
2.3.6 Epidemiologie, Verbreitung und Vorkommen	33
2.3.7 Diagnose	34
2.3.8 Differentialdiagnosen	35
2.3.9 Therapie	35
3. Material und Methoden	36
3.1 Material	36
3.1.1 Rinder	36
3.1.1.1 Rasse	36
3.1.1.2 Geschlecht	36
3.1.1.3 Alter	36

3.1.2 Betriebe	37
3.2 Methoden	47
3.2.1 Untersuchung der Rinder auf Zeckenbefall	47
3.2.2 Untersuchung der Zecken	47
3.2.3 Blutentnahme und Serumgewinnung	47
3.2.4 <i>Borrelia burgdorferi</i> IFAT	48
3.2.5 <i>Borrelia garinii</i> Westernblot	50
3.2.6 <i>Babesia divergens</i> IFAT	53
3.2.7 Zusatzuntersuchung auf <i>Fasciola hepatica</i>	54
4. Ergebnisse	56
4.1 Zeckenbefall	56
4.2 Serologische Untersuchungen auf Borrelien	66
4.2.1 Beobachtete Antikörpertiter gegen <i>Borrelia burgdorferi</i> im IFAT	66
4.2.2 Überprüfung der Methode	71
4.2.3 <i>Borrelia garinii</i> Westernblot	73
4.3 <i>Babesia divergens</i> IFAT	80
4.4 <i>Fasciola hepatica</i> ELISA	81
5. Diskussion	82
5.1 Zeckenbefall	82
5.2 Serologische Untersuchungen auf Borrelien	86
5.2.1 <i>Borrelia burgdorferi</i> IFAT	86
5.2.2 Überprüfung der Methode	89
5.2.3 <i>Borrelia garinii</i> Westernblot	91
5.3 <i>Babesia divergens</i> IFAT	92
5.4 <i>Fasciola hepatica</i>	94
6. Zusammenfassung	97
7. Summary	98
8. Anhang	99
8.1 An Landwirte ausgeteiltes Informationsmaterial	99
8.2 Originaldaten zu den Zeckenfunden	100
8.3 Originaldaten zu: <i>Borrelia burgdorferi</i> IFAT, <i>Borrelia garinii</i> Westernblot, <i>Babesia divergens</i> IFAT	110
8.4 Originaldaten zu: <i>Fasciola hepatica</i> ELISA	118
9. Literaturverzeichnis	122
Danksagungen	138

1. Einleitung und Aufgabenstellung

Epidemiologische Untersuchungen zur Zeckeninfestation und damit verbundenen Erregerübertragungen beim Rind in Südbayern sind eher selten, liegen lange zurück und lassen einige Fragen offen. So beschäftigten sich LEHNER (1973), REIF (1980), ULLMANN (1983), BARK (1986), sowie KÄSBOHRER und SCHÖNBERG (1990) mit den durch Zecken übertragenen Erregern *Babesia divergens* und *Borrelia burgdorferi* beim Rind in Süddeutschland, wobei lediglich LEHNER (1973) und ULLMANN (1983) die Tiere zusätzlich auf einen Zeckenbefall überprüften und die übrigen Autoren rein serologische Untersuchungen durchführten. Die Angaben von LEHNER (1973) zur Infestation waren sehr vage, weil keine genauen Zahlen genannt wurden. ULLMANN (1983) konnte trotz intensiver Bemühungen keinen Befall der Rinder mit Zecken beobachten, obwohl Antikörper gegen *Babesia divergens* nachweisbar waren. Zudem wurden die Untersuchungen bei nur einer Herde bzw. lediglich in einer Region durchgeführt und ergaben so ein ungenaues Bild über die Verbreitung von Zecken bei Rindern im Voralpenland.

In den serologischen Studien von REIF (1980), BARK (1986), sowie KÄSBOHRER und SCHÖNBERG (1990) konnten Antikörper gegen *Babesia divergens* und *Borrelia burgdorferi* festgestellt werden, jedoch fehlten Aussagen über den Allgemeinzustand bzw. das klinische Bild der getesteten Reagenten. Antikörper gegen Borrelien bei Rindern konnte u. a. BARK (1986) nachweisen. Allerdings wurden lediglich 66 Tiere untersucht. KÄSBOHRER und SCHÖNBERG (1990) wiesen ebenfalls Antikörper nach, machten aber wiederum keine Angaben über die geographische Herkunft der süddeutschen Seren, so dass Daten über die Verbreitung von *Borrelia burgdorferi* beim Rind nur unvollständig bekannt sind. Aus der Durchsicht der Literatur wird deutlich, dass bisher keine Studie durchgeführt wurde, die, mehrere Regionen betreffend, sowohl den Zeckenbefall als auch den Nachweis von durch Zecken übertragenen Erregern behandelte.

Die hier vorliegende Arbeit hatte daher zunächst zum Ziel, genauere Untersuchungen über den Zeckenbefall bei Rindern aus verschiedenen Gebieten des bayerischen Voralpenlandes vorzunehmen und den Verlauf des Zeckenbefalls über eine Weidesaison zu dokumentieren. Dabei galt es festzustellen, ob Zeckeninfestationen bei Kühen und Jungrindern auftreten, welche Werte die Prävalenz, die Befallsintensität und Befallsextenstität annehmen, und ob

saisonale sowie regionale Unterschiede zu beobachten sind. Von zusätzlichem Interesse war, welche Zeckenarten und -stadien anzutreffen sind.

In einem weiteren Schritt sollte durch serologische Untersuchungen geklärt werden, in welchem Umfang die Rinder Antikörper gegen *Borrelia burgdorferi* und *Babesia divergens* aufweisen, ob regionale Unterschiede in der Prävalenz dieser Erreger bestehen oder bestimmte Betriebe besonders betroffen sind. Durch eine regelmäßige Kontrolle der Bestände sollte festgestellt werden, ob klinische Symptome, die auf eine Infektion mit diesen Erregern schließen lassen, beobachtet werden können.

Mit der kombinierten Untersuchung der Rinder auf eine Infestation mit Zecken und die Bestimmung von Antikörpertitern im Serum dieser Rinder sollte geprüft werden, ob eine positive Korrelation zwischen der Anzahl der auf einem Rind gefundenen Zecken und der Höhe von Antikörpertitern gegen veterinärmedizinisch relevante Erreger des Rindes besteht.

2. Einführung (Schrifttum)

2.1 Zecken

2.1.1 Systematik der in Deutschland heimischen Zecken

Von weltweit ca. 800 Zeckenarten sind bislang in Deutschland 19 Arten aus 5 Gattungen beschrieben worden (Kopp Gómez, 1990; Liebisch, 1991a; Mehlhorn und Piekarski, 1998; Rommel *et al.*, 2000). Einen Überblick über ihre systematische Eingruppierung gibt Tab. 1.

Stamm:	ARTHROPODA	
1. Unterstamm:	Chelicerata (Amandibulata)	
Klasse:	Arachnida	
Unterklasse:	Acarina	
Überordnung:	Anactinotrichida (= Parasitiformes)	
Ordnung:	Metastigmata	
Familie	Gattung	Art
<i>Ixodidae</i> (Schildzecken)	<i>Ixodes</i>	<i>ricinus</i> <i>hexagonus</i> <i>canisuga</i> <i>trianguliceps</i> <i>apronophorus</i> <i>vespertilionis</i> <i>simplex</i> <i>festai</i> <i>pari</i> <i>arboricola</i> <i>lividus</i> <i>uriae</i>
	<i>Haemaphysalis</i>	<i>concinna</i> <i>punctata</i>
	<i>Dermacentor</i>	<i>reticulatus</i> <i>marginatus</i>
	<i>Rhipicephalus</i>	<i>sanguineus</i>
<i>Argasidae</i> (Lederzecken)	<i>Argas</i>	<i>reflexus</i> <i>vespertilionis</i>

Tab. 1: Systematische Eingruppierung der in Deutschland heimischen Zecken (nach Mehlhorn und Piekarski, 1998; Rommel *et al.*, 2000)

Neben den ganzjährig in Deutschland lebenden Arten finden sich gelegentlich noch andere, aus dem Ausland eingeschleppte Formen, die aber aufgrund der klimatischen Bedingungen hier nicht heimisch werden können. Viele Zeckenarten sind streng wirtsspezifisch und kommen nur an bestimmten freilebenden Wildsäugetieren und Vögeln oder in deren Bauten und Nestern vor (Liebisch, 1978, 1991a). Die in Mitteleuropa häufigste Art, *Ixodes ricinus*, befällt dagegen ein sehr breites Wirtsspektrum (Euryphagie) und ist nicht an eng begrenzte Biotope, wie Nester, gebunden. Sie stellt in Mitteleuropa ca. 90 % der gesamten Zeckenfauna (Rufli und Mumcuoglu, 1981).

2.1.2 *Ixodes ricinus*

2.1.2.1 Geographische Verbreitung

Die geographische Verbreitung von *Ixodes ricinus* erstreckt sich in Europa etwa zwischen dem 40. Breitengrad als Südgrenze und dem 60. Breitengrad als Nordgrenze. Je nach den klimatischen Verhältnissen kann sich das Vorkommen weiter nach Norden (z. B. Südfinnland) oder nach Süden (z. B. Küstengebirge Tunesiens) erstrecken. Das Gebiet wird östlich durch die Wolga und das Kaspische Meer, westlich durch die Atlantikküste begrenzt. Deutschland liegt im Kern des Verbreitungsgebietes und *Ixodes ricinus* kann landesweit nachgewiesen werden (MacLeod, 1936; Walter und Liebisch, 1980; Liebisch, 1991a; Dedié *et al.*, 1993).

2.1.2.2 Biotop

Ixodes ricinus bevorzugt ein humides Klima und Biotope mit humosem, leicht saurem Boden, hohem Grundwasserstand, bodennahem Bewuchs und einer Deckschicht aus abgestorbenen Laub- oder Pflanzenteilen (Dedié *et al.*, 1993). Die Zecken verbringen dort den überwiegenden Teil (bis zu 99 %) ihres Lebens (Liebisch, 1978; Radda und Kunz, 1983; Kahl, 1994).

Nadel-, Laub- und Mischwaldbestände mit viel Unterholz und einer dichten Krautzone stellen in Deutschland einen geeigneten Lebensraum dar. Offene, aber feuchte moorige und nicht drainierte Gebiete mit Stauden, Farnkraut und Büschen sind auch ohne Baumbestand geeignete Habitate (Liebisch, 1991a). Bestimmend für das Überleben und die Vermehrung ist dabei die relative Luftfeuchtigkeit, die mindestens 70-80 % betragen muss (MacLeod, 1934;

1935b). In den niedrigen Vegetationsschichten besteht eine Pufferzone still stehender Luft zwischen der feuchten Bodenoberfläche und der äußeren Atmosphäre (Mikroklima), in der eine relative Luftfeuchtigkeit von mehr als 90 % herrscht. In der Bodenmatte finden sich 100 % relative Luftfeuchte. Solche Habitate lassen die Zecken auch trockene Sommer überstehen (MacLeod, 1935a).

Ixodes ricinus wird bis zu 1200 m ü. M. angetroffen, zwischen 1200 und 1500 m ist die Art selten, und über 1500 m kommt sie kaum mehr vor. Die größte Zeckendichte wird in Höhenlagen um 600 m gefunden (Rufli und Mumcuoglu, 1981).

2.1.2.3 Morphologie

Ixodes ricinus, auch „gemeiner Holzbock“ genannt, verdankt seinen wissenschaftlichen Namen „*ricinus*“ seiner (im vollgesaugten Stadium) Ähnlichkeit mit dem Rizinus-Samen (*Ricinus communis*) (Rufli und Mumcuoglu, 1981, Stanek und Hofmann, 1994).

Ein adultes Weibchen misst im nüchternen Zustand etwa 4 mm, während die Männchen ca. 2,5 mm lang sind (Stanek und Hofmann, 1994). Die Nymphen sind etwa 1 mm groß und morphologisch weitestgehend mit den Imagines identisch, allerdings fehlen Stigmen und Geschlechtsöffnung. Die Larven sind ca. 0,5-1 mm groß und sechsbeinig (Rufli und Mumcuoglu, 1981; Radda und Kunz, 1983; Stanek und Hofmann, 1994).

Ein dunkelbraunes bis schwarzes Rückenschild (Scutum) hat als morphologisches Merkmal der Familie der Schildzecken den Namen gegeben. Es bedeckt beim Männchen den ganzen Hinterleib und beim Weibchen im nicht vollgesogenen Zustand etwa ein Drittel des braunroten Körpers. Das Capitulum („Kopf“) umfasst einen basalen (Basis capituli) und einen apikalen Teil, welcher aus einer Stechborste (Hypostom), den Kiefertastern (Pedipalpen) und den Kieferklauen (Cheliceren) zusammengesetzt ist (Rufli und Mumcuoglu, 1981; Rommel *et al.*, 2000). Der Bereich der Mundwerkzeuge wird als Gnathosoma bezeichnet (Rommel *et al.*, 2000). Das an der Ventralseite der Mundgliedmaßen gelegene Hypostom ist mit Widerhaken versehen, die paarigen Cheliceren sind distal ebenfalls gezähnt und zwischen Cheliceren und Hypostom münden die Mund- und Speicheldrüsen. Die Speicheldrüsen sind u.a. für den Wasserhaushalt verantwortlich und produzieren Antikoagulantien, Enzyme, lokale Anästhetika, Toxine und zementähnliche Sekrete (Rufli und Mumcuoglu, 1981). Die Mundwerkzeuge des Männchens sind kürzer und gedrungener als die der Weibchen (Stanek und Hofmann, 1994). Die Pedipalpen bestehen aus vier ungleichmäßig großen Gliedern, von denen das apikale mit Chemorezeptoren versehen ist.

Der übrige Körper (Idiosoma) ist für die Aufnahme großer Blutmengen spezialisiert. Er ist beim Weibchen stark dehnbar und nimmt nach der Blutmahlzeit oft eine hellgraue Farbe an. Der Genitalporus des Weibchens befindet sich an der Ventralseite im vorderen (zwischen den Coxa IV) und die Analöffnung im hinteren Drittel des Körpers (Rufli und Mumcuoglu, 1981; Hillyard, 1996). Die für die Bestimmung wichtige Analfurche umgreift bei der Gattung *Ixodes* den Anus von kranial (= Prostriata) (Rommel *et al.*, 2000). Unterhalb der Coxen des vierten Beinpaars liegen die Atemöffnungen (Stigmen). Die Beine sind im Allgemeinen lang, stark chitiniert und siebengliedrig. Das letzte Beinsegment (Tarsus) des ersten Beinpaars trägt das Hallersche Organ, welches Feuchtigkeit, Geruchskomponenten, Kohlendioxid und Pheromone wahrnimmt. Es wird deshalb weniger für die Lokomotion als vielmehr zur Orientierung und zur Wirtssuche eingesetzt (Rufli und Mumcuoglu, 1981; Rommel *et al.*, 2000). Die übrigen Beine sind u.a. mit Thermosensillen besetzt und enden distal in zwei gut ausgebildeten Krallen und einem Haftlappen (Pulvillum) (Rufli und Mumcuoglu, 1981; Rommel *et al.*, 2000).

Einen Bestimmungsschlüssel zur Artdifferenzierung liefert HILLYARD (1996).

2.1.2.4 Wirtssuche und Wirtsspektrum

Ixodes ricinus ist dreiwirtig und muss in jedem Entwicklungsstadium Blut saugen (Aeschlimann, 1972). Die Zecken klammern sich bei ihrer Suche nach einem Wirt mit den hinteren 3 Beinpaaren an der Vegetation, z. B. an der Spitze eines Grashalms, fest und das erste Beinpaar mit dem Hallerschen Organ wird in charakteristischer Wartehaltung abgespreizt. Diese mit Sinnesborsten und -haaren ausgestattete Grube kann in Zusammenarbeit mit anderen Sinneshaaren am 1. Beinpaar mechanische, thermische und chemische Reize, wie Erschütterungen, Temperaturschwankungen und Ausdünstungen eines vorbeigehenden Wirtes wahrnehmen (Rufli und Mumcuoglu, 1981; Liebisch, 1991a; Stanek und Hofmann, 1994; Mehlhorn und Piekarski, 1998). Durch die an allen Beinpaaren befindlichen Krallen und Pulvilli (Haftlappen) reicht einer wirtssuchenden Zecke ein für Sekundenbruchteile bestehender Kontakt zu einem Wirt aus um auf ihn überzuwechseln (Kahl, 1994).

Ixodes ricinus hat ein sehr breites Wirtsspektrum und befällt allein in Mitteleuropa über 50 Säugetierarten und eine Anzahl Reptilien und Vögel. Kleinere Säugetiere wie Mäuse, Spitzmäuse, Maulwürfe, Siebenschläfer und Igel werden vor allem von den Larven parasitiert. Nymphen und Adulttiere befallen Hasen, Kaninchen, Fuchs, Dachs, Rotwild, domestizierte Säugetiere sowie den Menschen (Rufli und Mumcuoglu, 1981).

2.1.2.5 Stichmechanismus und Saugakt

Auf dem Wirt sucht die Zecke mit Hilfe ihrer Sinnesborsten an den Vorderbeinen und an den Pedipalpen (Tastern) eine geeignete Einstichstelle. Larven befallen in der Regel distale Körperteile und verbleiben häufig in der Nähe der Körperstellen an denen sie auf den Wirt übergegangen sind, wie z. B. am Kopf stöbernder Hunde (Schnauze, Umgebung der Augen, Ohrränder und -spitzen). Nymphen und Adultzecken suchen zur Nahrungsaufnahme auch weiter entfernte Körperpartien auf. Sie bewegen sich oft Minuten bis Stunden am Wirt, ehe sie sich ansaugen. Bei Großtieren, wie z. B. dem Rind, werden vorzugsweise Axelhöhlen, Schenkelfalten, Inguinal- und Euterregion befallen, was damit erklärt werden kann, dass diese Stellen einen Schutz vor Pflege und Sonne bieten und durch die Feinheit der Haut, spärliche Behaarung und gute Durchblutung charakterisiert sind (Liebisch, 1991a; L'Hostis *et al.*, 1994).

Ist eine geeignete Stelle gefunden, werden mit den Cheliceren und den dort angesetzten scharfkantigen Chelicerenfingern die Wirtshaut und das darunterliegende Gewebe aufgeritzt und die Cheliceren sowie das Hypostom in die Stichwunde eingeführt (Jettmar, 1957; Rufli und Mumcuoglu, 1981; Kahl, 1994; Stanek und Hofmann, 1994). Guter Halt wird durch die Chelicerenfinger, die Reihen von Widerhaken am Hypostom und durch die Abgabe eines schnell härtenden Materials, der sog. Zementsubstanz, die das Hypostom an den Wundrändern verkittet, gewährleistet. Die Pedipalpen liegen während des Saugaktes der Haut seitlich abgespreizt horizontal auf.

Vom Befall des Wirtes bis zum Stich können 12 Stunden vergehen, der Stechakt selbst dauert bis zu 15 Minuten. Durch die anästhesierenden, schmerz- und entzündungshemmenden Eigenschaften des Speichels bleibt der Stechvorgang vom Wirt oft unbemerkt (Rufli und Mumcuoglu, 1981; Kahl, 1994; Stanek und Hofmann, 1994). Zudem enthält der Speichel zytolytische Stoffe, mit deren Hilfe Kapillarwände verdaut werden und so neben Blut auch aufgelöste Zellbestandteile und Gewebssäfte aufgenommen werden können. Evtl. in Blut oder Lymphe des Wirtes befindliche Mikroorganismen werden hierbei ebenfalls von der Zecke aufgenommen (Liebisch, 1991a).

Die adulten weiblichen Zecken saugen insgesamt das 100 bis 200fache ihres Körpergewichtes an flüssiger Nahrung auf (Rufli und Mumcuoglu, 1981; Radda und Kunz, 1983; Liebisch, 1991a; Kahl 1994; Stanek und Hofmann, 1994). Dies wird v. a. durch die starke Dehnungsfähigkeit des Mitteldarms bewerkstelligt (Mehlhorn und Piekarski, 1998). Da die in großen Mengen aufgenommene Nahrung im Vergleich zur Haemolymphe der Zecke

hyposmol (300 mOsmol gegenüber 360 mOsmol) ist, müssen in der Folge erhebliche Mengen an überschüssigem Wasser zur Aufrechterhaltung der Homöostase der Zecke wieder ausgeschieden werden. Dies geschieht in der Hauptsache durch die erhöhte Sekretionstätigkeit der Speicheldrüsen während des Saugaktes (Binnington und Kemp, 1980; Hillyard, 1996). Daneben werden einerseits Teile der aufgenommenen Nahrung durch gelegentliche Regurgitation aus dem Darm der Zecke zurück in das Wirtsgewebe injiziert und andererseits weitere Extrazellulärflüssigkeit durch die Tätigkeit der Malpighischen Schläuche in das Darmlumen sezerniert und durch Defäkation ausgeschieden. Die mögliche Übertragung von Mikroorganismen von der Zecke auf den Wirt kann deshalb sowohl über den Speichel, als auch über kontaminierten Darminhalt nach Regurgitation oder Defäkation erfolgen. Die Wahrscheinlichkeit für eine Übertragung von Mikroorganismen auf den Wirt (siehe hierzu Kapitel 2.1.3) steigt in der Regel mit der Dauer des Saugaktes an (Siewing, 1980; Burgdorfer *et al.*, 1985; Matuschka und Spielman, 1986; Liebisch, 1991a; Mehlhorn und Piekarski, 1998).

Über das Ernährungsverhalten männlicher Zecken finden sich in der Literatur teilweise widersprüchliche Angaben. Während einige Autoren davon ausgehen, dass Männchen grundsätzlich keine Nahrung aufnehmen (Rufli und Mumcuoglu, 1981), beschreiben u. a. JETTMAR (1957), STANEK und HOFMANN (1994) und HILLYARD (1996), dass Männchen durchaus - wenn auch selten beobachtet - kleinere Mengen Blut oder Lymphe aufnehmen. Insofern kommen theoretisch also auch adulte männliche Zecken als mögliche Vektoren von Mikroorganismen auf Wirbeltierwirte in Frage.

2.1.2.6 Entwicklungszyklus

Vor oder während der Blutmahlzeit des Weibchens findet die Kopulation, meistens auf einem Wirt, statt. Das Weibchen gibt zur Partnerfindung Pheromone ab, welche das Männchen mit dem Hallerschen Organ wahrnimmt. Bei der Kopulation klammert sich das Männchen an der Ventralseite des Weibchens fest und führt seine Mundwerkzeuge zur Fixation in die Geschlechtsöffnung des Weibchens ein. Anschließend scheidet es eine Spermatophore aus seiner Geschlechtsöffnung aus, und überträgt sie mit Hilfe seiner Mundwerkzeuge - die hierfür kurzzeitig aus dem Weibchen herausgezogen werden - in den Geschlechtsapparat des Weibchens. Die Begattung kann bis zu einer Woche dauern. Ein Männchen kann mehrere Weibchen begatten und stirbt kurz danach (Rufli und Mumcuoglu, 1981).

Das Weibchen legt nach der Blutmahlzeit 500-3000 Eier auf dem Boden unter Laub und Gräsern ab (Rufli und Mumcuoglu, 1981), wobei eine direkte Beziehung zwischen Zeckengröße, Volumen der Blutmahlzeit und Anzahl der Eier besteht. Nahezu die gesamte aufgenommene Nahrung wird für die Oogenese verbraucht (Hillyard, 1996). Zum Schutz vor Austrocknung werden die Eier mit dem Sekret des sog. „Gene’schen Organs überzogen (Sieberz, 1999).

Nach Angaben von AESCHLIMANN (1972) und RUFLI und MUMCUOGLU (1981) schlüpfen die Larven nach ca. vier bis sieben Wochen, suchen innerhalb von etwa zwei bis drei Wochen ihren ersten Wirt auf und saugen für ca. zwei bis sechs Tage Blut. Anschließend lassen sie sich zu Boden fallen, verbleiben dort über mehrere Wochen und häuten sich dann zu Nymphen. Diese suchen etwa drei bis zehn Wochen später einen zweiten Wirt auf und saugen erneut Blut. Nach weiteren ein bis vier Monaten entwickeln sie sich abseits vom Wirt zum adulten Tier. Im Anschluss an die letzte Häutung suchen die Weibchen nach ca. 10-30 Tagen den dritten (und letzten) Wirt auf und saugen hier für ca. 6-14 Tage Blut. Die Gesamtdauer der Entwicklung vom Ei bis zur adulten Zecke kann den Witterungsbedingungen entsprechend sehr variieren. Je nach geographischer Lage des untersuchten Gebietes und dem jeweiligen Jahresverlauf kommen verschiedene Autoren zu unterschiedlichen Ergebnissen. Im Durchschnitt dauert der Entwicklungszyklus von *Ixodes ricinus* in Mitteleuropa zwei bis drei Jahre. Wenn die Umweltverhältnisse ungünstig sind, kann die Entwicklungszeit auf bis zu sechs Jahre verlängert sein (Aeschlimann, 1972; Rufli und Mumcuoglu, 1981; Stanek und Hofmann, 1994).

Zeckenweibchen, die im Frühjahr Blut saugen, legen etwa im Juli ihre Eier ab. Die Larven schlüpfen noch im gleichen Jahr, finden ihren Wirt aber meist erst in der nächsten Vegetationsperiode. Im Frühjahr saugende Larven können ihre Entwicklung zum adulten Tier in der Regel im gleichen Jahr beenden (Dedié *et al.*, 1993).

Die Überwinterung der Zeckenstadien erfolgt unter Falllaub und abgestorbenen Pflanzenteilen, sowie in Bauten und Lagern von Kleinsäugetieren, bei Temperaturen um 0° C, kurzzeitig auch darunter, und einer Luftfeuchte von über 90 %. Fällt die Luftfeuchtigkeit unter 70 % ab, können alle drei Stadien nur wenige Tage überleben (Aeschlimann, 1972). Eier und Larven sterben erst unterhalb von -7° C ab. Bei Ansteigen der Bodentemperatur auf 5-7° C (März-April) beginnt die Aktivität der Parasiten; sie dauert bis zum Spätherbst (Oktober-November) an (Aeschlimann, 1972; Dedié *et al.*, 1993). Die Optimaltemperatur für *Ixodes* liegt bei 15-21° C (Aeschlimann, 1972). Nach MACLEOD (1935a) können Larven,

Nymphen und Adulte Temperaturen von -8°C vier Tage überleben, Temperaturen über 35°C tötet Larven und Nymphen, trotz günstiger Luftfeuchtigkeit von 70-100 %, innerhalb von zwei Wochen ab.

Das Maximum der Aktivität der Zecken ist abhängig vom klimatischen Jahresverlauf. In Mitteleuropa wird für alle Stadien, insbesondere für Larven und Nymphen, eine zweigipfelige Häufigkeitskurve mit Gipfeln in den Monaten Mai-Juni und September-Oktober beobachtet. In Gebirgslagen und in Nordeuropa liegt das Maximum der Aktivität in den Sommermonaten. Die Populationsdichte wird durch feuchte Sommer und milde Winter erhöht (Dedié *et al.*, 1993).

2.1.3 *Ixodes ricinus* als Vektor

Ixodes ricinus ist ein Vektor für human- und veterinärmedizinisch relevante Erreger wie z.B. Zeckenenzephalitis-Viren (FSMEV), *Borrelia burgdorferi*, *Babesia divergens* und *Anaplasma phagocytophilum* (Enigk *et al.*, 1963; Ackermann und Rehse-Küpper, 1979; Ackermann *et al.*, 1984; Dedié *et al.*, 1993; Liz, 1994; Rommel *et al.*, 2000). Die Zecken sind dreiwirtig und müssen in jedem Entwicklungsstadium Blut saugen (Aeschlimann, 1972). Sie können zum Vektor von Mikroorganismen werden, indem sie diese von einem ihrer Wirte bei der Blutmahlzeit aufnehmen und nach der Häutung auf den nächsten Wirt übertragen. Vermehrt sich der Erreger im Vektor und befällt dabei auch die Ovarien, die Eier und die Nachkommenschaft, wird die Zeckenpopulation zum Reservoir. Eine einmal infizierte Zeckenpopulation kann Mikroorganismen lange Zeit beherbergen. Für dieses Phänomen wurde der Begriff „Naturherdinfektion“ eingeführt (zitiert nach Liebisch, 1991a).

2.2 *Borrelia burgdorferi*

2.2.1 Definition und Geschichte

Als Borreliose werden aufgrund ihrer gemeinsamen Ätiologie eine Anzahl von Krankheitsbildern beim Menschen zusammengefasst: „Acrodermatitis chronica atrophicans“ (Buchwald, 1883; ACA), „Erythema chronicum migrans“ (Afzelius, 1909; ECM), „Lymphozytäre Meningoradiculitis“ (Garin und Bujadoux, 1922; Bannwarth, 1941; LMR), „Lymphadenosis benigna cutis“ (Bäverstedt, 1943; LBC) und „Lyme-Arthritis“ bzw. „Lyme-Disease“ (Steere *et al.*, 1977; LA, LD). Bei Tieren kommt vor allem das arthritische Krankheitsbild vor (zitiert nach Dedié *et al.*, 1993).

Das ECM ist als Folge von Stichen der Zecke *Ixodes ricinus* beschrieben worden. Eine Heilwirkung von Penizillin wurde 1951 und die experimentelle Übertragbarkeit auf den Menschen wurde 1955 nachgewiesen (Neubert, 1991; Dedié *et al.*, 1993).

Die Bezeichnung „Lyme-Disease“ geht auf den Ort „Lyme“ im US-Bundesstaat Connecticut zurück, wo 1975 bei Kindern und Erwachsenen gehäuft Fälle von Arthritis diagnostiziert, und anamnestisch mit Zeckenstichen durch *Ixodes dammini* in Verbindung gebracht werden konnten. Da ein Teil der Patienten mit Lyme-Disease (LD) ein Hauterythem im Sinne eines Erythema chronicum migrans (ECM) entwickelte, erhärtete sich in der Folgezeit der Verdacht, dass LD und das ursprünglich als eigenes Krankheitsbild beschriebene ECM letztendlich auf eine gemeinsame Ursache zurückzuführen seien (Steere *et al.*, 1977; 1978). 1981 fand BURGDORFER in *I. dammini* Spirochäten (Burgdorfer *et al.*, 1982), und 1983 wurden bei LD-Patienten ebenfalls Spirochäten ermittelt (Benach *et al.*, 1983). Identische Formen fanden sich bald darauf auch in *I. ricinus*, dem Vektor des ECM in Europa (Ackermann *et al.*, 1984). Durch genetische Studien von HYDE und JOHNSON wurde 1984 die Zugehörigkeit der Lyme-Disease-Spirochäten zu der Gattung *Borrelia* gesichert und in späteren Untersuchungen mit monoklonalen Antikörpern bestätigt (Barbour *et al.*, 1986).

2.2.2 Systematik

Die aus dem oben beschriebenen Patientenmaterial isolierten Spirochäten wurden bakteriologisch klassifiziert und erhielten den Namen *Borrelia burgdorferi* (Johnson *et al.*, 1984). Nach DEDIÉ *et al.* (1993) wird *Borrelia burgdorferi* der Familie *Spirochaetaceae* innerhalb der Ordnung Spirochaetales zugerechnet.

2.2.3 Morphologie und Biologie

Borrelia burgdorferi besitzt eine helikale Struktur, ist ca. 20-30 µm lang und 0,2 – 0,3 µm breit, in 3-10 (-30) Spiralen gewunden, beweglich, und färbt sich gramnegativ sowie mit sauren Anilinfarben. Die Spirochätenzellen bestehen aus einem Protoplasmazyylinder, der zentral einen Strang DNS als „Achsenfaden“ enthält und nach außen von einer Zellmembran und einer dreischichtigen Membran mit sog. „outer-surface“ Proteinen umgeben ist. Die Schraubenbakterien sind bipolar-subterminal mit 7-11 periplasmatischen Flagellen ausgestattet, die zwischen dem Protoplasmazyylinder und der lose damit verbundenen Außenmembran liegen. Sie bewirken die Beweglichkeit der Borrelien. Die Zelloberfläche der Borrelien ist mit einer schleimigen Schicht ohne erkennbare Struktur bedeckt, die Kohlenhydrate enthält und mit Phosphat-gepufferter Kochsalzlösung abgewaschen werden kann. Ausschlaggebend für die Zuordnung zum Genus *Borrelia* sind die Übertragung durch haematophage Arthropoden und der Guanosin-Cytosin-Gehalt der DNS, der zwischen 27 % und 32 % liegt (Barbour und Hayes, 1986; nach Dedié *et al.*, 1993).

HOVIND-HOUGEN *et al.* (1986) stellten in einer elektronenmikroskopischen Untersuchung morphologische Differenzen zwischen in Schweden und in Amerika isolierten Borrelien fest, die sich auf die Zelllänge, Länge der Windungen, Zelldurchmesser und Anzahl der Flagellen bezogen. In Experimenten mit monoklonalen Antikörpern, und molekularbiologischen Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass sowohl bei Isolaten verschiedener Kontinente (Barbour *et al.*, 1984; Preac-Mursic *et al.*, 1986; Bisset und Hill, 1987; Barbour, 1988a; b), als auch bei den in Europa isolierten Borrelien eine große antigenetische Heterogenität besteht (Barbour *et al.*, 1985; Wilske *et al.*, 1986a; 1987; 1988). BARBOUR *et al.* (1985) fanden mindestens vier Phänotypen des Hauptoberflächenproteins Osp A (= Outer surface protein). Nur drei der 21 europäischen Isolate wiesen bei den Untersuchungen dasselbe Osp A Protein auf wie die antigenetisch homogeneren amerikanischen Isolate. WILSKE *et al.* (1985b) stellten ebenfalls verschiedene Proteinstrukturen für Borrelien aus Europa und Amerika fest und führten die Unterschiede im Krankheitsverlauf der Lyme-Disease in diesen Kontinenten auf diese Variationen zurück. Weitere Oberflächenproteine wie Osp B und C wurden ebenfalls molekularbiologisch untersucht (Dressler *et al.*, 1993). Es konnte beobachtet werden, dass sowohl während *in vitro*-Kultivierung als auch nach Passagierung in Vertebraten oder Zecken eine Variation in der Osp Protein-Expression auftritt (Fingerle *et al.*, 1995). Osp A wurde weitaus häufiger in Zecken nachgewiesen als Osp C, während in der Frühphase der Infektion des Menschen offenbar nur Osp C effizient exprimiert wird. FINGERLE *et al.*

(1995) postulierten, dass das in der Spätphase der Infektion beim Menschen beobachtete Auftreten Osp A-spezifischer Antikörper, insbesondere bei Patienten mit schwerer Arthritis, auf eine wieder einsetzende Expression von Osp A hinweisen könnte. Der biologische Grund für dieses Phänomen ist aber bislang unklar.

Borrelien, die an Zeckenzellen haften zeigen im Experiment eine höhere Osp A-Expression als nicht angeheftete Bakterien (Fingerle *et al.*, 2000). Dies wurde als Indiz für die Beteiligung von Osp A an der Adhäsion von Borrelien an Wirtszellen gewertet. Die Autoren postulierten darüber hinaus eine Temperaturabhängigkeit der Expression von Osp A und C, wobei die Expression von Osp C im Säugetierkörper begünstigt wird (Fingerle *et al.*, 1995; 2000). Während des Saugaktes der Zecken wird die Expression beider Proteine unterschiedlich reguliert: während die Expression von Osp A sinkt, steigt die Expression von Osp C. Diese Daten führten zu der Vermutung, dass Osp A vor allem eine Rolle bei der Infektion von Zecken, Osp C dagegen eine Rolle bei der Infektion des Wirbeltierwirtes spielt. Änderungen in der Protein-Expression könnten also Ausdruck einer Anpassungsreaktion an die jeweiligen Wirte sein (Fingerle *et al.*, 1995; 2000; Schwan, 2003).

Borrelia burgdorferi wird in mehrere Genospezies unterteilt. Bisher wurden in Europa sechs Spezies von *B. burgdorferi sensu lato* isoliert: *B. burgdorferi sensu stricto*, *B. garinii*, *B. afzelii*, *B. valaisiana*, *B. lusitaniae* und *B. bissettii* (Kurtenbach *et al.*, 2001).

Borrelien sind mikroaerophil und ihre Kultivierung gelingt in Barbour-Stoenner-Kelly (BSK-II) Medium bei 34-37° C (Bark, 1986; Johnson *et al.*, 1987). Die Pathogenität der Stämme bleibt über einige Passagen erhalten, aber anscheinend nicht unbegrenzt: Oberflächenproteine und damit antigene Eigenschaften können sich innerhalb weniger Passagen verändern (Schwan und Burgdorfer, 1987). Borrelien sind empfindlich gegen Betalaktam-Antibiotika, Chloramphenicol, Erythromycin und Tetracycline, aber resistent gegen Rifampicin, 5-Fluoruracil und Sulfonamide (Barbour und Hayes, 1986).

2.2.4 Geographische Verbreitung

Die Borreliose ist in Europa, den USA, Australien und Asien nachgewiesen worden. In Europa deckt sich ihr Auftreten mit der Verbreitung ihres Vektors *I. ricinus* vom Atlantik bis zum Ural und von Südkandinavien bis zum Mittelmeer. Aus Südost-Europa sind Einzelfälle bekannt geworden, ebenso auch aus Algerien (Dedié *et al.*, 1993; Norman *et al.*, 1996).

Klinische Beschreibungen der Borreliose, Isolierungen von *B. burgdorferi* und serologische Nachweise bei Mensch und Tier sind in vielen Ländern, z. B. in Deutschland, der Schweiz, Frankreich, Norditalien, Österreich, England und Skandinavien veröffentlicht worden (Dedié *et al.*, 1993).

2.2.5 Infektionsspektrum

In Europa sind bisher *I. ricinus*, *I. canisuga* und *I. hexagonus* als Vektoren für *B. burgdorferi* ermittelt worden. In Nordamerika sind neben vorrangig befallenen *Ixodes*-Arten (*I. dammini*, *I. scapularis*, *I. pacificus*) auch *Dermacentor*-, *Amblyomma*-, *Haemaphysalis*- und verschiedene Insektenarten Träger von *Borrelia burgdorferi*, deren epidemiologische Bedeutung jedoch noch unsicher ist (Magnarelli *et al.*, 1986; Dedié *et al.*, 1993).

Alle Tierarten und Menschen, die von diesen Zecken befallen werden, können potentiell mit Borrelien in Kontakt kommen (Liebisch, 1991a). In Deutschland wurden die Waldwühlmäuse (Rötelmaus, *Clethrionomys glareolus*) und „Echte Mäuse“, wie die Gelbhalsmaus (*Apodemus flavicollis*) und die Waldmaus (*Apodemus sylvaticus*), als Träger von *Borrelia burgdorferi* ermittelt (Bark, 1986). Des Weiteren konnte BARK (1986) im Durchschnitt in 11 % der von Rehwild abgesammelten Zecken *Borrelia burgdorferi* diagnostizieren und folgerte, dass Rehe eine nicht unwesentliche Rolle bei der Dauerbewahrung von Borrelien spielen. Erreger und Antikörper gegen Borrelien konnten ebenfalls bei auf Weide gehaltenen Pferden und Rindern nachgewiesen werden (Bark, 1986; Burgess *et al.*, 1987; Burgess, 1988). Hunde, die im Bau oder Lager von Fuchs, Marder oder Igel gestöbert haben, können mit vielen Zecken aller Entwicklungsstadien der Arten *I. ricinus*, *I. hexagonus* oder *I. canisuga* befallen sein und sind damit einem erhöhten Infektionsrisiko ausgesetzt. Die hohe Infektionsrate bei Hunden macht diese Tierart zum geeigneten Indikator für seroepidemiologische Erhebungen zur Verbreitung und Häufigkeit der Zeckenborreliose beim Menschen (Liebisch, 1991b).

2.2.6 Häufigkeit Borrelien-infizierter Zecken

Die Borreliose geht von natürlichen Herden aus, in denen die Infektkette von dreiwirtigen Schildzecken als Vektoren zwischen kleinen Nagetieren (Stadialwirte) und größeren Säugetieren (Imaginalwirte) aufrechterhalten wird. Die Kleinnager sind das primäre, die größeren Säugetiere ein sekundäres Erregerreservoir (Dedié *et al.*, 1993).

In Süddeutschland (Bayern) wurden von WILSKE *et al.* 1987 bis zu 4,5 % der Larven infiziert gefunden. Untersuchungen der Larven von *Ixodes ricinus*, die an der Vegetation

gefangen wurden, ergaben in der Schweiz 3,2 % infizierte Zecken und in Norddeutschland (Hannover) befanden sich bei gefangenen Wildmäusen auf 6,6 % der Mäuse infizierte Larven (nach Liebisch, 1991a). Nymphen und Adulti sind in allen untersuchten Gebieten häufiger infiziert als Larven. Diese Beobachtung spricht dafür, dass der transstadialen Übertragung eine größere Bedeutung zukommt als der transovariellen und die Larven die Infektion durch den eigenen Saugakt erwerben (Matuschka und Spielman, 1986; Wilske *et al.*, 1987; Liebisch, 1991a). Nymphen, adulte weibliche und männliche Zecken können gebietsweise zu einem hohen Prozentsatz infiziert sein. So waren in der Schweiz 10 – 30 % aller in der Natur gefangenen Nymphen und Adulte infiziert (Monin *et al.*, 1987), bei Untersuchungen von BARK 1986 in Bayern 11 % (Landkreis Neustadt/Aisch - Bad Windsheim). WILSKE *et al.* (1987) fanden in Süddeutschland, im Gebiet um München, Augsburg und Ulm, Prävalenzen zwischen 3,1 und 25,7 % bei Nymphen und zwischen 11,4 und 33,8 % bei Adulten. Im Siebengebirge wurden bis zu 30 % (Kurtenbach *et al.*, 1988) und in Norddeutschland (Hannover, Lüneburg) 22 % der erwachsenen Zecken als infiziert eingestuft (Liebisch, 1991a). In Österreich (Niederösterreich, Wien, Burgenland, Kärnten und Steiermark) erwiesen sich zwischen 2,2 und 40 % der Nymphen und Adulttiere als *Borrelia*-positiv (Radda *et al.*, 1986). Nymphen sind das Zeckenstadium, das aufgrund der Mobilität der befallenen Wirte (Vögel, Rehwild) am wesentlichsten zur Verbreitung der Zecken beiträgt (Liebisch, 1991a).

Die mosaikartige Verbreitung der Erreger in der Natur ist eine unmittelbare Folge der gleichartigen Verbreitung der übertragenden Zecken und ihrer Reservoirwirte. Zeckenvorkommen und -dichte werden durch abiotische Faktoren, wie geographische Lage und Klima, und biotische Faktoren, wie Art der Vegetation und Verfügbarkeit von Wirtstieren, bestimmt. Voraussagen über ein mögliches Vorkommen der übertragenden Zecken und ein mögliches Infektionsrisiko in bestimmten Gebieten können daher nur auf der Grundlage der Biologie und Ökologie der übertragenden Zeckenarten gemacht werden (Liebisch, 1991a).

Zur Bildung von Endemiegebieten kann es kommen, wenn Jahr für Jahr eine hohe Populationsdichte von Kleinnagetieren (Reservoir) räumlich und zeitlich mit einer hohen Aktivität und Dichte von Zeckenpopulationen zusammenfällt (Dedié *et al.*, 1993). So betrug die Inzidenz der Borreliose beim Menschen für das Jahr 1977 im Endemiegebiet von Lyme (USA) 2,8/1000, während in benachbarten Arealen nur ein Wert von 0,1/1000 ermittelt wurde (Steere *et al.*, 1978). In Europa fanden WILSKE *et al.* (1985a) bei Risikogruppen wie

Waldarbeitern und Forstleuten 10-30 % Serumkonversionen. Zur Ermittlung natürlicher Herde der Borreliose lässt sich der Befallsgrad bei Kleinnagetieren durch direkte Kultur aus der Harnblase, Niere und Milz (Schwan *et al.*, 1988) oder bei allen in Frage kommenden Reservoirtieren serologisch feststellen (Bark, 1986).

2.2.7 Übertragungswege

Borrelia burgdorferi wird bei Schildzecken vorwiegend im Mitteldarm nachgewiesen, jedoch ist eine generalisierte Infektion mit Befall verschiedener Organe der Zecke, insbesondere des Zentralganglions und der Ovarien, ebenfalls möglich (Burgdorfer *et al.*, 1985). Da ein Nachweis in Speicheldrüsenzellen nicht gelang, der Erreger jedoch in den Acini und Ausführungsgängen nachgewiesen werden konnte, wurde vermutet, dass die Spirochäten durch interzelluläre Zwischenräume in den Speicheldrüsen-Ausführungsgang und von dort aus beim Saugakt in die Wunde gelangen (Brand, 1990). Des Weiteren wird angenommen, dass durch Regurgitieren oder Defäkation infizierten Darminhalts Borrelien auf den Wirt übertragen werden können (Burgdorfer *et al.*, 1985; Matuschka und Spielman, 1986; Mehlhorn und Piekarski, 1998). Die Wahrscheinlichkeit einer Erregerübertragung nimmt dabei mit der Dauer des Saugaktes zu (Robert-Koch-Institut, 1996). Epidemiologische Untersuchungen ließen auch an eine Übertragung durch Stechmücken denken (Schmid, 1985; Ackermann, 1986; Magnarelli *et al.*, 1986), die jedoch bisher nicht bewiesen werden konnte (Krampitz und Bark, 1987).

Inwieweit sich Zecken an Reservoirtieren infizieren, hängt von der Persistenz der Borrelien im strömenden Blut ab. Dies ist bisher nur bei Kleinnagetieren untersucht und mit über 2 Monaten angegeben worden (Schwan *et al.*, 1988; Dedié *et al.*, 1993). Es ist auch nicht geklärt, ob Haustiere Infektionsquellen für Menschen sind. Zumindest können aber Hunde Zecken in den Wohnbereich des Menschen und in Hundezwinger einschleppen (Dedié *et al.*, 1993) und dadurch zu mechanischen Vektoren für Zecken werden.

BOSLER und SCHULZE (1986) konnten *Borrelia burgdorferi* aus dem Harn von *Peromyscus leucopus*, der nordamerikanischen Weißfußmaus, isolieren und eine Spirochaeturie für mindestens 13 Monate feststellen. Sie postulierten, dass Urin ein Vehikel für Kontaktübertragung zwischen den Reservoirwirten in Abwesenheit von Vektorzecken sein kann. SCHWAN *et al.* (1988) gelang es, bei experimentell infizierten Mäusen, den Erreger bei 94 % der Versuchstiere aus der Harnblase zu kultivieren, wobei aus dem Urin keine Erreger isoliert werden konnten. Unter experimentellen Bedingungen entwickelten Mäuse

nach oraler Inokulierung mit in Urin kultivierten Borrelien Antikörper (Burgess und Patrican, 1987). Da *Borrelia burgdorferi* im Urin und Kolostrum infizierter Rinder nachgewiesen wurde, könnte auch beim Rind eine orale Übertragung der Erreger angenommen werden (Burgess, 1988; Post, 1990) und die Möglichkeit der Weiterverbreitung in einer Gruppenhaltung (z. B. Laufstallhaltung) bedingen (Bushmich, 1994). Bei Infektionsversuchen zeigte eine serologisch für Borrelien negative Katze nach Fütterung mit Milch einer infizierten Kuh eine Serokonversion. Durch subkutane Injektion von Milch und Urin infizierter Rinder konnten Mäuse infiziert werden (Post *et al.*, 1988).

Transplazentare Übertragungen der Erreger (Schlesinger *et al.*, 1985; MacDonald, 1986) bzw. Übertragungen durch Bluttransfusionen (Schmidt *et al.*, 1986) sind sowohl beim Menschen, als auch beim Rind (Burgess, 1988) bekannt geworden.

2.2.8 Erkrankungen beim Menschen

2.2.8.1 Pathogenese und pathologische Anatomie

Die Pathogenese der *Borrelia burgdorferi*-Infektionen auf molekularer Ebene ist nur unzureichend geklärt (Dedié *et al.*, 1993). Eine entscheidende Bedeutung dürfte dem Lipopolysaccharid (LPS) der Borrelienzelle und der hierdurch stimulierten Bildung von Interleukin-1 (IL-1) aus Makrophagen zukommen. Neben dem von IL-1 induzierten Fieber, Freisetzung von neutrophilen Granulozyten und Proliferation von Fibroblasten, ließ sich experimentell durch intrakutane Injektion von *Borrelia burgdorferi*-LPS ein dem ECM vergleichbares Exanthem hervorrufen. Im Gelenk steigert IL-1 die Produktion des gewebezerstörenden Enzyms Kollagenase und stimuliert die Bildung von Prostaglandin und damit die Entstehung von Schmerz. Es konnte gezeigt werden, dass, in Anwesenheit von Borrelien oder LPS-Extrakten von Borrelien, Synovial-Zellen IL-1 freisetzen (Habicht *et al.*, 1987). Die im Zusammenhang mit *Borrelia*-Infektionen beobachteten „Jarisch-Herxheimer-Reaktionen“, mit einer vorübergehenden Symptomverstärkung nach Therapiebeginn, werden dadurch erklärbar: eine antibiotische Behandlung tötet eine große Anzahl von Spirochäten in kurzer Zeit. Dadurch gelangen große Mengen LPS in den Blutstrom und lösen die Produktion von IL-1 aus. In Gelenken abgelagerte Komplexe aus Antigen, Antikörper und Komplement bewirken die Einwanderung von neutrophilen Granulozyten und die aus ihnen freigesetzten Enzyme führen zu Knorpel- und Knochendestruktionen (Habicht *et al.*, 1987). Bei

Miterkrankung des ZNS sind die Erreger in meist kleiner Zahl im Liquor nachweisbar und führen zur intrathekalen Bildung von Antikörpern (Wilske *et al.*, 1986b). Das Vorhandensein von Leukozyten im Liquor ist Zeichen einer Entzündung.

Bei der Lymphadenosis benigna cutis (LBC) bilden sich blau-rötliche, derbe Knötchen in der Haut mit lymphozytären Herden im Corium und der Subkutis. Im chronischen Stadium (Acrodermatitis chronica atrophicans, ACA) findet man herdförmige, zellige Infiltrate im Corium mit Leukozyten, Histiocyten, Plasmazellen und gelegentlich nachweisbaren Borrelien (Dedié *et al.*, 1993).

KOCHI und JOHNSON (1988) beschrieben das Verhalten von *Borrelia burgdorferi* gegenüber den Abwehrmechanismen des menschlichen Körpers und konnten beweisen, dass die Spirochäten resistent gegen die unspezifische bakterizide Aktivität des Serums sind und erst die Zugabe spezifischer Antikörper vom IgG-Typ zum Serum zur Zerstörung von Bakterienzellen führt. Die langdauernde Erregerpersistenz trotz nachweislicher Anwesenheit von spezifischen Immunglobulinen in Patienten wurde auf den Invasionsmechanismus von *Borrelia burgdorferi* in für Antikörper nicht zugängliche Körperregionen zurückgeführt.

2.2.8.2 Klinisches Bild

Borreliose kann bei Personen aller, meist aber der aktiven Altersstufen auftreten. Der Durchschnitt betroffener Patienten liegt bei etwa 45 Jahren. Der Prozentsatz an Serumkonversionen ohne klinische Erkrankung nimmt mit steigendem Alter deutlich zu (30 Jahre: 2 %, 30-40 Jahre: 14 %, 50 Jahre: 26 %). Risikogruppen sind vor allem Waldarbeiter und Forstleute mit in Mitteleuropa 15-30 % Serumkonversionen und Zeckenstich-Anamnesen von 50-90 % (Wilske *et al.*, 1985a).

Abhängig vom jeweiligen Stadium der Erkrankung lassen sich unterschiedliche Symptome feststellen. Beginn und Dauer der Stadien können sich überschneiden. Bei 73 % der Erkrankten tritt nur eines, bei 24 % zwei und bei 3 % drei der in Tabelle 2 aufgelisteten Symptome auf (Ackermann, 1986).

Frühstadium, 1-4 (-8) Wochen p.i.	Spätes Stadium, etwa ¼ bis 1 Jahr p.i.	Chronisches Stadium, ½ bis > 1 Jahr p.i.
Erythema chronicum migrans (ECM)	Lymphozytäre Meningoradiculitis (LMR), -polyneuritis	Acrodermatitis chronica atrophicans (ACA)
Lymphadenosis benigna cutis (LBC)	Enzephalitis, Myelitis	Progressive Enzephalomyelitis
Allgemeinerscheinungen	Mono-, Oligoartikuläre Arthritis (LD, OAA); rezidivierend	Chronisch-erosive Oligo- bis Polyarthritis, rezidivierend
	Myo-, Perikarditis	

Tab. 2: Symptome nach einer Borrelien-Infektion beim Menschen (nach Ackermann, 1986)

Die **Inkubationszeit** wird mit 3 Tagen bis 3 Wochen angegeben (Steere *et al.*, 1977), lässt sich aber schwer festlegen, da der Zeckenstich nur etwa einem Drittel bis der Hälfte der Patienten erinnerlich bleibt und klinische Erscheinungen mit ganz unterschiedlicher Latenz auftreten oder auch ganz fehlen können (Christen, 1987).

Klinisches Leitsymptom des **Frühstadiums** ist das **Erythema chronicum migrans** (ECM). Tage bis wenige Wochen nach Zeckenstich bildet sich an der Einstichstelle ein Erythem, das sich langsam zentrifugal ausbreitet und im weiteren Verlauf zentral abblasst (Robert-Koch-Institut, 1996). Meist tritt ein ECM im Bereich der Beine (Kniekehle, Leistengegend), des Beckens und des Rumpfes auf, wo sich die Zecken bevorzugt anheften. Das betroffene Gebiet kann etwas anschwellen und fühlt sich vermehrt warm an, ist aber nicht schmerzhaft. Patienten im Frühstadium suchen den Arzt meist wegen des Hauterythems, manchmal aber auch schon wegen beginnender Gelenkschmerzen auf (Dedié, 1993). Die Hauterscheinungen können spontan binnen weniger Tage abklingen, aber unbehandelt auch über mehrere Wochen bis Monate fortbestehen oder rezidivieren. Generalisierte Hautveränderungen, erythematös oder urtikariell, sind bei der europäischen Form des ECM mit 1,5 % eher selten (Ackermann, 1986), bei der amerikanischen Lyme-Disease dagegen häufiger (Steere *et al.*, 1978; 1986).

Gegenüber dem ECM mit einer Häufigkeit von etwa 56 % ist die **Lymphadenosis benigna cutis** (LBC) mit 0,6 % selten (Schmidt *et al.*, 1985). Dabei kommt es besonders bei Kindern

und Jugendlichen zu derben, rot-bläulichen Knötchen in der Umgebung der Stichstelle, die unbehandelt über Monate bis Jahre persistieren können.

Allgemeinerscheinungen in der Frühphase als Ausdruck der Generalisation des Erregers treten in Europa nur vereinzelt und in leichter Form auf. In Amerika sind sie häufiger und ausgeprägter. Hierbei handelt es sich um allgemeine Symptome wie Kopfschmerzen, Lichtscheue, Fieber, Abgeschlagenheit, Inappetenz und katarrhalische Erscheinungen der oberen Luftwege. Die in diesem Rahmen auftretenden, kurzfristigen Muskel- und Gelenkschmerzen sind von den typischen Arthritiden der späteren Phase zu trennen (Steere *et al.*, 1978; 1986).

Im 2. oder **späten Stadium** der Erkrankung stehen bei der amerikanischen Lyme-Disease die Gelenke im Vordergrund. Bei der europäischen Borreliose sind die neurologischen Komplikationen mit einer breitgestreuten Symptomatik etwa ebenso häufig. Erstbeschreibungen gehen in Frankreich auf GARIN und BUJADOUX (1922) und in Deutschland auf BANNWARTH (1941) zurück (nach Schmid, 1985). Diese sowie spätere Beobachtungen lassen sich heute nachträglich als Borreliose ansprechen (Preac-Mursic *et al.*, 1984). Die als **Lymphozytäre Meningoradikulitis** (Garin-Bujadoux-Bannwarth-Syndrom, LMR) umschriebene Symptomatik mit Meningitis, kranialer Neuritis und Radikuloneuritis beginnt gewöhnlich im 2. Monat, 4-16 Wochen nach dem Zeckenstich. Typischerweise beginnen die Erscheinungen mit heftigen, wandernden Schmerzen in Form einer asymmetrischen Polyneuritis. In der Folge kommt es zu einer lymphozytären Meningitis mit geringer Pleozytose und wenig ausgeprägten meningealen Zeichen (Christen, 1987). Das Fieber ist uncharakteristisch, das Allgemeinbefinden nur wenig beeinträchtigt. Eine ausgeprägte Enzephalitis mit schwerem Krankheitsbild ist selten, Hirnnervenbeteiligungen (Facialisparese), Myelitiden und Hemiparesen werden beschrieben (Steere *et al.*, 1986; Dedié *et al.*, 1993). Die neurologischen Manifestationen können intermittierend über viele Monate auftreten. Ihre Häufigkeit wird in Europa mit 49 % (Schmidt *et al.*, 1985) bzw. 21 % (Stanek *et al.*, 1985) der Infizierten angegeben. Vergleichszahlen aus Nordamerika liegen zwischen 15 % (Steere *et al.*, 1986) und 80 % (Dattwyler *et al.*, 1987). Bei Kindern treten häufiger meningitische Verläufe auf. Diagnostisch wegweisend ist der typische Liquorbefund, der durch eine lymphozytäre Pleozytose mit Eiweißvermehrung gekennzeichnet ist. Serologisch

zeigen 50-90 % der Patienten signifikant erhöhte Antikörper-Titer im Serum (Robert-Koch-Institut, 1996).

Eine **Gelenkbeteiligung** gilt für die späte Phase der Erkrankung als 2. Leitsymptom (Herzer und Wilske, 1986). Bei der amerikanischen LD wird sie bei mehr als 50 % der Fälle beobachtet (Steere *et al.*, 1986). Gelenkbeschwerden, die über das übliche Maß von Gliederschmerzen im Rahmen der Frühphase hinausgehen, können etwa ab einem Monat (1-24 Wochen) nach dem Auftreten des Erythems beobachtet werden. Es handelt sich um eine Mono- oder Oligoarthritis mit Bevorzugung der großen, insbesondere der Knie- und Fußknöchelgelenke. Hierbei kommt es zu einer schmerzhaften Bewegungseinschränkung, Schwellung und Rötung, gelegentlich mit Ergussbildung. Die Beschwerden beginnen plötzlich, halten bisweilen nur wenige Tage an, können aber über Monate und Jahre alternierend in verschiedenen Gelenken rezidivieren (Herzer und Wilske, 1986). Autoimmun-Mechanismen scheinen besonders bei chronischen Verläufen eine wesentliche Rolle zu spielen (Robert-Koch-Institut, 1996).

Eine **kardiale Beteiligung** wird im europäischen und amerikanischen Schrifttum mit durchschnittlich 7 % der Fälle angegeben (Dedié *et al.*, 1993). Sie kann allein oder in Kombination mit anderen Symptomen auftreten und zeichnet sich durch AV-Blockierungen I.-III. Grades aus (Robert-Koch-Institut, 1996). Insgesamt hat die *Borrelia burgdorferi*-Myokarditis eine günstige Prognose. Perikarditiden oder Insuffizienzzeichen sind die Ausnahme. Eine Beteiligung weiterer Organe ist selten (Dedié *et al.*, 1993).

Eine Spätmanifestation im **chronischen Stadium** ist die **Acrodermatitis chronica atrophicans** (ACA), die als Hautkrankheit bereits im 19. Jahrhundert bekannt war und im 20. Jahrhundert gut auf Penicillin anspricht. Ihre ätiologische Zuordnung zur Borreliose gilt heute als gesichert. Sie kann Jahre bis Jahrzehnte nach der Infektion auftreten und manifestiert sich vorwiegend an den distalen Anteilen der Extremitäten. Typisch ist eine rötlich-blaue Verfärbung der zunächst teigig verdickten, später atrophischen Haut, besonders am Hand- und Fußrücken, mit Neigung zu Fissuren und Ulzerationen. Sie ist oft und pathognomonisch begleitet von streifenförmigen Rötungen („Ulnarstreifen“ bzw. „Tibiastreifen“) auf der Streckseite des Unterarmes bzw. über der Streckseite der Unterschenkel. Weiterhin werden Parästhesien im Bereich der Hand, sowie Schwellungen und Polyarthrosen der Fingergelenke

beobachtet. Die Veränderungen beginnen an einer Extremität, können sich im weiteren Verlauf jedoch auf alle Gliedmaßen ausdehnen (Preac-Mursic *et al.*, 1985; Neubert, 1991).

Eine **progressive Enzephalomyelitis**, als seltene Spätmanifestation (Robert-Koch-Institut, 1996), entwickelt sich in der Regel aus der LMR mit zunehmender Beteiligung des Gehirns und Rückenmarks bis hin zu schweren tetraspastischen Paresen, Hirnnervenausfällen und Wesensveränderungen. Der Verlauf ist chronisch oder in Schüben und kann sich über Jahre hinziehen (Ackermann *et al.*, 1985).

Ähnlich wie die neurologischen Formen können etwa 10 % der Gelenkbeteiligungen der Spätphase in eine **chronisch-erosive Arthritis** mit schweren Defekten übergehen (Herzer und Wilske, 1986; Steere *et al.*, 1986).

Über den Einfluss der Borreliose auf die Schwangerschaft liegen bisher in Europa nur wenige Berichte vor. Es scheint auch hier zu einer transplazentaren Übertragung zu kommen, wie sie in den USA nachgewiesen werden konnte (Schlesinger *et al.*, 1985). Eine kindliche Schädigung durch intrauterine Infektion ist bislang nicht auszuschließen. Schwangeren mit nachgewiesener Borrelien-Infektion wird daher eine Behandlung angeraten (Markowitz *et al.*, 1986).

2.2.9 Verbreitung, Infektionsraten und klinische Symptome der Borreliose des Rindes

Die Fortschritte in der Erforschung der humanen Borreliose haben mit einer gewissen Verzögerung auch zu einem wachsenden Interesse an Untersuchungen zur veterinärmedizinischen Relevanz der Erreger geführt. So werden in neuerer Zeit zunehmend auch Berichte über die Verbreitung und klinische Bedeutung der Borreliose des Rindes veröffentlicht. Für die Diagnose und epidemiologische Beurteilung der Befallssituation werden heute zumeist serologische Untersuchungen mit Hilfe von Immun-Fluoreszenz-Antikörper-Tests (IFAT) oder Enzyme Linked Immunosorbent Assays (ELISA) verwendet (vgl. hierzu Kapitel 2.2.10). Als Schwierigkeit bei der Zusammenfassung der bislang vorliegenden epidemiologischen Daten erweist sich aber die Tatsache, dass die in verschiedenen Laboratorien durchgeführten Studien bislang nicht weltweit methodisch standardisiert sind. Dies äußert sich u. a. in dem Fehlen einer eindeutigen Festlegung eines Grenzwertes für Borrelien-Antikörpertiter und damit in einer sicheren Bewertung der serologischen Ergebnisse. Eine eindeutige Unterscheidung zwischen Tieren mit

Serokonversion und als „erkrankt“ zu bezeichnenden Tieren lässt sich aufgrund der serologischen Befunde allein nicht durchführen und verlangt in jedem Einzelfall die Berücksichtigung der klinischen Gesamtsituation. Ein direkter Vergleich der in der Literatur angegebenen Daten zu den Infektionsraten des Rindes mit Borreliose ist durch die Zugrundelegung verschiedener Grenzwerte durch unterschiedliche Autoren nur bedingt möglich. In der Regel wurden von den verschiedenen Autoren Antikörpertiter von 1:64 und höher, als positiv eingestuft.

1986 untersuchte BARK aus 20 landwirtschaftlichen Betrieben in Süddeutschland 66 Blutserumproben von Rindern im Immun-Fluoreszenz-Antikörper-Test (IFAT) auf Borrelien-Antikörper. Sie ermittelte bei 33,3 % der Tiere IgG-Antikörper-Titer von 1:64 bis 1:512. Kreuzreaktionen mit Leptospiren bestanden nicht.

In Schweden untersuchten HOVMARK *et al.* (1986) zwei Tiergruppen aus dem Süden und dem Norden des Landes. In Südschweden kommt *Ixodes ricinus* vor, während die Zecke im Norden aufgrund klimatischer Bedingungen nicht zu finden ist. Von 58 untersuchten Kühen wiesen 39,6 % eine Titerstufe von mehr als 1:80 auf, während im Norden von 88 untersuchten Rindern nur 1 Tier (1,1 %) seropositiv war. Von 68 südschwedischen Kälbern, die vor dem ersten Weideaustrieb seronegativ gewesen waren, zeigten am Ende der Weideperiode 20,6 % eine Serokonversion. Über klinische Symptome wurden keine Angaben gemacht.

Eine **erste detaillierte Fallbeschreibung** beim Rind publizierten BURGESS *et al.* 1987. Sie berichteten von einer Kuh, die nach der ersten Abkalbung eine hochgradige akute Lahmheit aufwies. Eine Untersuchung des Serums auf Borrelien-Antikörper mittels IFAT ergab einen Titer von 1:1024. Hohe Antikörpertiter wiesen ebenfalls die Milch (1:512) und ein Synoviapunktat (1:1024) auf. Trotz Tetracyclintherapie litt das Tier im weiteren Verlauf von vier Wochen unter Gewichtsverlust, bilateralen Schwellungen der Karpalgelenke und Lahmheit. Das Tier kam schließlich zum Festliegen und wurde euthanasiert. Die Erregerisolierung gelang aus Lunge und Leber, jedoch nicht aus Blut, Urin, Speichel, Synovia, Cerebrospinalflüssigkeit, Milch, Milz, Herz oder Gehirn. Bei der pathologischen Untersuchung wurden Nekroseherde im Herzen und in den Nieren, eine deutliche Verdickung der Gelenkkapseln, sowie ihre vermehrte Füllung mit rotgefärbter Synovia, eine proliferative Synovitis in betroffenen Gelenken und eine mittelgradige Lymphadenopathie vorgefunden. Ausserdem konnte eine interstitielle Pneumonie diagnostiziert werden. An Formalin fixierten

Lungen- und Leberpräparaten gelang mit Hilfe der Immunfluoreszenz der Nachweis von *Borrelia burgdorferi*. Das Tier kam aus einem Gebiet, in dem menschliche Erkrankungen an Lyme-Disease bislang nicht bekannt waren. Bei der Untersuchung von weiteren 13 Kühen des gleichen Bestandes zeigten 8 Antikörpertiter von 1:128 bis 1:1024, wobei der Vektor, *Ixodes dammini*, bei keinem der Tiere beobachtet werden konnte.

Eine umfangreiche Studie an Rindern aus einem Endemiegebiet der Lyme-Disease (LD) in Wisconsin (USA) liegt aus dem Jahr 1988 von BURGESS vor. Von 430 Rinderblutproben hatten 65 % einen Antikörpertiter von 1:128 oder höher. Von 151 der seropositiven Kühe zeigten 62 Steifheit, geschwollene Gelenke oder Lahmheit, 36 abortierten, 8 hatten eine Pododermatitis, 7 Tiere zeigten Fieber und 7 unklaren chronischen Gewichtsverlust, während die übrigen gesund erschienen. Der Nachweis von anti-*Borrelia burgdorferi* IgG mittels IFAT gelang in 50 % der Fälle in Synoviapunktaten, in zwei von insgesamt drei Kolostrumproben und in dem Serum eines abortierten Kalbes. Die Isolierung der Erreger in der Kultur gelang aus Blut, Synovia, Kolostrum und Urin. Bei Betrachtung der saisonalen Häufung von Antikörpern dieser Rinder traten Höhepunkte von Mai bis Juni und im Oktober auf.

Klinische und experimentelle Untersuchungen wurden von POST *et al.* 1988 in Nordamerika an 13 Milchkühen mit der Verdachtsdiagnose Borreliose durchgeführt. Die Rinder zeigten Erytheme, lokale Hyperthermie, Schwellungen und Hypersensitivität am Euter sowie verdickte Fesselgelenke und geringgradige Lahmheit bei physiologischen Körpertemperaturen. Der Mastitisverdacht wurde nach mikrobiologischer und zytologischer Sekretprüfung verworfen. Die eingeleitete Oxytetracyclintherapie führte nach zwei bis drei Tagen zur Restitutio ad integrum. Eine unbehandelte Gruppe war erst mehrere Wochen später symptomfrei. Im IFAT zeigten sechs der untersuchten Rinderseren Antikörpertiter zwischen 1:64 und 1:128. Bei zwei Tieren konnte auch ein Spirochätennachweis mit Hilfe der Dunkelfeldmikroskopie geführt werden, wohingegen eine Kultivierung nicht gelang.

Ein **direkter Nachweis** von Borrelien beim Rind gelang ebenfalls auf der Insel Ameland in den Niederlanden durch UILENBERG *et al.* 1988. In einem endemischen Gebiet der Rinderbabesiose wurden Borrelien in Giemsa-gefärbten Blutaussstrichen gefunden, wobei eine genaue Klassifizierung der Art nicht möglich war. Aufgrund des Zeckenvorkommens in den

Herkunftsgebieten der untersuchten Tiere vermuteten UILENBERG *et al.* (1988) jedoch, dass es sich um die Art *Borrelia burgdorferi* handeln müsste.

Untersuchungen an 1262 Rinderseren aus Norddeutschland (Lüneburger Heide und Weserbergland) ergaben, dass in der Heide 13,5 % von 437 Rindern aus 27 Betrieben und im Weserbergland 13,7 % von 825 Probanden aus 60 Betrieben Blutserum-Antikörpertiter von 1:64 und höher aufwiesen (Brand, 1990). Statistisch abgesichert ließ sich ein Einfluss des Alters auf die Serumkonzentration von IgG gegen *Borrelia burgdorferi* feststellen. Die höheren Titer bei älteren Tieren wurden auf Reinfektionen bei jährlichem Weidegang zurückgeführt. Rinder aus Beständen mit Haltungsformen, die eine regelmäßige Reinfektion durch Zecken nicht zulassen, zeigten signifikant niedrigere Titer. Die im Dezember gewonnenen Proben wiesen signifikant niedrigere Antikörpertiter auf als die im Januar oder Februar entnommenen.

KÄSBOHRER und SCHÖNBERG ermittelten 1990 mittels IFAT in 53 Rinderseren aus Berlin und 141 Rinderseren aus Süddeutschland 19,8 bzw. 24,5 % positive Tiere mit Titerstufen über 1:128. In Paralleluntersuchungen mittels Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) erwiesen sich 60-66 % der Berliner Seren und 40-43 % der süddeutschen Rinderseren als positiv. Angaben über klinische Symptome machten die Autoren nicht.

STEFANCIKOVA *et al.* (2002) untersuchten serologisch Rinder in der Slowakei auf das Vorkommen von *Borrelia garinii*, wobei 25,2 % der Tiere positiv reagierten. Davon waren die meisten Tiere asymptomatisch und hatten einen deutlich geringeren Titer als Rinder, die klinische Symptome wie Lahmheit und geschwollene Gelenke zeigten. Die Seroprävalenz war bei älteren Kühen höher als bei Färsen, wie dies auch CABANNES *et al.* (1997) feststellten. Nach PARKER und WHITE (1992) findet sich dagegen bei Färsen, die in die erste Laktation eintreten, die höhere Seroprävalenz.

In experimentellen Infektionen wurden die Titerdynamik nach der Infektion und die Entwicklung klinischer Symptome untersucht (Kopp Gómez, 1990; Liebisch *et al.*, 1990). Ein seronegatives Kalb im Alter von sechs Monaten, das noch keinen Weidegang und damit auch keinen Zeckenkontakt hatte, wurde intravenös mit der Dosis von 15 Mill. Borrelien/kg KGW infiziert. Die Kontrollen des Blutserumtiters erfolgten wöchentlich mittels IFAT. 14 Tage p. i.

wurde die erste Serumkonversion beobachtet. Der Titer stieg bis zum Tag 35 p. i. auf 1:128 an und fiel anschließend bis zum Tage 63 auf 1:16. Zu diesem Zeitpunkt erfolgte eine immunsuppressive Behandlung mit einem Depot-Kortikosteroid und am Tage 76 eine zweite intravenöse Infektion mit Borrelien. Innerhalb einer Woche erreichte danach der Titer den Kulminationspunkt von 1:256. Im Verlauf der nachfolgenden Wochen fiel der Titer wieder und unterschritt sechs Wochen nach der zweiten Infektion (das entspricht der 22. Woche nach der Erstinfektion) den Grenzwert von 1:64. Bei weiteren Kontrollen bis zur 45. Woche blieb der Titer auf 1:8. Während der gesamten Infektionsperiode zeigte das Rind im Blutbild eine Lymphozytose, die nur kurze Zeit (fünf Wochen) nach der immunsuppressiven Behandlung in den Normalbereich zurückging.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass die bisher vorliegenden Daten zur Epidemiologie und klinischen Bedeutung der Borreliose beim Rind noch lückenhaft sind und zu weiteren Untersuchungen Anlass geben. Die Ergebnisse zeigen dennoch, dass Rinder durch den Kontakt mit Zecken einem nicht geringen Risiko einer Infektion mit Borrelien ausgesetzt sind. Je nach Haltungform, untersuchtem Gebiet und Untersuchungszeitpunkt kann mit Infektionsraten zwischen 10 und ca. 30 % - in Endemiegebieten (Nordamerika) mit bis zu 65 % - gerechnet werden. Betroffene Tiere zeigen eine deutliche Serokonversion und können die Erreger beherbergen. Akute Krankheitsverläufe sind offenbar selten und manifestieren sich vor allem durch Lahmheitserscheinungen und Gelenkveränderungen.

2.2.10 Diagnose

In der praktischen humanmedizinischen Diagnostik steht der Nachweis von spezifischen Antikörpern im Serum und Liquor an erster Stelle. Meist werden ein Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) und Immun-Fluoreszenz-Antikörper-Test (IFAT) zum Antikörpernachweis verwendet. Vielfach wird der Immunoblot (Westernblot) als Bestätigungstest eingesetzt (Robert-Koch-Institut, 1996), wobei zur Antigenherstellung ein für die betreffende Region typischer Endemiestamm verwendet werden sollte (Barbour *et al.*, 1985; Wilske *et al.*, 1986a). Serologische Untersuchungsbefunde können allerdings eine umfangreiche klinische Differentialdiagnostik nicht ersetzen. So schließt eine negative Serologie – besonders in den frühen Stadien – eine Lyme-Borreliose nicht aus. Andererseits können auch hohe IgG-Antikörper-Titer nach einer früheren, möglicherweise klinisch inapparenten, Infektion über Jahre persistieren. Falsch-positive Reaktionen können bei

Autoimmunerkrankungen, bakteriellen (Treponemen, Leptospiren) und einigen viralen Infektionen (z. B. Epstein Barr Virus-Infektionen) auftreten (Robert-Koch-Institut, 1996; Schiller, 2002).

HESCH (1999) bemerkt, dass die Immundiagnostik mittels ELISA und Immunoblot aufgrund von Antigenvariationen nur eingeschränkt brauchbar ist. Durch das variable Erregerverhalten ist die Immunantwort auf einen Borrelieninfekt individuell verschieden und unvorhersehbar. Zudem muss mit diskrepanten Befunden verschiedener Untersucher gerechnet werden, da die serologischen Verfahren zurzeit noch nicht standardisiert sind (siehe Kapitel 2.2.9).

Ein wichtiger diagnostischer Parameter für eine Beteiligung des Nervensystems (diagnostisch zwingend erforderlich bei Verdacht auf chronische oder progressive Neuroborreliose) ist der Nachweis intrathekal gebildeter Antikörper gegen Borrelien, die bei einer Neuroborreliose im späten Stadium (LMR) häufig, aber nicht immer, zu finden sind. Hierzu ist die Untersuchung eines Liquor-Serum-Paares vom selben Tag erforderlich. Es wird ein Quotient gebildet aus Borrelien-Antikörpern im Liquor (bezogen auf Gesamt-IgG im Liquor) und Borrelien-Antikörpern im Serum (bezogen auf Gesamt-IgG im Serum). Wenn dabei festgestellt wird, dass im Liquor proportional mehr Borrelien-Antikörper als im Serum vorhanden sind, liegt eine spezifische intrathekale Antikörpersynthese vor.

Histologische Untersuchungen sind besonders im Stadium der Lymphadenosis benigna cutis und der ACA diagnostisch bedeutsam (Robert-Koch-Institut, 1996).

Veröffentlichungen über den indirekten, serologischen, Nachweis von Borrelien beim **Rind** liegen u. a. von BARK (1986), HOVMARK *et al.* (1986), BURGESS *et al.* (1987; 1993), BURGESS (1988), POST *et al.* (1988), BRAND (1990), KÄSBOHRER und SCHÖNBERG (1990), WELLS *et al.* (1993), BLOWEY *et al.* (1994), JI und COLLINS (1994), CRANWELL und CUTLER (1996), CABANNES *et al.* (1997), TUOMI *et al.* (1998) und STEFANCIKOVA *et al.* (2002) vor. Homologes Antigen zum Nachweis spezifischer Antikörper ist dabei das sensitivste und wenn dies nicht zur Verfügung steht, sollte ein Antigen derselben Genospezies verwendet werden. Da die Immunantwort Genospezies-spezifisch sein kann, kann die Wahl unspezifischer Antigene zu falsch-negativen Ergebnissen in IFAT und ELISA führen (TOUMI *et al.*, 1998). Bei fortgeschrittenen Infektionen wächst

im Allgemeinen die Wahrscheinlichkeit, die allen Stämmen gemeinsamen Antigene zu erfassen, so dass die Serodiagnostik bei Patienten mit bereits länger bestehender Infektion sensitiver wird (Horst, 1991).

Positive Antikörpertiter liefern eine Hilfe zur Diagnosestellung, sind aber alleine kein endgültiges Kennzeichen/Merkmal einer aktuellen Infektion oder einer klinischen Erkrankung (Parker und White, 1992), wobei eine Kombination aus Vorhandensein klinischer Symptome, Ausschluss differentialdiagnostisch in Frage kommender Krankheiten, positivem Antikörpertiter und ein Ansprechen auf Antibiose die Diagnose festigen (Post, 1990; Bushmich, 1994; Stefancikova *et al.*, 2002).

Die Kultivierung von Borrelien aus Patientenmaterial ist ätiologisch beweisend. Der zeit- und arbeitsaufwendige kulturelle Nachweis von *B. burgdorferi* wird nur in wenigen Speziallaboratorien durchgeführt. Bei Patienten mit ECM oder ACA ist die Anzucht aus Hautbiopsien erfolgversprechend (> 50 %). Der kulturelle Erregernachweis aus Liquor cerebrospinalis gelingt dagegen nur in 10-20 % der Fälle von Neuroborreliose. Besonders schwierig ist die Kultivierung aus Gelenkpunktat und Blut (Robert-Koch-Institut, 1996).

Die PCR ist neben der Kultur (und der Immunfluoreszenz an Geweben) die einzige verlässliche Möglichkeit Borrelien zu diagnostizieren. In einigen Laboratorien ist die PCR für Borrelien-DNS zu einem hoch spezifischen, sensitiven und verlässlichen Test ausgebaut worden (Hesch, 1999).

2.3 *Babesia divergens*

2.3.1 Allgemeines

Babesien sind einzellige Blutparasiten, die sich intrazellulär in Erythrozyten vermehren. Sie werden durch Zecken beim Saugakt auf Wirbeltiere übertragen. Von wirtschaftlicher Bedeutung beim Rind ist in Mitteleuropa vor allem *Babesia divergens* (Enigk *et al.*, 1963), weshalb im Weiteren lediglich auf diese Art eingegangen werden soll.

Babesia divergens, Erreger der sog. „Hämoglobinurie“, wurde 1888 durch BABÈS in Rumänien entdeckt und ursprünglich als Bakterium angesehen. Im Rahmen einer eingehenden Untersuchung bezeichnete STARCOVICI (1893) den Parasiten als „*Babesia bovis*“ und ordnete ihn in der Systematik zwischen Bakterien und Protozoen ein. In der Folgezeit wurden in zahlreichen europäischen Ländern Arbeiten zur Hämoglobinurie der Rinder durchgeführt und der Erreger eingehender beschrieben. In Deutschland befassten sich damit insbesondere JACKSCHATH (1901), NEVERMANN (1901) und KOSSEL *et al.* (1904). Bis 1911 wurden in Europa alle beim Rind festgestellten „kleinen Babesien“ als „*Babesia bovis*“ oder als „*Pyrosoma bigeminum*“ (Kossel *et al.*, 1904) bezeichnet. M'FADYEAN und STOCKMAN beschrieben 1911 in Großbritannien eine Babesienart, die sich morphologisch eindeutig von *Babesia bovis* unterschied. Der Parasit erhielt die Bezeichnung *Babesia divergens*. SIMITCH *et al.* (1955) stellten fest, dass auch auf dem europäischen Festland häufig *Babesia divergens* der eigentliche Erreger der Hämoglobinurie ist. Nach Untersuchungen von WIRAHADIREDDA (1964) ist diese Art in Deutschland die verbreitetste und wird nach ENIGK *et al.* (1963) durch *Ixodes ricinus* und in sehr beschränktem Umfang von *Ixodes persulcatus* übertragen, weshalb *Babesia divergens* nur im Verbreitungsgebiet dieser Zeckenarten vorkommt (nach Enigk *et al.*, 1963 und Lehner, 1973).

2.3.2 Systematik

Stamm	Apicomplexa
Klasse	Sporozoea
Unterklasse	Piroplasmia
Ordnung	Piroplasmida
Familie	Babesiidae
Gattung	<i>Babesia</i>
Art	<i>Babesia divergens</i>

Tab. 3: Übersicht über die systematische Einordnung von *Babesia divergens* (nach Rommel *et al.*, 2000)

2.3.3 Morphologie und Entwicklung

Apicomplexa haben in ihrem Lebenszyklus einen Generationswechsel von ungeschlechtlicher Schizogonie, geschlechtlicher Gamogonie und ungeschlechtlicher Sporogonie. Sie durchlaufen in ihrer Entwicklung eine Vielzahl von Formenwechseln. Die meisten Stadien sind haploid, lediglich die Zygote ist diploid. Bei den Babesien erfolgt die Schizogonie und der Beginn der Gamogonie in den Erythrozyten der Wirbeltiere, während der Hauptteil der Gamogonie und die Sporogonie in Zecken stattfinden (Lucius, 1997).

Infektiöse Sporozoitien im Zeckenspeichel werden beim Stich der Zecke in den **Endwirt** inokuliert (Igarashi *et al.*, 1988; Kakoma und Mehlhorn, 1994; Lucius, 1997). Die Zellbegrenzung dieses Stadiums wird von einer mehrschichtigen Pellicula gebildet. An das aussenliegende Plasmalemma, das die gesamte Zelle bedeckt, schließt sich nach innen ein Komplex aus zwei eng aneinanderliegenden Membranen an. Bestandteil der Pellicula sind unter der Oberfläche verlaufende Microtubuli, die der Zelle eine feste Gestalt geben und an der Bewegung beteiligt sind. Die Microtubuli ziehen vom vorderen Polring, einer elektronendichten, kragenförmigen Struktur, die in die Spitze des Parasiten eingelagert ist, nach dorsal. Dort treffen sie auf den hinteren Polring. Die Sporozoitien besitzen einen Nucleus und ein Mitochondrium. Das namensgebende Merkmal der Apicomplexa, der „apikale Komplex“, besteht aus mehreren Organellen, wie Rhoptrien und Micronemen, und befähigt den Parasiten in Erythrozyten einzudringen (Lucius, 1997; Kakoma und Mehlhorn, 1994). Nach dem Kontakt mit einem Erythrozyten orientiert sich der apikale Pol des Parasiten in

Richtung der Wirtszelle, so dass die Organellen in ihre Nähe kommen. Nach der Abgabe des Inhaltes der Rhoptrien und der Micronemen erfolgt die Invagination durch die Erythrozyten-Membran und der Parasit wird zunächst eng von dieser umgeben. Während seines Wachstums verschwindet diese Membran schließlich und der Parasit liegt frei im Zytoplasma der Wirtszelle (Kakoma und Mehlhorn, 1994; Lucius, 1997). Der Sporozoit differenziert sich nun zum Trophozoiten (= Fraßzelle, ca. 1,1 μm groß (Lehner, 1973)), der im Erythrozyten Nahrung aufnimmt, wächst und sich durch innere Knospung (Schizogonie) vermehrt. Durch Endodyogenie (=Zweiteilung) entstehen Tochterzellen, sogenannte Merozoiten, etwa 1,5 x 0,5-1,0 μm groß, welche nach dem Zugrundegehen des Erythrozyten freigesetzt werden und neue Zellen befallen können. Einige Merozoiten werden zu ovoiden Gamonten (Geschlechtsformen) (Igarashi *et al.*, 1988; Kakoma und Mehlhorn, 1994; Lucius, 1997), die sich erst in der Zecke weiterentwickeln.

Beim Saugakt durch die **Zecke** werden auch Babesia-haltige Erythrozyten aufgenommen. Während Merozoiten im Darmlumen der Zecke degenerieren, bilden sich die Gamonten (noch intraerythrozytär) zu sogenannten „Strahlenkörpern“ um und werden durch das Zugrundegehen des Erythrozyten entlassen. Durch die Fusion zweier einkerniger Strahlenkörper (Gameten, ca. 4-7 μm im Durchmesser) entsteht eine Zygote (diploid), die ins Darmepithel der Zecke eindringt und sich zu einem beweglichen Kineten (7-8 μm lang) entwickelt. Über die Hämolymphe gelangen die Kineten in verschiedene Organe der Zecke. Die Ovarien und Eier werden bevorzugt befallen. In den Zellen der Zeckenorgane findet die ungeschlechtliche Sporogonie statt, die zur Entstehung vieler Sporokineten führt. Beginnt eine Zecke mit dem Saugakt, so invadieren Sporokineten Zellen der Speicheldrüse und es werden mehrere Tausend sog. Sporozoiten gebildet und mit dem Speichel in die Wunde übertragen.

Kineten, die in eine Eizelle eingedrungen sind, stören die Embryonalentwicklung nicht, sondern bilden im Darm der entstandenen Larve Teilungsstadien, die den Sporokineten entsprechen. Sie können in Körperzellen weitere Teilungszyklen durchlaufen oder, nach dem Anhaften der Larve auf einem Wirt, in den Speicheldrüsen infektiöse Sporozoiten bilden. Die transovariable Übertragung gewährleistet den Übergang der Babesien von einer Zeckengeneration auf die nachfolgende, so dass sich Babesien über mehrere Zeckengenerationen in einem Gebiet halten können, auch wenn vorübergehend keine für die Parasiten empfänglichen Blutwirte zur Verfügung stehen (Igarashi *et al.*, 1988; Kakoma und Mehlhorn, 1994; Lucius, 1997).

2.3.4 Pathogenese

Im frühen Verlauf der Infektion kommt dem Kallikrein-Kinin-System eine besondere Bedeutung bei der Entstehung einer Anämie zu. Das kininbildende Serumenzym Kallikrein wird bereits vor einer nachweisbaren Parasitämie und vor dem Beginn einer Erythrozytenzerstörung gebildet. Kinin verursacht eine Erhöhung der Kapillarpermeabilität sowie eine Vasodilatation. Ausserdem wird aufgrund der Bildung von Komplexen aus einem Babesienenzym und Fibrinogen eine erhöhte Adhäsion der roten Blutkörperchen an den Kapillarendothelien beobachtet, als deren Folge es zu einer Verklumpung des Blutes in den Kapillaren kommt. Zirkulatorische Stasis und vasodilatatorischer Schock sind die Folgen. Zur Hämostase trägt auch eine durch Erhöhung des Malonyldialdehydgehalts (Indikator für Lipid-Peroxidation) bedingte Verminderung der Formbarkeit der Erythrozyten bei. Vermutlich aufgrund der stasisbedingten Anoxie treten gleichzeitig in der Leber zentrolobuläre Nekrosen, in den Nieren Degenerationen der kortikalen Tubuli auf und die Nierenfunktion ist reduziert. Im weiteren Verlauf der Infektion werden dann Erythrozyten direkt durch die sie verlassenden Parasiten zerstört. Diese Zerstörungen allein reichen jedoch zur Erklärung der Anämie nicht aus. Sehr wahrscheinlich wird durch die bei der Erythrozyten- und Gewebezellzerstörung freiwerdenden Wirtsproteine die Kininbildung und als Folge die intravaskuläre Koagulation weiter verstärkt. An der im späteren Verlauf der Infektion entstehenden Glomerulonephritis sind sehr wahrscheinlich zirkulierende Immunkomplexe beteiligt.

Die erhöhte Fragilität der Erythrozyten und die Hämolyse werden auch auf eine starke Erniedrigung der Cholesterol- und Cortisolspiegel im Serum infizierter Tiere zurückgeführt. Die schockbedingte Anoxie führt zur Zerstörung von Hepatozyten, als deren Folge eine Hypocholesterolämie auftritt. Das aus Cholesterol durch spezifische Enzyme synthetisierte Cortisol hat neben anderen Eigenschaften einen stabilisierenden Effekt auf Zellmembranen (nach: Wright und Goodger, 1988; Rommel *et al.*, 2000).

Die Reaktionen auf die Organismen können variieren und sind abhängig von der Virulenz des Erregerstammes, der Stärke der Parasitämie, sowie vom Alter, dem genetischen, physiologischen und immunologischen Status des Wirtes (Boch, 1985; Wright und Goodger, 1988; Kakoma und Mehlhorn, 1994)

2.3.5 Klinik und Pathologie

Die durch *Babesia divergens* hervorgerufene Erkrankung ist bei den Rinderhaltern auch als „Weide- oder Mairot“ bekannt. Ihr Verlauf ist bei Kälbern mild. Sie zeigen für wenige Tage Fieber und verminderte Fresslust, während bei Jährlingen und erwachsenen Rindern nach einer Inkubation von ca. 8-16 Tagen hochgradige Störungen des Allgemeinbefindens, Fieber, Pansenparese, Durchfall, Analspasmen, Anämie, Ikterus und Hämoglobinurie beobachtet werden. Tragende Rinder abortieren nicht selten. Die Herzfrequenz ist erhöht (120 Schläge/Minute oder mehr). Die Atmung ist im Fieberstadium meist frequent, bei stark anämischen Tieren aber oft auffallend ruhig oder verlangsamt. Vor Eintritt des Todes werden subnormale Körpertemperaturen und häufig Festliegen beobachtet. Bei perakutem Verlauf nach hypotonischem Schocksyndrom tritt der Tod schon nach wenigen Stunden ein, bei akutem Verlauf nach zwei bis drei Tagen.

Neben dem Befall der Erythrozyten sind niedrige Hämatokritwerte, Erythropenie (1-3 Mio./mm³) mit Anisozytose sowie Lymphozytose (bis 80 % der Leukozyten) die auffallendsten Blutveränderungen. Bei der Sektion fallen Vergrößerungen der Milz, Degeneration von Leberparenchym und Nierenglomerula, Lungenödem und katarrhalische Gastroenteritis mit zahlreichen Nekroseherden auf.

Nach einem Überstehen der Krankheit bildet sich eine länger andauernde Prämunition (= immunologisch bedingter Gleichgewichtszustand zwischen Erreger und Wirt) aus. Die Tiere bleiben für mehrere Jahre Parasitenträger und damit Ansteckungsquelle. Jungtiere bis 9 Monate sind weniger empfänglich, was zum einen auf der passiven Antikörperübertragung durch das Kolostrum beruht und zum anderen auf der Anwesenheit eines Antikörper-unabhängigen Hemmungsfaktors im Serum von Kälbern (Wright und Goodger, 1988; Rosenberger, 1994; Rommel *et al.*, 2000).

2.3.6 Epidemiologie, Verbreitung und Vorkommen

In Gebieten mit endemischer Stabilität sind alle Rinder infiziert und prämun. Krankheitsausbrüche gibt es nur bei zugekauften Tieren oder in Gebieten mit endemischer Instabilität, in denen nicht alle Kälber infiziert werden, solange sie noch durch die mit dem Kolostrum übertragenen Antikörper oder aufgrund ihrer Jugendresistenz geschützt sind. Wild, Vögel und Kleinsäuger können mit Babesien infizierte Zecken in freie Gebiete verschleppen, in denen die Zecken einige Zeit überdauern können. Auf solchen Weiden kommt es nur in mehrjährigen Intervallen oder auch nur einmal zu Krankheitsausbrüchen. Entsprechend den

Hauptaktivitätszeiten der Zecken finden Infektionen vor allem in den Monaten Mai, Juni und September statt (Rommel *et al.*, 2000).

Das Auftreten von *Babesia divergens* ist für Belgien, Dänemark, England, Schottland, Irland, Finnland, Norwegen, Schweden, Frankreich, Niederlande, Schweiz, Österreich, ehem. Jugoslawien, Polen, GUS-Staaten und Ungarn dokumentiert (Lehner, 1973). Berichte über die Verbreitung in Deutschland liegen aus Norddeutschland (Enigk *et al.*, 1963), Niedersachsen (Wirahadiredja, 1964), Bayern (Lehner, 1973; Reif, 1980; Ullmann, 1983), aus der ehemaligen DDR (Danailov *et al.*, 1965; Jungmann, 1966) sowie dem Schwarzwald (Huwer *et al.*, 1994) vor.

2.3.7 Diagnose

Bei Weiderindern stützt sich die Diagnosestellung auf die klinischen Symptome, das jahreszeitlich eng begrenzte Auftreten sowie den Nachweis der typisch gelegenen Teilungsformen im Blutaussstrich (Rommel *et al.*, 2000). *Babesia divergens* bildet ca. 1,5 x 0,5-1,0 µm große, meist keulenförmige Merozoiten, die vorwiegend marginal im Erythrozyten liegen. Typisch sind Paarformen, bei denen die beiden Merozoiten einen stumpfen Teilungswinkel zueinander bilden (Lehner, 1973; Kakoma und Mehlhorn, 1994). Der direkte Erregernachweis erfolgt durch lichtmikroskopische Beurteilung von zuvor mit Giemsa-Lösung gefärbten Blutaussstrichen oder Blutstropfen. Wichtig ist, dass Kapillarblut für die Untersuchungen benutzt wird, da sich Babesien-infizierte Erythrozyten vor allem in den Kapillaren des peripheren Blutsystems anreichern. Zur sicheren Erfassung von Trägern einer Infektion, die mit mikroskopischen Methoden nicht zu erkennen waren, für epidemiologische Untersuchungen in Wirts- und Vektorsystemen, zur Differenzierung schwer zu unterscheidender Babesienarten und Erkennung verschiedener Isolate (z. B. Impfstämme) kann die PCR eingesetzt werden.

Latente Infektionen lassen sich mit Hilfe serologischer Methoden nachweisen. Die Immundiagnostik umfasst eine ganze Reihe verschiedener Testverfahren: Komplementbindungsreaktion (KBR), Indirekte Hämagglutination (IHA), Immun-Fluoreszenz-Antikörper-Test (IFAT), Radioimmunoassay (RIA) und Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) (Böse *et al.*, 1994).

2.3.8 Differentialdiagnosen

Differentialdiagnostisch kommen mehrere Krankheiten in Frage, die zu Verwechslungen Anlass geben könnten. Hierbei müssen insbesondere alimentäre Intoxikationen (chronische Adlerfarnvergiftung, akute Vergiftung mit Kohl, Raps, Ringelkraut u. a.), Tränkehämoglobinurie, perorale Vergiftungen mit teerhaltigen Materialien, weiterhin die puerperale Hämoglobinurie, traumatisch bedingte Harnverfärbungen sowie die Leptospirose in Betracht gezogen werden (Lehner, 1973; Rosenberger, 1994; Rommel *et al.*, 2000). Auch an das durch die Rickettsie *Anaplasma phagocytophilum* (früher: *Ehrlichia phagocytophila*) hervorgerufene und ebenfalls durch *Ixodes ricinus* übertragene Weidedebris ist zu denken, bei dem aber keine Hämoglobinurie auftritt (Rommel *et al.*, 2000).

2.3.9 Therapie

Geeignete Wirkstoffe gegen *Babesia divergens* sind Diminazenaceturat (z. B.: Berenil®, Veriben®) in einer Dosierung von 3,5 mg/kg KGW i.m. und Imidocarbdiäpropionat (in Großbritannien, Irland, Spanien, Portugal: Imizol®, in Frankreich: Carbésia®) in einer Dosierung von 1,2-2,4 mg/kg KGW s.c. (einmalig), was auch zur Chemoprophylaxe (3mg/kg KGW) eingesetzt werden kann. Diminazen ist in Europa und Imidocarb in Deutschland nicht mehr zugelassen. Die Einfuhr von Imidocarbdiäpropionat aus dem europäischen Ausland ist im Falle eines Therapienotstandes möglich, wenn eine Ausnahmegenehmigung der zuständigen Behörde vorliegt. In Großbritannien ist die Wartezeit für Rinder von mindestens 90 Tagen für essbares Gewebe, für Milch von mindestens 21 Tagen vorgeschrieben. Bereits in therapeutischer Dosis können Salivation, verstärkte Darmmotilität, Dyspnoe, erhöhter Tränenfluss und allgemeine Unruhe als Nebenwirkungen auftreten. Das Auftreten anaphylaktoider Reaktionen ist in seltenen Fällen nicht auszuschließen. Weiterhin ist Imidocarb in höheren Dosierungen hepato- und nephrotoxisch, da eine hohe Affinität zu Leber- und Nierengewebe besteht, weshalb die empfohlenen Dosierungen unbedingt eingehalten werden sollten (Steuber und Kroker, 2002).

In schweren Fällen muss die Chemotherapie durch zusätzliche Maßnahmen, insbesondere durch Bluttransfusionsbehandlung ergänzt werden. In der Rekonvaleszenz kann die Blutbildung durch injizierbare Eisenpräparate und mineralstoffreiche Fütterung gefördert werden (Rosenberger, 1994).

3. Material und Methoden

3.1 Material

3.1.1 Rinder

Im Verlauf der Studie wurden über die Weidesaison 2002 319 Rinder im bayerischen Voralpenland mindestens einmal auf Zeckenbefall untersucht. Dabei wurden von jedem Tier die Ohrmarke, die Rasse, das Geschlecht und das Geburtsdatum notiert.

3.1.1.1 Rasse

In den meisten Betrieben befanden sich Rinder der Rassen Fleckvieh und Braunvieh, nur gelegentlich waren auch andere Rassen und Kreuzungen (Mix) vorzufinden. Die Verteilung der Rinderrassen ist in Tab. 4 dargestellt.

Rasse	(n) Tiere	(%) Tiere
Braunvieh	92	28,8
Fleckvieh	212	66,5
Schwarzbunt	4	1,3
Pinzgauer	2	0,6
Grauvieh	1	0,3
Mix	8	2,5
	319	100

Tab. 4: Rasseverteilung der Rinder absolut [n] und relativ [%]

3.1.1.2 Geschlecht

Bis auf drei Ochsen aus Betrieb Nr. 8 waren alle untersuchten Rinder weiblichen Geschlechts.

3.1.1.3 Alter

Die 319 auf Zecken untersuchten Tiere waren zum Zeitpunkt des Weideaustriebs zwischen 1 bis 15 Jahre alt. Der Durchschnitt betrug 4,1 Jahre. Die Anzahl der in der jeweiligen Altersstufe einbezogenen Rinder zeigt Abb. 1.

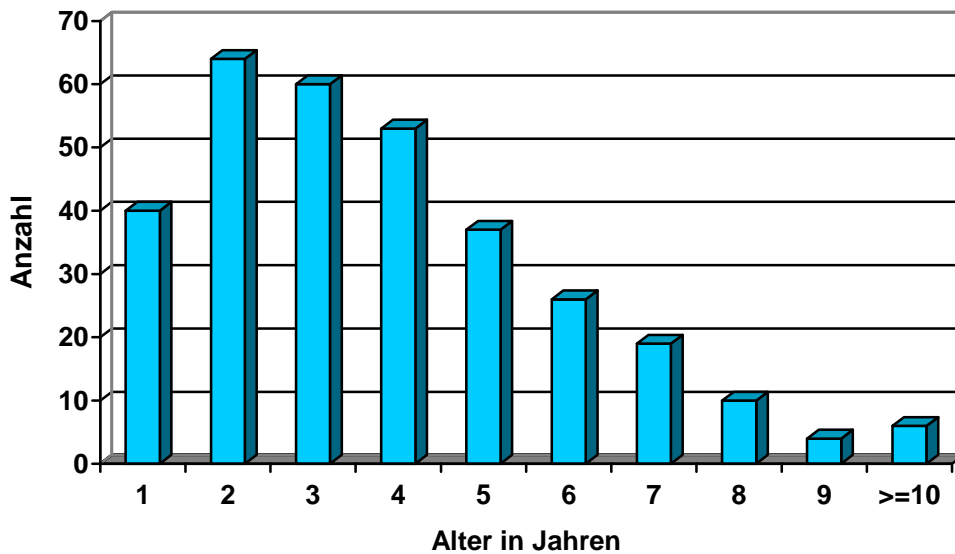


Abb. 1: Altersverteilung der Rinder

3.1.2 Betriebe

Die untersuchten Rinder stammten aus 31 Betrieben mit Weidehaltung aus den Landkreisen Rosenheim (RO), Bad Tölz-Wolfratshausen (TÖL), Miesbach (MB), Weilheim-Schongau (WM), Oberallgäu (OA) und Lindau (LI). Eine Übersicht über die Verteilung der Betriebe im bayerischen Voralpenland gibt Abb. 2.



Abb. 2: Überblick über die Lage der Untersuchungsgebiete im bayerischen Voralpenland

Eine Auflistung relevanter Betriebsdaten und ein Herkunftsnachweis der untersuchten Rinder ist in Tab. 5 dargestellt. Der Hauptanteil der Tiere stammte aus dem Chiemgau (Regierungsbezirk Oberbayern), Landkreis Rosenheim (150 Rinder), sowie aus dem Allgäu (Regierungsbezirk Schwaben), mit den Landkreisen Oberallgäu und Lindau (95 Rinder). Zur Vereinfachung der späteren Ergebnisdarstellung und deren Diskussion (siehe Kapitel 4 und 5) werden im Folgenden die Einzelbetriebe aufgrund ihrer geographischen Nähe zu Gruppen zusammengefasst: Die Betriebe 3-13 bilden die Gruppe „Chiemgau“, die Betriebe 16-31 die Gruppe „Allgäu“ (vgl. Tab. 5). Die verbleibenden vier Betriebe (die untereinander und zu den anderen Betrieben nur bedingt eine räumliche Nähe erkennen lassen) mit insgesamt 23,2 % aller untersuchten Rinder werden getrennt davon abgehandelt.

Betrieb	Ort	Region	Landkreis	Rinder	Frühjahr	Sommer	Herbst	Alm
1	Habach		WM	11	T	T+N	T	
2	Dietramszell		TÖL	33			T	
3	Sachrang	Chiemgau	RO	25	T,N	N	T	
4	Sachrang	Chiemgau	RO	12	T	T+N	T	
5	Sachrang	Chiemgau	RO	12	T,N	N	T	
6	Aschau	Chiemgau	RO	15	T+N	T+N	T+N	
7	Aschau	Chiemgau	RO	4	T	T,N,T+N	T	Go
8	Aschau	Chiemgau	RO	16	T+N	T+N	T+N	
9	Bernau	Chiemgau	RO	13	T+N	T+N	T+N	
10	Samerberg	Chiemgau	RO	6	T+N	T+N	T+N	
11	Samerberg	Chiemgau	RO	16	T	T	T	
12	Samerberg	Chiemgau	RO	14	T	T,T+N	T	
13	Samerberg	Chiemgau	RO	17	T	T	T	
14	Kiefersfelden		RO	20	T+N	T+N	T+N	
15	Fischbachau		MB	10	T+N	T+N	T+N	Kla
16	Hergatz	Allgäu	LI	6	T,T+N	T+N	T+N	U
17	Hergatz	Allgäu	LI	20	T,T+N	T+N	T+N	U
18	Hergensweiler	Allgäu	LI	14	T,T+N	T+N	T+N	U
19	Heimenkirch	Allgäu	LI	13	T,T+N	T,T+N	T	
20	Hindelang	Allgäu	OA	5	T,T+N	T+N	T	EG
21	Hindelang	Allgäu	OA	3	T,T+N	T+N	T	EG
22	Hindelang	Allgäu	OA	6	T,T+N	T+N	T	EG
23	Hindelang	Allgäu	OA	4	T,T+N	T+N	T	EG
24	Hindelang	Allgäu	OA	3	T,T+N	T+N	T	EG
25	Ofterschwang	Allgäu	OA	3	T,T+N	T+N	T	EG
26	Tiefenbach	Allgäu	OA	3	T,T+N	T+N	T	EG
27	Hindelang	Allgäu	OA	3	T,T+N	T+N	T	MH
28	Hindelang	Allgäu	OA	5	T,T+N	T+N	T	MH
29	Hindelang	Allgäu	OA	3	T,T+N	T+N	T	MH
30	Imberg	Allgäu	OA	1	T,T+N	T+N	T	MH
31	Hindelang	Allgäu	OA	3	T,T+N	T+N	T	MH
Total				319				

Tab. 5: Betriebsdaten und Herkunft der untersuchten Rinder (Legende siehe nächste Seite)

Tab. 5: Betriebsdaten und Herkunft der untersuchten Rinder

Austriebsmodalitäten im **Frühjahr** (Mai, Juni), **Sommer** (Juli, August) und **Herbst** (September, Oktober bzw. November): **T**= nur tagsüber; **N**= nur nachts; **T,N**= entweder tagsüber oder in der Nacht; **T+N**= Tag+Nacht; Betrieb **12**: **T,T+N**= Rinder wurden erst im Hochsommer Tag und Nacht ausgetrieben; Betriebe **16-18** und **20-31**: **T,T+N**= vor Alpauftrieb nur tagsüber auf der Weide, auf der Alp Tag und Nacht im Freien; Betrieb **19**: **T,T+N**= Milchkühe nur tagsüber, trockenstehende Tag und Nacht im Freien; Betrieb **7**: **T,N,T+N**= Rinder wurden auf der Alm je nach Wetterlage entweder am Tag, in der Nacht oder Tag und Nacht gesömmert; **Almen**: Go= Gori-Alm; Kla= Klareralm; U= Alpe Unterstieg; EG= Engeratsgund + obere Käseralp; MH= Alpe Mitterhaus

Da viele Landwirte ihre Jungrinder, Färsen und Kühe im Sommer (von Juni bis September) auf Almweiden stellten, wurden die Tiere auch dort auf Zeckeninfestation überprüft:

40 Jungrinder/Färsen aus 3 Betrieben (16, 17, 18) (in Abb. 3 rot eingezeichnet) im Landkreis Lindau wurden im Mai in ihren jeweiligen Heimbetrieben und von Juni bis September auf der Alpe „Unterstieg“ (ca. 985 m über NN) bei Oberstaußen/Steibis, Landkreis Oberallgäu, auf Zecken untersucht. 42 Kühe aus 12 sehr kleinen Beständen (20-31) im Landkreis Oberallgäu wurden im Frühjahr 2002 auf Heim- bzw. auf Gemeinschaftsweiden gehalten. Von Juni bis September wurden aus den Betrieben 27-31 (in Abb. 3 blau eingezeichnet) 15 Kühe auf die Sennalpe „Mitterhaus“, 1088 m über NN, im Retterschwanger Tal, getrieben. 27 Kühe aus den Beständen 20-26 (in Abb. 3 grün dargestellt) kamen Anfang Juni zunächst auf die Sennalpe „Engeratsgund“ im Hintersteiner Tal, 1165 m über NN, wurden dann von Ende Juni bis Ende August auf der dazugehörenden „oberen Käseralp“, 1400 m über NN, gesömmert und schließlich bis zum Abtrieb (Mitte September) wieder auf den Weiden um die Alpe Engeratsgund gehalten.

Die Probanden aus Betrieb Nr. 19 (in Abb. 3 orange eingezeichnet) waren im Untersuchungsgebiet Allgäu die einzigen, die von Mai bis Oktober 2002 ausschließlich auf Heimweiden (Obstgartenweiden oder baumfreie Wiesen) getrieben wurden. Trockenstehende Rinder befanden sich Tag und Nacht im Freien auf einer Weide mit Büschen und Waldrand (siehe Abb. 4g), wobei sie während der Untersuchung eingestallt waren.

Einen Überblick über die verschiedenen Weideformen im Untersuchungsgebiet Allgäu gibt Abb. 4.

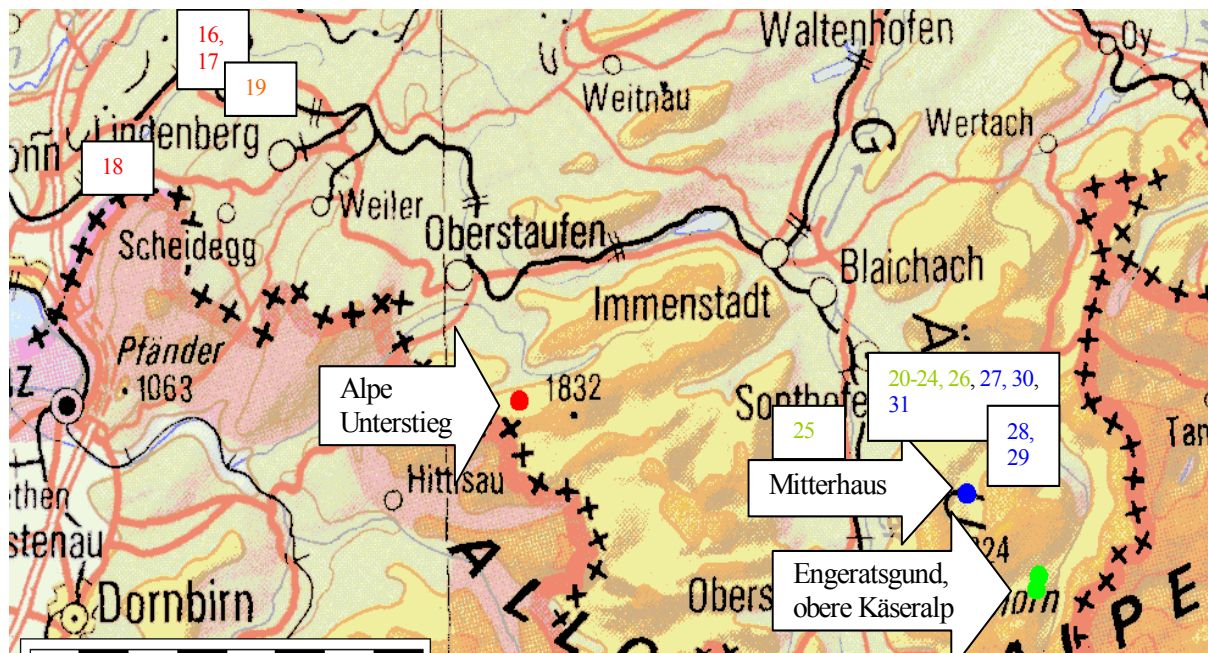


Abb. 3: Verteilung der Betriebe im Allgäu und Standort der Alpen

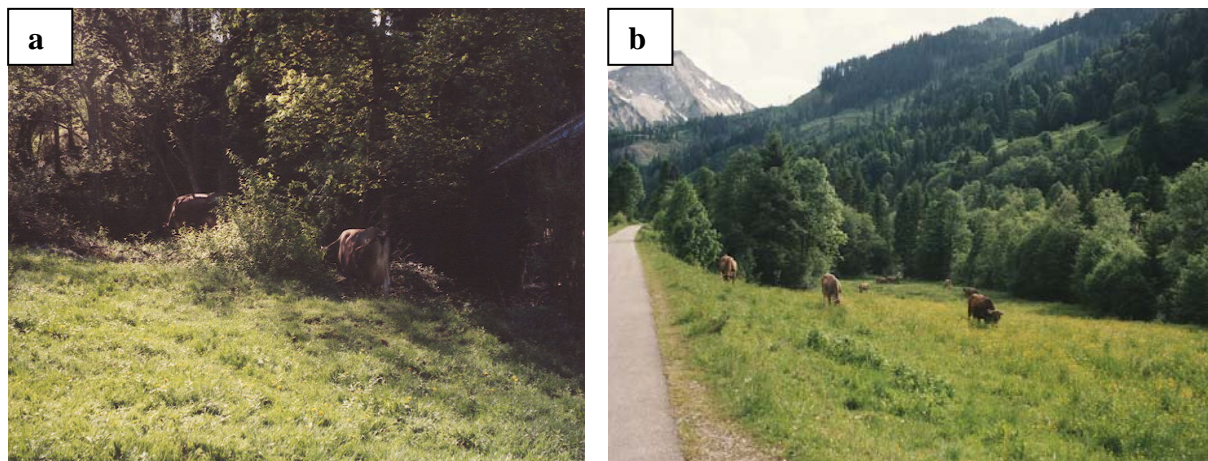
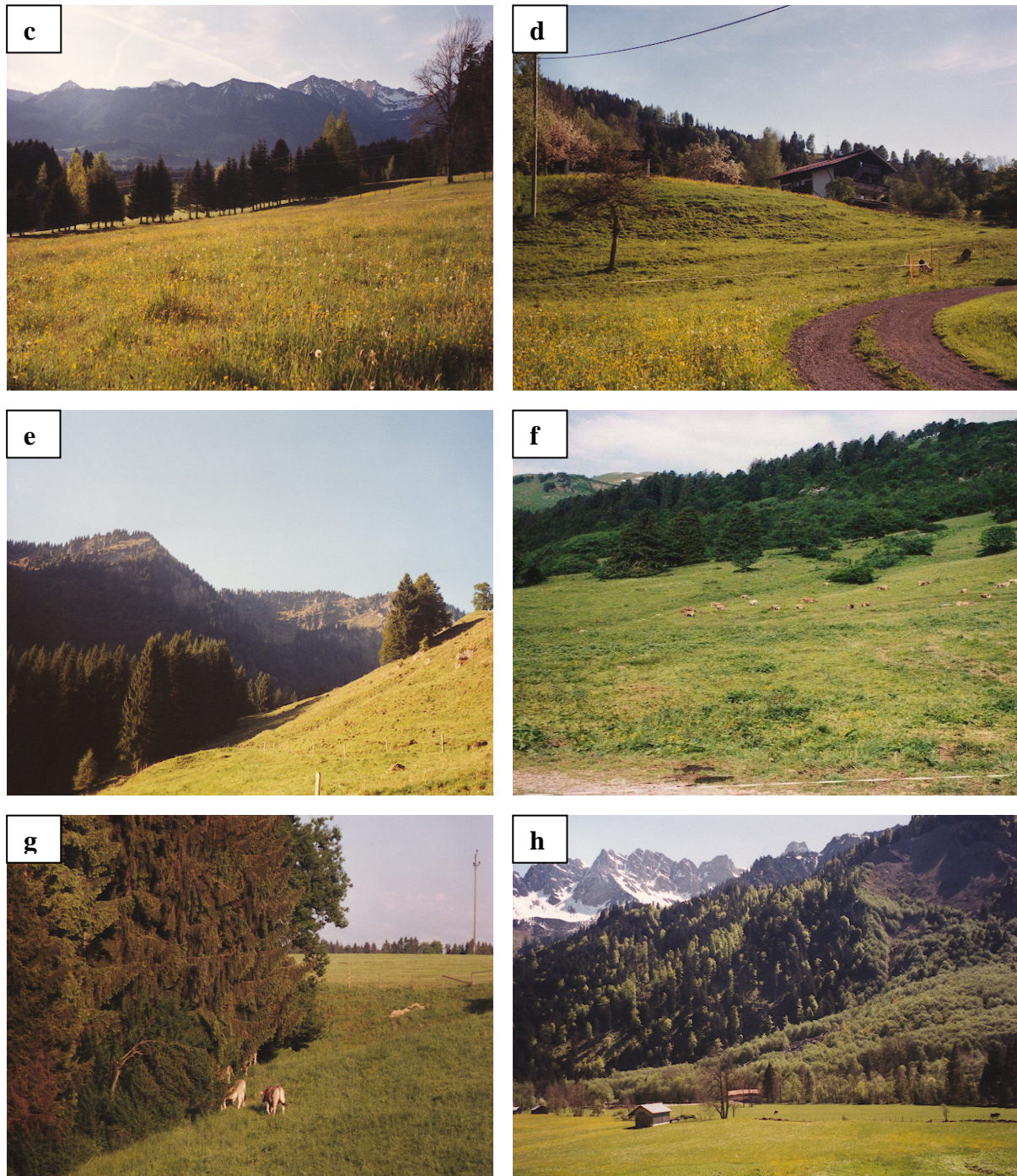


Abb. 4: Weideformen im Allgäu

a = Heimweide von Betrieb Nr. 28 mit Waldrand und viel Buschwerk (Betrieb Nr. 18 ähnlich); **b** = Almweide Mitterhaus mit hohem Baumbestand, zahlreichen Sträuchern, angrenzendem Bergbach und hoher Luftfeuchtigkeit



Fortsetzung Abb. 4: Weideformen im Allgäu

c = Heimweide von Betrieb Nr. 25, vor den Bäumen abgezäunt; **d** = Obstgarten-Heimweide von Betrieb Nr. 24 (Betrieb Nr. 16 ähnlich); **e** = Almweide Unterstieg mit vereinzelt Nadelbäumen; **f** = Almweide Engeratsgund, mit Nadelbäumen und Buschwerk; **g** = Weide für trockenstehende Tiere von Betrieb Nr. 19; **h** = Heimweide von Betrieb Nr. 29, vor den Bäumen abgezäunt (Betrieb Nr. 17 ähnlich)

Bei 10 Färsen aus Betrieb Nr. 15 in der Gemeinde Fischbachau, Landkreis Miesbach, wurde der Zeckenbefall nach der Untersuchung im Heimbetrieb auf der „Klarer-Alm“ (bei Bayrischzell, ebenfalls Lkr. Miesbach) 1055 m über NN weiterverfolgt (siehe Abb. 5 und Abb. 6). Vor dem Almauftrieb befanden sich die Tiere auf einer Weide ohne Baumbestand und nach dem Abtrieb auf einer mit Waldrand. Diese Tiere waren die einzigen, die bis November ausgetrieben und in diesem Monat auf Zecken überprüft wurden (vgl. Originaldaten in Tab. 16, Kapitel 8.2 Anhang).

9 Färsen und 11 Kühe aus einem Kiefersfeldener Betrieb (Nr. 14), etwa 600 m über NN gelegen, wurden während der Weidesaison zunächst auf umliegenden Weiden und im Sommer auf einem angrenzenden Berg, ca. 850 m über NN, untersucht (siehe Abb. 5 und Abb. 7).

4 Kühe aus einem Aschauer Bestand (Nr. 7) wurden von Juni bis September auf der Kampenwand („Gori-Alm“), 1240 m über NN, weiteruntersucht (siehe Abb. 5 und Abb. 8d).



Abb. 5: im Osten: Betriebsverteilung im Chiemgau: rot = Betriebe, deren Tiere auf Heimweiden untersucht wurden; blau= Aschauer Betrieb (Nr. 7) incl. Alm;

Westlich: blau = Fischbachauer Betrieb mit Alm bei Bayrischzell

Im Süden: rot = Kiefersfeldener Betrieb

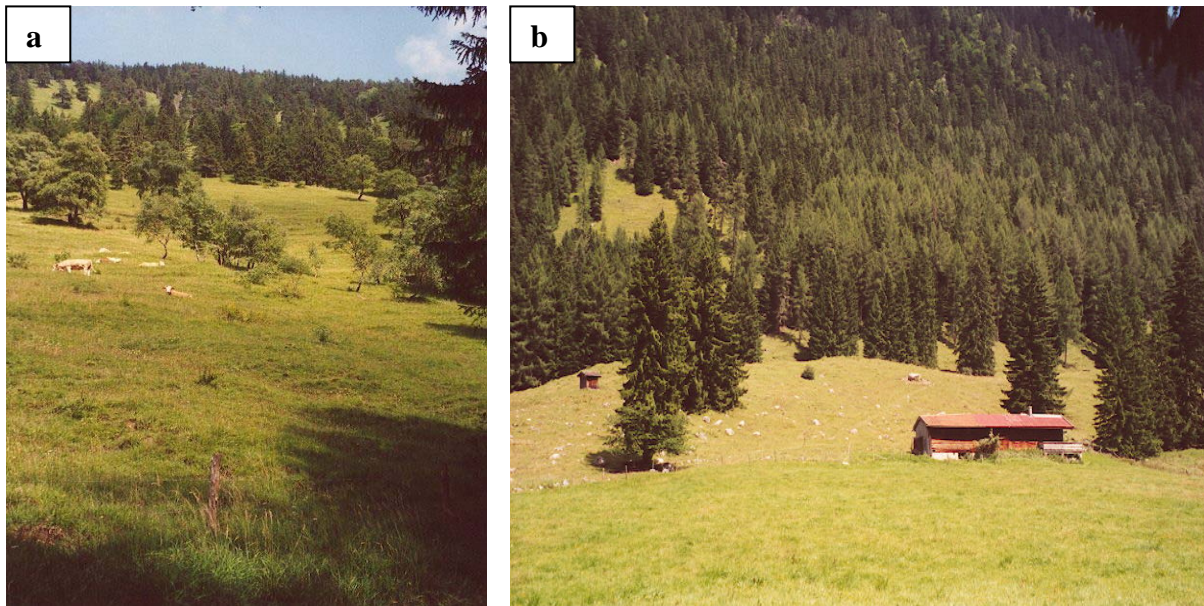


Abb. 6: Weideformen auf der Klarer-Alm

a = im August: Rinder auf Weide mit Sträuchern und Mischwald; **b** = im Vordergrund: baumfreie Wiese, auf der die Tiere im Juni und Juli gehalten wurden; im Hintergrund: Weide mit Nadelbäumen, auf der die Tiere im September untersucht wurden

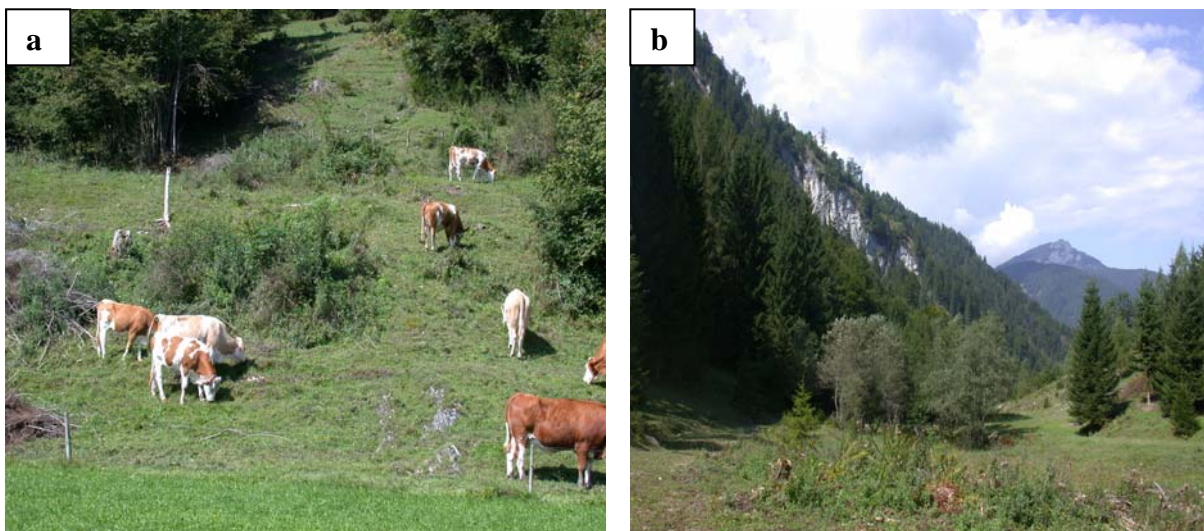
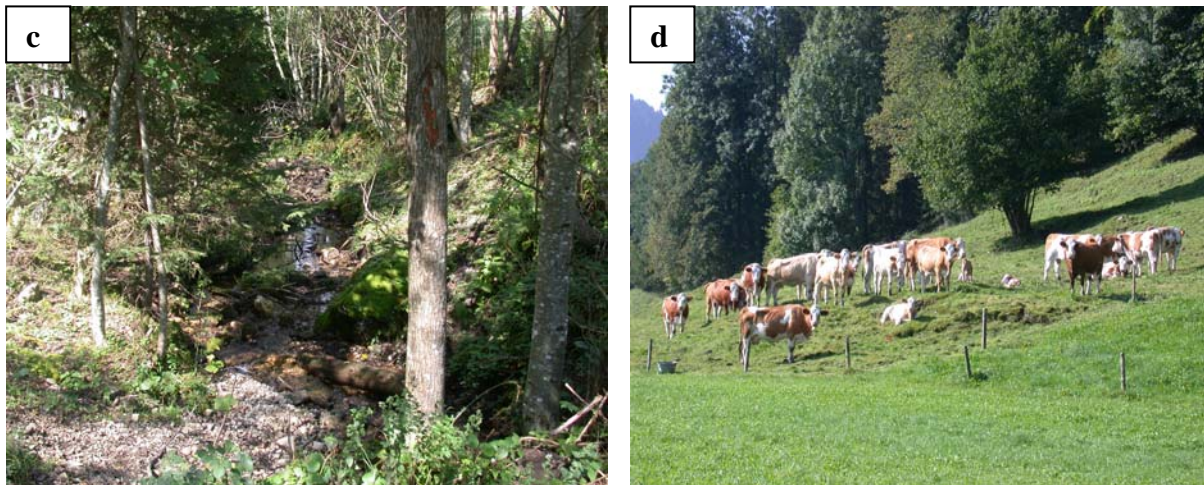


Abb. 7: Weiden von Betrieb Nr. 14

a = Heimweide mit Mischwald und Gestrüpp; **b** = Bergweide mit Mischwald, Farnen und Sträuchern



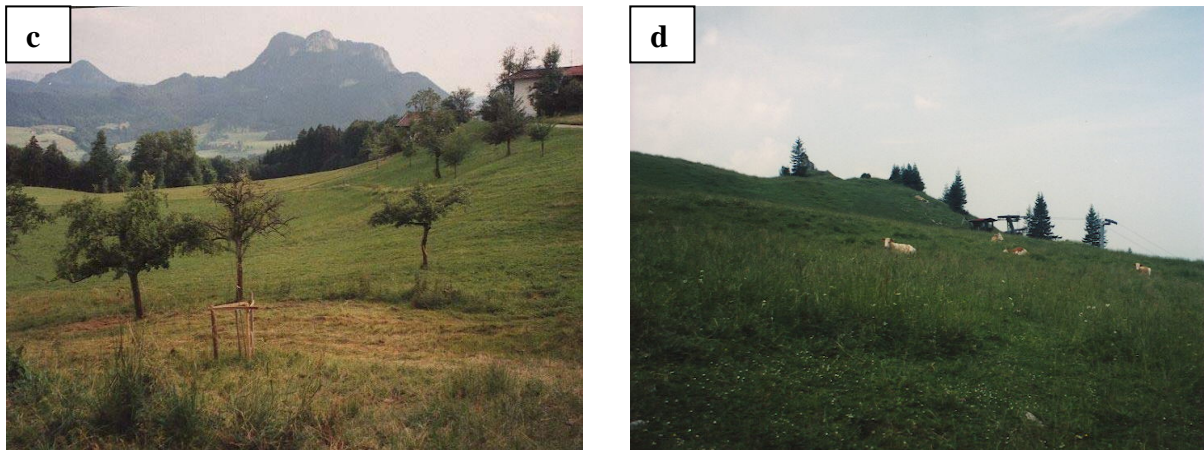
Fortsetzung Abb. 7: Weiden von Betrieb Nr. 14

c = dicht bewachsener Mischwald mit kleinem Bach, Moosen, Farnen und Sträuchern, der Bestandteil der Bergweide war; **d** = Heimweide mit Sträuchern und hohem Laubbaumanteil



Abb. 8: Darstellung verschiedener Weideformen im Chiemgau

a = Weide mit Waldrand und Gebüsch von Betrieb Nr. 12 (Betrieb Nr. 3 ähnlich); **b** = Waldweide von Betrieb Nr. 8 mit viel Unterholz, Gestrüpp und hoher Luftfeuchtigkeit (Betrieb Nr. 5 ähnlich);



Fortsetzung Abb. 8: Darstellung verschiedener Weideformen im Chiemgau

c = Obstgartenweide von Betrieb Nr. 13 (Betriebe 9, 10 und 11 ähnlich); **d** = Almweide (Kampenwand) mit wenig Baumbestand (Betrieb Nr. 7)

In der Gemeinde Habach wurden von Mai bis Oktober 2002 11 Kühe (aus Betrieb Nr. 1) ausschließlich auf umliegenden Heimweiden gehalten (siehe Abb. 10) und zu den Melkzeiten untersucht.

Ein Landwirt (Betrieb Nr. 2) in Dietramszell, Ortsteil Leismühl, hat seine Tiere nur im Herbst ausgetrieben und nach 6 Wochen Weidegang wieder eingestallt (siehe Abb. 11). Deshalb konnten erst ab September 28 und im Oktober 33 Kühe an der Untersuchung teilnehmen.

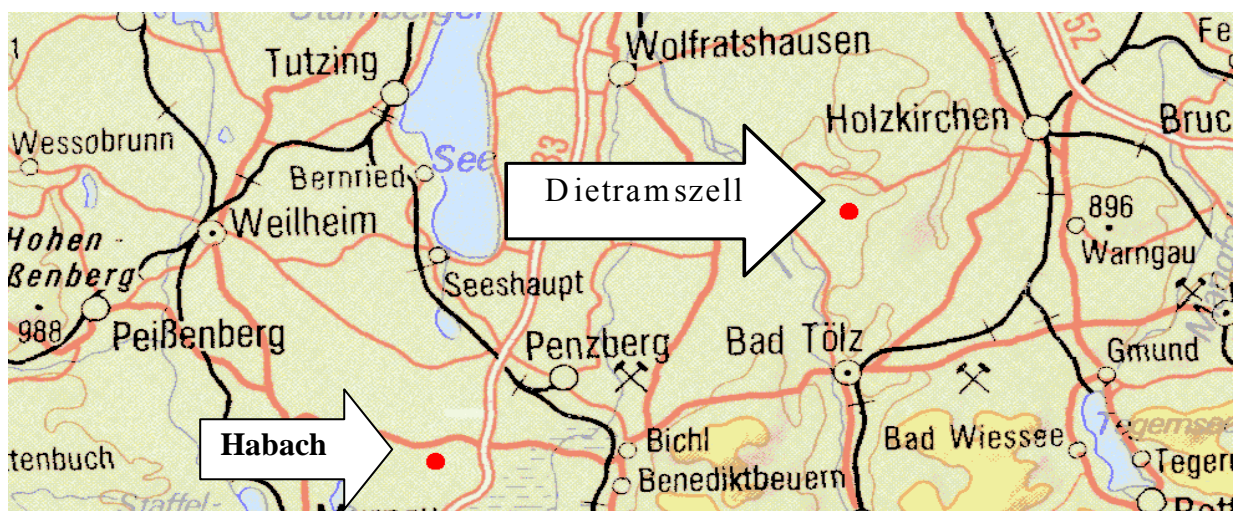


Abb. 9: Standort des Habacher und Dietramszeller Betriebes



Abb. 10: Weiden in Habach mit vereinzelt Bäumen und Sträuchern



Abb. 11: Weide in Leismühl mit Waldrand und Buschwerk

3.2 Methoden

3.2.1 Untersuchung der Rinder auf Zeckenbefall

Von Mai bis Oktober bzw. November 2002 wurden die Tiere in einem vier bis fünf-wöchigen Rhythmus auf Zecken untersucht. Bei Milchkühen war es möglich die Parasiten während der Melkzeiten im Stall abzusammeln, Rinder die während der Weidesaison nicht eingestallt wurden, mussten zum Teil auf der Weide untersucht werden, wobei es nicht immer möglich war die gesamte Herde miteinzubeziehen.

Der ganze Tierkörper wurde unter visueller Kontrolle mit der flachen Hand systematisch abgesucht. Bei vorhandenem Befall wurde die Zecke mit Daumen und Zeigefinger zwischen Kopf der Zecke und Tierhaut entfernt und in ein kleines nummeriertes Probengefäß verbracht.

Darüber hinaus wurden die Tiere einer Allgemeinuntersuchung unterzogen. Um auch in der untersuchungsfreien Zeit eventuell auftretende Erkrankungen zu erfassen, wurde jedem Landwirt bzw. Hirten eine Liste mit Symptomen ausgehändigt (siehe Kapitel 8.1, Anhang), um bei Bedarf die Verfasserin für eine Untersuchung und Blutabnahme verständigen zu können.

3.2.2 Untersuchung der Zecken

Im Labor erfolgten die Zählung der zu jedem Rind gehörigen Zecken sowie die Bestimmung des Geschlechts bzw. des Entwicklungsstadiums. Die Art wurde mittels einer Stereolupe (WILD, Herbrugg, Schweiz) unter Zuhilfenahme des Bestimmungsschlüssels von HILLYARD (1996) diagnostiziert.

Die statistischen Auswertungen hierzu erfolgten mit dem χ^2 -Test.

3.2.3 Blutentnahme und Serumgewinnung

281 Tieren wurde nach der Weidesaison im Herbst bzw. Winter jeweils ca. 10 ml Blut zur Gewinnung von Serum entnommen. Aufgrund von Verkauf oder Schlachtung war es nicht möglich von allen auf Zecken untersuchten Rindern Blut zu gewinnen. Zusätzlich wurde sechs Jungrindern (2 aus Betrieb Nr. 14, 1 aus Alp-Betrieb 15 und 3 aus Alp-Betrieb Nr. 16), die während der Weidezeit nicht in die Zeckenuntersuchung miteinbezogen werden konnten, ebenfalls Blut entnommen. Diese Jungrinder wurden nur auf Heimweiden gehalten, und dienten zur Überprüfung, ob eine Infektion auch auf diesen Weiden stattfinden konnte.

Die Lagerung der beschrifteten Zentrifugenröhrchen (Monovette, Sarstedt, Nümbrecht) bis zur weiteren Verarbeitung erfolgte in einer Kühltasche mit Kälteelementen. Im Labor wurden die Röhrchen 10 Minuten bei 2000 U/min zentrifugiert (Universal 30F, HETTICH), das jeweilige Serum anschließend auf mehrere gekennzeichnete Kunststoffreaktionsgefäße (1,5 ml, Eppendorf) aliquotiert und bei -20° C bis zur immunfluoreszenzserologischen Untersuchung aufbewahrt.

3.2.4 *Borrelia burgdorferi* IFAT

Für die serologische Untersuchung im IFAT wurden mit Antigen (*Borrelia burgdorferi sensu stricto*, Stamm B31) beschichtete, gefelderte Objektträger verwendet, die von Herrn Dr. B. Rutti, Universität Neuchâtel, freundlicherweise zur Verfügung gestellt wurden. Die Lagerung der Objektträger erfolgte bei -20° C.

Die Rinderseren und mit Antigen beschichteten Objektträger tauten bei Zimmertemperatur auf und es erfolgte die Herstellung von Verdünnungsreihen mit Phosphat gepufferter Salzlösung (Borrelien-Gebrauchslösung, pH 7,4):

1. Borrelien-Stammlösung (pro 1000 ml):

155,7 g NaCl	→	2,66 M
68,5 g K ₂ HPO ₄ x 3 H ₂ O	→	0,3 M
7,8 g KH ₂ PO ₄	→	0,057 M

2. Borrelien-Gebrauchslösung (1:20 Verdünnung):

100 ml Stammlösung + 1900 ml Aqua dest. → pH 7,4

Die Seren wurden 1:16 (10 µl Serum + 150 µl Borrelien-Gebrauchspuffer, pH 7,4), 1:32 (50 µl der 1:16-Verdünnung + 50 µl Borrelien-Gebrauchspuffer) und nach dem gleichen Prinzip 1:64, 1:128, 1:256, 1:512 und 1:1024 in Mikrotiterplatten verdünnt. Mit der größten Verdünnungsstufe beginnend (1:1024) wurden je Stufe 10 µl auf den beschrifteten Objektträger aufgetragen. Da Positiv- und Negativkontrollen vom Rind nicht zur Verfügung standen, wurde ein Borrelien-positives (1:1024, Ch.-B.: 01412) sowie -negatives Serum (1:64 vorverdünnt, Ch.-B.: 01412) vom Hund aus einem kommerziell erhältlichen *Borrelia burgdorferi sensu lato*-IFAT verwendet (DIA Consulting, Bahlingen, Deutschland, Ch.-B.: 02402). Anschließend erfolgte die Inkubation der Objektträger in einer feuchten Kammer für

30 Minuten bei 37° C. Danach wurden die Proben 3 x 5 Minuten in mit Borrelien-Gebrauchslösung gefüllten Küvetten gewaschen und anschließend getrocknet. Rabbit-anti-bovine-IgG-FITC (SIGMA, St. Louis, Missouri, No. F7887, whole molecule) wurde als Konjugat verwendet und 1:20 mit Borrelien-Gebrauchslösung verdünnt. Goat-anti-dog-IgG-FITC (DIA Consulting, Bahlingen, gebrauchsfertig, Ch.-B.: 01412), ebenfalls 1:20 verdünnt, wurde für die Positiv- und Negativkontrolle eingesetzt. Um bei der Untersuchung unter dem Fluoreszenzmikroskop den Kontrast zum Hintergrund zu erhöhen wurde zu 1 ml Konjugatverdünnung 30 µl Evans-Blue (FLUKA 46160, 1 %ig: 1g Evans-Blue ad 100 ml Aqua dest.) zugegeben. Nach guter Durchmischung wurden pro Objektträgerfeld 10 µl davon aufgetragen. Es folgte eine Inkubation von 30 Minuten bei 37° C (Wärmeschrank) in einer feuchten Kammer. Im Anschluss fand wieder ein 3 x 5 Minuten dauernder Spülgang statt. Die Präparate wurden getrocknet, mit einem Phosphat gepufferten-Glycerin-Gemisch (98 ml Glycerin + 2 ml Sörensen Phosphatpuffer, pH 7,2) benetzt und einem großen Deckglas abgedeckt. Der Phosphatpuffer (Merten, 1967) wurde dabei wie folgt hergestellt:

1. Stammlösung A:

11,88 g Na₂HPO₄ x 2 H₂O (MERCK, 6580)

ad 1000 ml Aqua dest.

2. Stammlösung B:

9,08 g KH₂PO₄ (MERCK, 1.04873)

ad 1000ml Aqua dest.

Phosphatpuffer:

143 ml Stammlösung A + 57 ml Stammlösung B

ad 2000 ml Aqua dest. → pH = 7,2

Die Beurteilung der Präparate fand unter dem Fluoreszenzmikroskop (LEITZ „Orthoplan“, Wetzlar, Deutschland, 10x Okular, Fluoreszenz-Objektiv NEOFLUAR 40/0,75) bei 400facher Vergrößerung statt.

Als Endergebnis (= Konzentration von Borrelien-Antikörpern) erhielt man für jedes Rinder-serum die Verdünnungsstufe, bei der die Reaktion noch als positiv bewertet wurde (entspricht dem Antikörpertiter). Für den Ausdruck „Antikörpertiter“ (von <1:16 bis 1:1024) wird im Weiteren synonym der Begriff der Titerstufe (von 0 – 7) verwendet. Ein Teil der Proben wurde zur Überprüfung der Methode doppelt untersucht.

Die statistische Auswertung erfolgte mit Hilfe des χ^2 -Testes und Korrelationsanalysen nach PEARSON und SPEARMAN.

3.2.5 *Borrelia garinii* Westernblot

Bei 64 im IFAT als positiv ($\geq 1:64$) bewerteten Rinderseren wurde zusätzlich ein kommerziell erhältlicher Westernblot (Anti-*Borrelia-garinii* Westernblot, EUROIMMUN, Lübeck, Deutschland) durchgeführt, der ursprünglich dem Nachweis humaner Antikörper gegen *Borrelia garinii*-Antigene dient. Da in einigen Publikationen, über serologische Nachweise von Borrelien beim Rind, die IFAT-Grenztiter bei 1:64, in anderen jedoch bei 1:128 festgesetzt waren, sollte, unter der Voraussetzung, dass *Borrelia burgdorferi sensu stricto*-positive Seren mit Antigenen der Genospezies *Borrelia garinii* kreuzreagieren, überprüft werden, ob die in dieser Arbeit mit 1:64 beurteilten Proben im Westernblot als positiv bestätigt werden können.

Der Test setzte sich aus vier Testpackungen (Ch.-B.: 21119i-29; 21219i-09; 21219i-03; 21219i-05) mit je 16 Blotstreifen zusammen, die *Borrelia garinii*-Antigen-Extrakte enthielten. Die kultivierten Borrelien wurden über diskontinuierliche Polyacrylamid-Gelelektrophorese (PAGE) nach Molekulargewichten aufgetrennt und auf eine Nitrocellulose-Membran transferiert. Jeder Nitrocellulose-Membran wurden zwei Kontroll-Blotstreifen entnommen und mit einem Referenzserum inkubiert. Einer dieser angefärbten Streifen wurde dem Testsatz beigegeben und diente als Auswerteschablone. Diagnostisch relevante Antigenbanden wurden mit monoklonalen Referenzantikörpern charakterisiert.

Testdurchführung:

Zuerst wurde der Universalpuffer hergestellt, indem das im Test enthaltene Pufferkonzentrat im Verhältnis 1:10 mit destilliertem Wasser (Aqua dest.) verdünnt wurde. Pro Blotstreifen wurden 1,5 ml Konzentrat in 13,5 ml Aqua dest. aufgenommen. Die zu untersuchenden Serumproben waren im Verhältnis 1:51 mit dem Universalpuffer zu verdünnen (1,5 ml Universalpuffer + 30 μ l Rinderserum) und gut durchzumischen. Ein mit Alkalischer Phosphatase konjugiertes monoklonales Mouse-anti-bovine-IgG (SIGMA, St. Louis, Missouri, No. A-7554, immunoglobulin fraction of mouse ascites fluid, mouse IgG isotype, clone BG-18) diente in einer Verdünnung von 1:2000 (49,975 ml Puffer + 25 μ l Konjugat) zur Bindung an Rinder-Antikörper, die, bei positiver Reaktion, einen Komplex mit Borrelien-Antigenen bildeten. Die Inkubationsrinnen wurden mit je 1,5 ml Universalpuffer gefüllt, die

Blotstreifen mit einer Pinzette der Verpackung entnommen, direkt in je eine Rinne gelegt und 15 Minuten bei Raumtemperatur auf einem Wippschüttler inkubiert. Anschließend wurde die Flüssigkeit aus den Rinnen (mittels Wasserstrahlpumpe und Pasteurpipette) abgezogen. In jede Rinne wurden 1,5 ml der verdünnten Serumproben gefüllt und 30 Minuten auf einem Wippschüttler bei Raumtemperatur inkubiert. Die Flüssigkeit wurde anschließend wieder abgezogen und die Blotstreifen 3 x 5 Minuten mit je 1,5 ml Universalpuffer pro Streifen auf einem Wippschüttler gewaschen. Jeweils 1,5 ml Enzymkonjugat-Lösung (mit Alkalischer Phosphatase markiertes Mouse-anti-bovine-IgG, s. o.) wurden in die Inkubationsrinnen pipettiert und 30 Minuten bei Raumtemperatur auf einem Wippschüttler inkubiert. Nach Abzug der Flüssigkeit wurde erneut 3 x 5 Minuten gewaschen. Anschließend erfolgte die Zugabe von je 1,5 ml Substrat und eine 10 Minuten dauernde Inkubation bei Raumtemperatur auf einem Wippschüttler. Bei positiver Reaktion wurde das Substrat durch gebundenes Enzymkonjugat katalysiert, wobei eine gefärbte Bande entstand. Die Flüssigkeit wurde aus jeder Rinne abgezogen und, um die Reaktion zu stoppen, jeder Blotstreifen 3 x 1 Minute mit destilliertem Wasser gespült.

Testauswertung und Interpretation der Ergebnisse:

Die inkubierten Blotstreifen wurden getrocknet und mit durchsichtigem Klebeband in das beiliegende Auswerte-Protokoll eingeklebt. Die Ausrichtung der Auswerte-Schablone erfolgte anhand eines Anlegebalkens.

Unter der Nummerierung der Streifen befand sich eine Kontrollbande, die durch eine intensive Färbung eine korrekt durchgeführte Inkubation anzeigte. Deutlich erkennbare Banden auf den Blotstreifen, die mit den Markierungen auf der Auswerte-Schablone übereinstimmten, wurden in das Auswerte-Protokoll eingetragen.

In Tab. 6 sind die einzelnen Antigene, ihr Molekulargewicht (kDa), ihre Bezeichnung, sowie die Beurteilung ihrer Spezifität aufgeführt.

Bande	Antigen	Spezifität
83 kDa	Membran-Vesikel Protein, p 83	Abbauprodukt von p 100, hochspezifisch
75 kDa	Heat Shock Protein, p 75	Nicht spezifisch
62 kDa	Heat Shock Protein, p 62	Nicht spezifisch
57/59 kDa	p 57 und p 59	Nicht spezifisch
50 kDa	p 50	Nicht spezifisch
47 kDa	p 47	Wahrscheinlich gattungsspezifisch
43 kDa	p 43	Nicht spezifisch
41 kDa	Flagellin, p 41	Bedingt spezifisch, Kreuzreaktivität zu anderen Spirochäten und begeißelten Bakterien bekannt
39 kDa	Bmp A, p 39	Hochspezifisch
37 kDa	p 37	Spezifität nicht gesichert
34 kDa*	Osp B, p 34	Oberflächenprotein bzw. äußeres Membranprotein B, spezifisch
30 kDa	p 30	Spezifisch
29 kDa	Osp A, p 29	Oberflächenprotein bzw. äußeres Membranprotein A, hochspezifisch
28 kDa	p 28	Vermutlich spezifisch, derzeit wenig untersucht
25 kDa	Osp C, p 25	Oberflächenprotein bzw. äußeres Membranprotein C, hochspezifisch, Frühphasenmarker
21/22 kDa	p 21/22	Osp C-Komplex zugehöriges Antigen, hochspezifisch
19 kDa	p 19	Spezifisch

Tab. 6: Spezifität der auf den Streifen enthaltenen Antigene (laut Arbeitsanleitung des Herstellers)

* ist auf Auswerteschablone nicht enthalten

Die *Borrelia garinii*-Antigene waren in drei Kategorien eingeteilt (Tab. 7):

Kategorie	Antigene
1	Kreuzreagierende und undefinierte Antigene mit den Molekulargewichten 28 kDa, 37 kDa, 43 kDa, 47 kDa, 50 kDa, 57 kDa, 59 kDa, 62 kDa und 75 kDa
2	Gattungsspezifisches Antigen mit einem Molekulargewicht von 41 kDa (Flagellin)
3	Spezies- und hochspezifische Antigene mit den Molekulargewichten 19 kDa, 21/22 kDa, 25 kDa, 29 kDa, 30 kDa, 39 kDa und 83 kDa

Tab. 7: Kategorien der Antigene

Die Ergebnisse des Westernblots wurden wie folgt in negative, grenzwertig positive und positive Befunde eingeteilt (Tab. 8).

Befund	Charakteristik
Negativ	Keine Banden oder schwache Intensitäten einiger Antigene aus den Kategorien 1 und 2
Grenzwertig positiv	Eine deutliche Antigenbande der Kategorie 3 und mehrere deutliche Signale der Kategorien 1 und 2
Positiv	Mehr als eine deutliche Antigenbande der Kategorie 3; darüber hinaus sind, besonders bei Patienten im Spätstadium der Erkrankung, zusätzlich eine Vielzahl von Banden der Kategorien 1 und 2 zu beobachten

Tab. 8: Befundinterpretation

3.2.6 *Babesia divergens* IFAT

287 Rinderseren wurden zur Untersuchung auf das Vorhandensein von Antikörpern gegen *Babesia divergens*, mittels IFAT, an das INSTITUT FÜR PARASITOLOGIE UND ZOOLOGIE WIEN (Arbeitsgruppe Frau Dr. R. Edelhofer) geschickt. Dort wurde *Babesia divergens* (Stamm Hannover) aus Blut von infizierten Gerbils gewonnen und als Antigen verwendet. Als positive Kontrolle diente Serum eines 2x mit *B. divergens* (Stamm X 38-Central Veterinary Laboratory Weybridge) geboosterten Rindes drei Monate nach der ersten Infektion. Als Negativkontrolle wurde Serum eines im Stall gehaltenen und aus einem nicht in einem Endemiegebiet aufgewachsenen Rindes verwendet.

3.2.7 Zusatzuntersuchung auf *Fasciola hepatica*

Da einige Weidegebiete nicht nur ein optimales Zeckenbiotop, sondern auch ideale Habitate für das Vorkommen von *Fasciola hepatica* darstellten, wurden aus 18 Betrieben 105 Einzelseren und bei 13 sehr kleinen Betrieben jeweils Serumpools, d. h. ein Gemisch der einzelnen Seren, zusätzlich im ELISA (Institut POURQUIER, Montpellier, Frankreich, P05110/07) auf Antikörper gegen diesen Trematoden getestet.

Der Test wurde mittels der von LEVIEUX *et al.* (1992) entwickelten Hämagglutinationstechnik (HA) kalibriert.

Testprinzip und -durchführung:

Das aus einem Parasitenextrakt gewonnene und gereinigte Antigen „f2“* war am Boden der Vertiefungen in Mikrotiterplatten aus Polystyrol fixiert. Die Vertiefungen waren alternierend mit inaktiviertem Antigen und Kontrollantigen beschichtet.

Die zu untersuchenden Serumproben wurden im Verhältnis 1:20 mit einem, in der Testpackung enthaltenen, Puffer verdünnt und zur Inkubation (1 Stunde, bei 37° C) je 200 µl in die Vertiefungen der Mikrotiterplatten pipettiert. Lagen spezifische Antigen „f2“-Antikörper im Serum vor, wurden die Rinderantikörper durch „f2“-Antigen-Antikörperkomplexe am Boden der Mikrotiterplatten gebunden. Nach der Inkubation wurde die Platte durch Umdrehen geleert, 4 x mit 400 µl mitgelieferter, zuvor 1:20 mit Aqua dest. verdünnter, Waschlösung je Vertiefung und Waschgang gefüllt und 2-3 Minuten stehengelassen. Jeweils 100 µl enzymgekoppeltes Anti-bovine-IgG (monoklonales Anti-Rinder-IgG-Peroxidase-Konjugat, zuvor 1:100 mit Puffer verdünnt, im Test enthalten) wurde jeder Vertiefung hinzugefügt und 30 Minuten bei 37° C inkubiert. Dieses Konjugat wurde am Immunkomplex gebunden. Nach dem Waschen (wie oben) erfolgte die Zugabe des Enzymsubstrates (TMB, gebrauchsfertig, ebenfalls im Test enthalten) (100 µl/Vertiefung), das sich in Gegenwart des in den Vertiefungen zurückgebliebenen Konjugats blau färbte. Die Inkubation (unter Lichtabschluss) dauerte dabei 20 Minuten. Nach dem Stoppen der Reaktion mit je 100 µl 0,5 M H₂SO₄ trat eine Gelbfärbung ein. Die Intensität der Farbreaktion war proportional zu der Antikörperkonzentration im zu untersuchenden Serum. Die optische Dichte (OD) wurde bei 450 nm mit einem Photometer (TECA Spectra, SLT Lab Instruments Deutschland GmbH) gemessen. Die Bestimmung der positiven Grenzwerte erfolgte anhand

* stark immunogen und hochspezifisch für *Fasciola hepatica*; bei Haus- und Nutztieren zeigt eine mit diesem Antigen durchgeführte Hämagglutination eine große Sensibilität

der Ergebnisse, die mit den im Test mitgelieferten Kontrollseren (positive Kontrolle zu 150 UHA, 600 UHA und Negativkontrolle) erhalten wurden.

Auswertung:

Für jedes Serum musste der Nettowert der OD 450 berechnet werden, d. h. die Differenz zwischen der OD 450 des Kontrollantigens und der des inaktivierten Antigens. Des Weiteren erfolgte eine Korrektur des Netto-OD-Wertes, indem von diesem der Netto-OD-Wert der Negativkontrolle zu subtrahieren war. Für jede Probe wurde der Prozentsatz zwischen der OD der Probe und der OD der positiven Kontrolle (S/P %) berechnet:

- $S/P_{150} \% = (\text{Netto OD 450 der Probe} / \text{Netto OD 450 der positiven Kontrolle zu 150 HA Einheiten}) \times 100$
- $S/P_{600} \% = (\text{Netto OD 450 der Probe} / \text{Netto OD 450 der positiven Kontrolle zu 600 HA Einheiten}) \times 100$

Die Interpretation der Ergebnisse zeigt Tab. 9.

Bei der Analyse von Seren von Jungrindern mussten die Ergebnisse mit einem % S/P₁₅₀ von größer als 30 % als positiv bewertet werden (gemäß den Angaben des Herstellers).

% S/P der Proben	Interpretation der Ergebnisse in Hinsicht auf die Befallsintensität	
	% S/P ₆₀₀ > 100%	Starker Befall
% S/P ₆₀₀ ≤ 100% % S/P ₁₅₀ ≥ 100%	Mittelstarker Befall	++
% S/P ₁₅₀ zwischen 50% und 100%	Schwacher Befall	+
% S/P ₁₅₀ < 50%	Kein Befall	0

Tab. 9: Befundinterpretation (gemäß den Angaben des Herstellers)

4. Ergebnisse

4.1 Zeckenbefall

Insgesamt wurden im Untersuchungszeitraum, der Weidesaison 2002, 3453 Zecken von 221 Rindern abgesammelt. Dies entspricht einer Prävalenz von 69 %. In allen Betrieben waren mit Zecken befallene Tiere nachweisbar. Nur bei einem Rind (aus Betrieb Nr. 18) wurde bereits vor dem Weideaustrieb im April eine angesaugte weibliche *Ixodes ricinus* gefunden, alle anderen Funde sind auf einen Befall während des Weideganges zurückzuführen. 78 % waren Weibchen, 17 % Männchen und 5 % Jugendstadien, also Nymphen und Larven. 77 weibliche Zecken wurden bei der Entfernung derart beschädigt, dass für die Bestimmung der Art wesentliche Teile fehlten und nur noch eine Gattungsdiagnose möglich war. Die Ergebnisse der zoologischen Bestimmungsarbeit sind in Tab. 10 dargestellt.

Rinder mit Zeckenbefall/ Zahl der Rinder	Zecken gesamt	<i>Ixodes ricinus</i> (Adulte)	<i>Ixodes spp.</i>
221 / 319 = 69 %	3.453	2.634 ♀ 584 ♂	77 ♀ 139 NN 19 LL

Tab. 10: Darstellung der auf Rindern gefundenen Zecken

♀= weiblich; ♂= männlich; NN= Nymphen; LL= Larven

Betrachtet man die Verteilung der Zeckenfunde über die einzelnen Weidemonate (siehe Abb. 12), so fällt ein zweigipfelter Verlauf auf: die höchsten Zeckenzahlen wurden im Juni (886 Zecken) und September (988 Zecken) beobachtet. Nymphen wurden in jedem Untersuchungsmonat (außer im November) nachgewiesen, wobei Spitzen im Mai mit 28,8 % (40 von insgesamt 139 aufgefundenen Nymphen) und September mit 46 % (64 von 139) beobachtet wurden. Zeckenlarven wurden insgesamt gesehen sehr selten, und nur in den Monaten August (1 Tier) und September (18 Tiere) nachgewiesen.

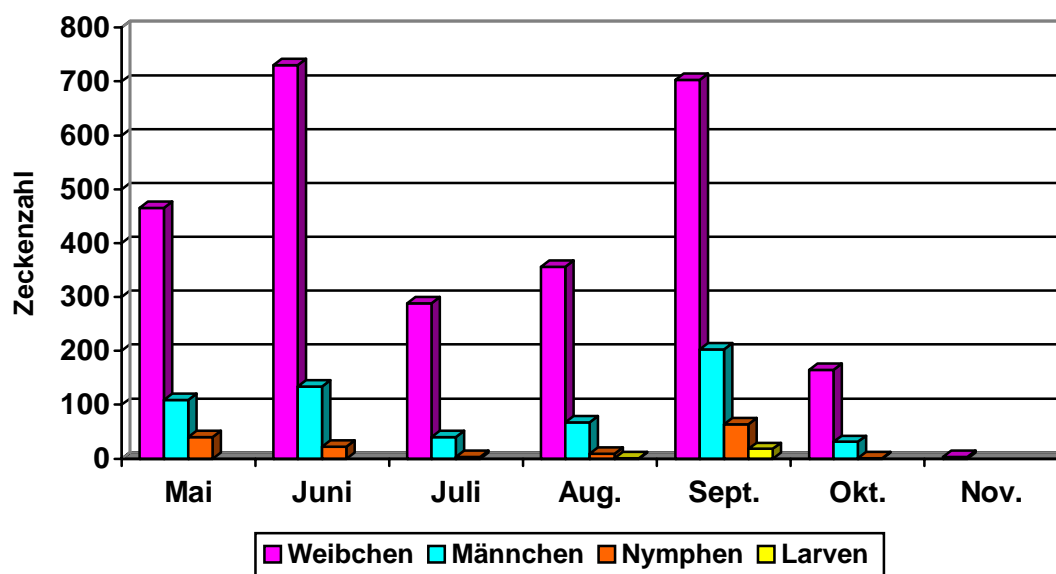


Abb. 12: Anzahl weiblicher, männlicher und immaturer Zeckenfunde beim Rind in den Weidemonaten Mai bis November

Durchschnittlich fanden in jedem Betrieb während der Weidesaison fünf Untersuchungen statt (siehe Tab. 11). In 13 Betrieben waren nahezu alle untersuchten Rinder (90-100 % pro Betrieb) mindestens einmal mit einer Zecke befallen, in 6 Betrieben waren jeweils etwa 80 %, und in 8 Beständen jeweils 50-75 % der Tiere positiv. In den Betrieben Nr. 2, 6, 11 und 17 lag der Anteil infestierter Rinder zwischen 31,3 und 40 % (siehe Tab. 11).

Betrieb	Ort	Region	Rd. gesamt	befallene Tiere	Zecken ges.	%	Untersuchungen
1	Habach		11	81,8 (9)	46	1,3	5
2	Dietramszell		33	33,3 (11)	16	0,5	2
3	Sachrang	Chiemgau	25	84 (21)	51	1,5	5
4	Sachrang	Chiemgau	12	91,7 (11)	48	1,4	5
5	Sachrang	Chiemgau	12	100 (12)	284	8,2	5
6	Aschau	Chiemgau	15	40 (6)	12	0,3	5
7	Aschau	Chiemgau	4	75 (3)	6	0,2	4
8	Aschau	Chiemgau	16	62,5 (10)	31	0,9	5
9	Bernau	Chiemgau	13	53,8 (7)	17	0,5	5
10	Samerberg	Chiemgau	6	83,3 (5)	9	0,3	5
11	Samerberg	Chiemgau	16	31,3 (5)	8	0,2	5
12	Samerberg	Chiemgau	14	85,7 (12)	34	1,0	5
13	Samerberg	Chiemgau	17	58,8 (10)	17	0,5	5
14	Kiefersfelden		20	100 (20)	2201	63,7	6
15	Fischbachau		10	70 (7)	78	2,3	5
16	Hergatz	Allgäu	6	50 (3)	3	0,1	5
17	Hergatz	Allgäu	20	40 (8)	13	0,4	5
18	Hergensweiler	Allgäu	14	92,9 (13)	167	4,8	5
19	Heimenkirch	Allgäu	13	69,2 (9)	56	1,6	5
20	Hindelang	Allgäu	5	80 (4)	7	0,2	5
21	Hindelang	Allgäu	3	100 (3)	4	0,1	5
22	Hindelang	Allgäu	6	83,3 (5)	16	0,5	5
23	Hindelang	Allgäu	4	100 (4)	8	0,2	5
24	Hindelang	Allgäu	3	100 (3)	6	0,2	5
25	Ofterschwang	Allgäu	3	100 (3)	4	0,1	5
26	Tiefenbach	Allgäu	3	66,7 (2)	7	0,2	5
27	Hindelang	Allgäu	3	100 (3)	16	0,5	6
28	Hindelang	Allgäu	5	100 (5)	234	6,8	6
29	Hindelang	Allgäu	3	100 (3)	7	0,2	6
30	Imberg	Allgäu	1	100 (1)	15	0,4	6
31	Hindelang	Allgäu	3	100 (3)	32	0,9	6
Total			319	69 (221)	3453	100	

Tab. 11: Ergebnisse der Zeckenuntersuchung

Rd. gesamt = Anzahl der mindestens einmal auf Zecken untersuchten Rinder pro Betrieb; **befallene Tiere** = prozentualer Anteil der Tiere, die in dem jeweiligen Betrieb mindestens einmal mit mindestens einer Zecke befallen waren. Die absoluten Zahlen sind dahinter in Klammern angegeben; **Zecken ges.** = Gesamtzahl der Zecken im Untersuchungszeitraum pro Betrieb; **%** = Anteil der pro Betrieb gefundenen Zecken am gesamten Untersuchungsmaterial; **Untersuchungen** = Zahl der Einzeluntersuchungen

Nahezu 64 % der insgesamt entfernten Zecken stammten aus dem Betrieb Nr. 14, der damit eine Sonderstellung einnimmt. An sechs Untersuchungstagen (von Mai bis Oktober) wurden hier 2201 Zecken von 6-20 Rindern abgesammelt (vgl. Kapitel 8.2; Tab.16), wohingegen in allen anderen Betrieben zusammen 1252 Zecken bei insgesamt 201 befallenen Tieren festgestellt wurden. Die in jedem einzelnen Betrieb ermittelten Ergebnisse sind in Tab. 11 aufgeführt. Abb. 13 illustriert graphisch die Zuordnung der Zeckenfunde zu den zu Gruppen zusammengefassten Betrieben. 17,2 % der nachgewiesenen Zecken stammten von den insgesamt 95 untersuchten Rindern aus 16 Betrieben der Gruppe „Allgäu“, 15 % aus der Gruppe „Chiemgau“ (11 Betriebe mit insgesamt 150 Rindern), 2,3 % aus dem Betrieb der Gemeinde Fischbachau (10 Rinder), 1,3 % aus dem Betrieb in Habach (11 Rinder) und 0,5 % aus dem Betrieb in Dietramszell (33 Rinder). Die durchschnittliche Zeckenzahl pro Tier und Untersuchungstag betrug damit 30,7 für den Betrieb in Kiefersfelden, 1,2 in der Region „Allgäu“, 0,7 in der Region „Chiemgau“, 2,4 in Fischbachau, 0,95 in Habach und 0,25 in Dietramszell.

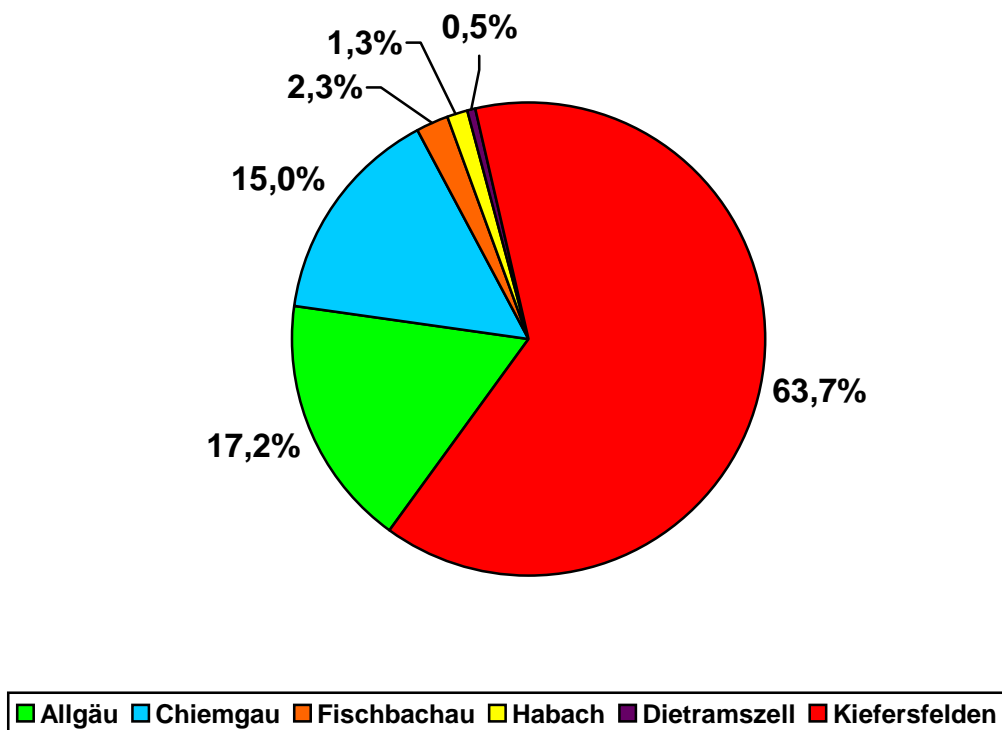


Abb. 13: Zeckenfunde pro Betrieb bzw. Region in Prozent

Betrachtet man die maximal festgestellte Befallsintensität pro Untersuchungstag (siehe Abb. 14) ergibt sich folgendes Bild: 76,5 % (169 von 221) der befallenen Rinder waren mit maximal 1-6 Zecken pro Untersuchung infestiert. 23,5 % der Rinder zeigten höhere Befallsraten. Die höchste Befallsrate zeigte dabei eine Kuh aus dem Betrieb „Kiefersfelden“ mit 250 Zecken an einem Untersuchungstag im September. Die Originaldaten zum Zeckenbefall der einzelnen Probanden an den jeweiligen Untersuchungstagen sind in Tab. 16 in Kapitel 8.2 dargestellt.

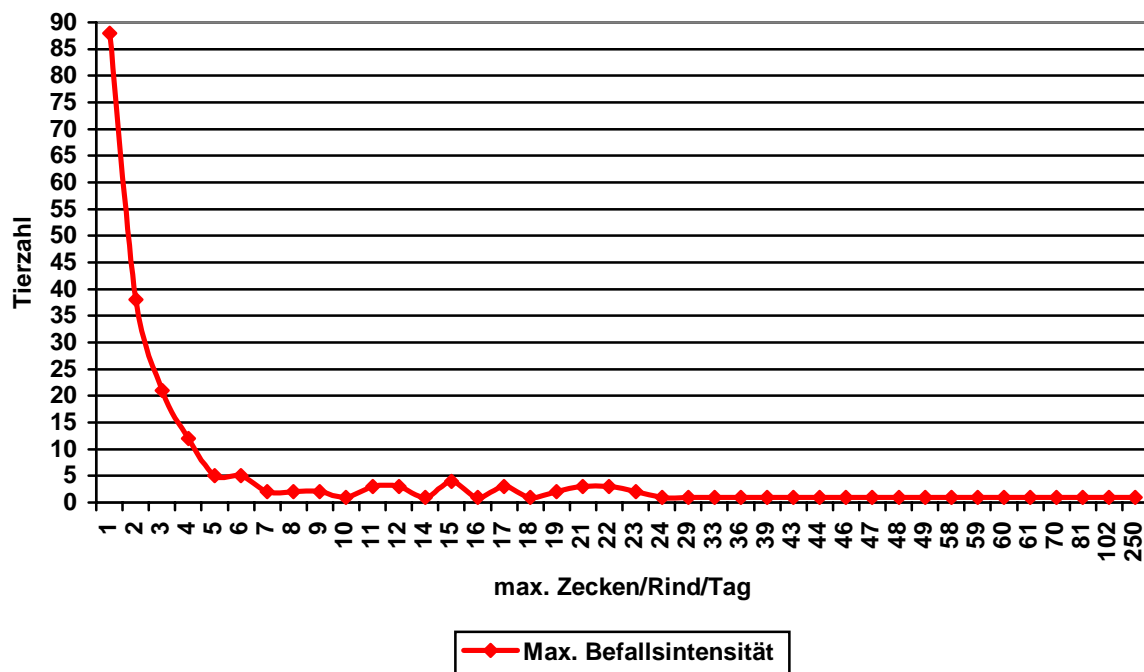


Abb.14: Maximale Zeckenzahl pro Tier und Untersuchungstag. Die Abszisse ist nicht linear unterteilt dargestellt

Einen Überblick über den prozentualen Anteil von mit Zecken befallenen Rindern über die einzelnen Weidemonate gibt Abb. 15. Durch den fünfwöchigen Untersuchungsrythmus und die Tatsache, dass es zeitweise wegen der Witterung nicht möglich war auf einzelnen Almen zu untersuchen, musste in den verschiedenen Monaten eine unterschiedliche Anzahl Rinder einbezogen werden. Von den insgesamt zur Verfügung stehenden 319 Rindern wurden im Mai 74,9 % untersucht (239 Tiere), im Juni 74,6 % (238 Tiere), im Juli 43,3 % (138 Tiere), im August 57,7 % (184 Tiere), im September 74 % (236 Tiere) und im Oktober 85,5 % (272 Tiere). Die Daten im November (2,5 % oder 8 Tiere) gehen allein auf den Betrieb „Fischbachau“ zurück, dessen Tiere als einzige bis November Weidegang hatten.

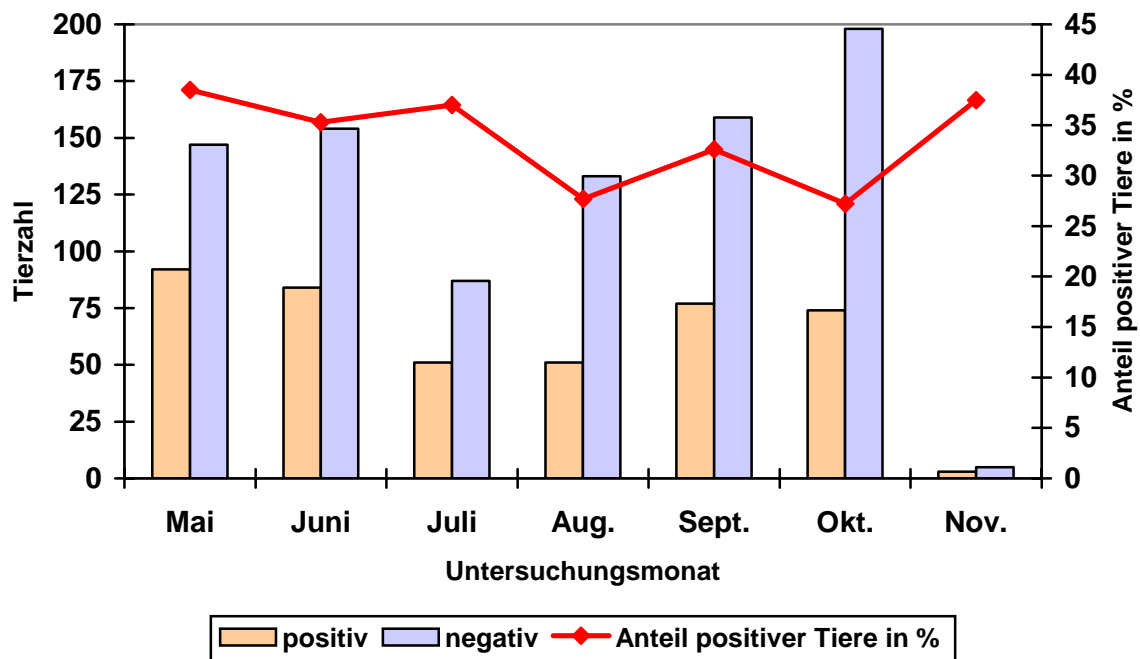


Abb. 15: Prozentualer Anteil der positiven Tiere an der Gesamtzahl der im jeweiligen Monat Untersuchten. Die absoluten Tierzahlen sind in Säulenform dargestellt.

Relative Anteile infestierter Tiere von über 30 % waren in den Monaten Mai (38,5 %), Juni (35,3 %), Juli (37 %) und September (32,6 %) zu beobachten, während im August mit 27,7 % und Oktober mit 27,2 % vergleichsweise weniger Rinder befallen waren. Für die statistische Beurteilung dieser Ergebnisse wurden im χ^2 -Test die Daten eines jeden Monats mit den Daten aller anderen Monate verglichen. So ergab sich im Mai ein signifikant bis hoch signifikant

höherer Prozentsatz positiver Rinder als im August ($p < 0,05$) und Oktober ($p < 0,01$). Im Vergleich mit dem Oktober waren im Juni ($p < 0,05$) und Juli ($p < 0,05$) ebenfalls signifikant höhere Anteile Rinder mit Zecken befallen. Alle anderen Kombinationen ergaben nicht signifikante Unterschiede ($p > 0,05$). Aufgrund der geringen Zahl untersuchter Tiere konnte der November nicht in die Auswertung miteinbezogen werden.

Im „Chiemgau“ waren von insgesamt 150 untersuchten Rindern über die gesamte Weidesaison 68 % (102 Tiere) mit Zecken befallen, im „Allgäu“ waren es von 95 Rindern 75,8 % (72 Tiere). Im χ^2 -Test konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den Prävalenzen der beiden Regionen festgestellt werden ($p > 0,05$). Die Verteilung positiver Rinder in den beiden Untersuchungsregionen über die einzelnen Weidemonate ist in Abb. 16 dargestellt.

Im „Chiemgau“ wurde der höchste Prozentsatz Zecken-positiver Tiere im Mai (40,3 %) und September (32 %) festgestellt. Von Mai bis August konnte eine kontinuierliche Abnahme des prozentualen Anteils befallener Tiere beobachtet werden. Die geringsten Anteile wurden im August mit 18,8 % bzw. Oktober mit 20,6 % registriert. Die Verteilung des Anteils positiver Rinder im „Allgäu“ zeigt ein anderes Bild: hier stiegen die Befallsraten von Mai bis Juli von 28,4 % auf 45,3 % an und fielen bis zum September/Oktober auf ein Minimum von 22 % ab.

Bei der Einbeziehung der durchschnittlichen Zeckenzahlen, die auf den befallenen Rindern festgestellt wurden (siehe Abb. 16), zeigt sich, dass in der Region „Chiemgau“ die monatlichen Veränderungen im Anteil befallener Rinder und in der Zeckenzahl einen tendenziell gemeinsamen Verlauf nahmen. Für die Region „Allgäu“ war dieser Zusammenhang nicht festzustellen. Hier nahm die Zahl der aufgefundenen Zecken pro befallenem Tier von einem Maximum im Mai mit 10,7 Zecken/Rind bis zum Juli auf 1,6 Zecken/Rind ab und stagnierte in den Folgemonaten bei 2,2 bis 1,7 Zecken/Rind. Im Juli war im „Allgäu“ zwar der höchste Anteil positiver Rinder zu beobachten, die durchschnittlich pro infestiertem Tier gefundene Zeckenzahl betrug jedoch nur 1,6 und war damit am niedrigsten. Während zu Beginn des Jahres die Zeckenzahl/Rind im „Allgäu“ 2,5mal höher war als im „Chiemgau“, so wurden im weiteren Verlauf des Jahres von Juli bis Oktober in beiden Gebieten ähnliche Zeckenzahlen/Rind festgestellt.

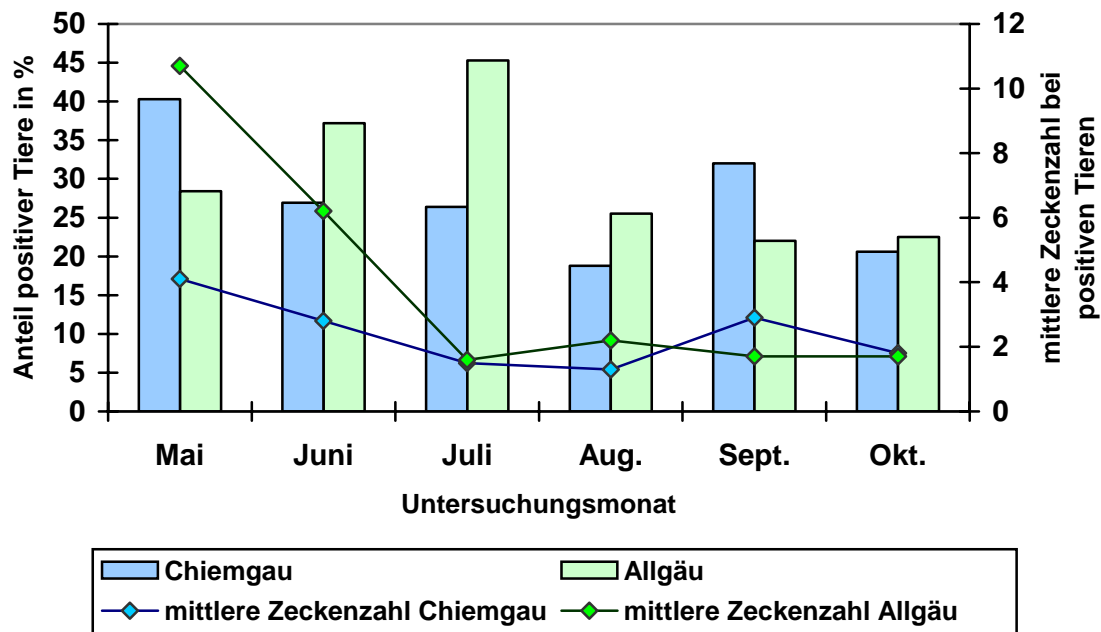


Abb. 16: Befallsraten der Rinder im „Chiemgau“ und im „Allgäu“

Die **statistische Überprüfung der Daten** im χ^2 -Test ergab beim Vergleich der Befallsraten in den verschiedenen Monaten für das „Chiemgau“ einen signifikant höheren Prozentsatz positiver Rinder im Mai verglichen mit Juni ($p < 0,05$), August ($p < 0,01$) und Oktober ($p < 0,001$). In diesem Monat war auch die durchschnittliche Zeckenzahl mit 4,1 Zecken pro Tier am höchsten. Im September war im Vergleich zum Oktober ebenfalls ein signifikant höherer Anteil Rinder befallen ($p < 0,05$), die durchschnittliche Zeckenzahl war dabei nach dem Mai mit 2,9 Zecken/Tier am zweithöchsten.

Im „Allgäu“ erbrachte der statistische Vergleich der Daten vom Juli mit den anderen Monaten den signifikant höchsten Anteil Zecken-positiver Rinder (Mai: $p < 0,05$; August: $p < 0,05$; September: $p < 0,01$; Oktober: $p < 0,01$). Der Vergleich der Daten für Juni und Juli erbrachte keinen signifikanten Unterschied ($p > 0,05$).

Beim Vergleich der beiden Regionen fiel nur im Juli ein signifikant höherer Prozentsatz infestierter Rinder im Allgäu auf (45,3 % im Allgäu zu 26,4 % im Chiemgau) ($p < 0,05$). In den übrigen Monaten bestanden keine signifikanten Unterschiede in Bezug auf den Anteil mit Zecken befallener Rinder an der Zahl der untersuchten Rinder.

Die Befallsextenstität der einzelnen Herden (Zahl infestierter Rinder/Gesamtanzahl untersuchter Tiere x 100) von Mai bis Oktober variierte zwischen 0 und 100 % und ist Kapitel 8.2, Tab. 18 zu entnehmen.

Um festzustellen, ob ein Zusammenhang zwischen der Befallsrate und den Austriebsmodalitäten bestand, wurden (im χ^2 -Test) die positiven Tiere, die nur halbtags, also entweder am Tag oder in der Nacht, auf der Weide gehalten wurden (Gruppe 1) mit denjenigen verglichen, die (wenn teilweise auch nur gelegentlich) in der jeweiligen Jahreszeit Tag und Nacht im Freien gehalten wurden (Gruppe 2). Einen Überblick über die Verteilung, sowie über die durchschnittlichen Zeckenzahlen der positiven Tiere gibt Abb. 17.

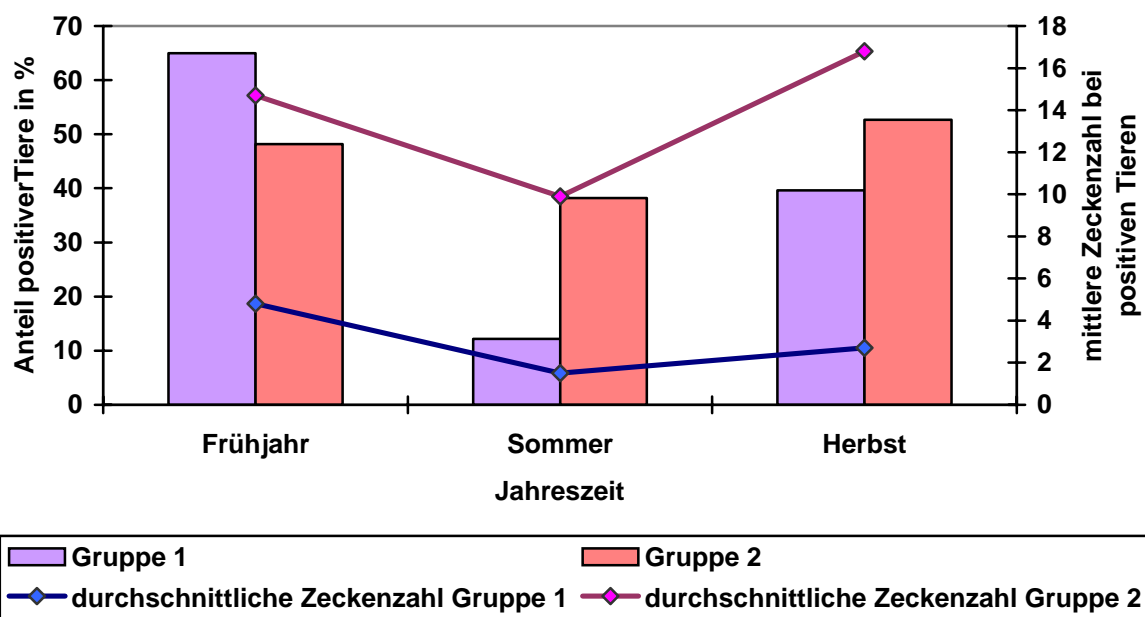


Abb. 17: Zusammenhang zwischen der Befallsrate und der täglichen Weidezeit

Gruppe 1: Aufenthalt auf der Weide entweder nur tagsüber oder nur nachts; **Gruppe 2:** Mit Ausnahme von Melkzeiten ganztägiger Weidegang

Im Frühjahr waren von den 100 Tieren der Gruppe 1 (entweder nur tagsüber oder nur nachts weidende Rinder) 65 % befallen. In der Gruppe 2, den Tag und Nacht im Freien gehaltenen Tieren, waren dagegen nur 48,2 % (81 von 168 Rindern) positiv. Dies ergab im χ^2 -Test einen hoch signifikanten Unterschied ($p < 0,01$). Der mittlere Befall war in dieser Gruppe aber mit 14,7 Zecken/Tier dreimal so hoch. Im Sommer waren lediglich 12,2 % (6 von 49 Rindern) in Gruppe 1 und 38,2 % (76 von 199 Rindern) in Gruppe 2 positiv, dieser Unterschied war höchst signifikant ($p < 0,001$). Im Herbst konnte ebenfalls ein signifikant höherer Anteil (52,7 %) positiver Rinder unter den Tag und Nacht weidenden Tieren festgestellt werden. In der Vergleichsgruppe waren 39,6 % der Rinder positiv ($p < 0,05$). Auch in den letzten beiden Jahreszeiten war die durchschnittliche Zeckenzahl pro Tier in Gruppe 2 deutlich höher als in Gruppe 1. Der mittlere Befall war mit 9,9 gegenüber 1,5 Zecken/Tier im Sommer und 16,8 gegenüber 2,7 Zecken/Tier im Herbst jeweils mehr als sechsmal so hoch.

Im Frühjahr waren also die Tiere, die Tag und Nacht im Freien gehalten wurden, zu einem geringeren Prozentsatz infestiert, hatten aber im Vergleich zu Gruppe 1 wesentlich höhere durchschnittliche Zeckenzahlen. Im Sommer und Herbst waren die Tiere aus Gruppe 2 häufiger und mit mehr Zecken befallen, als die Rinder der Gruppe 1.

4.2 Serologische Untersuchungen auf Borrelien

4.2.1 Beobachtete Antikörpertiter gegen *Borrelia burgdorferi* im IFAT

Während des gesamten Untersuchungszeitraumes waren alle Tiere bezüglich Borreliose klinisch unauffällig. Mit dem gegen *Borrelia burgdorferi* gerichteten Immun-Fluoreszenz-Antikörper-Test (IFAT) wurden insgesamt 287 Serumproben untersucht. Mit Ausnahme von vier Betrieben konnten dadurch in jedem Bestand Rinder mit Antikörpertitern $\geq 1:64$ nachgewiesen werden. Einen Überblick über die nach Betrieben geordneten Daten gibt Tab. 12.

Betrieb	Anzahl der Tiere	Anteil positiver in % (n)	Niedrigster Titer	Höchster Titer	Mittel der Titerstufen
1	9	77,8 (7)	<1:16	1:128	2,4
2	30	60 (18)	<1:16	1:256	2,2
3	18	38,9 (7)	<1:16	1:256	1,9
4	10	80 (8)	<1:16	1:256	2,6
5	10	20 (2)	<1:16	1:64	1,3
6	13	23,1 (3)	<1:16	1:128	1,8
7	4	0	<1:16	1:32	1
8	16	25 (4)	<1:16	1:128	1,6
9	11	63,6 (7)	1:16	1:256	2,5
10	6	0	<1:16	1:16	0,5
11	14	35,7 (5)	<1:16	1:128	1,5
12	13	38,5 (5)	<1:16	1:64	1,7
13	16	37,5 (6)	<1:16	1:256	1,6
14	17	88,2 (15)	1:16	1:256	3,7
15	11	27,3 (3)	<1:16	1:64	1,5
16	8	75 (6)	1:16	1:128	2,9
17	20	55 (11)	<1:16	1:1024	2,4
18	13	23,1 (3)	<1:16	1:64	1,3
19	11	36,4 (4)	<1:16	1:128	1,7
20	4	25 (1)	<1:16	1:64	1,8
21	3	33,3 (1)	1:16	1:64	2
22	4	75 (3)	1:32	1:64	2,8
23	3	0	<1:16	1:16	0,3
24	3	66,7 (2)	<1:16	1:64	2
25	3	33,3 (1)	<1:16	1:64	1
26	3	100 (3)	1:64	1:128	3,3
27	3	33,3 (1)	<1:16	1:64	1,7
28	5	60 (3)	<1:16	1:128	2,4
29	3	33,3 (1)	<1:16	1:64	1,7
30	1	100 (1)	1:64	1:64	3
31	2	0	1:16	1:32	1,5
	287				1,99

Tab. 12: Antikörpertiter gegen *Borrelia burgdorferi* in den einzelnen Betrieben. Der Mittelwert 1,99 entspricht (gerundet) einer Antikörperkonzentration von 1:32

Von dem Mittelwert der beobachteten Titerstufen in den einzelnen Betrieben (1,99) weichen die Betriebe Nr. 14 und 26 deutlich mit mittleren Titerstufen von 3,7 bzw. 3,3 ab. In diesen war auch der Anteil positiver Tiere mit 88,2 % und 100 % am höchsten.

Insgesamt wurden im Untersuchungsmaterial Antikörpertiter von <1:16 bis 1:256 gegen *Borrelia burgdorferi* ermittelt, was den Titerstufen 0-5 entspricht. In einem Einzelfall (1 Rind aus Betrieb Nr. 17) wurde die maximale Titerstufe 7 (1:1024) festgestellt. Eine Übersicht über die Zahl der Probanden pro Titerstufe gibt Abb. 18.

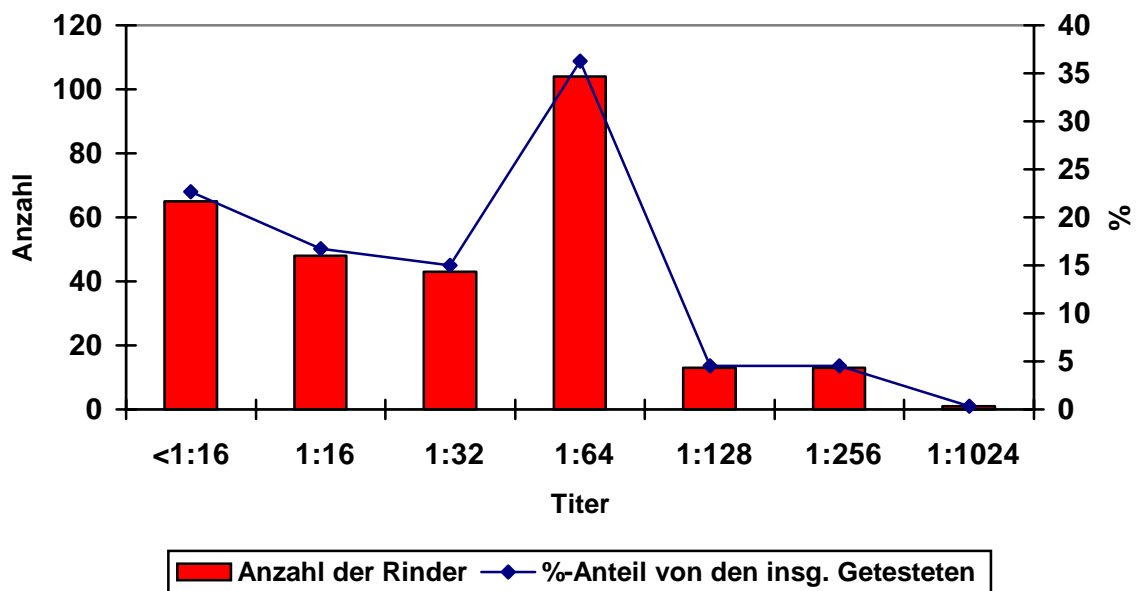


Abb. 18: Bei Rindern beobachtete Antikörpertiter gegen *Borrelia burgdorferi*

Demnach lagen von 287 getesteten Rinderseren 45,6 % (131) in einem Bereich zwischen 1:64 und 1:1024 und wurden in Anlehnung an BARK (1986), POST *et al.* (1988) und BRAND (1990) als positiv bewertet. Eine Unterscheidung nach den untersuchten Regionen ergibt folgendes Bild (vgl. Abb. 19):

In der Region „Chiemgau“ wurden 35,9 %, im „Allgäu“ 46,1 % der Rinder als positiv beurteilt. Der χ^2 -Test ergab beim Vergleich dieser beiden Regionen keine signifikanten Unterschiede.

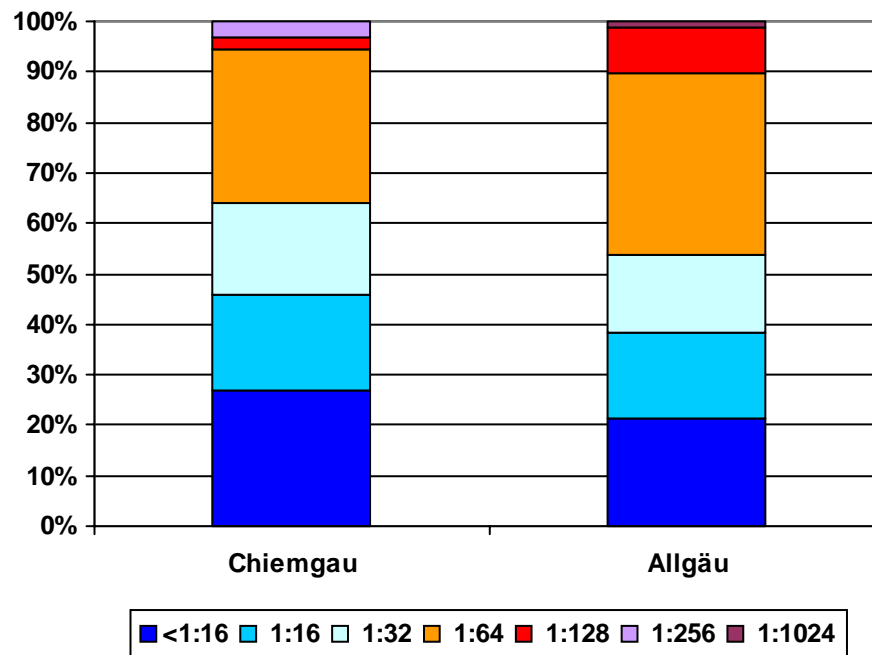


Abb. 19: Vergleich der prozentualen Verteilung der Probanden auf die beobachteten Titerstufen von „Chiemgau“ und „Allgäu“

Da aus der Literatur über die Borrelien des Rindes ein Zusammenhang zwischen dem Alter von untersuchten Tieren und der Höhe der beobachtbaren Titerstufe bekannt ist, sollte überprüft werden, ob das auch im vorliegenden Untersuchungsmaterial der Fall war. Die höchsten Titer, die für jede Altersstufe gefunden wurden, sowie die Anzahl der in jeder Altersstufe getesteten Rinder zeigt Abb. 20. Das Durchschnittsalter der Probanden betrug dabei 4,4 Jahre. Während Tiere im Alter bis zu einem Jahr maximal die Titerstufe 3 (1:64), und im Alter bis zu 2 Jahren maximal die Stufe 7 (1:1024) erreichten, wurden bei Tieren der Altersklassen 3 bis 7 Jahre konstant maximale Titer der Stufe 5 (1:256) nachgewiesen. Bei den älteren Tieren nahm die maximal erreichte Titerstufe wieder auf den Wert 3 (1:64) ab. Die Korrelationsanalyse nach PEARSON ergab für die hier vorliegenden Daten keine Abhängigkeit der Titerstufe von dem Alter der Tiere.

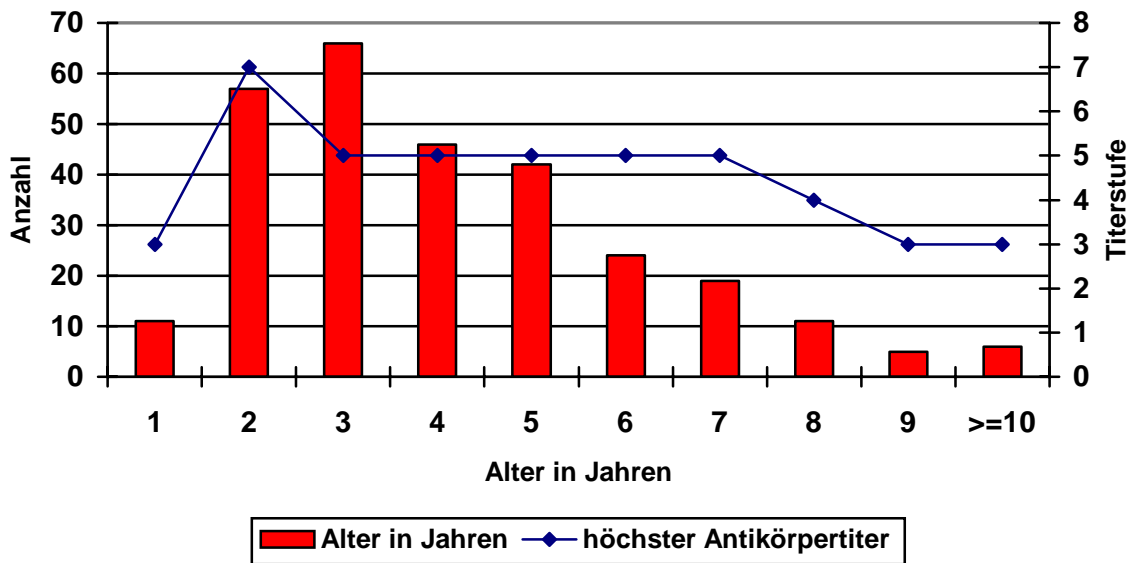


Abb. 20: Darstellung der höchsten Antikörpertiter, die in jeder Altersstufe beobachtet werden konnten

Rinder, die stark mit Zecken befallen waren, zeigten höhere Antikörpertiter als Tiere mit geringerem Befall. So lag der Antikörper-Titer bei 7 Tieren aus Betrieb Nr. 14, die im Durchschnitt mit 141 Zecken infestiert waren, bei 1:256, während die übrigen aus diesem Bestand, die im Durchschnitt 77 Zecken hatten, einen niedrigeren Titer aufwiesen (von 1:16 bis 1:128). In Abb. 21 werden die ermittelten Titerstufen von 281 untersuchten Rinderseren der Zahl der durchschnittlich auf den zugehörigen Tieren gefundenen Zecken gegenübergestellt. Die Korrelationsanalyse dieser Daten nach PEARSON und SPEARMAN ergab einen hoch signifikanten Zusammenhang zwischen der Höhe der Zeckenzahl und der Höhe der Titerstufe (nach PEARSON: $r = 0,2$, $p < 0,001$; nach SPEARMAN: $r = 0,2$, $p < 0,01$). Fasst man alle Probanden mit Antikörpertitern unter 1:64 als „negativ“ und alle Probanden mit Antikörpertitern von mindestens 1:64 als „positiv“ zusammen und betrachtet die zugehörigen mittleren Zeckenzahlen beider Gruppen (siehe Abb. 22), so wird dieser Zusammenhang noch deutlicher. In der Gruppe mit negativen Antikörpertitern wurden bei 154 Tieren durchschnittlich 4,65 Zecken/Rind (absolut 716 Zecken) festgestellt, während 127 als positiv eingestufte Tiere mit 15,57 Zecken/Rind (absolut 1977 Zecken) eine um den Faktor 3 höhere Befallsintensität mit Zecken zeigten.

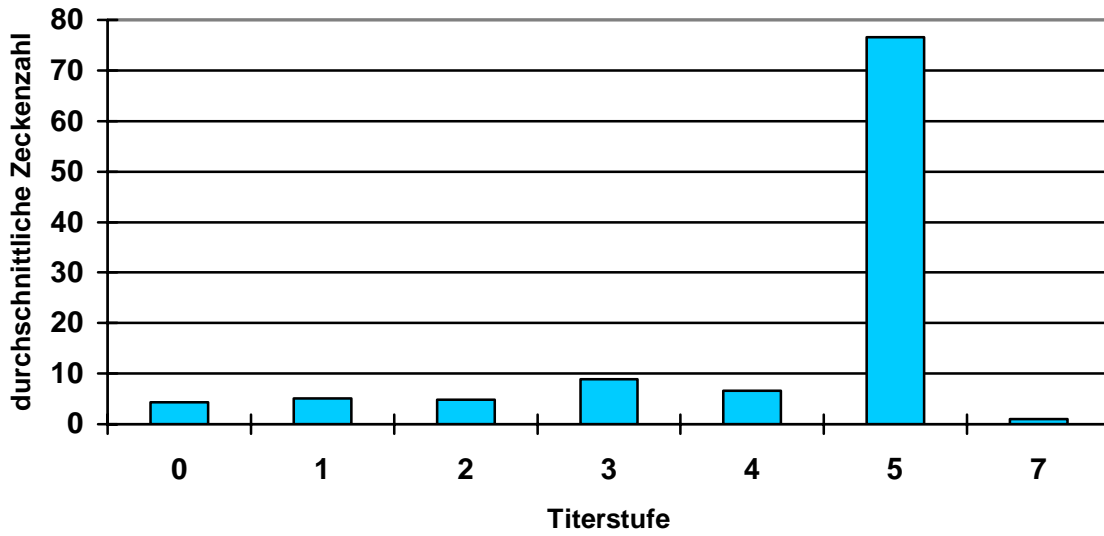


Abb. 21: Mittlere Zeckenzahl/Tier in den verschiedenen Titerstufen

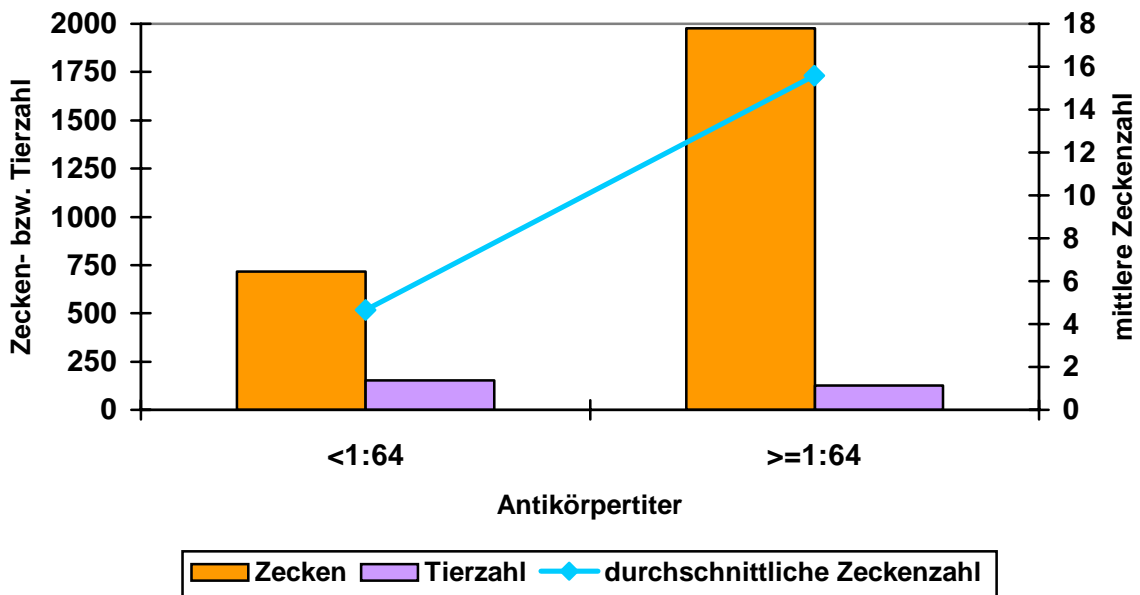


Abb. 22: Durchschnittliche und absolute Zahl der Zecken auf Rindern mit als „negativ“ bzw. „positiv“ bewerteten Antikörpertitern gegen *Borrelia burgdorferi*

4.2.2 Überprüfung der Methode

Zur Überprüfung der Methode wurden 70 Seren aus allen 31 Betrieben erneut im IFAT beurteilt. Wie Tab. 13 zeigt, ergaben sich bei diesen Seren keine oder nur geringgradige Abweichungen gegenüber der Erstuntersuchung.

Betrieb	Tier-Nummer	Titer Erstuntersuchung	Titer Kontrolluntersuchung
1	Z-1-3	1:64	1:64
1	Z-1-10	1:64	1:64
2	Z-2-24	1:16	1:32
2	Z-2-27	1:64	1:64
2	Z-2-36	1:64	1:64
2	Z-2-37	1:64	1:64
3	Z-3-11	1:256	1:128
3	Z-3-22	1:32	1:32
4	Z-4-4	1:64	1:64
4	Z-4-8	1:64	1:64
4	Z-4-12	1:256	1:128
5	Z-5-6	1:64	1:64
6	Z-6-7	1:128	1:128
6	Z-6-14	1:16	1:32
6	Z-6-15	1:32	1:32
7	Z-7-1	<1:16	<1:16
8	Z-8-6	1:64	1:64
8	Z-8-9	1:128	1:128
9	Z-9-6	1:16	1:32
9	Z-9-7	1:64	1:64
9	Z-9-9	1:256	1:256
9	Z-9-12	1:64	1:64
9	Z-9-15	1:64	1:64
10	Z-10-1	1:16	1:16
10	Z-10-6	1:16	1:16
11	Z-11-2	1:16	1:16
11	Z-11-7	1:64	1:64
11	Z-11-8	1:16	1:16
11	Z-11-10	1:64	1:64
12	Z-12-5	<1:16	<1:16
12	Z-12-7	1:16	1:16
12	Z-12-14	1:64	1:64
13	Z-13-3	1:64	1:64
13	Z-13-4	1:64	1:64
13	Z-13-8	1:256	1:128
13	Z-13-11	1:64	1:64
14	Z-14-2	1:256	1:256
14	Z-14-5	1:256	1:256
14	Z-14-15	1:64	1:128
14	Z-14-16	1:128	1:128

Tab. 13: Kontrolluntersuchung zur Überprüfung der Methode. Von der Erstuntersuchung abweichende Ergebnisse sind farbig unterlegt

Betrieb	Tier-Nummer	Titer Erstuntersuchung	Titer Kontrolluntersuchung
14	Z-14-26	1:32	1:32
15	Z-15-3	1:64	1:64
15	Z-15-10	<1:16	1:16
16	Z-16-2	1:64	1:64
16	Z-16-5	1:16	1:16
16	Z-16-6	1:128	1:128
17	Z-17-4	1:128	1:64
17	Z-17-8	1:1024	1:512
17	Z-17-11	1:32	1:32
17	Z-17-15	1:128	1:128
18	Z-18-10	1:64	1:32
19	Z-19-8	1:16	1:16
19	Z-19-10	1:64	1:64
20	Z-20-5	1:64	1:64
21	Z-21-1	1:64	1:64
22	Z-22-1	1:64	1:64
22	Z-22-6	1:32	1:32
23	Z-23-2	1:16	1:32
23	Z-23-3	<1:16	1:16
24	Z-24-1	<1:16	<1:16
25	Z-25-2	<1:16	<1:16
26	Z-26-1	1:128	1:256
26	Z-26-2	1:64	1:64
27	Z-27-3	1:32	1:32
28	Z-28-3	1:64	1:64
28	Z-28-4	1:128	1:128
28	Z-28-5	1:32	1:32
29	Z-29-2	1:32	1:32
30	Z-30-1	1:64	1:32
31	Z-31-2	1:16	1:16

Fortsetzung Tab. 13: Kontrolluntersuchung zur Überprüfung der Methode. Von der Erstuntersuchung abweichende Ergebnisse sind farbig unterlegt

13 Seren wiesen eine Abweichung um eine Titerstufe auf, wodurch sich aber keine Änderung in ihrer Einstufung als „positiv“ bzw. „negativ“ ergab. Lediglich bei zwei, zunächst als grenzwertig positiv bewerteten Rindern (Z-18-10, Z-30-1), ergab die Kontrolluntersuchung einen Abfall um eine Titerstufe von 1:64 nach 1:32 und damit eine Relativierung des 1. Untersuchungsergebnisses.

4.2.3 *Borrelia garinii* Westernblot

Da in der Literatur die IFAT-Grenztiter mit 1:64 bzw. 1:128 nicht einheitlich festgelegt werden können, sollte überprüft werden, ob die in dieser Arbeit mit 1:64 als „positiv“ eingestuften Proben im Westernblot zu einer vergleichbaren Beurteilung führen. Hierzu wurde vorausgesetzt, dass *Borrelia burgdorferi sensu stricto*-positive Seren mit Antigenen der Genospezies *Borrelia garinii* kreuzreagieren. Ausserdem wurden Seren mit einem Titer von 1:128, 1:256 und 1:1024 mit einbezogen. Insgesamt wurden 64 Proben im Westernblot untersucht. 69 % des im IFAT als „positiv“ bewerteten Untersuchungsmaterials (44 Einzelproben) erwiesen sich im Westernblot ebenfalls als „positiv“. 28 % (18 Einzelproben) wurden als „grenzwertig positiv“ und 3 % (2 Einzelproben) als „negativ“ bewertet.

Von 43 Seren, die im IFAT einen Antikörpertiter von 1:64 zeigten, waren im Westernblot 74,4 % (32 Einzelproben) positiv, 20,9 % (9 Einzelproben) grenzwertig positiv und 4,7 % (2 Einzelproben) negativ. Von 8 im IFAT mit der Stufe 1:128 getesteten Proben waren 50 % (4 Einzelproben) im Westernblot positiv und 50 % (4 Einzelproben) grenzwertig positiv. Von 12 im IFAT mit der Stufe 1:256 getesteten Seren reagierten 58,3 % (7 Einzelproben) im Westernblot positiv, 41,7 % (5 Einzelproben) grenzwertig positiv. Das im IFAT 1:1024 beurteilte Serum war positiv (siehe Anhang 8.3, Tab. 19).

Abb. 23a-d zeigt die Ergebnisse des Tests, die Auswerteschablone ist zum Vergleich ebenfalls dargestellt. Spezies- und hochspezifische Antigene sind dabei grau unterlegt. Die Rinderseren reagierten deutlich mit Proteinen bei 19, 21/22, 25, 29, 30, 37, 39, 41, 43, 50, 57/59, 62, 75 und 83 kDa. Westernblot positive Seren bildeten zum Teil eine Vielzahl mehr oder weniger deutlicher Banden, wobei alle das hochspezifische, Osp C-Komplex zugehörige Antigen bei 21/22 kDa erkannten. Bei 91 % der 64 Proben waren deutliche Reaktionen mit dem Flagellin-Antigen (41 kDa) nachweisbar (vgl. auch Tab. 14). Die gebildeten Banden zeigten zum Teil eine wesentlich intensivere Färbung als die Banden des Kontroll-Blotstreifens.

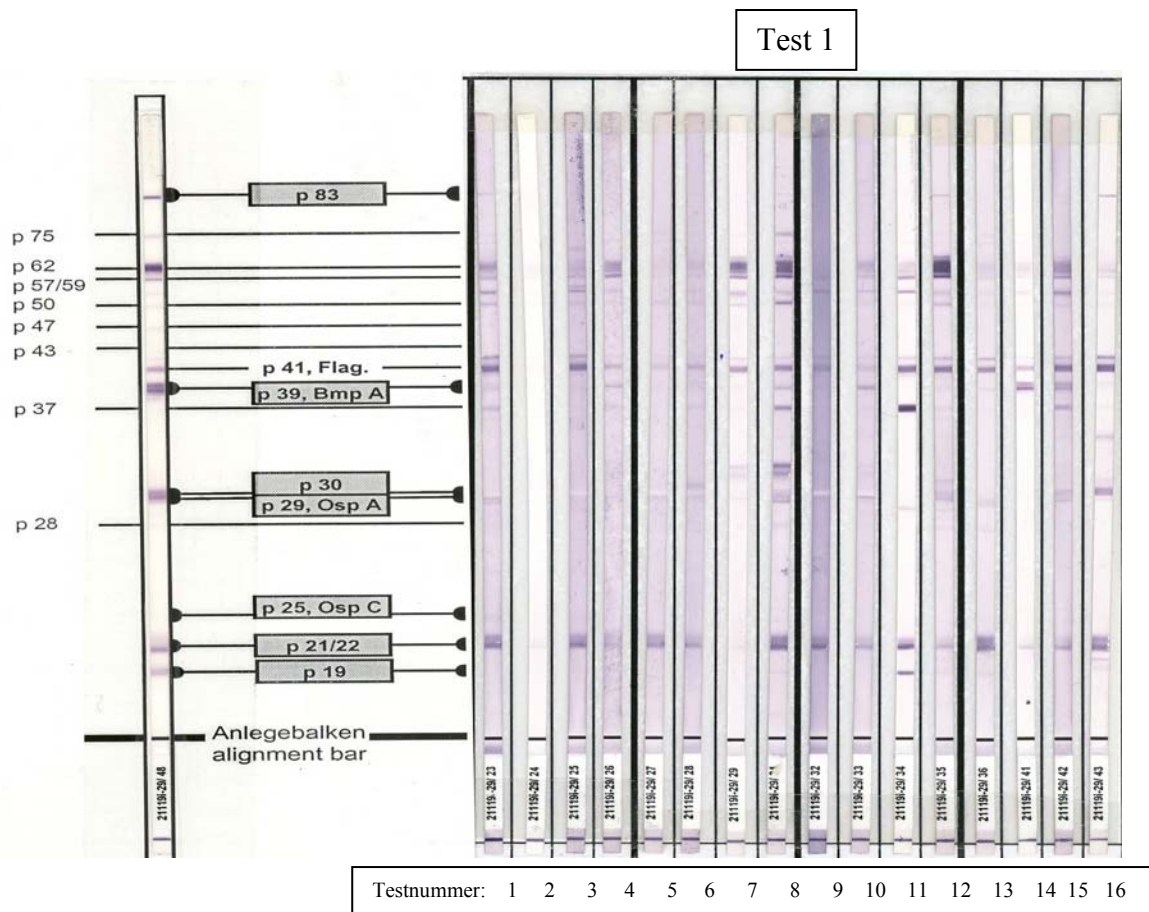


Abb. 23a: Darstellung der Identifizierung verschiedener Antigene von *Borrelia garinii* durch die getesteten Seren

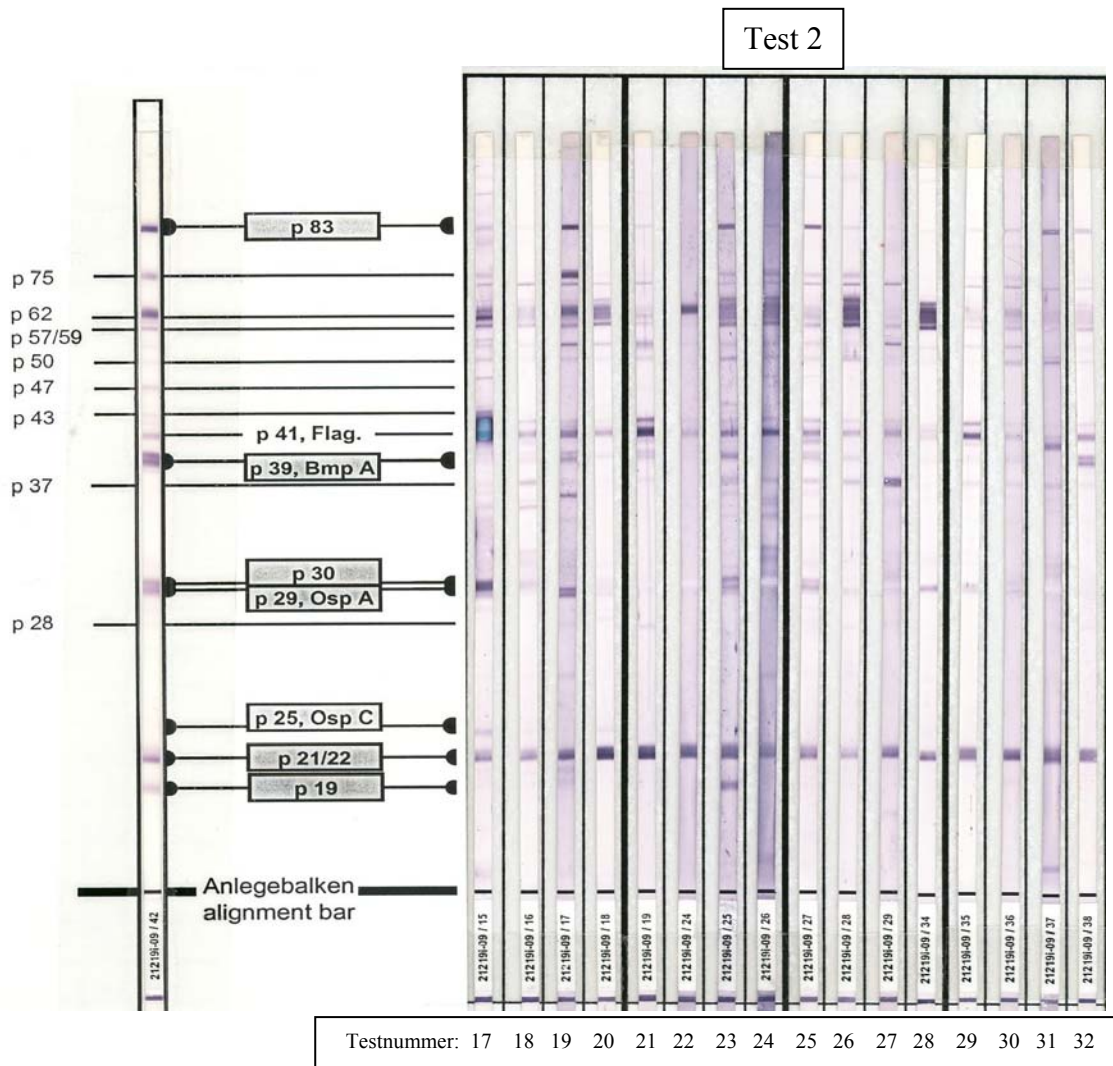


Abb. 23b: Darstellung der Identifizierung verschiedener Antigene von *Borrelia garinii* durch die getesteten Seren

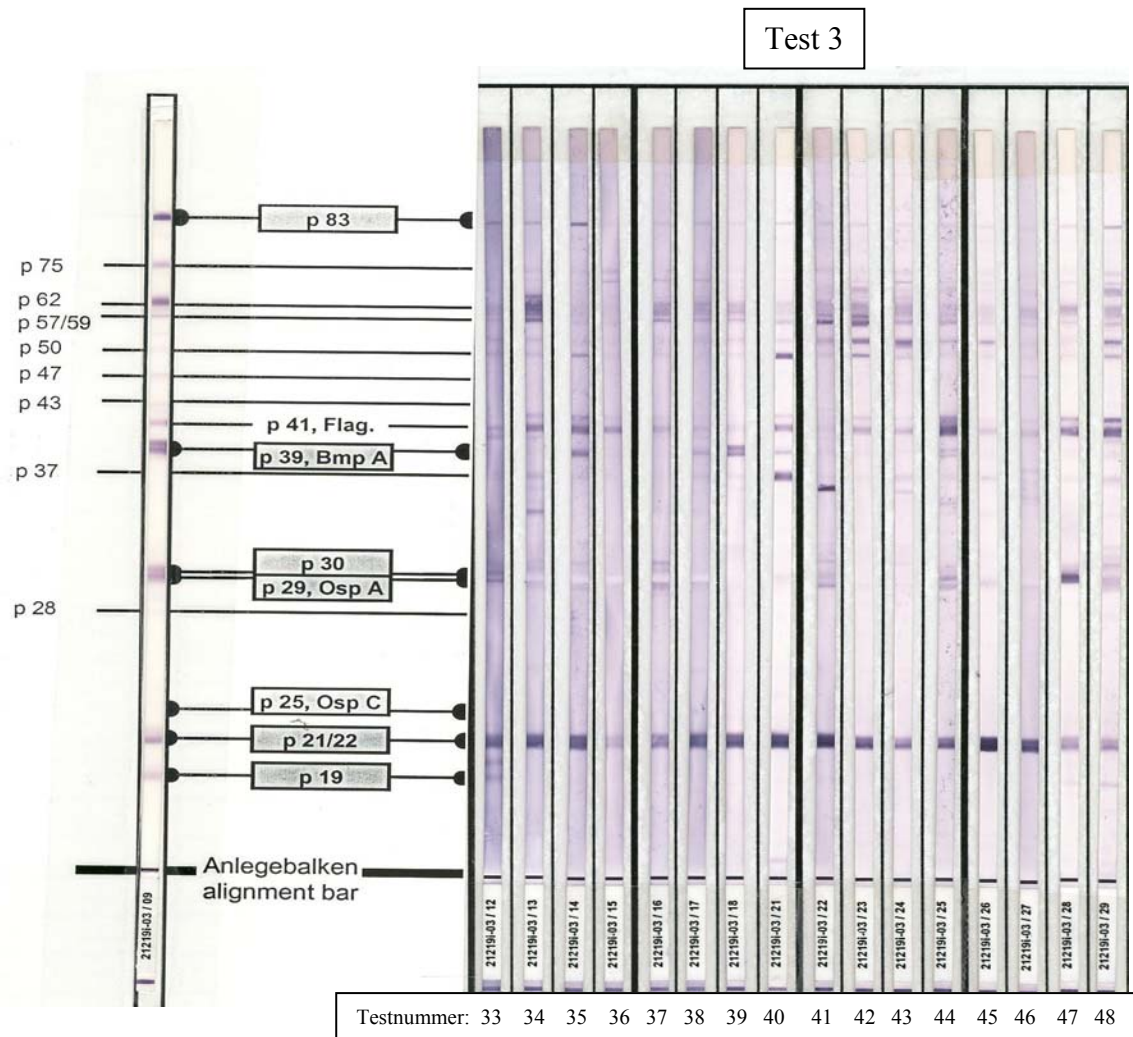


Abb. 23c: Darstellung der Identifizierung verschiedener Antigene von *Borrelia garinii* durch die getesteten Seren

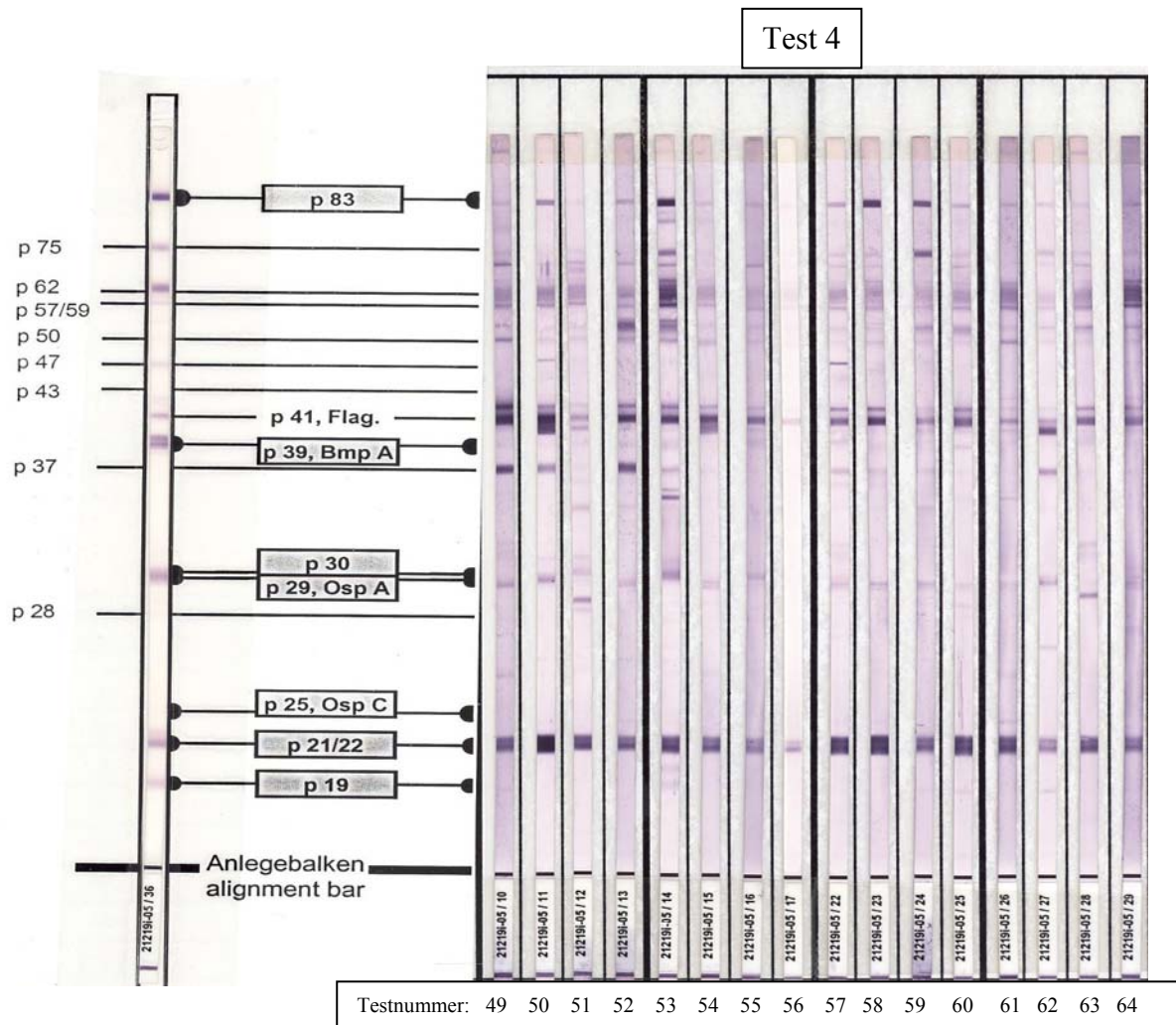


Abb. 23d: Darstellung der Identifizierung verschiedener Antigene von *Borrelia garinii* durch die getesteten Seren

In Tab. 14 sind die getesteten Seren, die, durch enthaltene Antikörper, identifizierten Antigene und die Befundinterpretation dargestellt.

Testnr.	Betr.	Tier	Antigene in kDa																Befid
			19	21/22	25	28	29	30	37	39	41	43	47	50	57/59	62	75	83	
1	28	28-2		x			x	x	x	x				x	x	x		x	pos
2	28	28-3		x										x	x	x			neg
3	28	28-4		x			x				x				x	x			gw
4	30	30-1		x						x	x				x	x			gw
5	17	17-8		x			x				x			x			x		pos
6	17	17-13		x			x	x	x		x			x	x	x			pos
7	20	20-5					x				x			x	x	x	x		neg
8	21	21-1	x	x		x	x	x	x	x	x			x	x	x	x	x	pos
9	22	22-1		x			x				x				x				gw
10	22	22-4		x			x			x	x				x	x			pos
11	2	2-9	x	x					x		x			x	x	x			pos
12	2	2-10		x			x	x	x		x			x	x	x		x	pos
13	26	26-1		x			x			x	x			x	x	x	x		gw
14	26	26-2		x						x	x				x	x			pos
15	14	14-7		x			x	x	x	x	x			x	x	x		x	pos
16	14	14-15		x			x	x			x				x	x		x	pos
17	14	14-1		x	x		x	x	x		x	x		x	x	x	x	x	pos
18	14	14-2		x			x		x	x	x			x	x	x		x	gw
19	14	14-3		x			x	x		x	x			x	x	x	x	x	pos
20	14	14-5		x	x	x	x	x		x	x			x	x	x		x	gw
21	14	14-12		x		x			x	x	x			x	x	x		x	gw
22	14	14-27		x							x				x	x			gw
23	9	9-7	x	x			x	x	x	x	x	x		x	x	x	x	x	pos
24	9	9-9		x			x		x	x	x			x	x	x	x	x	gw
25	9	9-12		x			x	x	x	x	x			x	x	x	x	x	pos
26	12	12-10		x			x		x	x	x			x	x	x	x	x	pos
27	12	12-14		x			x		x		x			x	x				gw
28	11	11-4		x				x			x				x	x		x	pos
29	11	11-7		x				x	x	x	x				x	x		x	pos
30	11	11-9		x			x		x	x	x			x	x	x	x	x	pos
31	11	11-10		x					x		x			x				x	pos
32	15	15-3		x						x	x			x	x	x		x	pos
33	16	16-1	x	x			x	x			x			x	x			x	pos
34	16	16-3		x			x	x	x		x			x	x	x	x	x	pos
35	17	17-2		x			x			x	x			x				x	pos
36	17	17-4		x							x						x		gw
37	17	17-10		x			x	x			x			x	x	x		x	pos
38	17	17-12		x			x		x	x	x				x	x		x	pos
39	18	18-3		x					x	x	x			x	x	x		x	pos
40	19	19-9		x				x	x	x	x			x	x	x		x	pos
41	19	19-10		x			x	x						x	x	x	x	x	pos
42	19	19-12		x							x			x	x	x		x	gw
43	13	13-4		x					x		x			x	x	x	x	x	gw
44	13	13-8		x			x	x	x	x	x				x	x			pos
45	4	4-4		x			x		x		x			x	x	x		x	gw
46	4	4-12		x			x				x				x	x		x	gw
47	6	6-3	x	x			x	x	x		x			x	x	x		x	pos
48	6	6-7	x	x			x	x	x		x			x	x	x	x	x	pos
49	3	3-11		x			x		x		x			x	x	x	x	x	pos
50	3	3-12		x				x	x		x			x	x	x		x	pos
51	3	3-13		x				x			x			x	x	x			pos
52	3	3-16		x			x		x		x			x	x	x		x	pos
53	3	3-17	x	x				x	x		x			x	x	x	x	x	pos
54	1	1-3		x			x	x			x			x	x	x		x	pos
55	1	1-4		x				x			x			x	x	x		x	pos
56	1	1-7		x							x				x	x		x	gw
57	1	1-8		x			x	x	x	x	x			x	x	x	x	x	pos
58	1	1-9		x			x		x		x		x	x	x	x	x	x	pos
59	1	1-10	x	x			x		x		x			x	x	x	x	x	pos
60	5	5-6	x	x			x			x	x			x	x	x	x	x	pos
61	8	8-4		x	x		x				x	x		x	x	x		x	pos
62	8	8-6	x	x			x	x	x		x			x	x	x	x	x	pos
63	8	8-9		x							x			x	x	x	x	x	gw
64	8	8-13		x							x	x		x	x	x	x	x	gw

Tab. 14: Legende siehe nächste Seite

Tab. 14: Im Westernblot erkannte Antigene von *Borrelia garinii* und Befundinterpretation

Testnr. = Testnummer (siehe Abb. 23a-d); **Betr.** = Betriebsnummer; **Tier** = Tiernummer; **Befd** = Befundinterpretation; pos = positiv; neg = negativ; gw = grenzwertig positiv; x = schwache Antigen-Antikörper-Bande; **x** = deutliche Antigen-Antikörper-Bande

Wie bereits erwähnt bildeten alle im Westernblot positiven Seren deutliche Banden mit dem hochspezifischen, zu dem Osp C-Komplex gehörigen, Antigen bei 21/22 kDa. 88,6 % dieser Seren reagierten ebenfalls deutlich mit dem Flagellin-Antigen bei 41 kDa. Das hochspezifische Membran-Vesikel-Protein bei 83 kDa wurde in 59,1 %, das hochspezifische Oberflächenprotein Osp A (29 kDa) in 52,3 %, das spezifische Antigen bei 30 kDa in 50 % der positiven Fälle erkannt. Bmp A-Antigen (39 kDa, hochspezifisch) identifizierten 31,8 %. Daneben waren zusätzlich eine Reihe nicht spezifischer Banden vorzufinden, wobei das Antigen bei 57/58 kDa mit 81,8 % am häufigsten vertreten war (vgl. Tab. 14). Von den angegebenen Antigenen wurden im Maximum 13 deutlich identifiziert (Testnr. 23, im IFAT 1:64 getestet).

Alle im Westernblot als grenzwertig beurteilten Proben erkannten das Flagellin-Antigen, wobei 94,4 % (17 von 18) zusätzlich deutlich mit dem Osp C-Komplex zugehörigen Antigen reagierten. Bmp A war nur in einem Fall eindeutig nachzuweisen. Bei 29 (Osp A), 30 und 83 kDa waren vereinzelt nur schwache Banden sichtbar. Auch bei den grenzwertig getesteten Seren wurde unter den nicht spezifischen Antigenen das bei 57/59 kDa mit 77,8 % am häufigsten festgestellt.

4.3 *Babesia divergens* IFAT

Alle untersuchten Probanden waren im Untersuchungszeitraum bezüglich Babesiose klinisch unauffällig. Die in Wien untersuchten 287 Seren waren bis auf einen Einzelfall (Rind Z-14-27) durchgehend negativ. Das als positiv bewertete Serum zeigte einen Antikörpertiter von 1:16. Leider war es nicht möglich, den Zeckenbefall des betroffenen Jungrindes zu quantifizieren, da es während der Weideperiode Tag und Nacht im Freien gehalten wurde und keine Möglichkeit bestand an das Tier heranzukommen. Rein adspektorisch waren jedoch Zecken zu erkennen. Das Rind stammt aus Betrieb Nr. 14 (Kiefersfelden), dem Betrieb mit dem höchsten Zeckenanteil im Untersuchungsgebiet. Zum Zeitpunkt der Blutentnahme war es 1 Jahr und 2 Monate alt und wurde 2002 zum ersten Mal gesömmert. Dabei befand sich das Rind mit mehreren Jungtieren auf einer anderen Weide als die auf Zecken untersuchten Färsen und Kühe. Bis auf ein weiteres Tier (Z-14-26), konnte von diesen Jungrindern kein Serum gewonnen werden, da sie im Herbst verkauft wurden.

Die Anzahl der in jedem Betrieb serologisch untersuchten Probanden, die beobachteten Antikörpertiter im *Borrelia burgdorferi*- und *Babesia divergens*-IFAT, die Westernblot-Ergebnisse und die Anzahl der auf den Tieren gefundenen Zecken ist in Kapitel 8.3, Tab. 19 im Detail aufgelistet.

4.4 *Fasciola hepatica* ELISA

Von 105 getesteten Einzelseren aus 18 Betrieben waren 43,8 % (46) hoch, 25,7 % (27) mittelgradig, 5,7 % (6) schwach positiv und 24,8 % (26) negativ. Jeweils 38,5 % der getesteten Serumpools waren hoch bzw. mittelgradig, 23 % waren schwach positiv. Mit Ausnahme von Betrieb Nr. 9, aus dem 4 Rinderseren untersucht wurden, konnten in allen Beständen (inklusive der untersuchten Serumpools) Antikörper gegen *Fasciola hepatica* nachgewiesen werden. Klinische Symptome wurden nicht festgestellt, auch war der Ernährungszustand sämtlicher Rinder immer gut. Die einzelnen Ergebnisse sind in Tab. 15 dargestellt, die Rohdaten zur Berechnung der „Befallsintensitätsstufe“ gemäß der Testanleitung des Herstellers in Kapitel 8.4, Tab. 20-23.

Betrieb	getestete Tiere	Serumpool (Tierzahl)	0 (neg)	1 (+)	2 (++)	3 (+++)
1	5		1		3	1
2	8				2	6
3	7				1	6
4	4			1	3	
5	4				1	3
6	7		4	2	1	
7		3			Sp	
8	8		2		2	4
9	4		4			
10		6		Sp		
11	7				4	3
12	6		2			4
13	6		5		1	
14	15					15
15	4			2	2	
16	3				2	1
17	8		6		1	1
18	6		1		4	1
19	2		1	1		
20		4			Sp	
21		3			Sp	
22		4				Sp
23		3			Sp	
24		3		Sp		
25		3				Sp
26		3		Sp		
27		3				Sp
28		5			Sp	
29		3				Sp
30	1					1
31		2				Sp

Tab. 15: Ergebnisse des *Fasciola hepatica* ELISA

Serumpool (Tierzahl) = die Anzahl der Rinderseren, die im Serumpool enthalten waren; **0 (neg)** = seronegativ; **1 (+)** = schwach positiv; **2 (++)** = mittelgradig positiv; **3 (+++)** = hoch positiv; Sp = Serumpool-Ergebnis

5. Diskussion

5.1 Zeckenbefall

In allen Betrieben des bayerischen Voralpenlandes, die an der Studie teilnahmen, waren mit Zecken befallene Rinder zu finden. Die Prävalenz lag bei 69 %. Von den insgesamt 221 positiven Tieren wurden 3218 Zecken der Art *Ixodes ricinus* entfernt. Vergleichszahlen liegen für das untersuchte Gebiet aus der Literatur nicht vor, so dass eine kritische Bewertung dieser Ergebnisse nur schwer möglich ist. Die Zahlen zeigen jedoch, dass der bei vielen teilnehmenden Landwirten und Tierärzten vor Ort bestehende Eindruck, dass Zecken in den Betrieben kaum zu finden seien, einer näheren Betrachtung nicht Stand hält. Das Risiko weidender Tiere mit Zecken in Kontakt zu kommen wurde im Allgemeinen unterschätzt.

Durch den Umstand, dass beim Absammeln von 77 weiblichen Zecken die zur Artdiagnose wesentlichen Teile verloren gingen, konnten diese nur der Gattung *Ixodes* zugeordnet werden. Da die Artunterscheidung bei immaturren Stadien sehr unsicher ist, wurden diese ebenfalls nur bis zur Gattung bestimmt. Es besteht daher die Möglichkeit, dass es sich bei den nur zur Gattung bestimmten Exemplaren um Angehörige anderer Spezies, wie z. B. *Ixodes hexagonus* - die im Verbreitungsgebiet zweithäufigste Art (Hillyard, 1996) - gehandelt haben könnte. Die Tatsache jedoch, dass den insgesamt 235 nicht bis zur Art bestimmten Exemplaren 3218 eindeutig bestimmbare *Ixodes ricinus* Zecken gegenüberstehen, gibt Grund zu der Annahme, dass auch die nicht näher bestimmten Tiere der Spezies *Ixodes ricinus* zugerechnet werden müssen.

63,7 % der abgesammelten Zecken stammten allein aus dem Betrieb Nr. 14 bei Kiefersfelden (siehe Abb. 13, sowie Tab. 11), dessen Weiden ein nach LIEBISCH (1991a) optimales Biotop für Zecken darstellten (vgl. Abb. 7a-d). Während der Saison 2002 wurden in diesem Betrieb im Schnitt 30,7 Zecken pro Rind und Untersuchungstag festgestellt. Die Kuh mit den meisten registrierten Zeckenkontakten stammt ebenfalls aus diesem Betrieb. An sechs Untersuchungstagen wurden insgesamt 455 Zecken auf dem Tier festgestellt. Die Befallsextenstäten von Mai bis September betragen im Betrieb an allen Untersuchungstagen 100 %, lediglich im Oktober war eine Kuh negativ. Ein Vergleich mit den Daten der anderen Betriebe (Tab. 11), die im Durchschnitt über die Saison nur mit 0,25 (Betrieb Dietramszell) bis 2,4 Zecken pro Rind und Untersuchungstag (Betrieb Fischbachau) befallen waren, belegt insgesamt die besondere Befallssituation in dem Betrieb Kiefersfelden.

Hohe Zeckenzahlen und Befallsextenstäten zeigte darüber hinaus der Betrieb Nr. 5 aus Sachrang im „Chiemgau“. Auch hier waren in allen Monaten sämtliche untersuchten Rinder positiv. Mit 284 aufgefundenen Zecken stellte dieser Betrieb 8,2 % der Gesamtzeckenfunde und lag mit durchschnittlich 7,8 Zecken pro Rind und Untersuchungstag ebenfalls noch deutlich über dem Durchschnittsergebnis für seine Region („Chiemgau“: 0,7 Zecken/Rind und Tag). Die Weiden waren mit denen von Betrieb Nr. 14 vergleichbar und zeigten ebenfalls einen hohen Bestand an Bäumen, Büschen und hohen Gräsern bei hoher Luftfeuchtigkeit. Vergleichbare Verhältnisse zeigten ebenfalls die Betriebe Nr. 18 und 28 (vgl. Abb. 4a) aus der Region „Allgäu“, mit hohen Zeckenzahlen und Befallsextenstäten von 75-100 % im Mai bzw. Juni. In den übrigen 27 Beständen war die Zeckendichte pro Tier eher gering, die Befallsextenstäten variierten zwischen 0 und 100 %. Im Durchschnitt betrug der Anteil der pro Betrieb abgesammelten Zecken an der Gesamtzahl nur 0,6 %. Ein direkter Zusammenhang zwischen der aufgefundenen Zahl der Zecken, bzw. der Befallsextenstät und der geographischen Lage der Betriebe oder Zugehörigkeit zu einer Region konnte nicht festgestellt werden. Für einen hohen Befall mit Zecken war offenbar allein die Beschaffenheit der Weide von Bedeutung. Auf Weiden mit baumfreien Wiesen, die einer starken Sonneneinstrahlung ausgesetzt waren, oder auf Wiesen mit vereinzelt Obstbäumen, wurden die geringsten Befallsraten festgestellt. Ein offensichtlicher Schutz vor Zeckenbefall wurde auch durch das Abgrenzen der Weiden vor dem Übergang zu Wäldern, Unterholz und Gestrüpp erreicht.

Die maximale Befallsintensität, die pro Rind und Untersuchungstag bei der Mehrheit der untersuchten Tiere festgestellt werden konnte (76,5 % der 221 positiven Tiere), lag bei nur 1-6 Zecken. Ähnliche Beobachtungen machten L'HOSTIS *et al.* (1996) in einer Verlaufsstudie über den Zeckenbefall beim Rind in Westfrankreich, bei der die meisten untersuchten Tiere (zwischen 47 und 83 %) mit nur einer Zecke infestiert waren. Rinder mit der höchsten Zeckenzahl waren dabei diejenigen, die auf bewaldeten Weiden standen.

Bei der Betrachtung der monatlichen Verteilung von *Ixodes*-Funden im gesamten Untersuchungsgebiet fiel ein bimodaler Verlauf, sowohl adulter Zecken als auch der immaturren Stadien, mit Höhepunkten im Mai/Juni und September auf. Dies steht in Einklang mit den Ergebnissen von L'HOSTIS *et al.* (1996), die ebenfalls im Frühling und Herbst ein gehäuftes Auftreten von Zecken nachweisen konnten.

Insgesamt waren in den Regionen „Chiemgau“ 68 %, und im „Allgäu“ 75,8 % der untersuchten Rinder mindestens einmal mit Zecken befallen, was statistisch keinen signifikanten Unterschied darstellte. Der Zeckenbefall pro Rind war im „Chiemgau“ und „Allgäu“ insgesamt gesehen im Untersuchungsmonat Mai am stärksten, wobei der Befall im „Allgäu“ um den Faktor 2,5 höher war als im „Chiemgau“ (Abb. 16). Im zeitlichen Verlauf über die Weidesaison gesehen sanken in beiden Regionen die Zeckenzahlen pro Rind bis zum Juli auf ein vergleichbares Niveau von ca. 1,6 Zecken/Rind ab und unterschieden sich in den Folgemonaten nur unsignifikant. Der Prozentsatz infestierter Rinder war in den Monaten Mai, Juni, Juli und September mit Werten zwischen 32,6 % (September) und 38,5 % (Mai) hoch (vgl. Abb.15), wobei regionale Unterschiede im Jahresverlauf auftraten (vgl. Abb. 16). Während im „Chiemgau“ die Befallsraten der Rinder parallel zur mittleren Zahl der Zecken pro Rind verliefen, war für das „Allgäu“ kein derartiger Zusammenhang feststellbar. Eine Erklärung für dieses Phänomen kann auf der Grundlage der hier vorliegenden Daten nicht gegeben werden. Auch in der Literatur sind widersprüchliche Angaben zu finden. So stellten L'HOSTIS *et al.* (1996) bei ihren Untersuchungen in Westfrankreich fest, dass die Zeckenzahl und der Prozentsatz infestierter Rinder eine parallele Saisonalität aufweisen. Dagegen berichtete BARNARD (1981) in seiner Studie über *Ixodes scapularis* bei Rindern, dass keine strikte Parallele zwischen der Zeckendichte pro Tier und der Anzahl infestierter Tiere in Herden besteht. Zur Beantwortung dieser Frage sind weitere Untersuchungen nötig.

Beim Vergleich der Befallsraten der nur tagsüber bzw. nur nachts auf die Weide getriebenen Tiere (Gruppe 1) mit denjenigen, die Tag und Nacht im Freien gehalten wurden (Gruppe 2), konnte festgestellt werden, dass im Frühling der Anteil Zeckeninfestierter mit 65 % in Gruppe 1 signifikant höher war als in Gruppe 2 (48,2 %). Die durchschnittliche Befallsintensität war in Gruppe 1 allerdings mit 4,8 Zecken/Tier im Vergleich zu 14,7 Zecken/Tier (Gruppe 2) niedriger. Im Sommer und Herbst fanden sich die signifikant höheren Befallsraten unter den Tag und Nacht im Freien stehenden, die mittlere Zeckendichte pro Rind betrug dabei 9,9 bzw. 16,8 Zecken/Tier im Vergleich zu 1,5 bzw. 2,7 Zecken/Tier in Gruppe 1. Die im Vergleich zu Gruppe 1 niedrigen Befallsraten im Frühjahr können durch den Umstand erklärt werden, dass Alm-Rinder, vor dem Auftrieb, im Mai zum größten Teil auf Weiden gehalten wurden, die für Zecken ungeeignete Habitate darstellen und während dieser Zeit nur tagsüber ausgetrieben wurden. Im Juni wurden diese Tiere auf die Almweiden geführt und dort Tag und Nacht im Freien gehalten. Diese Tiere wurden sowohl im Frühjahr als auch im

Sommer zur Gruppe 2 gezählt und „verfälschen“ im Sinne einer Unterschätzung der Befallsrate im Frühjahr das Bild der Gruppe 2. Im Sommer und Herbst wurden dagegen signifikant höhere Prozentsätze an infestierten Rindern in der Gruppe 2 festgestellt, die Tag und Nacht im Freien gehalten wurde. Dies erscheint allein dadurch erklärbar, dass die Wahrscheinlichkeit für Zecken ihren Wirt zu finden mit der Zeitspanne steigt, die sie dafür zur Verfügung haben. Zur Beantwortung der hier untersuchten Frage, ob die Weidehaltung tagsüber, nachts oder ganztags das Risiko des Zeckenkontaktes erhöht, müssen weitere Gesichtspunkte in Betracht gezogen werden. Wichtig erscheint in dem Zusammenhang beispielsweise die Beobachtung, dass Zecken vor allem zu Tageszeiten aktiv sind, in denen abiotische Faktoren, wie Temperatur und Luftfeuchtigkeit, für sie günstig sind. Nach LIEBISCH (1991a) ist besonders am Vormittag und Abend mit erhöhter Zeckenaktivität zu rechnen. Je nach Lage der Weide, Sonneneinstrahlung, Vegetation, Höhenlage usw. können sich für verschiedene Weiden unterschiedliche Tageszeiten als „optimal für Zecken“ erweisen. Soll eine Minderung des Kontaktrisikos mit Zecken erreicht werden, wird deshalb der Zeitpunkt des Austriebs auf die Weide von gewisser Bedeutung sein. Auf der Grundlage der hier vorliegenden Daten kann hierzu aber keine allgemein gültige Empfehlung ausgesprochen werden.

Die hier vorgestellten epidemiologischen Daten zum Zeckenbefall beim Rind erfahren in ihrer Aussagekraft insofern eine Einschränkung, als es sich um eine typische Freilandstudie handelt. Die Art der Untersuchung über ein so großes und heterogenes geographisches Gebiet bringt es mit sich, dass verschiedene Parameter nicht genügend standardisiert werden können. Hierzu gehören die Inhomogenität der untersuchten Herden in Bezug auf ihre Größe, die Altersverteilung der Tiere, Rassen und das Weidemanagement (wie die Umstellung auf andere Weiden, usw.) ebenso, wie die nicht gewährleistete „direkte Vergleichbarkeit“ unterschiedlicher Weidetypen oder abiotischer Faktoren (wie z.B.: Niederschlagshäufigkeit, Niederschlagsmenge, Zahl der Sonnentage, Temperaturverläufe, usw.). Um die hier gemachten Beobachtungen zu bestätigen, wären deshalb Versuche unter kontrollierteren Bedingungen sinnvoll, in denen vor allem in Bezug auf die Auswahl der Rinderherden und der Weidebedingungen standardisiert werden müsste. Hierdurch, und durch eine Ausdehnung des Untersuchungszeitraumes über mehrere Weideperioden wären präzisere Aussagen über die Zeckenpopulationen der Voralpenregion und das von ihnen ausgehende Gefährdungspotential für das Rind möglich.

5.2 Serologische Untersuchung auf Borrelien

5.2.1 *Borrelia burgdorferi* IFAT

Die serologische Untersuchung im IFAT wurde mit *Borrelia burgdorferi sensu stricto* als Antigen durchgeführt. Dabei reagierten 45,6 % der 287 getesteten Seren mit Antikörpertitern von 1:64 bis 1:1024 (entsprechend den hier definierten statistisch auswertbaren Titerstufen 3-7) und wurden als „positiv“ bewertet. Insgesamt waren in 27 von 31 Betrieben Rinder mit positiven Titern nachweisbar. Die Prävalenz in den einzelnen Betrieben variierte zwischen 20 und 100 %. Der Mittelwert der Titerstufe betrug, gemittelt über alle untersuchten Betriebe, 1,99 entsprechend einem Antikörpertiter von ca. 1:32. Von diesem Wert wichen die Betriebe Nr. 14 („Kiefersfelden“) und 26 („Tiefenbach“ im Allgäu) mit Durchschnittswerten von 3,7 bzw. 3,3 am stärksten nach oben ab (vgl. Tab. 12). 88,2 bzw. 100 % der Tiere dieser Betriebe wurden als positiv bewertet. Somit nimmt der Betrieb „Kiefersfelden“ nicht nur in Bezug auf die Häufigkeit von Zecken, sondern auch in Bezug auf das Vorkommen von mit *Borrelia burgdorferi* infizierten Tieren eine besondere Stellung ein.

In der Region „Chiemgau“, Landkreis Rosenheim, wurden 35,9 % der Probanden, im „Allgäu“, in den Landkreisen Oberallgäu und Lindau, 46,1 % als „positiv“ bewertet. Rein statistisch gesehen ergab sich damit kein signifikanter Unterschied in den Prävalenzen beider Regionen. In den übrigen Betrieben der Landkreise Bad-Tölz/Wolfratshausen, Weilheim-Schongau, Miesbach und Rosenheim waren ebenfalls positive Antikörpertiter nachweisbar, so dass diese Befunde auf eine weite Verbreitung von *Borrelia burgdorferi* beim Rind im gesamten Untersuchungsgebiet hindeuten. Ähnliche Ergebnisse wurden auch von KÄSBOHRER und SCHÖNBERG (1990) erzielt, die mittels IFAT und ELISA Rinderseren aus dem süddeutschen Raum auf *Borrelia burgdorferi* testeten: im IFAT konnten sie bis zu 24,5 % und im ELISA bis zu 43 % positive Tiere ermitteln. Im Vergleich zu ebenfalls serologisch untersuchten Hunden und Pferden, zeigten die Rinder dabei deutlich höhere Antikörperspiegel von bis zu 1:1024. BARK (1986) untersuchte 66 Rinderseren aus 20 Betrieben Süddeutschlands in einer Stichprobenuntersuchung im IFAT, wobei Tiere aus 9 Beständen ganztägig aufgestallt und negativ waren. In 9 von 11 Weidebetrieben aus den Landkreisen Weilheim-Schongau, Neu-Ulm, Unterallgäu, Dillingen, Rosenheim, Bad-Tölz/Wolfratshausen, Oberallgäu und Günzburg, konnte sie bei 22 Rindern Antikörpertiter von 1:64 bis 1:512 nachweisen. Pro Betrieb fanden sich zwischen 33 und 100 % positive Tiere.

In der hier vorliegenden Studie waren sämtliche Rinder während des Untersuchungszeitraumes klinisch unauffällig, was sich mit den Ausführungen von POST (1990) sowie PARKER und WHITE (1992) deckt, die bemerkten, dass bei seropositiven Tieren die Infektion häufig subklinisch verläuft. Auch STEFANCIKOVA *et al.* (2002) machten diese Beobachtung. Sie stellten fest, dass Rinder mit höheren Antikörperkonzentrationen des Öfteren, aber eben nicht immer, Symptome wie Lahmheit und geschwollene Gelenke zeigten. Selbst Tiere mit hohen nachweisbaren Antikörpertitern erschienen in einigen Fällen klinisch gesund. Dies deckt sich mit den hier vorgestellten Untersuchungen, nach denen auch das mit einem Titer von 1:1024 getestete Rind aus Betrieb Nr. 17 („Hergatz“ im Allgäu) klinisch unauffällig war.

Die statistische Überprüfung der vorliegenden Daten mittels Korrelationsanalyse nach PEARSON ergab, dass die beobachteten Antikörperkonzentrationen nicht in Beziehung zum Tieralter standen (vgl. Abb. 20). Diese Befunde widersprechen denjenigen von BRAND (1990), CABANNES *et al.* (1997) und STEFANCIKOVA *et al.* (2002), die die höheren Seroprävalenzen und Titerstufen bei älteren Kühen feststellten. BRAND (1990) führte dies auf Reinfektionen und den Umstand zurück, dass IgG-Titer nach *Borrelia burgdorferi*-Infektion nur langsam abfallen und neu gebildete Antikörper zusammen mit denen der vorangegangenen Infektion zu insgesamt höheren Titern führen. PARKER und WHITE (1992) dagegen bemerkten, dass „Lyme-Disease“ häufig bei Färsen bzw. Jungkühen nach der Abkalbung auftritt und nicht selten ein Herdenproblem darstellt. Untersuchungen von HOVMARK *et al.* (1986) ergaben, dass Kälber, die erst eine Saison Weidegang hatten, bereits Serokonversionen mit Antikörpertitern über 1:80 entwickeln können.

Es ist durchaus möglich, dass durch Reinfektionen bei älteren Tieren hohe Titer aufrecht erhalten werden, doch muss man zusätzlich bedenken, dass durch starken Zeckenbefall bzw. durch eine mit vielen Borrelien infizierte Zecke große Mengen der Erreger in den Wirt gelangen können und, unabhängig vom Alter des Tieres, eine starke Immunreaktion auslösen. Diese Annahme wird vor allem dadurch bestärkt, dass in der hier vorliegenden Studie ein statistisch abgesicherter Zusammenhang zwischen Höhe der Zeckenzahl und Höhe der Titerstufe bestand. Rinder mit einer Antikörperkonzentration $<1:64$ waren im Durchschnitt mit 4,65 Zecken befallen, während Tiere mit einem Titer $\geq 1:64$ im Mittel 15,57 Zecken hatten. Allerdings ist bei diesen Ergebnissen zu berücksichtigen, dass es sich um Felduntersuchungen gehandelt hat und die Infektionsrate der Zecken mit Borrelien in den

einzelnen Gebieten unbekannt ist. Deshalb wäre es denkbar, dass durch eine hohe Infektionsrate der Zecken eines Gebietes mit Borrelien nur wenige ausreichen, um den Wirt zu infizieren, während in Gebieten, in denen Zecken nur zu einem sehr geringen Prozentsatz befallen sind, auch hohe Zeckenzahlen zu keiner Infektion führen müssen. Des Weiteren könnte auch eine geringe Anzahl Borrelien, je nach dem Immunstatus des Wirtes, zu hohen Antikörpertitern bzw. eine hohe Anzahl Borrelien nur zu einer geringen Immunantwort führen. Dennoch erscheint es plausibel, dass sich durch einen starken Zeckenbefall die Wahrscheinlichkeit für den Wirt erhöht, mit einer mit Borrelien infizierten Zecke in Kontakt zu kommen. Die Frage, ob hohe Zeckenzahlen/Rind zwangsläufig auch zu höheren Antikörperkonzentrationen führen, könnte experimentell durch einen Tierversuch geklärt werden.

Neben der vektoriellen Übertragung von *Borrelia burgdorferi* durch Zecken ist in der Literatur auch die Möglichkeit einer Übertragung durch Urin und Milch infizierter Tiere diskutiert worden. BURGESS (1986) beobachtete bei einem Hund, der zusammen mit einem Borrelien-infizierten Artgenossen gehalten worden war, Serokonversion und führte dies auf eine Erregerübertragung durch Urin zurück. Bei *Peromyscus maniculatus* gelangen BURGESS und PATRICAN (1987) eine orale Infektion mit in Urin gezüchteten Borrelien. POST *et al.* (1988) beschrieben die Serokonversion einer Katze, die mit Milch einer infizierten Kuh gefüttert worden war. BURGESS (1988) vermutete, dass auch bei Rindern in Stallhaltung die orale Infektion, besonders durch den Urin infizierter Kühe, von Bedeutung sein könnte und versuchte damit die geographische Ausbreitung der Infektion in Gebieten Amerikas, in denen *Ixodes dammini* nicht vorkommt, zu erklären. Aufgrund der hier vorgestellten Daten scheint zumindest eine erhebliche Bedeutung der Erregerübertragung durch Urin oder Milch infizierter Rinder eher unwahrscheinlich, da in den Betrieben, in denen sich Rinder mit hohen Antikörpertitern gegen *Borrelia burgdorferi* befanden, auch Tiere beobachtet wurden, die seronegativ waren. Die Blutentnahme für meine Untersuchungen erfolgte im Dezember bzw. Januar 2002 zu einem Zeitpunkt, an dem die Rinder bereits mehrere Wochen bis Monate zusammen im Stall standen und, bei Laufstallhaltung (wie z. B. in Betrieb Nr. 17, aus dem das 1:1024 getestete Rind kam), engen Kontakt zueinander hatten. Bei einer Infektion über den Harn infizierter Tiere wäre zu erwarten, dass die Rinder, die mit hochpositiven Tieren zusammengehalten wurden, nach mehrwöchigem bzw. -monatigem Kontakt ebenfalls höhere Antikörpertiter entwickeln und es so zu einer hohen Seroprävalenz

im Bestand kommt. Dies war aber nicht der Fall. Um die Möglichkeit der Erregerübertragung durch Ex- und Sekrete bei Rindern besser einschätzen zu können, wäre die Beurteilung von Urin und Milch hochtitriger Tiere im IFAT oder ELISA eine sinnvolle Ergänzung.

Die vorliegenden Untersuchungen haben u. a. gezeigt, dass Rinder aus Weidebetrieben zu einem hohen Prozentsatz mit Zecken aller Stadien befallen sein können und gleichzeitig Träger von *Borrelia burgdorferi* unter Ausbildung hoher Antikörpertiter sein können ohne selbst klinisch auffällig zu sein. Rinder nehmen damit ebenso wie freilebende Säugetiere (Nager, Kleinsäuger, Wildwiederkäuer) an der Naturherdinfektion teil und stellen ein für den Menschen zugängliches Erregerreservoir dar (Hovmark *et al.*, 1986; Käsbohrer und Schönberg, 1990). In verschiedenen Studien über die Prävalenz von *Borrelia burgdorferi* in Zecken waren nüchterne Nymphen und Adulte häufiger infiziert als Larven, weshalb MATUSCHKA und SPIELMAN (1986), WILSKE *et al.* (1987) und LIEBISCH (1991a) davon ausgehen, dass der transstadialen Übertragung im Vergleich mit der transovariellen die größere Bedeutung zukommt und Larven die Infektion erwerben. Da adulte Zecken nach der Blutmahlzeit keine neuen Wirte mehr befallen und eine Übertragung der Erreger von den Weibchen auf ihre Eier nicht immer stattfindet (Matuschka und Spielman, 1986), spielen adulte Zecken, die auf dem Reservoirwirt Rind angetroffen werden, für eine Infektion des Menschen nur eine untergeordnete Rolle. In der hier vorliegenden Untersuchung wurden jedoch auch 158 Exemplare von Larven und Nymphen auf Rindern vorgefunden. Dies macht deutlich, dass durch die Infektion von Großtieren wie dem Rind, die Infektionskette für *Borrelia burgdorferi* in der freien Natur nicht endet, sondern infizierte Tiere tatsächlich eine aktive Ansteckungsquelle für künftige Zeckengenerationen und damit auch ein potentielles Erregerreservoir für den Menschen darstellen.

5.2.2 Überprüfung der Methode

Zur Absicherung der mittels IFAT erarbeiteten Ergebnisse wurden 70 Seren aus 31 Betrieben einer erneuten Bestimmung der Antikörpertiter gegen *Borrelia burgdorferi* unterzogen. Die Ergebnisse dieser zweiten Untersuchung stimmen weitestgehend mit den Ergebnissen der Erstuntersuchung überein (vgl. Tab. 13). Die geringgradigen Abweichungen von der Erstbeurteilung führten nur in zwei Fällen dazu, dass ursprünglich als „positiv“ bewertete Tiere in der Nachuntersuchung „negativ“ waren. Die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse kann

damit als gesichert angesehen werden, schließt jedoch das Auftreten von falsch-positiven oder falsch-negativen Ergebnissen nicht aus.

Untersuchungen von KÄSBOHRER und SCHÖNBERG (1990) wiesen Kreuzreaktionen zwischen *Borrelia burgdorferi* und einem Spirochätenisolat aus dem menschlichen Magen-Darmtrakt nach. In Immunoblots von Borrelien-positiven Seren mit diesen beiden Isolaten als Antigenen konnte bei Hunden und Rindern eine intensive Reaktion mit zahlreichen unterschiedlichen Proteinen festgestellt werden. Nach BRAND (1990) ist zu bedenken, dass Kreuzreaktionen mit anderen Borrelien-Arten, wie *Borrelia theileri* und *Borrelia coriaceae* nicht ausgeschlossen werden können. Da die Erreger aber bisher in Deutschland bei Rindern nicht ermittelt wurden und die Vektorzecken in unseren Breiten nicht vorkommen, können falsch-positive Ergebnisse aufgrund dieser Erreger eher vernachlässigt werden.

Da Leptospiren (Fam.: *Leptospiraceae*) ebenfalls zur Ordnung der Spirochaetales gehören und mit Spirochaeten damit eine engere Verwandtschaft besteht, wäre denkbar, dass evtl. in Seren vorhandene Leptospirenantikörper zu Kreuzreaktionen im IFAT führen könnten. BARK (1986), BURGESS (1986), MAGNARELLI *et al.* (1987) und BRAND (1990) beschäftigten sich unter anderem mit möglichen Kreuzreaktionen zwischen *Borrelia burgdorferi* und verschiedenen Leptospirensеровaren und stellten fest, dass eine Beeinflussung der Ergebnisse durch Kreuzreaktionen nicht stattfindet, oder zumindest nicht in den Bereichen, die sicher als positive Reaktionen angesprochen werden können.

Verschiedene Erklärungen für mögliche falsch-negative Ergebnisse geben MAGNARELLI (1990) sowie PARKER und WHITE (1992): so kann die Verabreichung von Antibiotika vor der Blutentnahme die Immunantwort herabsetzen und letztlich zu einer negativen Beeinflussung von Antikörpertitern führen. Des Weiteren ist der Entnahmezeitpunkt der Probe entscheidend: wenn Proben sehr früh im Infektionsgeschehen genommen werden, kann dies ebenfalls zu falsch-negativen Ergebnissen führen, wenn die Konzentration von IgG noch unter der Nachweisgrenze liegt. Die Autoren schlagen deshalb bei negativen Serumproben die Entnahme und Beurteilung einer weiteren Probe im Abstand von 4-6 Wochen zur Verifizierung der Ergebnisse vor. In der hier durchgeführten Studie erfolgte aus technischen Gründen nur eine einmalige Blutentnahme im Winter (Dezember/Januar) und damit zu einem Zeitpunkt, an dem sich potentiell infizierte Tiere theoretisch bereits in einer späten Phase der Immunantwort befanden. Da nicht in Erfahrung gebracht werden konnte, ob und welche

Rinder vor der Blutentnahme mit Antibiotika behandelt wurden sind falsch-negative Ergebnisse dennoch nicht grundsätzlich auszuschließen.

TUOMI *et al.* (1998), die Rinder experimentell mit verschiedenen *Borrelia burgdorferi sensu lato* Stämmen infizierten, beobachteten im IFAT und ELISA signifikante Antigen-spezifische Unterschiede in der Erkennung und Quantifizierung der Immunantwort. In der Regel ist homologes Antigen zum Nachweis spezifischer Antikörper das sensitivste, gefolgt vom Antigen derselben Genospezies. Da die Immunantwort allerdings Genospezies-spezifisch sein kann, ist es im Extremfall möglich, dass falsch-negative Ergebnisse auftreten, wenn im ELISA oder IFAT ein anderes Antigen verwendet wird als das, womit sich der Patient infiziert hat. Es kann deshalb nicht ausgeschlossen werden, dass im vorgestellten Datenmaterial falsch-negative Ergebnisse enthalten sind, die darauf zurückzuführen sind, dass einige der untersuchten Rinder mit einer anderen Genospezies als *Borrelia burgdorferi sensu stricto* infiziert waren.

5.2.3 *Borrelia garinii* Westernblot

Zur Überprüfung der Methode wurden 64 der im IFAT getesteten Rinderseren zusätzlich einem Westernblot unterzogen. 69 % der überprüften Seren mit Antikörpertitern $\geq 1:64$ im IFAT wurden im Westernblot ebenfalls als positiv bewertet, 28 % reagierten grenzwertig positiv und 3 % negativ. Von den 43 Proben, die im IFAT mit dem Grenztiter 1:64 bewertet wurden, reagierten im Westernblot 74,4 % (32) positiv, 20,9 % (9) grenzwertig positiv und 4,7 % (2) negativ. Die Überprüfung von Seren mit Antikörpertitern $> 1:64$ erbrachte zum Teil widersprüchliche Ergebnisse: 8 Seren mit einem Titer von 1:128 und 12 Seren mit einem Titer von 1:256 reagierten im Westernblot nur zu 50 % bzw. zu 58,3 % positiv. Die verbleibenden Seren (50 % der Stufe 1:128 bzw. 41,7 % der Stufe 1:256) wurden als grenzwertig positiv beurteilt. Eine Erklärung für dieses Phänomen könnte sein, dass in IFAT und Westernblot zwei unterschiedliche Genospezies zum Nachweis verwendet wurden und so Antikörper gegen *Borrelia burgdorferi sensu stricto* nur einige Proteine von *Borrelia garinii* erkannten, wie dies auch TUOMI *et al.* (1998) und DRESSLER *et al.* (1994) feststellten. Letztere untersuchten Borreliose-Patienten zunächst im ELISA, wobei die Ergebnisse mit drei Antigenpräparationen (*Borrelia burgdorferi sensu stricto*, *B. garinii* und *B. afzelii*) ähnlich waren. Im Anschluss wurde ein Westernblot durchgeführt, wobei die drei Genospezies

Abweichungen in den Molekulargewichten der Oberflächenproteine Osp A, Osp B und Osp C aufwiesen. Bei der Überprüfung der Patientenserum traten dabei Unterschiede in der Antigenerkennung auf und es wurde gefolgert, dass durch die Differenzen unter den Genospezies Variationen in der Antikörper-Antwort auftreten können.

Bei den beiden im Westernblot negativen Seren, die im IFAT mit einem Antikörpertiter von 1:64 als „positiv“ eingestuft wurden, könnten falsch-positive Befunde im IFAT vorgelegen haben. Andererseits wäre auch denkbar, dass es sich um reine *Borrelia burgdorferi sensu stricto*-Infektionen gehandelt hat, und die beiden Seren keine spezifischen Proteine von *Borrelia garinii* identifizierten.

Letztendlich können einige dieser Fragen nicht mit befriedigender Sicherheit beantwortet werden. Insbesondere bleibt auf der Grundlage der hier vorliegenden Daten die Verlässlichkeit des für den IFAT definierten Grenztiters von 1:64 ebenso unklar wie die Frage, welche Genospezies an den beobachteten Infektionen beim Rind beteiligt waren. Es konnte jedoch festgestellt werden, dass sowohl im IFAT, als auch im Westernblot ein hoher Prozentsatz der untersuchten Tiere eindeutig positive Reaktionen auf *Borrelia burgdorferi sensu lato* zeigte. So muss davon ausgegangen werden, dass der Erreger beim Rind im bayerischen Voralpenland weit verbreitet ist.

5.3 *Babesia divergens* IFAT

Die auf *Babesia divergens* untersuchten 287 Rinderseren waren bis auf eine Ausnahme negativ. Das betroffene Jungtier wies einen Antikörpertiter von 1:16 auf und war klinisch unauffällig. Nach DONNELLY und PEIRCE (1975) genügt bereits die Infestation einer einzigen mit Babesien infizierten Nymphe bzw. Adulten, um bei Rindern nachweisbare Antikörper zu erzeugen. Das Rind stammt aus dem Betrieb Nr. 14 („Kiefersfelden“), also dem Betrieb, der die mit Abstand höchsten Zeckenzahlen/Rind und Untersuchungstag, und hohe Befallsextenstäten aufwies. Eine Erklärung, warum die anderen Tiere des Betriebes keine Antikörper gegen *Babesia divergens* aufwiesen, ist, dass sie sich - getrennt von dem betroffenen Tier - auf einer anderen Weide befunden haben und dort keine mit Babesien infizierten Zecken vorhanden waren. Alle zusammen mit dem Positiven auf der Jungviehweide gehaltenen Tiere wurden - bis auf eine Ausnahme - vor der Blutentnahme verkauft, so

dass nicht mehr bei allen Tieren festgestellt werden konnte, ob auch diese mit Babesien infiziert waren. Bei dem einzigen nicht verkauften Jungtier (Rind Z-14-26) konnten keine Antikörper gegen *Babesia divergens* festgestellt werden.

Der Titer des positiven Tieres ist mit 1:16 als „niedrig“ einzustufen. Ein niedriger Antikörpertiter könnte bedeuten, dass die Infektion bereits am Anfang der Weideperiode stattfand und zum Zeitpunkt der Blutentnahme nur noch eine geringe Antikörperkonzentration vorhanden war. Andererseits könnte das Rind auch nur mit wenigen Babesien infiziert worden sein, bzw. nur eine geringe Immunantwort auf den Erreger gezeigt haben. Unwahrscheinlich ist dagegen, dass das Tier erst am Anfang einer Immunantwort stand, da es bereits sechs Wochen vor der Blutentnahme eingestallt worden war und Antikörper bereits früh nach einer erfolgten Infektion auftreten, wie die Studien von REIF (1980) und WEILAND (1982) zeigten. So untersuchte REIF (1980) an drei experimentell mit *Babesia divergens* infizierten Rindern (bei Versuchsbeginn vier Monate alt) die Antikörperbildung und erstellte Titerverlaufskurven mit Hilfe des IFAT, ELISA und des indirekten Hämagglutinationstests (IHA). Dabei wurde den Tieren jeweils 100 ml Blut, welches eine Parasitämie von 260 ‰ aufwies, i.v. injiziert. In allen drei Tests wurden Antikörper fünf Tage nach der Infektion erstmals nachgewiesen, erreichten zwischen dem 20. und 40. Tag p.i. ihr Maximum und fielen anschließend wieder ab, wobei über einen Zeitraum von 250 Tagen noch Antikörper festgestellt werden konnten. WEILAND (1982) führte an experimentell mit *Babesia divergens* infizierten Rindern ebenfalls Titerverlaufsstudien durch und konnte einen Antikörpertiter-Anstieg im ELISA, IFAT und IHA 6-12 Tage p.i. beobachten. Maximaltiter wurden 14 bis 38 Tage p.i. mit Werten von 1:256 (IHA), 1:512 (IFAT) und 1:1024 (ELISA) erreicht. Während der latenten Phase der Infektion lagen die Titerwerte bei 1:32 (IHA), 1:64 (ELISA) und 1:80 (IFAT).

REIF (1980) konnte bei 35,9 % (463 von 1291) der Rinderseren aus sieben Landkreisen Südbayerns Babesien-Infektionen nachweisen. Die Ergebnisse für die verschiedenen Landkreise lagen zwischen 31 und 43,9 %. Die hohen Zahlen wurden damit erklärt, dass es sich hierbei um enzootische Gebiete gehandelt haben muss. Von ULLMANN (1983) durchgeführte seroepidemiologische Studien im „Allgäu“ ergaben 13 % (211 von 1616) positive Rinder. Des Weiteren konnte er bei 6 von 58 Kälbern, die nur auf Heimweiden

gehalten wurden, und bei 29 von 208 auf Almweiden gesömmerten Jungrindern, Serokonversion feststellen. Die Tiere waren klinisch unauffällig.

Da sich die Untersuchungsgebiete der oben zitierten Studien und der hier vorliegenden Arbeit teilweise überschneiden wäre eine höhere Zahl von Tieren mit positiven Antikörper-Titern gegen *Babesia divergens* zu erwarten gewesen. Es muß jedoch davon ausgegangen werden, dass die Befallsituation der einheimischen Zecken mit *Babesia divergens* und damit die Verbreitung des Erregers nicht mehr mit der Situation zum Zeitpunkt der zitierten Studien übereinstimmt. Neuere Untersuchungen zu diesem Thema erscheinen deshalb wünschenswert.

5.4 *Fasciola hepatica*

Bei einem zusätzlich durchgeführten ELISA zum Nachweis von *Fasciola hepatica* in den Untersuchungsgebieten, konnten, bis auf eine Ausnahme, in allen Betrieben Antikörper gegen *Fasciola* festgestellt werden. Von 105 getesteten Einzelseren reagierten dabei 43,8 % hoch, 25,7 % mittelgradig, 5,7 % schwach positiv und 24,8 % negativ. Von 13 sehr kleinen Beständen wurde jeweils ein Serumpool untersucht, wobei 38,5 % hoch, 38,5 % mittelgradig und 23 % schwach positiv waren. Diese Daten stehen im Einklang mit Ergebnissen aus dem umfangreichen Untersuchungsmaterial des Diagnostischen Labors des Instituts für Vergleichende Tropenmedizin und Parasitologie der LMU-München. Hiernach konnten, über das gesamte bayerische Voralpenland verteilt, in den letzten Jahren eine Vielzahl von Gemeinden betreffend, positive Betriebe identifiziert, und die allgemein weite Verbreitung von *Fasciola hepatica* Infektionen belegt werden.

Im Vergleich zu den hier präsentierten Daten beträgt nach GRÜNDER (2002) der Anteil infizierter Rinder aus Weidebetrieben in ganz Deutschland etwa 10-15 %. In Leberegelgebieten sind nach seinen Erkenntnissen zudem die meisten der an stehenden oder fließenden Gewässern liegenden oder einen erhöhten Grundwasserstand aufweisenden Weiden verseucht. Auch in meiner Studie waren die Weiden häufig mit kleinen Bächen durchzogen oder es waren Wasserstellen zu beobachten, die während des Sommers nicht austrockneten, so dass ideale Lebensbedingungen für den Zwischenwirt, die Zwergschlammschnecke *Lymnaea truncatula*, gegeben waren.

Die hier positiv getesteten Rinder waren zwischen 1,5 und 9 Jahre alt. Nach GRÜNDER (2002) sind Rinder in allen Altersstufen empfänglich und entwickeln keine ausgeprägte Immunität, weshalb ältere Tiere wiederholt infiziert werden können. Der epizootische Verlauf der Rinderfasciolose wird sowohl von den jährlich und jahreszeitlich wechselnden witterungsabhängigen Entwicklungsbedingungen der als Zwischenwirt dienenden Zwergschlamm-schnecken als auch von den Infektionsmöglichkeiten bestimmt. Hier sind an erster Stelle unhygienische Trinkwasserversorgung, Zugang zu Gewässerrändern, Entwässerungsgräben oder Sumpfstellen zu nennen. Das Zusammentreffen mehrerer günstiger Entwicklungsfaktoren, wie reiche Niederschläge und hohe Durchschnittstemperaturen, kann zu massenhaftem Auftreten dieses Parasiten führen, wobei einzelne Weiden oder größere Weidegebiete seuchenhaft betroffen werden.

Eine weitere Begründung für die weite Verbreitung der Fasciolose im Untersuchungsgebiet ist sicherlich auch die Tatsache, dass die Bekämpfung der Parasiten schwierig ist. Für eine Chemotherapie stehen bisher nur wenige ausreichend wirksame Präparate zur Verfügung, die auch zu einer Abtötung der Jugendstadien in der Bauchhöhle und Leber führen. Häufig wurde von den hier einbezogenen Landwirten Albendazol verwendet, das in erster Linie zur Bekämpfung von Nematoden eingesetzt wird. In höherer Dosierung hat dieses Mittel eine variable Wirkung (50-100 %) gegen adulte Leberegel. Präadulte Stadien werden dagegen nur zu einem geringen Prozentsatz (bis 25 %) abgetötet (Ungemach, 2002).

Nachweislich wirksamer in der Bekämpfung der Fasciolose wäre die Anwendung von Triclabendazol. Bereits in niedriger Dosierung besteht eine gleichzeitige Wirkung gegen frühe und ältere juvenile Stadien sowie adulte große Leberegel. Allerdings darf Triclabendazol nicht bei Tieren angewendet werden, deren Milch für den menschlichen Verzehr gewonnen wird, sowie bei trockenstehenden Färsen in den letzten zwei Monaten vor dem Geburtstermin. Dies ist für die hier untersuchten Milchviehbestände verständlicherweise unpraktikabel. Da die Wartezeit für essbares Gewebe zudem bei 50 Tagen liegt (Ungemach, 2002) griffen viele Landwirte auf weniger wirksame Präparate zurück, um wenigstens den Infektionsdruck zu mindern. Das könnte letztendlich eine Erklärung für den hohen Prozentsatz positiver Betriebe im Untersuchungsgebiet sein. Ausserdem ist zu bedenken, dass Leberegelinfektionen während der gesamten Weideperiode und teilweise noch im Stall durch Heufütterung erfolgen können. Nach Empfehlungen von GRÜNDER (2002) sollte zudem für eine einwandfreie

Trinkwasserversorgung aus Weidebrunnen, Weidepumpen oder Wasserwagen und Auszäunung aller den Rindern zugänglichen Wasseransammlungen (Tümpel, Gräben, Teiche, Sumpfstellen), etwa 1,5 m vom Wasserrand entfernt, gesorgt werden. Eine Umzäunung von Wasserstellen war jedoch in keinem der Betriebe zu beobachten.

Zusammenfassend muß also festgestellt werden, dass die hohen Befallsraten der Rinder im Untersuchungsgebiet sowohl auf die guten biologischen Bedingungen für *Fasciola hepatica* und seine Zwischenwirte, als auch auf weidetechnische Fehler und eine unzureichende parasitologische Bekämpfung zurückzuführen sind.

6. Zusammenfassung:

Untersuchungen zum Zeckenbefall und zur Prävalenz von *Borrelia burgdorferi* sowie *Babesia divergens* beim Rind im bayerischen Voralpenland

Im Jahr 2002 wurden 319 Rinder aus 31 landwirtschaftlichen Betrieben und 6 Landkreisen des bayerischen Voralpenlandes auf Zecken und 287 Seren dieser Tiere auf Antikörper gegen *Borrelia burgdorferi* sowie *Babesia divergens* untersucht.

In allen Betrieben waren Zecken nachweisbar. Die Prävalenz für den Zeckenbefall betrug 69 %. Von insgesamt 3453 abgenommenen Zecken konnten 3218 der Spezies *Ixodes ricinus* zugeordnet werden. 139 Nymphen, 19 Larven und 77 bei der Abnahme beschädigte Adultzecken waren nur bis zur Gattung - *Ixodes* - bestimmbar. Eine saisonale Häufung von Zeckenfunden wurde in den Monaten Mai/Juni und September festgestellt. Die Befallsintensität der 221 mit Zecken infestierten Rinder war im Allgemeinen niedrig. 76,5 % der befallenen Tiere wiesen eine Befallsintensität von 1-6 Zecken/Rind und Untersuchungstag auf. Dagegen waren einzelne Tiere auf für Zecken besonders geeigneten Weiden von bis zu 250 Zecken pro Untersuchungstag befallen. Die Befallsextenstäten in den einzelnen Herden variierten in den verschiedenen Untersuchungsmonaten zwischen 0 und 100 %.

Die Untersuchung von 287 Seren auf Antikörper gegen *Borrelia burgdorferi* mittels Immun-Fluoreszenz-Antikörper-Test (IFAT) ergab bei 45,6 % der Rinder Antikörpertiter $\geq 1:64$. In 27 von 31 untersuchten Betrieben waren Prävalenzen für Borrelien von 20 bis 100 % feststellbar. Die Prävalenzen in den beiden hauptsächlich untersuchten Voralpenregionen „Chiemgau“ und „Allgäu“ zeigten keine signifikanten Unterschiede. Mittels Korrelationsanalyse konnte ein Zusammenhang zwischen der Zeckenzahl pro befallenem Rind und dem Serumspiegel von anti-Borrelien IgG nachgewiesen werden. Im Gegensatz dazu hatte das Alter der Rinder keinen signifikanten Einfluß auf die gemessenen Antikörpertiter. Bei der Untersuchung von 64 im IFAT-positiven Seren in einem *Borrelia garinii* Westernblot wurden 69 % ebenfalls als positiv, 28 % als grenzwertig positiv und 3 % als negativ bewertet. Die parallele Untersuchung der 287 Rinderseren auf Antikörper gegen *Babesia divergens* mittels IFAT ergab nur bei einem Rind einen positiven Titer von 1:16.

In weiteren Untersuchungen wurden mittels Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) 105 Rinderseren aus 18 Betrieben und 13 gepoolte Serumproben von 45 Tieren aus 13 weiteren Betrieben auf Antikörper gegen *Fasciola hepatica* getestet. Dabei konnten in 96,8 % der Betriebe Antikörper nachgewiesen werden.

7. Summary: Investigations on the infestation of ticks and the prevalence of *Borrelia burgdorferi* and *Babesia divergens* in cattle from southern Bavaria

During the year 2002 319 cattle from 31 farms (6 districts) of southern Bavaria were investigated for the presence of ticks during the grazing period and 287 serum samples were tested for the presence of antibodies against *Borrelia burgdorferi* and *Babesia divergens*.

Ticks were detected in all 31 farms and the mean prevalence was 69 %. 3218 out of 3453 collected ticks were *Ixodes ricinus*. 139 nymphs, 19 larvae and 77 damaged adult specimens could only be determined to the Genus level (*Ixodes*). The seasonal pattern revealed the highest frequencies of ticks in May/June and September. The intensity of the infestation of the 221 positive animals was generally low. 76,5 % of parasitized individuals had 1-6 ticks/cattle and day of investigation. By contrast, individuals on pastures with appropriate tick-habitats showed up to 250 ticks/cattle and day of investigation. The percentage of infested animals in each herd varied within the period between 0-100 %.

The investigation of 287 serum samples for the presence of antibodies against *Borrelia burgdorferi* by immunofluorescence techniques (IFAT), revealed antibody-titers $\geq 1:64$ for 45,6 % of the animals. 27 of 31 farms showed prevalences of *Borrelia burgdorferi* ranging from 20 to 100 %. There were no significant differences of positive cattle between the various areas. However, a significant correlation could be detected between the number of ticks per cattle and the antibody concentration of anti-*Borrelia* IgG. By contrast, there was no significant correlation between the age of the animals and the serum antibody-titers. For comparative reasons, 64 IFAT-positive serum samples were tested by Westernblot techniques for the presence of antibodies cross-reacting with *Borrelia garinii* antigens. These analyses revealed that 69 % of the samples reacted positively, 28 % were unclear and 3 % were negative.

The investigation of the 287 cattle sera for *Babesia divergens* by means of IFAT revealed one positive animal with an antibody-titer of 1:16.

Finally, in an additional enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) 105 serum samples from 18 farms and 13 pooled sera including 45 cattle from the other 13 farms were tested for the presence of antibodies against *Fasciola hepatica*. In 96,8 % of the farms antibodies against *Fasciola hepatica* could be detected.

8. Anhang

8.1 An Landwirte ausgeteiltes Informationsmaterial

An die Landwirte ausgeteilte Liste eventueller Symptome, die auf eine Infektion mit Borrelien und/oder Babesien hinweisen

Mögliche Symptome, die nach einem Zeckenstich auftreten können:

1. Bei Borrelien – Infektion („Borreliose“)

- Lahmheit, Steifheit, geschwollene Gelenke, akute Lahmheit nach Abkalbung
- Fieber
- Abort
- Schwellungen und Überempfindlichkeit des Euters
- Rötung der Haut und/oder lokal erhöhte Körpertemperatur
- Gewichtsverlust

2. Bei Babesien – Infektion („Weiderot“)

a) bei Jährlingen und erwachsenen Rindern (vor allem bei zugekauften):

- Gestörtes Allgemeinbefinden
- Fieber
- Blutharnen
- Blässe (Anämie) bzw. Gelbsucht (Ikterus)
- Erhöhte Atem- und Herzfrequenz
- Fortschreitende Schwäche, Festliegen
- Bei akutem Verlauf plötzlicher Tod (innerhalb weniger Stunden bzw. Tage)

b) bei Kälbern eher milder Verlauf:

- Über wenige Tage Fieber
- Verminderte Fresslust

Sollten Sie eines oder mehrere dieser Symptome bei Ihrem Rind beobachten, rufen Sie mich bitte umgehend an und verständigen Sie Ihren Tierarzt!

Fortsetzung Tab. 16: Zeckenzahlen und Geschlecht bzw. Entwicklungsstadien auf den einzelnen Rindern in den verschiedenen Untersuchungsmonaten

B	T.-Nr.	OM	A	R	Mai				Juni				Juli				Aug.				Sept.					Okt.				Nov.									
					W	M	N	L	Ix.	W	M	N	L	Ix.	W	M	N	L	Ix.	W	M	N	L	Ix.	W	M	N	L	Ix.	W	M	N	L	Ix.					
27	Z-27-2	29 688	2,5	BV	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	2	0	0	0	0	5	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0					
27	Z-27-3	29 683	4	BV	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0					
28	Z-28-1	84 185	3,5	BV	6	1	0	0	2	54	4	0	0	0	2	0	0	0	0	4	1	0	0	0						1	0	0	0	0					
28	Z-28-2	84 162	4	BV	15	7	0	0	1	17	3	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0					
28	Z-28-3	37 975	8,5	BV	9	5	0	0	0	17	2	0	0	0	4	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0					
28	Z-28-4	53 870	4,5	BV	7	7	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0					
28	Z-28-5	84 181	4	BV	11	10	0	0	0	28	5	0	0	0	2	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0					
29	Z-29-1	73 427	7	BV	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0					
29	Z-29-2	56 272	5	BV	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0					
29	Z-29-3	74 707	7	BV	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0					
30	Z-30-1	56 273	5	BV	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	7	2	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0					
31	Z-31-1	93042	4	BV	0	0	0	0	0	6	1	0	0	0																									
31	Z-31-2	54 080	4,5	BV	1	0	0	0	0	3	0	0	0	0	1	0	0	0	0	4	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0					
31	Z-31-3	93 041	4	BV	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	2	0	0	0	0	3	1	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0					

B= Betriebsnummer; **T.-Nr.**= Tiernummer; **OM**= Ohrmarkennummer; **A**= Alter; **R**= Rasse (GV= Grauvieh; FV= Fleckvieh; SB= Schwarzbunte; Pi= Pinzgauer; Mix= Kreuzung; BV= Braunvieh); **W**= *Ixodes ricinus*-Weibchen; **M**= *I. ricinus*-Männchen; **N**= *Ixodes*-Nymphe; **L**= *Ixodes*-Larve; **Ix.** = weibliche *Ixodes species* (keine Artdifferenzierung möglich); Tiere der Betriebe **16, 17, 18** waren von Juni bis September zusammen in einer Herde auf der Alpe „Unterstieg“; Tiere der Betriebe **20-26** standen von Juni bis Sept. gemeinsam auf Weiden der Alpe „Engeratsgund“ und auf der „oberen Käseralp“; Rinder aus den Betrieben **27-31** bildeten von Juni bis Sept. eine Herde auf der Alpe „Mitterhaus“

Tab. 17: Gesamtanzahl der weiblichen und männlichen Adultzecken, sowie der Entwicklungsstadien in den einzelnen Untersuchungsmonaten.

	April	Mai	Juni	Juli	Aug.	Sept.	Okt.	Nov.	
<i>Ixodes ricinus</i> - ♀	1*	428	712	286	348	694	162	3	2634
<i>Ixodes ricinus</i> - ♂	0	109	134	40	67	203	31	0	584
<i>Ixodes</i> - Nymphen	0	40	22	3	9	64	1	0	139
<i>Ixodes</i> - Larven	0	0	0	0	1	18	0	0	19
<i>Ixodes spp.</i> (♀)	0	37	18	2	8	9	3	0	77
	1*	614	886	331	433	988	197	3	3453

1*: die Zecke stammte von Rind-Nr. **Z-18-3** und wurde vor dem Weideaustrieb auf dem Tier aufgefunden.

Tab. 18: Befallsdichten in % (positive Rinder / Zahl der Untersuchten) der einzelnen Herden während der Weidemonate

Betr	Mai		Juni		Juli		Aug.		Sept.		Okt.		Nov.		Zecken	neg.
	%	+U	%	+U	%	+U	%	+U	%	+U	%	+U	%	+U		
1	63,6	7/11			18,2	2/11	0	0/10	77,8	7/9	44,4	4/9			46	2
2									3,6	1/28	29,4	10/33			16	22
3	57,1	12/21	33,3	7/21	11,8	2/17			52,4	11/21	15,8	3/19			51	4
4	25	3/12	50	6/12	66,7	8/12			45,4	5/11	54,5	6/11			48	1
5	100	11/11	100	7/7	100	4/4			100	4/4	100	6/6			284	
6	26,7	4/15	0	0/14	0	0/14			7,1	1/14	15,4	2/13			12	9
7	0	0/4	25	1/4			75	3/4			0	0/4			6	1
8	14,3	2/14	31,2	5/16			21,4	3/14	50	6/12	33,3	4/12			31	6
9	30	3/10	0	0/10			0	0/10	50	5/10	18,2	2/11			17	6
10	50	3/6	0	0/6	0	0/6			33,3	2/6	16,7	1/6			9	1
11	15,4	2/13	0	0/13			0	0/13	14,3	2/14	7,1	1/14			8	11
12	53,8	7/13	50	6/12			53,8	7/13	7,7	1/13	7,7	1/13			34	2
13	46,7	7/15	20	3/15			0	0/15	11,8	2/17	0	0/17			17	7
14	100	6/6	100	20/20	100	11/11	100	10/10	100	11/11	93,3	14/15			2201	
15			0	0/10	0	0/10	100	5/5	85,7	6/7			37,5	3/8	78	3
16	0	0/6									20	1/5			3	3
17	0	0/16	22,2	8/36			12,8	5/39	14,3	5/35	0	0/20			13	12
18	75	9/12									69,2	9/13			167	1
19	61,5	8/13			8,3	1/12	0	0/11	27,3	3/11	9,1	1/11			56	4
20	0	0/4									20	1/5			7	1
21	0	0/3									0	0/3			4	
22	0	0/6									20	1/5			16	1
23	25	1/4	44,4	12/27	44,4	12/27	30,8	8/26			75	3/4			8	
24	0	0/3									33,3	1/3			6	
25	0	0/3									0	0/3			4	
26	0	0/3									33,3	1/3			7	1
27	0	0/3									0	0/3			16	
28	100	5/5									40	2/5			234	
29	33,3	1/3	60	9/15	78,6	11/14	71,4	10/14	38,5	5/13	0	0/3			7	
30	0	0/1									0	0/1			15	
31	33,3	1/3									0	0/2			32	
Insg	38,5	92/239	35,3	84/238	37	51/138	27,7	51/184	32,6	77/236	27,2	74/272	37,5	3/8		98
															3453	

Betr. = Betrieb; **+U** = Zahl der mit Zecken befallenen Rinder / Zahl der Untersuchten; **neg.** = Zahl der Tiere des Betriebes, die während der gesamten Zeit negativ waren

8.3 Originaldaten zu: *Borrelia burgdorferi* IFAT, *Borrelia garinii* Westernblot, *Babesia divergens* IFAT

Tab. 19: Anzahl der pro Betrieb im IFAT untersuchten Tiere, Alter, beobachtete Antikörpertiter, Titer bei Kontrolluntersuchung (zur Überprüfung der Methode), Westernblot-Ergebnis, Anzahl der auf den getesteten Rindern gefundenen Zecken

Betrieb	Tier-Nr.	Alter	Titerstufe	Kontrolle	Westernblot	<i>Bab. div.</i> IFAT	Zecken
1	Z-1-2	6,5	0 (<1:16)			negativ	1
1	Z-1-3	5	3 (1:64)	3 (1:64)	positiv	negativ	3
1	Z-1-4	6,5	3 (1:64)		positiv	negativ	8
1	Z-1-6	5	0 (<1:16)			negativ	5
1	Z-1-7	8	3 (1:64)		grenzwertig	negativ	4
1	Z-1-8	5,5	3 (1:64)		positiv	negativ	4
1	Z-1-9	5,5	3 (1:64)		positiv	negativ	5
1	Z-1-10	3,5	3 (1:64)	3 (1:64)	positiv	negativ	13
1	Z-1-11	4	4 (1:128)			negativ	3
2	Z-2-2	4	3 (1:64)			negativ	0
2	Z-2-3	6,5	0 (<1:16)			negativ	0
2	Z-2-4	4	0 (<1:16)			negativ	0
2	Z-2-5	5,5	3 (1:64)			negativ	0
2	Z-2-7	5	1 (1:16)			negativ	0
2	Z-2-8	7,5	0 (<1:16)			negativ	0
2	Z-2-9	6	5 (1:256)		positiv	negativ	1
2	Z-2-10	4	5 (1:256)		positiv	negativ	0
2	Z-2-11	5	3 (1:64)			negativ	1
2	Z-2-12	7	1 (1:16)			negativ	0
2	Z-2-14	6,5	3 (1:64)			negativ	1
2	Z-2-16	4	2 (1:32)			negativ	1
2	Z-2-18	6	3 (1:64)			negativ	0
2	Z-2-21	7,5	3 (1:64)			negativ	0
2	Z-2-23	5	3 (1:64)			negativ	1
2	Z-2-24	8	1 (1:16)	2 (1:32)		negativ	0
2	Z-2-25	7,5	1 (1:16)			negativ	0
2	Z-2-26	3,5	3 (1:64)			negativ	0
2	Z-2-27	6	3 (1:64)	3 (1:64)		negativ	0
2	Z-2-28	3,5	0 (<1:16)			negativ	1
2	Z-2-29	3	1 (1:16)			negativ	2
2	Z-2-30	3	3 (1:64)			negativ	0
2	Z-2-31	3,5	3 (1:64)			negativ	0
2	Z-2-32	3,5	0 (<1:16)			negativ	0
2	Z-2-33	4	0 (<1:16)			negativ	0
2	Z-2-34	3	3 (1:64)			negativ	4
2	Z-2-35	3	3 (1:64)			negativ	1
2	Z-2-36	3	3 (1:64)	3 (1:64)		negativ	0
2	Z-2-37	3	3 (1:64)	3 (1:64)		negativ	1

Fortsetzung 8.3, Tab. 19: Anzahl der pro Betrieb im IFAT untersuchten Tiere, Alter, beobachtete Antikörpertiter, Titer bei Kontrolluntersuchung (zur Überprüfung der Methode), Westernblot-Ergebnis, Anzahl der auf den getesteten Rindern gefundenen Zecken

Betrieb	Tier-Nr.	Alter	Titerstufe	Kontrolle	Westernblot	Bab. div. IFAT	Zecken
2	Z-2-38	3	3 (1:64)			negativ	0
3	Z-3-1	3,5	0 (<1:16)			negativ	1
3	Z-3-2	4,5	3 (1:64)			negativ	4
3	Z-3-3	5	2 (1:32)			negativ	9
3	Z-3-7	4	1 (1:16)			negativ	4
3	Z-3-8	3	0 (<1:16)			negativ	1
3	Z-3-11	7	5 (1:256)	4 (1:128)	positiv	negativ	2
3	Z-3-12	4	3 (1:64)		positiv	negativ	2
3	Z-3-13	3	3 (1:64)		positiv	negativ	2
3	Z-3-14	7,5	3 (1:64)			negativ	0
3	Z-3-16	6	3 (1:64)		positiv	negativ	1
3	Z-3-17	4	3 (1:64)		positiv	negativ	2
3	Z-3-18	3	2 (1:32)			negativ	3
3	Z-3-20	4	2 (1:32)			negativ	2
3	Z-3-22	4	2 (1:32)	2 (1:32)		negativ	5
3	Z-3-23	3	1 (1:16)			negativ	0
3	Z-3-24	3,5	0 (<1:16)			negativ	0
3	Z-3-25	3	0 (<1:16)			negativ	0
3	Z-3-26	2,5	2 (1:32)			negativ	1
4	Z-4-1	3,5	0 (<1:16)			negativ	2
4	Z-4-2	6	3 (1:64)			negativ	10
4	Z-4-3	7,5	3 (1:64)			negativ	3
4	Z-4-4	6	3 (1:64)	3 (1:64)	grenzwertig	negativ	0
4	Z-4-5	5,5	0 (<1:16)			negativ	2
4	Z-4-6	3,5	3 (1:64)			negativ	1
4	Z-4-7	4	3 (1:64)			negativ	7
4	Z-4-8	9,5	3 (1:64)	3 (1:64)		negativ	2
4	Z-4-12	4,5	5 (1:256)	4 (1:128)	grenzwertig	negativ	3
4	Z-4-13	4,5	3 (1:64)			negativ	8
5	Z-5-1	8,5	3 (1:64)			negativ	20
5	Z-5-2	6	2 (1:32)			negativ	22
5	Z-5-3	4	1 (1:16)			negativ	18
5	Z-5-5	10	0 (<1:16)			negativ	28
5	Z-5-6	6	3 (1:64)	3 (1:64)	positiv	negativ	23
5	Z-5-7	8	2 (1:32)			negativ	17
5	Z-5-8	8	1 (1:16)			negativ	19
5	Z-5-9	5	1 (1:16)			negativ	10
5	Z-5-11	7	0 (<1:16)			negativ	46
5	Z-5-12	3	0 (<1:16)			negativ	3
6	Z-6-1	3,5	2 (1:32)			negativ	1
6	Z-6-2	5	1 (1:16)			negativ	0

Fortsetzung 8.3, Tab. 19: Anzahl der pro Betrieb im IFAT untersuchten Tiere, Alter, beobachtete Antikörpertiter, Titer bei Kontrolluntersuchung (zur Überprüfung der Methode), Westernblot-Ergebnis, Anzahl der auf den getesteten Rindern gefundenen Zecken

Betrieb	Tier-Nr.	Alter	Titerstufe	Kontrolle	Westernblot	Bab. div. IFAT	Zecken
6	Z-6-3	4	3 (1:64)		positiv	negativ	0
6	Z-6-5	8,5	0 (<1:16)			negativ	0
6	Z-6-6	4,5	0 (<1:16)			negativ	0
6	Z-6-7	4,5	4 (1:128)	4 (1:128)	positiv	negativ	2
6	Z-6-8	5,5	2 (1:32)			negativ	4
6	Z-6-10	7,5	2 (1:32)			negativ	0
6	Z-6-11	6	1 (1:16)			negativ	0
6	Z-6-12	5,5	2 (1:32)			negativ	0
6	Z-6-13	3,5	3 (1:64)			negativ	1
6	Z-6-14	4,5	1 (1:16)	2 (1:32)		negativ	2
6	Z-6-15	3,5	2 (1:32)	2 (1:32)		negativ	2
7	Z-7-1	4	0 (<1:16)	0 (<1:16)		negativ	1
7	Z-7-2	9	2 (1:32)			negativ	1
7	Z-7-3	5	0 (<1:16)			negativ	4
7	Z-7-4	6	2 (1:32)			negativ	0
8	Z-8-1	2,5	1 (1:16)			negativ	6
8	Z-8-2	2,5	2 (1:32)			negativ	0
8	Z-8-3	2,5	0 (<1:16)			negativ	0
8	Z-8-4	2,5	3 (1:64)		positiv	negativ	0
8	Z-8-5	3,5	0 (<1:16)			negativ	4
8	Z-8-6	1,5	3 (1:64)	3 (1:64)	positiv	negativ	2
8	Z-8-7	1,5	0 (<1:16)			negativ	3
8	Z-8-8	3,5	2 (1:32)			negativ	0
8	Z-8-9	3,5	4 (1:128)	4 (1:128)	grenzwertig	negativ	0
8	Z-8-10	2	2 (1:32)			negativ	3
8	Z-8-11	2	0 (<1:16)			negativ	6
8	Z-8-12	2,5	0 (<1:16)			negativ	0
8	Z-8-13	2,5	3 (1:64)		grenzwertig	negativ	2
8	Z-8-14	2,5	1 (1:16)			negativ	1
8	Z-8-15	3	2 (1:32)			negativ	1
8	Z-8-16	3	2 (1:32)			negativ	3
9	Z-9-3	3,5	3 (1:64)			negativ	1
9	Z-9-4	4	1 (1:16)			negativ	0
9	Z-9-6	4,5	1 (1:16)	2 (1:32)		negativ	0
9	Z-9-7	5,5	3 (1:64)	3 (1:64)	positiv	negativ	1
9	Z-9-8	5	1 (1:16)			negativ	0
9	Z-9-9	6,5	5 (1:256)	5 (1:256)	grenzwertig	negativ	0
9	Z-9-10	8,5	2 (1:32)			negativ	3
9	Z-9-12	3,5	3 (1:64)	3 (1:64)	positiv	negativ	3
9	Z-9-13	7,5	3 (1:64)			negativ	1
9	Z-9-14	2,5	3 (1:64)			negativ	0

Fortsetzung 8.3, Tab. 19: Anzahl der pro Betrieb im IFAT untersuchten Tiere, Alter, beobachtete Antikörpertiter, Titer bei Kontrolluntersuchung (zur Überprüfung der Methode), Westernblot-Ergebnis, Anzahl der auf den getesteten Rindern gefundenen Zecken

Betrieb	Tier-Nr.	Alter	Titerstufe	Kontrolle	Westernblot	Bab. div. IFAT	Zecken
9	Z-9-15	2,5	3 (1:64)	3 (1:64)		negativ	0
10	Z-10-1	2	1 (1:16)	1 (1:16)		negativ	1
10	Z-10-2	2,5	1 (1:16)			negativ	1
10	Z-10-3	2,5	0 (<1:16)			negativ	1
10	Z-10-4	2	0 (<1:16)			negativ	4
10	Z-10-5	1,5	0 (<1:16)			negativ	0
10	Z-10-6	1,5	1 (1:16)	1 (1:16)		negativ	2
11	Z-11-1	4	0 (<1:16)			negativ	0
11	Z-11-2	4	1 (1:16)	1 (1:16)		negativ	0
11	Z-11-3	4,5	0 (<1:16)			negativ	0
11	Z-11-4	6	4 (1:128)		positiv	negativ	0
11	Z-11-5	6	1 (1:16)			negativ	1
11	Z-11-6	7	0 (<1:16)			negativ	1
11	Z-11-7	9	3 (1:64)	3 (1:64)	positiv	negativ	1
11	Z-11-8	5	1 (1:16)	1 (1:16)		negativ	0
11	Z-11-9	4,5	3 (1:64)		positiv	negativ	1
11	Z-11-10	3	3 (1:64)	3 (1:64)	positiv	negativ	0
11	Z-11-11	3,5	0 (<1:16)			negativ	4
11	Z-11-14	3	1 (1:16)			negativ	0
11	Z-11-15	3,5	1 (1:16)			negativ	0
11	Z-11-16	3	3 (1:64)			negativ	0
12	Z-12-1	8	3 (1:64)			negativ	2
12	Z-12-2	4,5	3 (1:64)			negativ	3
12	Z-12-3	2,5	0 (<1:16)			negativ	1
12	Z-12-4	6	2 (1:32)			negativ	4
12	Z-12-5	7	0 (<1:16)	0 (<1:16)		negativ	2
12	Z-12-6	7,5	2 (1:32)			negativ	2
12	Z-12-7	5	1 (1:16)	1 (1:16)		negativ	6
12	Z-12-8	6	2 (1:32)			negativ	0
12	Z-12-10	5	3 (1:64)		positiv	negativ	5
12	Z-12-11	3,5	0 (<1:16)			negativ	3
12	Z-12-12	5	0 (<1:16)			negativ	1
12	Z-12-13	3	3 (1:64)			negativ	2
12	Z-12-14	4,5	3 (1:64)	3 (1:64)	grenzwertig	negativ	3
13	Z-13-1	3,5	0 (<1:16)			negativ	0
13	Z-13-3	3,5	3 (1:64)	3 (1:64)		negativ	3
13	Z-13-4	5,5	3 (1:64)	3 (1:64)	grenzwertig	negativ	1
13	Z-13-5	7	1 (1:16)			negativ	1
13	Z-13-6	5	1 (1:16)			negativ	0
13	Z-13-7	4,5	3 (1:64)			negativ	1
13	Z-13-8	4	5 (1:256)	4 (1:128)	positiv	negativ	3

Fortsetzung 8.3, Tab. 19: Anzahl der pro Betrieb im IFAT untersuchten Tiere, Alter, beobachtete Antikörpertiter, Titer bei Kontrolluntersuchung (zur Überprüfung der Methode), Westernblot-Ergebnis, Anzahl der auf den getesteten Rindern gefundenen Zecken

Betrieb	Tier-Nr.	Alter	Titerstufe	Kontrolle	Westernblot	Bab. div. IFAT	Zecken
13	Z-13-9	14,5	0 (<1:16)			negativ	0
13	Z-13-10	3,5	0 (<1:16)			negativ	1
13	Z-13-11	6,5	3 (1:64)	3 (1:64)		negativ	0
13	Z-13-12	7	0 (<1:16)			negativ	1
13	Z-13-13	4	2 (1:32)			negativ	1
13	Z-13-14	5	3 (1:64)			negativ	3
13	Z-13-15	4	1 (1:16)			negativ	0
13	Z-13-16	3	0 (<1:16)			negativ	0
13	Z-13-17	2,5	0 (<1:16)			negativ	0
14	Z-14-1	5	5 (1:256)		positiv	negativ	42
14	Z-14-2	3	5 (1:256)	5 (1:256)	grenzwertig	negativ	56
14	Z-14-3	3	5 (1:256)		positiv	negativ	214
14	Z-14-4	3	3 (1:64)			negativ	23
14	Z-14-5	3	5 (1:256)	5 (1:256)	grenzwertig	negativ	113
14	Z-14-6	2	3 (1:64)			negativ	95
14	Z-14-7	2	5 (1:256)		positiv	negativ	51
14	Z-14-11	4,5	3 (1:64)			negativ	127
14	Z-14-12	4,5	5 (1:256)		grenzwertig	negativ	455
14	Z-14-15	5,5	3 (1:64)	4 (1:128)	positiv	negativ	23
14	Z-14-16	5,5	4 (1:128)	4 (1:128)		negativ	46
14	Z-14-17	5,5	5 (1:256)			negativ	55
14	Z-14-18	5	1 (1:16)			negativ	31
14	Z-14-19	4,5	3 (1:64)			negativ	234
14	Z-14-20	6,5	3 (1:64)			negativ	34
14	Z-14-26	1	2 (1:32)	2 (1:32)		negativ	
14	Z-14-27	1	3 (1:64)		grenzwertig	1:16	
15	Z-15-1	2,5	2 (1:32)			negativ	
15	Z-15-2	2,5	3 (1:64)			negativ	1
15	Z-15-3	2,5	3 (1:64)	3 (1:64)	positiv	negativ	9
15	Z-15-4	2,5	0 (<1:16)			negativ	0
15	Z-15-5	2,5	0 (<1:16)			negativ	3
15	Z-15-6	3	2 (1:32)			negativ	0
15	Z-15-7	2,5	2 (1:32)			negativ	3
15	Z-15-9	2,5	1 (1:16)			negativ	0
15	Z-15-10	3	0 (<1:16)	1 (1:16)		negativ	27
15	Z-15-11	2,5	1 (1:16)			negativ	20
15	Z-15-12	3	3 (1:64)			negativ	15
16	Z-16-1	2	3 (1:64)		positiv	negativ	0
16	Z-16-2	2	3 (1:64)	3 (1:64)		negativ	0
16	Z-16-3	2	4 (1:128)		positiv	negativ	1
16	Z-16-5	2	1 (1:16)	1 (1:16)		negativ	0

Fortsetzung 8.3, Tab. 19: Anzahl der pro Betrieb im IFAT untersuchten Tiere, Alter, beobachtete Antikörpertiter, Titer bei Kontrolluntersuchung (zur Überprüfung der Methode), Westernblot-Ergebnis, Anzahl der auf den getesteten Rindern gefundenen Zecken

Betrieb	Tier-Nr.	Alter	Titerstufe	Kontrolle	Westernblot	Bab. div. IFAT	Zecken
16	Z-16-8	2	2 (1:32)			negativ	1
16	Z-16-4	2	3 (1:64)			negativ	
16	Z-16-6	2	4 (1:128)	4 (1:128)		negativ	
16	Z-16-7	2	3 (1:64)			negativ	
17	Z-17-1	3	1 (1:16)			negativ	2
17	Z-17-2	3	4 (1:128)		positiv	negativ	2
17	Z-17-3	3	0 (<1:16)			negativ	2
17	Z-17-4	2,5	4 (1:128)	3 (1:64)	grenzwertig	negativ	1
17	Z-17-5	2	0 (<1:16)			negativ	3
17	Z-17-6	2	3 (1:64)			negativ	0
17	Z-17-7	3	2 (1:32)			negativ	0
17	Z-17-8	2	7 (1:1024)	6 (1:512)	positiv	negativ	1
17	Z-17-9	1,5	1 (1:16)			negativ	0
17	Z-17-10	1,5	3 (1:64)		positiv	negativ	0
17	Z-17-11	2	2 (1:32)	2 (1:32)		negativ	0
17	Z-17-12	2	3 (1:64)		positiv	negativ	1
17	Z-17-13	2	3 (1:64)		positiv	negativ	0
17	Z-17-14	2	3 (1:64)			negativ	0
17	Z-17-15	2	4 (1:128)	4 (1:128)		negativ	0
17	Z-17-16	2	1 (1:16)			negativ	0
17	Z-17-17	2	0 (<1:16)			negativ	0
17	Z-17-18	2,5	0 (<1:16)			negativ	0
17	Z-17-19	2,5	3 (1:64)			negativ	1
17	Z-17-20	1,5	3 (1:64)			negativ	0
18	Z-18-2	3	1 (1:16)			negativ	22
18	Z-18-3	2	3 (1:64)		positiv	negativ	24
18	Z-18-4	3	1 (1:16)			negativ	13
18	Z-18-5	2	0 (<1:16)			negativ	1
18	Z-18-6	2	2 (1:32)			negativ	9
18	Z-18-7	2	0 (<1:16)			negativ	19
18	Z-18-8	2	2 (1:32)			negativ	11
18	Z-18-9	2,5	1 (1:16)			negativ	20
18	Z-18-10	2	3 (1:64)	2 (1:32)		negativ	3
18	Z-18-11	2	1 (1:16)			negativ	14
18	Z-18-12	1,5	0 (<1:16)			negativ	3
18	Z-18-13	1,5	3 (1:64)			negativ	4
18	Z-18-14	4	0 (<1:16)			negativ	0
19	Z-19-2	7	4 (1:128)			negativ	5
19	Z-19-3	9,5	0 (<1:16)			negativ	0
19	Z-19-5	8,5	1 (1:16)			negativ	6
19	Z-19-6	3,5	2 (1:32)			negativ	4

Fortsetzung 8.3, Tab. 19: Anzahl der pro Betrieb im IFAT untersuchten Tiere, Alter, beobachtete Antikörpertiter, Titer bei Kontrolluntersuchung (zur Überprüfung der Methode), Westernblot-Ergebnis, Anzahl der auf den getesteten Rindern gefundenen Zecken

Betrieb	Tier-Nr.	Alter	Titerstufe	Kontrolle	Westernblot	Bab. div. IFAT	Zecken
19	Z-19-7	6	0 (<1:16)			negativ	0
19	Z-19-8	3	1 (1:16)	1 (1:16)		negativ	14
19	Z-19-9	3	3 (1:64)		positiv	negativ	1
19	Z-19-10	3,5	3 (1:64)	3 (1:64)	positiv	negativ	10
19	Z-19-11	3,5	1 (1:16)			negativ	12
19	Z-19-12	11	3 (1:64)		grenzwertig	negativ	2
19	Z-19-13	11,5	1 (1:16)			negativ	0
20	Z-20-1	10,5	0 (<1:16)			negativ	2
20	Z-20-3	5	2 (1:32)			negativ	1
20	Z-20-4	4	2 (1:32)			negativ	0
20	Z-20-5	7	3 (1:64)	3 (1:64)	negativ	negativ	1
21	Z-21-1	5,5	3 (1:64)	3 (1:64)	positiv	negativ	1
21	Z-21-2	5,5	1 (1:16)			negativ	1
21	Z-21-3	5,5	2 (1:32)			negativ	2
22	Z-22-1	5	3 (1:64)	3 (1:64)	grenzwertig	negativ	0
22	Z-22-2	5	3 (1:64)			negativ	4
22	Z-22-4	6	3 (1:64)		positiv	negativ	2
22	Z-22-6	4,5	2 (1:32)	2 (1:32)		negativ	4
23	Z-23-1	3,5	0 (<1:16)			negativ	2
23	Z-23-2	6,5	1 (1:16)	2 (1:32)		negativ	2
23	Z-23-3	5,5	0 (<1:16)	1 (1:16)		negativ	2
24	Z-24-1	3,5	0 (<1:16)	0 (<1:16)		negativ	1
24	Z-24-3	4	3 (1:64)			negativ	3
24	Z-24-4	4,5	3 (1:64)			negativ	1
25	Z-25-1	3,5	0 (<1:16)			negativ	1
25	Z-25-2	5	0 (<1:16)	0 (<1:16)		negativ	2
25	Z-25-3	8	3 (1:64)			negativ	1
26	Z-26-1	8	4 (1:128)	5 (1:256)	grenzwertig	negativ	3
26	Z-26-2	5	3 (1:64)	3 (1:64)	positiv	negativ	0
26	Z-26-3	3,5	3 (1:64)			negativ	4
27	Z-27-1	15,5	0 (<1:16)			negativ	3
27	Z-27-2	3	3 (1:64)			negativ	9
27	Z-27-3	4,5	2 (1:32)	2 (1:32)		negativ	4
28	Z-28-1	4	0 (<1:16)			negativ	75
28	Z-28-2	4,5	3 (1:64)		positiv	negativ	46
28	Z-28-3	9	3 (1:64)	3 (1:64)	negativ	negativ	38
28	Z-28-4	5	4 (1:128)	4 (1:128)	grenzwertig	negativ	16
28	Z-28-5	4,5	2 (1:32)	2 (1:32)		negativ	59
29	Z-29-1	7,5	3 (1:64)			negativ	3
29	Z-29-2	5,5	2 (1:32)	2 (1:32)		negativ	1
29	Z-29-3	7,5	0 (<1:16)			negativ	3

Fortsetzung 8.3, Tab. 19: Anzahl der pro Betrieb im IFAT untersuchten Tiere, Alter, beobachtete Antikörpertiter, Titer bei Kontrolluntersuchung (zur Überprüfung der Methode), Westernblot-Ergebnis, Anzahl der auf den getesteten Rindern gefundenen Zecken

Betrieb	Tier-Nr.	Alter	Titerstufe	Kontrolle	Westernblot	<i>Bab. div.</i> IFAT	Zecken
30	Z-30-1	5,5	3 (1:64)	2 (1:32)	grenzwertig	negativ	15
31	Z-31-2	5	1 (1:16)	1 (1:16)		negativ	11
31	Z-31-3	4,5	2 (1:32)			negativ	14
		Ø 4,4	Ø 1,99				2693

Ø 4,4 = Durchschnittsalter von 4,4 Jahren; **Ø 1,99** = durchschnittliche Antikörper-Titerstufe im IFAT; **Titerstufe** = *Borrelia burgdorferi* Antikörper-Titerstufe bei Erstuntersuchung im IFAT, in Klammern Antikörpertiter; **Kontrolle** = Titerstufe der *Borrelia burgdorferi* IFAT-Kontrolluntersuchung zur Überprüfung der Methode, in Klammern Antikörpertiter; ***Bab. div.* IFAT** = Ergebnis des *Babesia divergens* IFAT

8.4 Originaldaten zu *Fasciola hepatica* ELISA

Tab. 20: Test 1: Darstellung der pro Betrieb getesteten Rinderseren und der jeweils ermittelten Werte

		OD-inakt. Ag	OD-Kontroll-Ag	Netto-OD	Netto-OD korrig.	S/P150%	S/P600%	Befallsintensität
	Negativkontrolle	0,189	0,196	0,007				
	Positivk. 150UHA	0,219	1,142	0,923	0,916			
	Positivk. 600UHA	0,191	1,68	1,489	1,482			
Betrieb	Tier-Nr.							
3	Z - 3 - 2	0,194	1,896	1,702	1,695	185,0	114,4	+++
	Z - 3 - 7	0,209	1,903	1,694	1,687	184,2	113,8	+++
	Z - 3 - 12	0,165	1,784	1,619	1,612	176,0	108,8	+++
	Z - 3 - 16	0,204	1,832	1,628	1,621	177,0	109,4	+++
	Z - 3 - 17	0,181	1,419	1,238	1,231	134,4	83,1	++
	Z - 3 - 18	0,214	1,891	1,677	1,67	182,3	112,7	+++
	Z - 3 - 20	0,228	1,812	1,584	1,577	172,2	106,4	+++
5	Z - 5 - 1	0,233	1,855	1,622	1,615	176,3	109,0	+++
	Z - 5 - 3	0,196	1,741	1,545	1,538	167,9	103,8	+++
	Z - 5 - 6	0,189	1,863	1,674	1,667	182,0	112,5	+++
	Z - 5 - 7	0,183	1,618	1,435	1,428	155,9	96,4	++
17	Z - 17 - 1	0,199	1,329	1,13	1,123	122,6	75,8	++
	Z - 17 - 2	0,194	1,775	1,581	1,574	171,8	106,2	+++
	Z - 17 - 7	0,171	0,175	0,004	-0,003	-0,3	-0,2	-
	Z - 17 - 11	0,144	0,151	0,007	0,00	0,0	0,0	-
	Z - 17 - 12	0,369	0,315	-0,054	-0,061	-6,7	-4,1	-
	Z - 17 - 13	0,155	0,166	0,011	0,004	0,4	0,3	-
	Z - 17 - 15	0,173	0,253	0,08	0,073	8,0	4,9	-
	Z - 17 - 16	0,166	0,154	-0,012	-0,019	-2,1	-1,3	-
19	Z - 19 - 6	0,14	0,782	0,642	0,635	69,3	42,8	+
	Z - 19 - 9	0,298	0,7	0,402	0,395	43,1	26,7	-
7	Sp. v. Z - 7	0,156	1,379	1,223	1,216	132,8	82,1	++
9	Z - 9 - 3	0,154	0,213	0,059	0,052	5,7	3,5	-
	Z - 9 - 7	0,167	0,176	0,009	0,002	0,2	0,1	-
	Z - 9 - 8	0,147	0,142	-0,005	-0,012	-1,3	-0,8	-
	Z - 9 - 9	0,233	0,269	0,036	0,029	3,2	2,0	-
10	Sp. v. Z - 10	0,195	1,083	0,888	0,881	96,2	59,4	+
28	Sp. v. Z - 28	0,172	1,363	1,191	1,184	129,3	79,9	++
27	Sp. v. Z - 27	0,179	1,802	1,623	1,616	176,4	109,0	+++
29	Sp. v. Z - 29	0,171	1,89	1,719	1,712	186,9	115,5	+++
31	Sp. v. Z - 31	0,227	1,88	1,653	1,646	179,7	111,1	+++
30	Z - 30 - 1	0,177	1,87	1,693	1,686	184,1	113,8	+++
21	Sp. v. Z - 21	0,228	1,183	0,955	0,948	103,5	64,0	++
22	Sp. v. Z - 22	0,141	1,652	1,511	1,504	164,2	101,5	+++
23	Sp. v. Z - 23	0,183	1,454	1,271	1,264	138,0	85,3	++
24	Sp. v. Z - 24	0,146	0,866	0,72	0,713	77,8	48,1	+
25	Sp. v. Z - 25	0,172	1,919	1,747	1,74	190,0	117,4	+++

Tab. 21: Test 2: Darstellung der pro Betrieb getesteten Rinderseren und der jeweils ermittelten Werte

		OD-inakt. Ag	OD-Kontroll-Ag	Netto-OD	Netto-OD korrig.	S/P150%	S/P600%	Befallsintensität
	Negativkontrolle	0,215	0,236	0,021				
	Positivk. 150UHA	0,214	0,999	0,785	0,764			
	Positivk. 600UHA	0,184	1,562	1,378	1,357			
Betrieb	Tier-Nr.							
1	Z - 1 - 10	0,222	1,842	1,62	1,599	209,293	117,833	+++
4	Z - 4 - 4	0,197	1,241	1,044	1,023	133,901	75,387	++
	Z - 4 - 6	0,249	1,347	1,098	1,077	140,969	79,366	++
	Z - 4 - 7	0,225	0,726	0,501	0,48	62,827	35,372	+
	Z - 4 - 8	0,268	1,282	1,014	0,993	129,974	73,176	++
	Z - 4 - 10	0,205	0,626	0,421	0,4	52,356	29,477	+
16	Z - 16 - 2	0,173	1,691	1,518	1,497	195,942	110,317	+++
11	Z - 11 - 1	0,195	1,517	1,322	1,301	170,288	95,873	++
	Z - 11 - 2	0,239	1,628	1,389	1,368	179,058	100,811	+++
	Z - 11 - 3	0,166	1,529	1,363	1,342	175,654	98,895	++
	Z - 11 - 4	0,628	1,83	1,202	1,181	154,581	87,030	++
	Z - 11 - 5	0,358	1,782	1,424	1,403	183,639	103,390	+++
	Z - 11 - 8	0,192	1,812	1,62	1,599	209,293	117,833	+++
	Z - 11 - 11	0,184	1,255	1,071	1,05	137,435	77,377	++
12	Z - 12 - 1	0,223	0,212	-0,011	-0,032	-4,188	-2,358	-
	Z - 12 - 2	0,28	1,668	1,388	1,367	178,927	100,737	+++
	Z - 12 - 3	0,262	0,338	0,076	0,055	7,199	4,053	-
	Z - 12 - 5	0,164	1,612	1,448	1,427	186,780	105,158	+++
	Z - 12 - 6	0,215	1,632	1,417	1,396	182,723	102,874	+++
	Z - 12 - 12	0,188	1,731	1,543	1,522	199,215	112,159	+++
13	Z - 13 - 1	0,165	0,19	0,025	0,004	0,524	0,295	-
	Z - 13 - 2	0,202	0,296	0,094	0,073	9,555	5,380	-
	Z - 13 - 6	0,186	1,498	1,312	1,291	168,979	95,136	++
	Z - 13 - 8	0,194	0,197	0,003	-0,018	-2,356	-1,326	-
	Z - 13 - 11	0,187	0,181	-0,006	-0,027	-3,534	-1,990	-
	Z - 13 - 12	0,17	0,185	0,015	-0,006	-0,785	-0,442	-
	Z - 13 - 13	0,165	0,177	0,012	-0,009	-1,178	-0,663	-
15	Z - 15 - 3	0,427	1,448	1,021	1	130,890	73,692	++
	Z - 15 - 4	0,242	0,98	0,738	0,717	93,848	52,837	+
	Z - 15 - 5	0,208	1,343	1,135	1,114	145,812	82,093	++
	Z - 15 - 8	0,188	1,065	0,877	0,856	112,042	63,080	++
	Z - 15 - 10	0,178	0,93	0,752	0,731	95,681	53,869	+

Tab 22: Test 3: Darstellung der pro Betrieb getesteten Rinderseren und der jeweils ermittelten Werte

		OD-inakt. Ag	OD-Kontroll-Ag	Netto-OD	Netto-OD korrig.	S/P150%	S/P600%	Befallsintensität
	Negativkontrolle	0,201	0,259	0,058				
	Positivk. 150UHA	0,212	1,176	0,964	0,906			
	Positivk. 600UHA	0,2	1,672	1,472	1,414			
Betrieb	Tier-Nr.							
1	Z - 1 - 2	0,26	1,312	1,052	0,994	109,713	70,297	++
	Z - 1 - 3	0,198	1,196	0,998	0,94	103,753	66,478	++
	Z - 1 - 4	0,246	1,61	1,364	1,306	144,150	92,362	++
	Z - 1 - 6	0,188	0,187	-0,001	-0,059	-6,512	-4,173	-
2	Z - 2 - 3	0,22	1,83	1,61	1,552	171,302	109,760	+++
	Z - 2 - 4	0,24	1,455	1,215	1,157	127,704	81,825	++
	Z - 2 - 7	0,641	1,99	1,349	1,291	142,494	91,301	++
	Z - 2 - 12	0,212	1,781	1,569	1,511	166,777	106,860	+++
	Z - 2 - 23	0,169	1,693	1,524	1,466	161,810	103,678	+++
	Z - 2 - 25	0,173	1,838	1,665	1,607	177,373	113,649	+++
	Z - 2 - 26	0,223	1,727	1,504	1,446	159,603	102,263	+++
	Z - 2 - 27	0,159	1,857	1,698	1,64	181,015	115,983	+++
16	Z - 16 - 3	0,195	1,587	1,392	1,334	147,241	94,342	++
	Z - 16 - 5	0,158	1,453	1,295	1,237	136,534	87,482	++
18	Z - 18 - 2	0,157	1,85	1,693	1,635	180,464	115,629	+++
	Z - 18 - 3	0,284	0,773	0,489	0,431	47,572	30,481	-
	Z - 18 - 4	0,244	1,398	1,154	1,096	120,971	77,511	++
	Z - 18 - 5	0,248	1,246	0,998	0,94	103,753	66,478	++
	Z - 18 - 8	0,241	1,512	1,271	1,213	133,885	85,785	++
	Z - 18 - 9	0,203	1,572	1,369	1,311	144,702	92,716	++
8	Z - 8 - 7	0,183	0,285	0,102	0,044	4,857	3,112	-
	Z - 8 - 8	0,318	1,954	1,636	1,578	174,172	111,598	+++
	Z - 8 - 9	0,208	1,858	1,65	1,592	175,717	112,588	+++
	Z - 8 - 10	0,282	1,295	1,013	0,955	105,408	67,539	++
	Z - 8 - 11	0,21	0,261	0,051	-0,007	-0,773	-0,495	-
	Z - 8 - 12	0,165	1,773	1,608	1,55	171,082	109,618	+++
	Z - 8 - 14	0,156	1,524	1,368	1,31	144,592	92,645	++
	Z - 8 - 15	0,335	1,922	1,587	1,529	168,764	108,133	+++
6	Z - 6 - 1	0,165	0,519	0,354	0,296	32,671	20,934	-
	Z - 6 - 5	0,317	1,27	0,953	0,895	98,786	63,296	+
	Z - 6 - 6	0,206	1,337	1,131	1,073	118,433	75,884	++
	Z - 6 - 7	0,21	0,392	0,182	0,124	13,687	8,769	-
	Z - 6 - 8	0,251	0,839	0,588	0,53	58,499	37,482	+
	Z - 6 - 10	0,238	0,244	0,006	-0,052	-5,740	-3,678	-
	Z - 6 - 12	0,193	0,188	-0,005	-0,063	-6,954	-4,455	-
26	Sp. v. Z - 26	0,176	0,98	0,804	0,746	82,340	52,758	+
20	Sp. v. Z - 20	0,169	1,51	1,341	1,283	141,611	90,736	++

Tab 23: Test 4: Darstellung der pro Betrieb getesteten Rinderseren und der jeweils ermittelten Werte

		OD-inakt. Ag	OD-Kontroll-Ag	Netto-OD	Netto-OD korrig.	S/P150%	S/P600%	Befallsintensität
	Negativkontrolle	0,12	0,13	0,01				
	Positivk. 150UHA	0,13	1,03	0,90	0,89			
	Positivk. 600UHA	0,23	1,76	1,52	1,51			
Betrieb	Tier-Nr.							
14	Z - 14 - 1	0,19	1,94	1,75	1,74	195,18	115,13	+++
	Z - 14 - 2	0,16	1,98	1,82	1,81	202,80	119,62	+++
	Z - 14 - 3	0,23	1,84	1,60	1,59	178,39	105,22	+++
	Z - 14 - 4	0,15	1,84	1,68	1,68	187,57	110,63	+++
	Z - 14 - 5	0,12	1,84	1,72	1,71	191,60	113,01	+++
	Z - 14 - 6	0,12	1,82	1,71	1,70	189,92	112,02	+++
	Z - 14 - 7	0,11	1,72	1,61	1,60	179,06	105,61	+++
	Z - 14 - 11	0,08	1,83	1,75	1,74	194,96	114,99	+++
	Z - 14 - 12	0,19	1,93	1,74	1,73	193,73	114,27	+++
	Z - 14 - 15	0,10	1,93	1,82	1,81	203,14	119,82	+++
	Z - 14 - 16	0,09	1,80	1,72	1,71	191,04	112,68	+++
	Z - 14 - 17	0,13	1,98	1,85	1,84	206,16	121,60	+++
	Z - 14 - 18	0,19	2,04	1,85	1,84	206,38	121,73	+++
	Z - 14 - 19	0,25	2,02	1,77	1,76	197,09	116,25	+++
	Z - 14 - 20	0,14	1,88	1,74	1,73	193,84	114,33	+++

OD-inakt. Ag = Optische Dichte des inaktivierten Antigens; **OD-Kontroll-Ag** = Optische Dichte des Kontroll-Antigens; **Netto-OD** = Differenz zwischen der OD (bei 450 nm) des Kontroll-Antigens und der OD des inaktivierten Antigens; **Netto-OD korrig.** = korrigierter Netto-OD-Wert, d. h. Differenz zwischen Netto-OD-Wert der Probe und Netto-OD-Wert der Negativkontrolle; **S/P150%** = (korrigierter Netto-OD-Wert der Probe/korrigierter Netto-OD-Wert der Positivkontrolle zu 150 HA Einheiten) x 100; **S/P600%** = (korrigierter Netto-OD-Wert der Probe/korrigierter Netto-OD-Wert der Positivkontrolle zu 600 HA Einheiten) x 100; **Positivk. 150 bzw. 600 UHA** = Positivkontrolle zu 150 bzw. 600 Hämagglutinierenden Einheiten; „-“ = negativ; „+“ = schwach positiv; „++“ = mittelgradig positiv; „+++“ = hoch positiv;

9. Literaturverzeichnis

- ACKERMANN R.** (1986). Erythema-migrans-Borreliose und Frühsommer-Meningoenzephalitis. *Dtsch. Ärztebl.* **83**, 1765-1774.
- ACKERMANN R.** und B. REHSE-KÜPPER (1979). Die Zentraleuropäische Enzephalitis in der Bundesrepublik Deutschland. *Fortschr. Neurol. Psychiatr.*, Georg Thieme Verlag Stuttgart **47**, 103-122.
- ACKERMANN R.**, J. KABATZKI, H. BOISTEN, A. STEERE, R. GRODZICKI, S. HARTUNG und U. RUNNE (1984). Spirochaeten-Ätiologie der Erythema-chronicum-migrans-Krankheit. *Dtsch. Med. Wschr.* **109**, 92-97.
- ACKERMANN R.**, E. GOLLMER und B. REHSE-KÜPPER (1985). Progressive Borrelien-Enzephalomyelitis. *Dtsch. Med. Wschr.* **110**, 1039-1042.
- AESCHLIMANN A.** (1972). *Ixodes ricinus*, Linné, 1758 (*Ixodoidea*; *Ixodidae*); Essai préliminaire de synthèse sur la biologie de cette espèce en Suisse. *Acta Trop.* **29**, 321-340.
- AFZELIUS A.** (1909). Report zu Verhandlungen der Dermatologischen Gesellschaft zu Stockholm am 16. Dezember 1909. *Arch. Derm. Syph.* **101**, 405-406.
- BABÈS V.** (1888). Sur hémoglobinurie bactérienne du boeuf. *Compt. Rend. Acad. Sci.* **107**, 692-694.
- BÄVERSTEDT B.** (1943). Über Lymphadenosis benigna cutis. *Acta Dermatovenereologica* (Stockholm) Suppl. **24**, 1-202.
- BANNWARTH A.** (1941). Chronische lymphozytäre Meningitis, entzündliche Polyneuritis und "Rheumatismus". *Arch. Psychiatr. Nervenkrankh.* **113**, 284-376.
- BARBOUR A. G.** (1988a). Antigenic Variation of Surface Proteins of *Borrelia* Species. *Rev. Infect. Dis.* **10**, 399-401.

-
- BARBOUR A. G.** (1988b). Plasmid Analysis of *Borrelia burgdorferi*, the Lyme Disease Agent. *J. Clin. Microbiol.* **26**, 475-478.
- BARBOUR A. G.** und S. F. HAYES (1986). Biology of *Borrelia* Species. *Microbiol. Rev.* **50** (4), 381-400.
- BARBOUR A. G.**, S. L. TESSIER und S. F. HAYES (1984). Variation in a Major Surface Protein of Lyme Disease Spirochetes. *Infect. Immun.* **45**, 94-100.
- BARBOUR A. G.**, R. A. HEILAND und T. R. HOWE (1985). Heterogeneity of Major Proteins in Lyme Disease Borreliae: A Molecular Analysis of North American and European Isolates. *J. Infect. Dis.* **152** (3), 478-484.
- BARBOUR A. G.**, S. F. HAYES, R. A. HEILAND, M. A. SCHRUMPF und S. L. TESSIER (1986). A *Borrelia*-Specific Monoclonal Antibody Binds to a Flagellar Epitope. *Infect. Immun.* **52**, 549-554.
- BARK S.** (1986). Zur Diagnose und Verbreitung der einheimischen Zecken – Borreliose beim Tier. *Vet. Med. Diss.* München.
- BARNARD D. R.** (1981). Seasonal activity and preferred attachment sites of *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) on cattle in southeastern Oklahoma. *J. Kans. Entomol. Soc.* **53**, 547-552.
- BENACH J. L.**, E. M. BOSLER, J. P. HANRAHAN, J. L. COLEMAN, G. S. HABICHT, T. F. BAST, D. J. CAMERON, F. L. ZIEGLER, A. G. BARBOUR, W. BURGENDORFER, R. EDELMANN und R. A. KASLOW (1983). Spirochetes isolated from the blood of two patients with Lyme disease. *New Engl. J. Med.* **308**, 740-742.
- BINNINGTON K. C.** und D. H. KEMP (1980). Role of Tick Salivary Glands in Feeding and Disease Transmission. In: *Advances in Parasitology*, Vol. 18, ed.: W. H. R. Lumsden, R. Muller, J. R. Baker, Academic Press London, New York, Toronto, San Francisco, Sydney.

-
- BISSET M. L.** und W. HILL (1987). Characterization of *Borrelia burgdorferi* Strains Isolated from *Ixodes pacificus* Ticks in California. *J. Clin. Microbiol.* **25**, 2296-2301.
- BLOWEY R. W.**, S. D. CARTER, A. G. WHITE und A. BARNES (1994). *Borrelia burgdorferi* infections in UK cattle: a possible association with digital dermatitis. *Vet. Rec.* **135**, 577-578.
- BOCH J.** (1985). Babesieninfektionen bei Pferd, Rind und Hund in Süddeutschland. *Tierärztl. Prax. Suppl. 1*, 3-7.
- BÖSE R.**, CH. SCHELP und K. T. FRIEDHOFF (1994). Babesiosen. In: *Immunologische und Molekulare Parasitologie*, M. Röllinghoff, M. Rommel (Hrsg.), Gustav Fischer Verlag, Jena, 127-144.
- BOSLER E. M.** und T. L. SCHULZE (1986). The Prevalence and Significance of *Borrelia burgdorferi* in the Urine of Feral Reservoir Hosts. *Zbl. Bakt. Hyg. A* **263**, 40-44.
- BRAND A.** (1990). Vergleichende seroepidemiologische Untersuchung von Rindern auf Zeckenborreliose in der Südheide und im Weserbergland. *Vet. Med. Diss.* Hannover.
- BUCHWALD A.** (1883). Ein Fall von diffuser idiopathischer Haut Atrophie. *Arch. Derm. Syph.* **10**, 553-556.
- BURGDORFER W.**, A. G. BARBOUR, S. F. HAYES, J. L. BENACH, E. GRUNWALDT und J. P. DAVIS (1982). Lyme Disease – A Tick Borne Spirochetosis? *Science* **216** (4552), 1317-1319.
- BURGDORFER W.**, R. S. LANE, A. G. BARBOUR, R. A. GRESBRINK und J. R. ANDERSON (1985). The Western Black-Legged Tick, *Ixodes pacificus*: a Vector of *Borrelia burgdorferi*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **34** (5), 925-930.
- BURGESS E. C.** (1986). Experimental Inoculation of Dogs with *Borrelia burgdorferi*. *Zbl. Bakt. Hyg. A* **263**, 49-54.

-
- BURGESS E. C.** (1988). *Borrelia burgdorferi* Infection in Wisconsin Horses and Cows. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **539**, 235-243.
- BURGESS E. C.** und L. A. PATRICAN (1987). Oral infection of *Peromyscus maniculatus* with *Borrelia burgdorferi* and subsequent transmission by *Ixodes dammini*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **36** (2), 402-407.
- BURGESS E. C.**, A. GENDRON-FITZPATRICK und W. O. WRIGHT (1987). Arthritis and systemic disease caused by *Borrelia burgdorferi* infection in a cow. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **191** (11), 1468-1470.
- BURGESS E. C.**, M. D. WACHAL und T. D. CLEVEN (1993). *Borrelia burgdorferi* infection in dairy cows, rodents, and birds from four Wisconsin dairy farms. *Vet. Microbiol.* **35**, 61-77.
- BUSHMICH S. L.** (1994). Lyme Borreliosis in Domestic Animals. *J. Spirochetel Tick-Borne Dis.* **1** (1), 24-28.
- CABANNES A.**, J. C. HERNANDEZ, F. LUCCHESI, M. APPRIOU und J. TRIBOULEY-DURET (1997). Borreliose de Lyme dans le cheptel bovin et ovin du departement de la Gironde. *Med. Malad. Infect.* **27**, 878-883.
- CHRISTEN H.** (1987). Die Lyme-Borreliose : Ätiopathologie und Klinik. *Hyg. Med.* **12**, 352-356.
- CRANWELL M. P.** und S. J. CUTLER (1996). Lyme disease serology in cattle. *Vet. Rec.*, June 1, 551-552.
- DANAÏLOV J.**, G. GRÄFNER, P. BETKE und H. BLUM (1965). Epizootologische und morphologische Untersuchungen über die Rinderpiroplasmose in Mecklenburg. *Monatsh. Veterinärmed.* **20**, 45-50.
- DATTWYLER R.**, D. VOLKMANN, B. LUFT und J. J. HALPERIN (1987). Lyme disease in Europe and North America. *Lancet* **I**, 681.

-
- DEDIÉ K.**, J. BOCKEMÜHL, H. KÜHN, K.-J. VOLKMER und T. WEINKE (1993). Zeckenstich-Borreliose. In: *Bakterielle Zoonosen bei Tier und Mensch*, Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart, 399-411.
- DONNELLY J.** und M. A. PEIRCE (1975). Experiments on the Transmission of *Babesia divergens* to Cattle by the Tick *Ixodes ricinus*. *Int. J. Parasitol.* **5**, 363-367.
- DRESSLER F.**, J. A. WHALEN, B. N. REINHARDT und A. C. STEERE (1993). Western Blotting in the Serodiagnosis of Lyme Disease. *J. Infect. Dis.* **167**, 392-400.
- DRESSLER F.**, R. ACKERMANN und A. C. STEERE (1994). Antibody Responses to the Three Genomic Groups of *Borrelia burgdorferi* in European Lyme Borreliosis. *J. Inf. Dis.* **169**, 313-318.
- ENIGK K.**, K. FRIEDHOFF und S. WIRAHADIREDDJA (1963). Die Piroplasmosen der Wiederkäuer in Deutschland. *Dtsch. Tierärztl. Wschr.* **70**, 422-426.
- FINGERLE V.**, U. HAUSER, G. LIEGL, B. PETKO, V. PREAC-MURSIC und B. WILSKE (1995). Expression of Outer Surface Proteins A and C of *Borrelia burgdorferi* in *Ixodes ricinus*. *J. Clin. Microbiol.* **33** (7), 1867-1869.
- FINGERLE V.**, H. LAUX, U. G. MUNDERLOH, U. SCHULTE-SPECHTEL und B. WILSKE (2000). Differential Expression of Outer Surface Proteins A and C by Individual *Borrelia burgdorferi* in Different Genospecies. *Med. Microbiol. Immun.* **189** (2), 59-66.
- GARIN C.** und BUJADOUX (1922). Paralysis par les tiques. *J. Med. Lyon* **1**, 765-767.
- GRÜNDER H.-D.** (2002). Leberegelbefall. In: *Innere Medizin und Chirurgie des Rindes*, G. Dirksen, H.-D. Gründer, M. Stöber (Hrsg.), Blackwell Verlag GmbH, Berlin, Wien, 4., vollst. neubearb. Aufl., 640-644.
- HABICHT G. S.**, G. BECK und J. L. BENACH (1987). Lyme Disease. *Sci. Am.* **257**, 60-65.

-
- HERZER P.** und B. WILSKE (1986). Lyme Arthritis in Germany. *Zbl. Bakt. Hyg. A* **263**, 268-274.
- HESCH R. D.** (1999). Statement zur Borreliendiagnostik. *Internet: <http://www.zfbm.uni-konstanz.de/info/borrel/statement.htm>*
- HILLYARD P. D.** (1996). The Ticks of North-West Europe. *The Natural History Museum, London.*
- HORST H.** (1991). Serodiagnostik. In: *Einheimische Zeckenborreliose (Lyme-Krankheit) bei Mensch und Tier*, H. Horst (Hrsg.), perimed-Fachbuch-Verl.-Ges., Erlangen, 120-126.
- HOVIND-HOUGEN K.**, E. ASBRINK, G. STIERNSTEDT, A. C. STEERE und A. HOVMARK (1986). Ultrastructural Differences among Spirochetes Isolated from Patients with Lyme Disease and Related Disorders, and from *Ixodes ricinus*. *Zbl. Bakt. Hyg. A* **263**, 103-111.
- HOVMARK A.**, E. ASBRINK, O. SCHWAN, B. HEDERSTEDT und D. CHRISTENSSON (1986). Antibodies to *Borrelia Spirochetes* in sera from swedish cattle and sheep. *Acta Vet. Scand.* **27**, 479-485.
- HUWER M.**, A. SCHWARZMAIER, H.-D. HAMEL und R. WILL (1994). Zum Vorkommen von *Babesia divergens* im Bezirk Freiburg i. Br. und Versuche zur Piroplasmoseprophylaxe beim Rind. *Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.* **107**, 198-202.
- HYDE F. W.** und R.C. JOHNSON (1984). Genetic Relationship of Lyme Disease Spirochetes to *Borrelia*, *Treponema*, and *Leptospira* spp. *J. Clin. Microbiol.* **20**, 151-154.
- IGARASHI I.**, M. AIKAWA und J. P. KREIER (1988). Host Cell-Parasite Interactions in Babesiosis. In: Miodrag Ristic (ed.), *Babesiosis of Domestic Animals and Man*, CRC Press, Inc., 2000 Corporate Blvd., N. W., Boca Raton, Florida, 53-69.

-
- JACKSCHATH E.** (1901). Die Malaria der Rinder in Deutschland. *Zbl. Bakt., I. Abt. Orig.* **29**, 585-589.
- JETTMAR H. M.** (1957). Über die Rolle der Zecken bei der Verbreitung der zweiwelligen Virus-Meningoencephalitis in Österreich. *Anz. Schädlingskd.* **30** (9), 129-132.
- JI B.** und M. T. COLLINS (1994). Seroepidemiologic survey of *Borrelia burgdorferi* exposure of dairy cattle in Wisconsin. *Am. J. Vet. Res.* **55**, 1228-1231.
- JOHNSON R. C., G. P. SCHMID, F. W. HYDE, A. G. STEIGERWALD und D. J. BRENNER** (1984). *Borrelia burgdorferi* sp. nov. : Etiologic Agent of Lyme Disease. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **34**, 496-497.
- JOHNSON R. C., C. KODNER und M. RUSSELL** (1987). In Vitro and In Vivo Susceptibility of the Lyme Disease Spirochete, *Borrelia burgdorferi*, to Four Antimicrobial Agents. *Antimicrob. Agents Ch.* **31** (2), 164-167.
- JUNGMANN R.** (1966). Die Piroplasmose des Rindes in der DDR. Ein Beitrag zur Epizootologie, Therapie und Prophylaxe. *Monatsh. Veterinärmed.* **21**, 259-266.
- KAHL O.** (1994). Die Zecke als Vektor. 2. *Potsdamer Symposium. Durch Zecken übertragbare Erkrankungen.* Hrsg. J. Süß Weller Verlag, 1-19.
- KAKOMA I.** und H. MEHLHORN (1994). *Babesia* of Domestic Animals. In: J. P. Kreier (ed.), *Parasitic Protozoa*, 2nd ed., vol. **7**, Academic Press, San Diego, Calif., 141-216.
- KÄSBOHRER A.** und A. SCHÖNBERG (1990). Serologische Untersuchungen zum Vorkommen von *Borrelia burgdorferi* bei Haustieren in Berlin (West). *Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.* **103**, 374-378.
- KOCHI S. K.** und R. C. JOHNSON (1988). Role of Immunoglobulin G in Killing of *Borrelia burgdorferi* by the Classical Complement Pathway. *Infect. Immun.* **56** (2), 314-321.

-
- KOPP GÓMEZ J. A.** (1990). Natürliche und experimentelle Infektionen bei Haustieren mit durch Zecken übertragenen Borrelien. *Vet. Med. Diss.* Hannover.
- KOSSEL H., A. WEBER, W. SCHÜTZ und H. MIESSNER** (1904). Über die Hämoglobinurie der Rinder in Deutschland. *Arb. Gesundheits-Amte* (Berl.) **19**, 1-77.
- KRAMPITZ H. E. und S. BARK** (1987). Zur Epidemiologie der Ixodes-Borreliose in Süddeutschland. *Infect. Immun.* **15**, 141-145.
- KURTENBACH K., W. MAIER und H. M. SEITZ** (1988). Die Verbreitung von *Ixodes ricinus* im Siebengebirge bei Bonn und erste Untersuchungen zur Infektion der Zecken mit *Borrelia burgdorferi*. 13. Tag. *Dtsch. Ges. Parasitol.*, Neuchâtel (Schweiz), März 1988, Abstracts, S. 22-25.
- KURTENBACH K., S. DE MICHELIS, H.-S. SEWELL, S. ETTI, S. M. SCHÄFER, R. HAILS, M. COLLARES-PEREIRA, M. SANTOS-REIS, K. HANINCOVA, M. LABUDA, A. BORMANE und M. DONAGHY** (2001). Distinct Combinations of *Borrelia burgdorferi* Sensu Lato Genospecies Found in Individual Questing Ticks from Europe. *Appl. Environ. Microbiol.* **67** (10), 4926-4929.
- LEHNER M.** (1973). Untersuchungen und Erhebungen zum Vorkommen der Rinderbabesiose im Südbayerischen Raum. *Vet. Med. Diss.* München.
- LEVIEUX D., A. LEVIEUX und J.-P. VENIEN** (1992). An improved passive hemagglutination test for the serological diagnosis of bovine fasciolosis using the specific antigen f2. *Vet. Parasitol.* **42**, 53-66.
- L'HOSTIS M., O. DIARRA und H. SEEGER** (1994). Sites of attachment and density assessment of female *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae) on dairy cows. *Exp. Appl. Acarol.* **18**, 681-689.

-
- L'HOSTIS M.**, A. BUREAUD und A. GORENFLOT (1996). Female *Ixodes ricinus* (Acari : Ixodidae) in cattle of western France: infestation level and seasonality. *Vet. Res.* **27**, 589-597.
- LIEBISCH A.** (1978). Zur Überträgerökologie der Zeckenencephalitis in der Bundesrepublik Deutschland. In: *Beiträge zur Geoökologie der Zentraleuropäischen Zecken-Encephalitis*, Jusatz H. J. (Hrsg.), Sitzungsber. Heidelberger Akad. Wiss. 2. Abh., 112-121.
- LIEBISCH A.** (1991a). Biologie und Ökologie der Zecken. In: *Einheimische Zeckenborreliose (Lyme-Krankheit) bei Mensch und Tier*, H. Horst (Hrsg.), perimed-Fachbuch-Verl.-Ges., Erlangen, 31-47.
- LIEBISCH A.** (1991b). Zeckenborreliose bei Haustieren. In: *Einheimische Zeckenborreliose (Lyme-Krankheit) bei Mensch und Tier*, H. Horst (Hrsg.), perimed-Fachbuch-Verl.-Ges., Erlangen, 158-176.
- LIEBISCH A.**, A. KOPP und S. OLBRICH (1990). Zeckenborreliose bei Haustieren. Teil I: Infektionen bei Hunden und Katzen; Teil II: Infektionen bei Pferden und Wiederkäuern. *VET, Journal für den Veterinär* **10**.
- LIZ J. S.** (1994). *Ehrlichia phagocytophila*: Aspects épidémiologiques, hématologiques et sérologiques de l'infection chez les bovins en Suisse. *THESE présentée à la Faculté des Sciences de l'Université de Neuchâtel pour l'obtention du grade de Docteur ès Sciences*.
- LUCIUS R.** (1997). Parasitische Protozoen. In: *Parasitologie*, Spektrum Akademischer Verlag, 25-118.
- MACDONALD A. B.** (1986). Human Fetal Borreliosis, Toxemia of Pregnancy, and Fetal Death. *Zbl. Bakt. Hyg. A* **263**, 189-200.
- MACLEOD J.** (1934). *Ixodes ricinus* in Relation to its Physical Environment : the Influence of Climate on Development. *Parasitology* **26**, 282-305.

-
- MACLEOD J.** (1935a). *Ixodes ricinus* in Relation to its Physical Environment: II. The Factors Governing Survival and Activity. *Parasitology* **27**, 123-144.
- MACLEOD J.** (1935b). *Ixodes ricinus* in relation to its physical environment. III. Climate and Reproduction. *Parasitology* **27**, 489-500.
- MACLEOD J.** (1936). *Ixodes ricinus* in Relation to its Physical Environment : IV. An Analysis of the Ecological Complexes Controlling Distribution and Activities. *Parasitology* **28** (3), 295-319.
- MAGNARELLI L. A.** (1990). Serologic testing for Lyme disease. *Postgrad. Med.* **87** (6), 149-150, 153, 156.
- MAGNARELLI L. A., J. F. ANDERSON und A. G. BARBOUR** (1986). The etiological agent of Lyme disease in deer flies, horse flies and mosquitoes. *J. Inf. Dis.* **154**, 355.
- MAGNARELLI L. A., J. F. ANDERSON und R. C. JOHNSON** (1987). Cross-Reactivity in Serological Tests for Lyme-Disease and Other Spirochetal Infections. *J. Inf. Dis.* **156** (1), 183-188.
- MARKOWITZ L., A. C. STEERE, J. L. BENACH, J. SLADE und C. BROOME** (1986). Lyme disease during pregnancy. *J. Amer. Med. Assoc.* **255**, 3394-3396.
- MATUSCHKA F. R. und A. SPIELMAN** (1986). The Emergence of Lyme Disease in a Changing Environment in North America and Central Europe. *Exp. Appl. Acarol.* **2**, 337-353.
- MEHLHORN H. und G. PIEKARSKI** (1998). Grundriß der Parasitenkunde. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, Jena, Lübeck, Ulm, 5., überarb. und erw. Auflage, 372-392.
- MERTEN F.** (1967). Der Chemielaborant. Gebrüder Jänecke Verlag, Hannover, 4. Auflage, 157-158.

-
- M'FADYEAN J.** und S. STOCKMAN (1911). A new species of piroplasm found in the blood of British cattle. *J. Comp. Path.* **24**, 340-354.
- MONIN R.**, L. GERN und A. AESCHLIMANN (1987). Contribution to the study of the different modes of transmission of *Borrelia burgdorferi* by *Ixodes ricinus*. *Lyme Borreliosis Update Europe*, 2.-4.6.1987, Baden (Österreich), Abstracts, S. 16.
- NEUBERT U.** (1991). Hauterkrankungen. In: *Einheimische Zeckenborreliose (Lyme-Krankheit) bei Mensch und Tier*, H. Horst (Hrsg.), perimed-Fachbuch-Verl.-Ges., Erlangen, 59-81.
- NEVERMANN L.** (1901). Der Parasit des „Blutharnens“ der Rinder. *Berl. Tierärztl. Wschr.* **17**, 645-648.
- NORMAN G. L.**, J. M. ANTIG, G. BIGAIGNON und W. R. HOGREFE (1996). Serodiagnosis of Lyme Borreliosis by *Borrelia burgdorferi sensu stricto*, *B. garinii*, and *B. afzelii* Western Blots (Immunoblots). *J. Clin. Microbiol.* **34** (7), 1732-1738.
- PARKER J. L.** und K. K. WHITE (1992). Lyme Borreliosis in Cattle and Horses: a Review of the Literature. *Cornell Vet.* **82**, 253-274.
- POST J. E.** (1990). Lyme Disease in Large Animals. *N. J. Med.* **87**, 575-577
- POST J. E.**, E. E. SHAW und S. D. WRIGHT (1988). Suspected Borreliosis in Cattle. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **539**, 488.
- PREAC-MURSIC V.**, G. SCHIERZ und H. PFISTER (1984). Isolierung einer Spirochaete aus Liquor cerebrospinalis. *Münch. Med. Wschr.* **126**, 275-276.
- PREAC-MURSIC V.**, B. WILSKE, P. HERZER, G. SCHIERZ und M. BAUER (1985). Acrodermatitis chronica atrophicans – eine Borreliose. *Hautarzt* **36**, 691-693.

-
- PREAC-MURSIC V., B. WILSKE und G. SCHIERZ (1986).** European *Borrelia burgdorferi* Isolated from Humans and Ticks. Culture Conditions and Antibiotic Susceptibility. *Zbl. Bakt. Hyg. A* **263**, 112-118.
- RADDA A. C. und C. KUNZ (1983).** Die Frühsommer-Meningoenzephalitis in Mitteleuropa. *Der Kinderarzt* **14**, 714-724.
- RADDA A. C., I. BURGER, G. STANEK und G. WEWALKA (1986).** Austrian Hard Ticks as Vectors of *Borrelia burgdorferi*, Overview. *Zbl. Bakt. Hyg. A* **263**, 79-82.
- REIF L. (1980).** Der serologische Nachweis der *Babesia divergens*-Infektion des Rindes mit der Immunfluoreszenz, der indirekten Hämagglutination und dem Immuno-Enzymtest. *Vet. Med. Diss. München*.
- ROBERT-KOCH-INSTITUT (1996).** Lyme-Borreliose. Erkennung und Verhütung. *Merkblatt für Ärzte*, BgVV und RKI (Hrsg.), Deutscher Ärzte-Verlag GmbH, Köln.
- ROMMEL M., J. ECKERT, E. KUTZER, W. KÖRTING und T. SCHNIEDER (2000).** Veterinärmedizinische Parasitologie. Begründet von Josef Boch und Rudolf Supperer. Parey Buchverlag Berlin, 5., vollständig neubearbeitete Auflage, 5, 36-39, 173-191.
- ROSENBERGER G. (1994).** Krankheiten des Rindes. Blackwell Wissenschafts-Verlag, Berlin, 3., unveränderte Auflage.
- RUFLI TH. und Y. MUMCUOGLU (1981).** Dermatologische Entomologie: Ixodidae, Schildzecken. *Schweiz. Rundsch. Med.* **70** (9), 362-385.
- SCHILLER E. (2002).** Lyme-Borreliose im Krankengut der Kinderklinik Rosenheim von Mai 1996 bis April 1998 unter besonderer Berücksichtigung serologischer Aspekte. *Med. Diss. München*.

-
- SCHLESINGER P. A.**, P. H. DURAY, B. A. BURKE, A. C. STEERE und TH. STILLMAN (1985). Maternal-fetal transmission of Lyme disease spirochete, *Borrelia burgdorferi*. *Ann. Intern. Med.* **103**, 67-68.
- SCHMID G. P.** (1985). The Global Distribution of Lyme Disease. *Rev. infect. Dis.* **7** (1), 41-50.
- SCHMIDT R.**, J. KABATZKI, S. HARTUNG und R. ACKERMANN (1985). Erythema-migrans-Borreliose in der Bundesrepublik Deutschland, Epidemiologie und klinisches Bild. *Dtsch. Med. Wschr.* **110**, 1803-1807.
- SCHMIDT R.**, E. GOLLMER, R. ZÜNZER, J. KRÜGER und R. ACKERMANN (1986). Erythema-migrans-Borreliosis among blood-donors. *IX. Int. Congr. Infect. Parasitol. Dis.*, München, Abstracts, 1064.
- SCHWAN T. G.** (2003). Temporal regulation of outer surface proteins of the Lyme-disease spirochaete *Borrelia burgdorferi*. *Biochem. Soc. Trans.* **31**, 108-112.
- SCHWAN T. G.** und W. BURGDORFER (1987). Antigenic Changes of *Borrelia burgdorferi* as a Result of in Vitro Cultivation. *J. Inf. Dis.* **156** (5), 852-853.
- SCHWAN T. G.**, W. BURGDORFER, M. E. SCHRUMPF und R. H. KARSTENS (1988). The Urinary Bladder, a Consistent Source of *Borrelia burgdorferi* in Experimentally Infected White-Footed Mice (*Peromyscus leucopus*). *J. Clin. Microbiol.* **26** (5), 893-895.
- SIEBERZ J.** (1999). Zur Oviposition bei *Dermacentor reticulatus* (Fabricius, 1794) (Parasitiformes: Ixodida: Ixodidae) und Morphologie des Gene'schen Organs. *Vet. Med. Diss.* München.
- SIEWING R.** (1980). Lehrbuch der Zoologie, Band I Allgemeine Zoologie. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York, 3., völlig neubearbeitete Auflage, 545.

-
- SIMITCH I.**, Z. PETROVICH und R. RACOVEC (1955). Les espaces de Babesiella du boeuf d'Europe. *Arch. Inst. Pasteur Algér.* **33**, 310-314.
- STANEK G.** und H. HOFMANN (1994). Krank durch Zecken, FSME und Lyme-Borreliose. Verlag Wilhelm Maudrich, Wien, 10-90.
- STANEK G.**, G. NEWALKA, V. GROH, R. NEUMANN und W. KRISTOFERITSCH (1985). Differences between Lyme Disease and European Arthropode-Borne Borrelia Infections. *Lancet I*, 401.
- STARCOVICI C.** (1893). Bemerkungen über den durch Babès entdeckten Blutparasiten und die durch denselben hervorgebrachten Krankheiten, die seuchenhafte Hämoglobinurie des Rindes (Babès), das Texasfieber (Th. Smith) und der Carceag der Schafe (Babès). *Zbl. Bakt., I. Abt. Orig.* **14**, 1-8.
- STEERE A. C.**, S. E. MALAWISTA und D. SNYDMAN (1977). Lyme arthritis: An epidemic of oligoarticular arthritis in children and adults in three Connecticut communities. *Arthritis Rheum.* **20**, 7-17.
- STEERE A. C.**, T. F. BRODERICK und S. E. MALAWISTA (1978). Erythema Chronicum Migrans and Lyme Arthritis: Epidemiologic Evidence for a Tick Vector. *Am. J. Epidemiol.* **108** (4), 312-321.
- STEERE A. C.**, N. H. BARTENHAGEN, J. E. CRAFT, G. J. HUTCHINSON, J. H. NEWMAN, A. R. PACHNER, D. W. RAHN, L. H. SIGAL, E. TAYLOR und S. E. MALAWISTA (1986). Clinical Manifestations of Lyme Disease. *Zbl. Bakt. Hyg. A* **263**, 201-205.
- STEFANCIKOVA A.**, G. STEPANOVA, M. DERDAKOVA, B. PETKO, J. KYSELOVA, J. CIGANEK, L. STROJNY, L. CISLAKOVA und M. TRAVNICEK (2002). Serological evidence for *Borrelia burgdorferi* infection associated with clinical signs in dairy cattle in slovakia. *Vet. Res. Commun.* **26**, 601-611.

-
- STEUBER S.** und R. KROKER (2002). Antiprotozoika. In: *Pharmakotherapie bei Haus- und Nutztieren*, W. Löscher, F. R. Ungemach, R. Kroker (Hrsg.), Blackwell Verlag, Berlin, Wien, 5., neubearbeitete Auflage, 360-367.
- TUOMI J., L. K. RANTAMÄKI** und R. TANSKANEN (1998). Experimental infection of cattle with several *Borrelia burgdorferi* sensu lato strains; immunological heterogeneity of strains as revealed in serological tests. *Vet. Microbiol.* **60**, 27-43.
- UILENBERG G., H. K. HINAIDY, N. M. PERIE** und T. FEENSTRA (1988). *Borrelia* infections of ruminants in Europe. *Vet. Quart.* **10** (1), 63-67.
- ULLMANN B.** (1983). Untersuchungen zum Vorkommen und zur serologischen Differenzierung von Babesien bei Rindern im westlichen Allgäu. *Vet. Med. Diss.* München.
- UNGEMACH F. R.** (2002). Antiparasitika. In: *Pharmakotherapie bei Haus- und Nutztieren*, W. Löscher, F. R. Ungemach, R. Kroker (Hrsg.), Blackwell Verlag, Berlin, Wien, 5., neubearbeitete Auflage, 271-275.
- WALTER G.** und A. LIEBISCH (1980). Untersuchungen zur Biologie und Verbreitung von Zecken (Ixodoidae, Ixodidae) in Norddeutschland. III. *Ixodes ricinus* (Linnaeus 1758). *Z. Angew. Zool.* **67**, 449-476.
- WEILAND G.** (1982). Möglichkeiten des serologischen Nachweises von Babesieninfektionen bei Hund und Rind. *Fortschr. Vet.* **35**, 286-289.
- WELLS S. J., A. M. TRENT, R. A. ROBINSON, K. S. KNUTSON** und R. F. BEY (1993). Association between clinical lameness and *Borrelia burgdorferi* antibody in dairy cows. *Am. J. Vet. Res.* **54** (3), 398-405.
- WILSKE B., P. MÜNCHHOF** und G. SCHIERZ (1985a). Zur Epidemiologie der *Borrelia burgdorferi*-Infektion. *Münch. Med. Wschr.* **127**, 171-172.

-
- WILSKE B.**, V. PREAC-MURSIC und G. SCHIERZ (1985b). Antigenic heterogeneity of european *Borrelia burgdorferi* strains isolated from patients and ticks. *Lancet* **I**, 1099.
- WILSKE B.**, V. PREAC-MURSIC, G. SCHIERZ und K. V. BUSCH (1986a). Immunochemical and Immunological Analysis of European *Borrelia burgdorferi* Strains. *Zbl. Bakt. Hyg. A* **263**, 92-102.
- WILSKE B.**, G. SCHIERZ, V. PREAC-MURSIC, K. VON BUSCH, R. KÜHLBECK, H. W. PFISTER und K. EINHÄUPL (1986b). Intrathecal production of specific antibodies against *Borrelia burgdorferi* in patients with lymphocytic meningoradiculitis (Bannwarth's syndrome). *J. Inf. Dis.* **153**, 304-314.
- WILSKE B.**, R. STEINHUBER, H. BERGMEISTER, V. FINGERLE, G. SCHIERZ, V. PREAC-MURSIC, E. VANEK und B. LORBEER (1987). Lyme-Borreliose in Süddeutschland. *Dtsch. Med. Wschr.* **112** (45), 1730-1736.
- WILSKE B.**, V. PREAC-MURSIC, G. SCHIERZ, R. KUHBECK, A. G. BARBOUR und M. KRA (1988). Antigenic variability of *Borrelia burgdorferi*. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **539**, 126-143.
- WIRAHADIREDDA R. M. S.** (1964). Zur Morphologie von *Babesia divergens* M'Fadyean und Stockmann 1911. *Vet. Med. Diss.* Hannover.
- WRIGHT I. G.** und B. V. GOODGER (1988). Pathogenesis of Babesiosis. In: Miodrag Ristic (ed.), *Babesiosis of Domestic Animals and Man*, CRC Press, Inc., 2000 Corporate Blvd., N. W., Boca Raton, Florida, 99-118.

Danksagungen

Sehr herzlich bedanke ich mich

bei Herrn Prof. Dr. med. vet. K. Pfister für die Überlassung des Themas, das viele schöne Erlebnisse mit sich brachte, sowie für die Bereitstellung des Arbeitsplatzes,

bei Frau Dr. R. Edelhofer für ihr „Herz für Dissertanten“ und die Untersuchung der Seren auf Babesien,

bei Herrn Prof. Dr. Dr. K. Osterkorn und Herrn H. Stanglmeier für die zuvorkommende Hilfeleistung bei der statistischen Auswertung des Datenmaterials,

bei Herrn Dr. S. Geiger für die Einführung in die ELISA- und Westernblot-Technik, die technische Unterstützung und kritische Diskussionen,

bei Frau Dunja Mann für ihre Mithilfe beim Zeckensammeln und Blutabnehmen,

bei Frau Ute Maurer für die sehr freundliche und immer wieder aufbauende Betreuung im Labor,

bei allen an der Untersuchung teilnehmenden Landwirten und vermittelnden Tierärzten,

bei meinen Eltern für ihre liebevolle Unterstützung,

bei all meinen Freunden, die meine Launen während einiger Schaffenskrisen aushalten mussten!

