

Zecken und Zecken-übertragene
Infektionskrankheiten in
Niederbayern und der Oberpfalz

Maria Barbara Vögerl



INAUGURAL-DISSERTATION zur Erlangung der Würde
eines Doktor rer. biol. vet. der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München



édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG



Das Werk ist in allen seinen Teilen urheberrechtlich geschützt.

Jede Verwertung ist ohne schriftliche Zustimmung des Autors oder des Verlages unzulässig. Das gilt insbesondere für Vervielfältigungen, Übersetzungen, Mikroverfilmungen und die Einspeicherung in und Verarbeitung durch elektronische Systeme.

1. Auflage 2013

All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted, in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording, or otherwise, without the prior written permission of the Author or the Publishers.

1st Edition 2013

© 2013 by VVB LAUFERSWEILER VERLAG, Giessen

Printed in Germany



édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

STAUFENBERGRING 15, D-35396 GIESSEN
Tel: 0641-5599888 Fax: 0641-5599890
email: redaktion@doktorverlag.de

www.doktorverlag.de

Aus dem
Veterinärwissenschaftlichen Department der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Arbeit angefertigt unter der Leitung von Prof. Dr. Kurt Pfister

Zecken und Zecken-übertragene Infektionskrankheiten in Niederbayern und der Oberpfalz

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Würde eines Doktor rer. biol. vet.
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von

Maria Barbara Vögerl

aus Regensburg

München 2013

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

Dekan: Uni.-Prof. Dr. Braun
Berichterstatter: Uni.-Prof. Dr. Pfister
Korreferent: Uni.-Prof. Dr. Potschka

Tag der Promotion: 9. Februar 2013

Die vorliegende Arbeit wurde nach § 6 Abs. 2 der Promotionsordnung für die Tierärztliche Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München als kumulative Dissertation gestaltet.

Meiner Familie

INHALTSVERZEICHNIS

Inhaltsverzeichnis.....	V
Abkürzungsverzeichnis	VII
1 Einleitung und Problemstellung	1
2 Literaturübersicht.....	3
2.1 Ixodes ricinus.....	3
2.1.1 Systematik und Morphologie	3
2.1.2 Geographische Verbreitung und Habitat	5
2.1.3 Saisonale Aktivität	5
2.1.4 Diapause	6
2.1.5 Entwicklungszyklus	6
2.1.6 Wirtssuche.....	7
2.1.7 Saugverhalten.....	7
2.1.8 <i>I. ricinus</i> als Vektor	8
2.2 Lyme-Borreliose	10
2.2.1 Geschichte	10
2.2.2 Systematik	10
2.2.3 Morphologie und Genom	11
2.2.4 Geographische Verbreitung und Vektoren	12
2.2.5 Übertragung	12
2.2.6 Lyme-Borreliose	13
2.2.7 Borreliose in Deutschland und Bayern	14
2.3 Frühsommer-Meningoenzephalitis (FSME).....	15
2.3.1 Geschichte	15
2.3.2 Systematik	15
2.3.3 Morphologie und Genom	15
2.3.4 Geographische Verbreitung und Vektoren	16
2.3.5 Übertragung	17
2.3.6 FSME (Frühsommer-Meningoenzephalitis).....	17
2.3.7 FSME in Deutschland und Bayern	18
3 Material und Methoden	20
3.1 Standorte in Niederbayern und der Oberpfalz.....	20
3.1.1 GIS (Geographisches-Informationssystem)-Analyse	20
3.1.2 Auswahl der 20 Standorte in Niederbayern und Oberpfalz	21
3.1.3 Charakteristika der 20 Standorte	23
3.2 Sammeln der Zecken.....	35
3.3 Molekularbiologische Methoden.....	35

3.3.1	Identifizierung und Vorbereitung der Zecken	35
3.3.2	Nachweis von <i>B. burgdorferi</i> s.l. DNA in <i>I. ricinus</i>	36
3.3.2.1	DNA-Isolierung aus <i>I. ricinus</i>	36
3.3.2.2	Nested-PCR für die Detektion des 5S-23S intergenischen Spacers von <i>B. burgdorferi</i> s.l.	36
3.3.2.3	Agarose-Gelelektrophorese	38
3.3.2.4	DNA-Purifikation	38
3.3.2.5	Sequenzierung und Sequenzauswertung	38
3.3.2.6	Statistik	39
3.3.3	Nachweis von FSME-Virus-RNA in <i>I. ricinus</i>	39
3.3.3.1	Extraktion der Gesamt-RNA	39
3.3.3.2	Real-time Reverse-Transkriptase PCR zum Nachweis von FSME-Virus-RNA	39
3.3.3.3	Nachweis der 16S rRNA von <i>I. ricinus</i>	41
3.3.3.4	Statistik	42
4	Ergebnisse	43
4.1	Anzahl und Aktivität von <i>I. ricinus</i>	43
4.2	Nachweis von <i>B. burgdorferi</i> s.l. in <i>I. ricinus</i>	46
4.2.1	Publikation	47
4.2.2	Prävalenz von <i>B. burgdorferi</i> s.l. in <i>I. ricinus</i> in Niederbayern und der Oberpfalz	64
4.3	Nachweis des FSME-Virus in <i>I. ricinus</i>	79
4.3.1	Prävalenz des FSME-Virus in <i>I. ricinus</i> in Niederbayern und der Oberpfalz	79
5	Diskussion	82
5.1	Prävalenz von <i>B. burgdorferi</i> s.l. in <i>I. ricinus</i> in Niederbayern und der Oberpfalz	82
5.2	Prävalenz des FSME-Virus in <i>I. ricinus</i> in Niederbayern und der Oberpfalz ...	88
6	Schlussfolgerung	92
7	Zusammenfassung	93
8	Summary	94
9	Literaturverzeichnis	95
10	Abbildungen	111
11	Tabellen	113
12	Anhang	114
12.1	Material	114
12.1.1	Geräte	114
12.1.2	Kits, Oligonukleotide, Enzyme, Chemikalien, Positivkontrollen	114
12.2	Tabellen mit Rohdaten	116
13	Danksagung	120

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

bp	Basenpaare
°C	Grad Celsius
CO ₂	Kohlendioxid
DNA	Desoxyribonukleinsäure
dNTP	Denukleotidtriphosphat
FSME	Frühsommer-Meningoenzephalitis
GIS	Geographisches Informationssystem
H ₂ O	Wasser
m	Meter
m ²	Quadratmeter
µl	Mikroliter
2ml	Milliliter
mM	Millimolar
M	Molar
MgCl ₂	Magnesiumchlorid
MI	Multiple Infektion
n	Anzahl
NCR	Non Coding Region
nM	Nanomolar
nm	Nanometer
NH ₃	Ammoniak
NN	Normalnull
Osp	Outer Surface Protein
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
PBS	phosphatgepufferte Salzlösung
RKI	Robert-Koch-Institut
RNA	Ribonukleinsäure
rRNA	ribosomale Ribonukleinsäure
RT-PCR	Reverse Transkriptase Polymerase-Kettenreaktion
TBE	Tick-borne Encephalitis
USA	Vereinigte Staaten von Amerika
ZNS	Zentrales Nervensystem

1 Einleitung und Problemstellung

Die Schildzecke *Ixodes ricinus* zählt zu den häufigsten Zeckenarten in Europa. Aufgrund ihrer hämatophagen Lebensweise spielt sie eine bedeutende Rolle als Vektor und Reservoir von Infektionserregern. Tatsächlich kann ihr die Übertragung zahlreicher Krankheitserreger der Human- und Veterinärmedizin zugeordnet werden, darunter die zwei, für den Menschen wichtigen Erreger der Lyme-Borreliose und der Frühsommer-Meningoenzephalitis (FSME). Lyme-Borreliose und FSME zählen zu den wichtigsten Zecken-übertragenen Infektionskrankheiten in Europa. Das FSME-Virus verursacht jährlich mehrere tausend Krankheitsfälle, von denen durchschnittlich ein bis zwei Prozent tödlich verlaufen. In Deutschland werden FSME-Erkrankungen überwiegend aus südlichen Regionen gemeldet. So stammen, von 3669 für den Zeitraum 2001-2012 gemeldeten FSME-Fällen aus dem gesamten Bundesgebiet in Deutschland, 1502 Fälle aus Bayern und 1662 aus Baden-Württemberg (Robert-Koch-Institut, Survstat, Stand: 29.8.12). In Bayern werden von 124 Land- und Stadtkreisen sowie kreisfreien Städten 78 als Risikogebiet für das FSME-Virus klassifiziert. Trotz der flächendeckenden epidemiologischen Daten bezüglich der FSME-Erkrankungen in Deutschland und Bayern ist über die natürliche Zirkulierung des Virus im Vektor *I. ricinus* in einzelnen Naturherden, sowie über Faktoren, die diese beeinflussen, nur wenig bekannt. Im Gegensatz zur FSME ist die Lyme-Borreliose in Deutschland nur in sechs von sechzehn Bundesländern meldepflichtig. Daher sind für diese Erkrankungsfälle keine flächendeckenden epidemiologischen Daten verfügbar. In den Bundesländern Berlin, Brandenburg Mecklenburg-Vorpommern, Sachsen, Sachsen-Anhalt und Thüringen wurden im Zeitraum 2002 bis 2009 insgesamt 39638 Fälle gemeldet (Adlhoch und Poggensee, 2010). Für die restlichen Bundesländer lassen durchgeführte Hochrechnungen 60000 bis 100000 Neuinfektionen vermuten. Für Bayern hält man jährlich 10000 neue Infektionen mit Borreliose für wahrscheinlich (Pressemitteilung Bayerisches Staatsministerium für Umwelt und Gesundheit Nr. 37/12). Insgesamt konnte sowohl für Borreliose als auch für FSME ein stetiger Anstieg der gemeldeten Neuerkrankungen pro Jahr (Adlhoch und Poggensee, 2010; Survstat, RKI, Stand: 29.8.12) sowie die geographische Ausbreitung der Infektionserreger in neue Naturherde nachgewiesen werden (Kupça et al., 2010). Es wird vermutet, dass die Ausbreitung dieser „emerging diseases“ unter anderem an die Verlagerung des Lebensraums des Vektors *I. ricinus* (Daniel et

al., 2003; Materna et al., 2005; 2008; Daniel et al., 2009) durch sich ändernde klimatische Bedingungen geknüpft ist. Zusätzlich ist durch die zunehmende Popularität von Freizeitaktivitäten in der Natur (Wandern, Walken, Angeln, etc.) mit einem höheren Risiko für die Bevölkerung, sich mit einem dieser Erreger zu infizieren, zu rechnen. Darüberhinaus tragen zunehmend sensitive diagnostische Methoden sowie das wachsende Bewusstsein der Ärzte für diese Erkrankungen zu den ansteigenden gemeldeten Fallzahlen bei. Daher besteht der Bedarf einer umfassenden Beschreibung der epidemiologischen Situation des FSME-Virus sowie des Erregers der Borreliose in Bayern für die Abschätzung des Gefährdungspotentials dieser Infektionserreger für die Bevölkerung.

Die vorliegende Arbeit konzentriert sich dabei auf folgende Aspekte:

Ermittlung der Zeckenaktivität und der Prävalenzen des FSME-Virus sowie des *B. burgdorferi* s.l. Komplex (Erreger der Lyme-Borreliose) an 20 ausgewählten Standorten in Niederbayern und der Oberpfalz;

Charakterisierung der genetischen Variabilität des *B. burgdorferi* s.l. Komplex an den 20 Standorten in Niederbayern und der Oberpfalz;

Identifizierung von möglichen Faktoren, die die Verteilung der Zecken, des FSME-Virus und des *B. burgdorferi* s.l. Komplex bestimmen

Da für die Regierungsbezirke Niederbayern und Oberpfalz in Bayern nur spärliche Informationen zu der Prävalenz des FSME-Virus und von *B. burgdorferi* s.l. in *I. ricinus* Zecken verfügbar sind, trägt diese Arbeit zum besseren Verständnis der epidemiologischen Situation sowie zur Abschätzung des Gefährdungspotentials der untersuchten Erreger für die lokale Bevölkerung bei.

Diese Arbeit wurde im Rahmen des grenzübergreifenden EU-Projekts INTERREG IV A „Zecken und Zecken-übertragene Infektionskrankheiten in Südböhmen und Bayern“ in Zusammenarbeit mit der naturwissenschaftlichen Fakultät der südböhmischen Universität in České Budějovice in der Tschechischen Republik angefertigt. Das Projekt wurde durch das Ziel-3-Programm zur grenzübergreifenden Zusammenarbeit Freistaat Bayern-Tschechische Republik 2007-2013 finanziert.

2 Literaturübersicht

2.1 *Ixodes ricinus*

2.1.1 Systematik und Morphologie

Zecken gehören im Stamm der Arthropoden (Gliederfüßer) zu der Klasse der Arachnida (Spinnentiere) und bilden zusammen mit den Milben die Unterklasse Acari (Milben). Durch die Lage ihrer Stigmen (Atemöffnungen) hinter dem vierten Beinpaar bilden Zecken die eigene Ordnung der Metastigmata oder Ixodida. Diese wird in die zwei großen Familien der Ixodidae (Schildzecken) und Argasidae (Lederzecken) sowie in die, nur in Afrika vorkommende Familie der Nuttalliellidae, unterteilt (Sonenshine, 1991; Eckert et al., 2005).

Stamm	Arthropoda (Gliederfüßer)
Klasse	Arachnida (Spinnentiere)
Unterklasse	Acari (Milben)
Ordnung	Ixodida (Zecken), Metastigmata
Familie	Ixodidae <i>Amblyomma, Anocentor, Boophilus, Dermacentor, Haemaphysalis, Hyalomma, Ixodes, Rhipicephalus</i>
	Argasidae <i>Argas, Ornithodoros, Otobius</i>
	Nuttalliellidae <i>Nuttalliella</i>

Tabelle 2.1 Übersicht der Systematik der Zecken (nach Eckert et al., 2005)

Zecken sind obligat hämatophage Ektoparasiten. Sie werden daher häufig an Säugetieren, Vögeln oder Reptilien in fast allen Regionen der Erde gefunden, wobei Lederzecken im Gegensatz zu Schildzecken vermehrt in warmen und feuchten Gebieten präsent sind. Von den etwa 900 weltweit berichteten Zeckenarten (Barker und Murrell, 2004) kommt etwa 100 eine bedeutsame Rolle als Vektor in der Übertragung für Mensch und Tier infektiöser Organismen zu (Hillyard, 1996; Jongejan und Uilenberg, 2004). *Ixodes ricinus* Linnaeus 1758, auch Gemeiner Holzbock, gehört zu der Familie der Schildzecken und stellt die häufigste Zeckenart in Mitteleuropa dar (Hillyard, 1996). Durch diese dominante Stellung spielt diese Art eine bedeutende Rolle als Vektor für Infektionserreger in Europa. Diese Arbeit wird sich daher ausschließlich mit *I. ricinus* beschäftigen.

I. ricinus besitzt einen zweiteiligen Körperbau bestehend aus dem Gnathosoma oder Capitulum und dem Idiosoma. Das Capitulum wird aus der Basis capituli

und den Mundwerkzeugen gebildet. Das Idiosoma setzt sich aus dem Beine tragendem Podosoma und dem Opisthosoma (Abdomen) zusammen (Sonenshine, 1991). Die Mundwerkzeuge bestehen aus dem unbeweglichen, zähnetragenden Hypostom, einem Paar Chelizeren und den umfassenden Pedipalpen (Sonenshine, 1991; Hillyard, 1996). *I. ricinus* Zecken besitzen auf der Dorsalfläche ein charakteristisches Rückenschild (Scutum). Ihre Beine sind distal mit einem Paar Krallen und einem Haftlappen (Pulvillus) besetzt. Zusätzlich besitzt das letzte Segment des vorderen Beinpaars das Hallersche Organ, ein hocheffizientes Sensorsystem, mit dem Zecken CO₂, NH₃, Milchsäure und andere Gerüche sowie Körpertemperatur und Vibrationen detektieren können. Zusätzlich dienen Photosensillen zur Wahrnehmung von Lichtreizen und Chemosensillen an den Palpen und Chelae zur Wahrnehmung von Gewebsflüssigkeiten (Sonenshine, 1991; Eckert et al., 2005). In ihrem Entwicklungszyklus durchlaufen Zecken nach dem Schlüpfen drei Stadien (Abbildung 2.1). Das Larvenstadium besitzt sechs Beine und hat im nüchternen Zustand eine Größe von etwa 0.5 mm. Die Nymphe hat, so wie die adulte Form bereits vier Beinpaare und ist ungesogen bis zu 1.5 mm groß. Adulte Tiere zeigen im Gegensatz zu den juvenilen Stadien bedeutenden Geschlechtsdimorphismus. Das dunkle Scutum des etwa 2.6 mm großen Männchens zieht sich über die gesamte Rückenfläche des Tieres. Da die weiblichen Tiere besonders wegen der Blutmahlzeiten vor der Eiablage auf die Dehnbarkeit der Cuticula angewiesen sind, bedeckt das herzförmige Scutum nur einen kleinen Teil der Rückenfläche. So kann das, im nüchternen Zustand etwa 3.3 mm große Weibchen während einer Blutmahlzeit die Körperlänge auf bis zu 1.1 cm vergrößern (Hillyard, 1996).



Abbildung 2.1 Entwicklungsstadien von *I. ricinus*: Larve, Nymphe, adultes Männchen, adultes Weibchen (von links)

2.1.2 Geographische Verbreitung und Habitat

In Europa reicht das Habitat von *I. ricinus* von der iberischen Halbinsel und Großbritannien bis zum Baltikum und Russland sowie vom südlichen Rand Skandinaviens nach Nordafrika (Sonenshine, 1993; Eckert et al., 2005). Bevorzugte Habitate von *I. ricinus* liegen zwischen 0 bis 2000 m ü. NN in Wäldern mit mehr als 75% relativer Luftfeuchte, Wiesen und Weideland (Hillyard, 1996; Sonenshine, 1993). Bodennahe Vegetation am Übergang von Wiesen zu dichtem Untergestrüpp, Waldlichtungen, Pfade, Wildwechsel sowie offene Gebiete ohne Baumbestand mit Büschen bieten geeigneten Lebensraum für *I. ricinus* (Sonenshine, 1993). Die absolute Verbreitung von *I. ricinus* wird durch das Klima bestimmt. Neben den allgemeinen makroklimatischen Bedingungen innerhalb einer geographischen Region, spielen weitere verschiedene spezifische Klimaformen eine Rolle für das Überleben von *I. ricinus*. So besitzen das Makroklima über der Vegetationsschicht, das Mesoklima innerhalb der Vegetationsschicht sowie das Mikroklima innerhalb der bodennahen Luftschichten zwischen dem Erdreich und den dichten Schichten aus Humus und Laub einen bedeutenden Einfluss. Humus- und Laubschichten bieten durch passende Temperaturen und hoher relativer Luftfeuchte Schutz während der Entwicklungsphase in ein neues Stadium sowie während der Phasen zwischen der Wirtssuche. Für die aktive Wirtssuche bewegen sich die *I. ricinus* Zecken in das Mesoklima. Die Verteilung von *I. ricinus* wird nur sekundär von der Verfügbarkeit geeigneter Wirte bestimmt (MacLeod, 1932; Randolph, 2000).

2.1.3 Saisonale Aktivität

Die Zecken der Art *I. ricinus* sind in Zentraleuropa von Ende März bis Oktober aktiv. Phasen maximaler Aktivität können in den Monaten Mai und Juni (Gray, 1991, Randolph et al., 1999; Lindgren et al., 2000) sowie in abgeschwächter Form im September beobachtet werden (Gray, 2002; Eckert et al., 2005). In den Sommermonaten ist die Aktivität durch hohe Temperaturen und niedrige relative Luftfeuchtigkeit eher gering (Kunz, 1992). Die aktiven Phasen werden durch Temperaturänderungen (Gray, 2002) sowie durch die Sonneneinstrahlung und photoperiodische Merkmale gesteuert. Adulte *I. ricinus* beginnen die aktive Wirtssuche ab durchschnittlichen Temperaturwerten von 4°C (Lindgren et al., 2000) bis 7°C (MacLeod, 1932; Korenberg, 2000). Von einer Zeckenpopulation

gehen nach Erreichen dieser Temperaturen 50% innerhalb von 10-20 Tagen in die Phase der aktiven Wirtssuche über (Korenberg, 2000). Die optimale Temperatur für die aktive Wirtssuche liegt zwischen 14°C und 24°C (MacLeod, 1932). Der Höhepunkt der Zeckenaktivität ist von dem jeweiligen Habitat abhängig. Zecken, die in exponierten Habitaten leben, erreichen ihr Aktivitätsmaximum schneller im Vergleich zu Zecken aus dicht geschützten Habitaten. *I. ricinus* der Larven- und Nymphenstadien folgen ebenso dem beschriebenen Aktivitätsmuster. In sehr nördlichen Regionen Europas konnte nur ein Aktivitätshöhepunkt beobachtet werden (Korenberg, 2000), da bei kühleren Temperaturen die Wahrscheinlichkeit sinkt, dass die folgenden Zeckenstadien im gleichen Jahr die aktive Wirtssuche aufnehmen (Sonenshine, 1993; Eckert et al., 2005).

2.1.4 Diapause

Die Diapause bezeichnet einen Zustand der Zecken, der mit der Reduktion ihres Metabolismus einhergeht und ihnen ermöglicht, ihre Aktivität und Entwicklung mit optimalen Umweltbedingungen zu synchronisieren. Dieser Zustand wird durch die, durch Umweltfaktoren ausgelöste Produktion von Neurohormonen reguliert. Dabei können zwei Arten der Diapause unterschieden werden: bei der *behavioral diapause* beenden nüchterne Zecken die aktive Wirtssuche, selbst bei Präsenz passender Wirte. Bei der *morphogenic diapause* kommt es zu einer Unterbrechung der Entwicklung der Zecke in das nächste Stadium. Alle Entwicklungsstadien der Zecke können in die Diapause eintreten (Belozеров, 1982; Sonenshine, 1993).

2.1.5 Entwicklungszyklus

Während ihrer Entwicklung durchlaufen *I. ricinus* abhängig von den klimatischen Bedingungen und der Verfügbarkeit von passenden Wirten innerhalb von zwei bis sechs Jahren folgende vier Entwicklungsformen: das embryonale Ei sowie die parasitischen Stadien Larve, Nymphe und Adulttier (Sonenshine, 1993; Nuttall und Labuda, 1994). Jedes dieser Stadien ist für die Entwicklung in das nächste Stadium auf eine Blutmahlzeit angewiesen. Adulte Männchen von *I. ricinus* haben in der Regel keine Blutmahlzeit und nehmen gegebenenfalls lediglich geringe Mengen an Blut auf (Nuttall und Labuda, 1994; Hillyard 1996; Gray, 2002). Adulte Weibchen legen nach der Befruchtung innerhalb von ein bis vier Wochen an eine geschützte Stelle mehrere tausend Eier und sterben

anschließend (Sonenshine, 1991).

2.1.6 Wirtssuche

I. ricinus Zecken sind exophil, d.h. bis auf die kurze Dauer der einzelnen Blutmahlzeiten verbringen sie den Großteil ihres Lebens als freier Organismus. Für die aktive Wirtssuche klammern sie sich mit den hinteren drei Beinpaaren an einer exponierten Stelle in der Vegetation fest und verharren Tage und Wochen in diesem Zustand, bis ein potentieller Wirt vorbeistreift, und sie sich an ihn klammern können (Sonenshine, 1993; Eckert et al., 2005). Änderungen der klimatischen Bedingungen können die Zecken zur vorübergehenden Unterbrechung der Wirtssuche und zum Wechsel ihres Mikrohabitats zwingen (Sonenshine, 1993). *I. ricinus* Zecken favorisieren keinen bestimmten Wirt, sondern können auf über 200 verschiedenen Tierarten gefunden werden. Dazu gehören neben Säugetieren und Vögeln auch Reptilien. Da sich Larven und Nymphen während der Wirtssuche in niedrigeren Vegetationsschichten aufhalten, findet man diese Entwicklungsstadien bevorzugt auf Nagern und anderen Kleinsäugetern wie Rötelmäusen (*Clethrionomys glareolus*), Gelbhalsmäusen (*Apodemus flavicollis*), Waldmäusen (*Apodemus sylvaticus*) sowie Vögeln und Reptilien. Adulte *I. ricinus* halten sich häufig in Vegetationsschichten mit mehr als einem Meter Höhe auf, und sind daher auch auf größeren Wirtstieren wie Reh- oder Schwarzwild (z.B. *Capreolus capreolus*, *Sus scrofa*) zu finden (Eckert et al., 2005).

2.1.7 Saugverhalten

I. ricinus Larven, Nymphen und Adulttiere sind für die Entwicklung in das folgende Stadium bzw. für die Eiablage auf eine Blutmahlzeit angewiesen. Dabei werden während des mehrtägigen Saugaktes bis zu 5 ml Blut pro Mahlzeit aufgenommen (Sonenshine, 1993). Für die Blutaufnahme sticht die Zecke mit ihrem Mundwerkzeug, ohne direkt ein Blutgefäß zu treffen, durch die Dermis des Wirtes. Der Speichel der Zecke bewirkt eine lokale Betäubung, die eine Abwehr des Wirtes verhindern soll. Vasodilatorische und gerinnungshemmende Substanzen unterstützen den Saugakt. In der ersten Phase werden von der Zecke Zell- und Gewebsflüssigkeit aufgenommen und sofort verdaut, wobei sie um das zehnfache ihres ursprünglichen Gewichts anwächst. Während der zweiten Phase nimmt die Zecke in die Läsion eintretendes Blut auf und wächst dabei auf das 70-120 ihres Originalgewichts. Am Ende des Saugvorgangs fällt

die Zecke von ihrem Wirt ab (Sonenshine, 1993).

2.1.8 *I. ricinus* als Vektor

Blutsaugende Arthropoden gelten weltweit als wichtigste Vektoren für Infektionskrankheiten. Zecken übertragen dabei eine größere Bandbreite an Erreger als jedes andere Mitglied dieses Stammes. Dazu zählen Bakterien, Viren, Pilze, Protozoen und Helminthen (Hillyard, 1996; Eckert et al., 2005)(Tabelle 2.2). Ihre geringe Wirtsspezifität zeichnet sie als idealen Vektor für eine Vielzahl von Infektionserregern aus. Auch die Erreger der Lyme-Borreliose und der Frühsommer-Meningoenzephalitis werden durch sie übertragen.

Erreger	Krankheit	Wirt
Virale Infektionen		
FSME-Virus	FSME	Säugetiere, Menschen
CCHF-Virus	Krim-Kongo-Fieber	Säugetiere, Menschen
Bakterielle Infektionen		
<i>Borrelia burgdorferi</i> s.l.	Borreliose	Säugetiere, Vögel, Reptilien Menschen
<i>Coxiella burnetii</i>	Q-Fieber	Rinder, Pferde, Schafe, Ziegen, Wild und Haustiere
<i>Rickettsia helvetica</i>	Myokarditis	Menschen
<i>Francisella tularensis</i>	Tularämie	Menschen, Katzen, Schafe, Nagetiere
Protozoen-Infektionen		
<i>Babesia microti</i>	Humane Babesiose	Menschen
<i>Babesia divergens</i>	Babesiose (Red Water-Fieber)	Rinder

Tabelle 2.2 Auswahl durch *I. ricinus* übertragener Pathogene (nach Modrow et al., 2003; Eckert et al., 2005)

Zecken infizieren sich mit den Infektionserregern, wenn sie Blut von einem bereits infizierten Wirt mit akuter Virämie/Bakteriämie/Parasitämie saugen. Die fehlenden Verdauungsenzyme im Zeckendarm begünstigen das Überleben der aufgenommenen Erreger (Gray, 2002). Die meisten Erreger verteilen sich in die Organe der Zecke, z.B. in die Speicheldrüsen. Einige Erreger aber, darunter auch *B. burgdorferi* s.l. bleiben im Zeckendarm (Gray, 2002). Ist eine Zecke einmal infiziert, überdauern die Infektionserreger in der Zecke für den Rest ihres Lebens und werden bei der Entwicklung in das nächste Stadium weitergegeben (transstadiale Übertragung). Neben der transstadialen Übertragung spielt die

transovariable Übertragung eine wichtige Rolle. Bei dieser Form der Übertragung gibt das infizierte adulte Weibchen den Infektionserreger an die embryonalen Eier weiter. Obwohl die Infektionsrate bei dieser Art der Übertragung scheinbar gering ist, so birgt sie den Vorteil der Zirkulierung des Infektionserregers in der Zeckenpopulation unabhängig von der Verfügbarkeit eines Reservoirwirtes (Danielová und Holubová, 1991). Zusätzlich wird für einige Infektionserreger die sexuelle Übertragung von adulten Männchen auf das Weibchen während der Kopulation beschrieben (Hayes et al., 1980). Neben der Infektion der Zecken an Wirtstieren mit akuter Virämie/Bakteriämie/Parasitämie besteht zusätzlich die Möglichkeit der Infektion durch den Mechanismus des „Cofeeding“ (Gray, 2002; Gritsun et al., 2003). Als „Cofeeding“ wird dabei die Übertragung eines Infektionserregers von einer infizierten auf eine nicht-infizierte Zecke durch gleichzeitiges Saugen am gleichen Wirt in unmittelbarer Nähe zueinander bezeichnet (Labuda et al., 1993a, 1993b; Eckert et al., 2005). Die Übertragung der Erreger durch Cofeeding wurde bei *I. ricinus* für *B. burgdorferi* s.l. (Alekseev und Chunikhin, 1990; Gern und Rais, 1996; Gray, 2002) und das FSME-Virus nachgewiesen. Durch transstadiale als auch transovariable Übertragung fungiert die Zecke als Vektor und Reservoir für die Infektionserreger. Die Verbreitung des Infektionserregers ist in diesem Fall an die Verbreitung der Zecke geknüpft. Bei alleiniger transstadialer Übertragung dient die Zecke lediglich als Vektor. Die Funktion des Reservoirs wird dann von einem kompetenten Wirbeltierwirt übernommen, dessen Verbreitung die des Infektionserregers bestimmt (Parola und Raoult, 2001).

2.2 Lyme-Borreliose

2.2.1 Geschichte

Borrelia burgdorferi sensu lato ist der Erreger der Lyme-Borreliose (Lyme-Disease), welche zum ersten Mal 1975 in der Kleinstadt Lyme im US-Bundesstaat Connecticut beschrieben wurde (Steere et al., 1976). Über einzelne Manifestationen der Lyme-Borreliose wurde in Europa bereits zu einem früheren Zeitpunkt berichtet. So beschrieb Buchwald 1883 die „Acrodermatitis chronica atrophicans“ und Afzelius 1910 eine Hauterkrankung, die später als Erythema chronicum migrans bezeichnet wurde. Berichte über neurologische Erkrankungen als Folge von Erythema chronicum migrans erstellten Bannwarth (1941) und Hellerström (1930). Die saisonale und lokale Häufung des Krankheitsbildes in Verbindung mit Zeckenstichen legte die Übertragung durch diese Arthropoden nahe (Steere et al., 1976). Aber erst 1982 gelang Burgdorfer et al. die Isolierung von Borrelien aus *Ixodes scapularis* Zecken. Der Nachweis von Borrelien in *Ixodes ricinus* folgte 1984 (Burgdorfer). Anschließend wurden 1984 diese Spirochäten als *Borrelia burgdorferi* sensu lato und Erreger der Lyme-Borreliose beschrieben (Johnson et al., 1984).

2.2.2 Systematik

Bakterien der Gattung *Borrelia* werden taxonomisch zu der Familie der Spirochaetaceae (Spirochäten) gezählt. Spirochäten bilden aufgrund ihrer ungewöhnlichen Zellmorphologie in der Domäne der Bakterien einen eigenen Stamm (Spirochaetes) mit nur einer gleichnamigen Klasse (Spirochaetes). Die Familie der Spirochaetaceae enthält neben der Gattung *Borrelia* die Gattungen *Spirochaeta* und *Treponema*. *Borrelia burgdorferi* sensu lato wird der Gattung *Borrelia* zugeordnet. Basierend auf molekulargenetischen Analysen umfasst dieser Komplex bis zum jetzigen Zeitpunkt mindestens 18 Genospezies (Stanek und Reiter, 2011). Eine Vielzahl dieser Spezies gelten in Europa als humanpathogen, wie *B. afzelii*, *B. garinii*, *B. burgdorferi* sensu stricto, *B. bavariensis* und *B. spielmanii* (Wang et al., 1999; Richter et al., 2004; Fingerle et al., 2008). Die Pathogenität von *B. valaisiana*, *B. lusitaniae* und *B. bissetii* ist immer noch unzureichend geklärt, obwohl diese Genospezies bereits erfolgreich aus Patientenbiopsien isoliert werden konnten (Rijpkema et al., 1997).

2.2.3 Morphologie und Genom

Borrelien sind gramnegative Bakterien von 0,2-0,5 µm Dicke und bis 20 µm Länge mit unregelmäßig ausgebildeten Windungen. Ihre Anzucht ist unter mikroaerophilen Bedingungen mit spezifischen Kulturmedien möglich, jedoch aufgrund der langen Generationszeit umständlich (Barbour und Hayes, 1986). An den Enden der Borrelien sind bis zu 18 Flagellen verankert, die den Protoplasmazyylinder umgeben. Die rotierenden Bewegungen der Borrelien entstehen durch die Kontraktion dieser Flagellen (Barbour und Hayes, 1986). Protoplasmazyylinder und Flagellen sind von einer äußeren Membran umgeben (Goldstein et al., 1994, 1996). Die äußere Membran setzt sich unter anderem aus verschiedenen Lipoproteinen („outer surface proteins“) zusammen, die zum einen als Antigene Bedeutung für die Diagnostik besitzen, zum anderen aber auch als Virulenzfaktoren dienen. *B. burgdorferi* besitzt als Bakterium ein außergewöhnliches Genom bestehend aus einem großen linearen Chromosom und einer Vielzahl an zirkulären und linearen Plasmiden (Fraser et al., 1997). Die Plasmide codieren für wichtige Oberflächenproteine wie das „Outer surface protein A“ (OspA) oder das „Outer surface protein C“ (OspC) (Bergström et al., 1989), die eine Rolle bei der Übertragung und der Persistenz des Erregers im Wirt spielen. Die in Europa präsenten humanpathogenen Spezies des *B. burgdorferi* s.l. Komplexes, *B. afzelii* und *B. garinii* unterscheiden sich erheblich in der Expression der OspA- und OspC-Proteine (Wilske et al., 1992, 1996). Bisher konnten acht verschiedene OspA-Typen, basierend auf der unterschiedlichen Reaktivität mit monoklonalen Anti-OspA-Antikörpern definiert werden. Bei *B. garinii* konnten davon sechs OspA-Typen (OspA-Typ 3-8) identifiziert werden. Bei den Spezies *B. afzelii* und *B. burgdorferi* s.s. konnte eine homogene OspA-Expression mit den OspA-Typ 2 bzw. OspA-Typ 1 nachgewiesen werden (Wilske et al., 1992; 1996). Die Heterogenität innerhalb des *B. burgdorferi* s.l. Komplexes sowie innerhalb der Spezies *B. garinii* spiegelt sich auch in den klinischen Manifestationen der Borreliose wieder. So konnte *B. afzelii* häufig bei Hautmanifestationen der Lyme-Borreliose, wie Erythema migrans oder Acrodermatitis atrophicans nachgewiesen werden (Balmelli und Piffaretti, 1995). *B. burgdorferi* sensu stricto wird häufig in Verbindung mit Arthritiden beschrieben und *B. garinii* wird mit neurologischen Manifestationen der Borreliose assoziiert, da es häufig im Liquor von Rückenmarksbiopsien diagnostiziert wurde (van Dam et al., 1993; Wilske et al., 1996).

2.2.4 Geographische Verbreitung und Vektoren

Die durch Bakterien des *B. burgdorferi* s.l. Komplex verursachte Lyme-Borreliose ist die am häufigsten Zecken-übertragene bakterielle Infektionserkrankung in der nördlichen Hemisphäre. Fälle konnten in Europa, Asien, USA aber auch in Australien nachgewiesen werden. Die Verbreitung der Lyme-Borreliose ist dabei stark an die Lebensräume ihrer Vektoren (Beichel et al., 1996; Hubálek und Halouzka, 1997; Postic et al., 1997) sowie an die Verfügbarkeit von kompetenten Wirten geknüpft (Gray et al., 1998). Für Europa konnte als hauptsächlicher Vektor für *B. burgdorferi* s.l. die Schildzecke *I. ricinus* identifiziert werden (Hubálek und Halouzka, 1997). Desweiteren wurde *B. burgdorferi* s.l. in *Ixodes hexagonus* (Igelzecke), *Ixodes canisuga* (Fuchszecke) und in *Ixodes uriae* nachgewiesen (Olsen et al., 1993, 1995). In Osteuropa und Asien gilt *Ixodes persulcatus* als wichtigster Vektor für *B. burgdorferi* s.l.. In den USA fungieren *Ixodes scapularis* und *Ixodes pacificus* als Hauptvektor für Borrelien (Anderson, 1988; Postic et al., 1997; Gray et al., 1998).

2.2.5 Übertragung

In ihrem natürlichen Umfeld zirkulieren Borrelien zwischen dem Vektor *I. ricinus* und einem Reservoirwirt. Die Anzahl der Borrelien pro Zecke variiert zwischen 25 bis 200000. Der Reservoirwirt wird durch die Blutmahlzeit der Zecke infiziert. Die Übertragungswahrscheinlichkeit der Borrelien auf den Wirt steigt dabei mit zunehmender Dauer des Saugaktes (Kahl et al., 1998). Während des Saugaktes migrieren die Erreger durch die Darmwand in zahlreiche Gewebe, auch zu den Speicheldrüsen, wo sie dann durch den Speichel auf den Wirt abgegeben werden können. Aufgrund der stark wechselnden, anspruchsvollen Umweltbedingungen wie Änderungen des pH-Werts und der Temperatur bei der Übertragung sowie aufgrund der Immunantwort des Wirtes, entwickelten Borrelien effektive Anpassungsmechanismen. So unterschieden sich Borrelien in nüchternen und mit Blut vollgesogenen Zecken in der Expression der Oberflächenproteine OspA und OspC (Fingerle et al., 2000, 2002). Im Gegensatz zu vollgesogenen Zecken exprimieren Borrelien in nüchternen Zecken vermehrt OspA (Fingerle et al., 1995). Dies begünstigt möglicherweise die Adhäsion der Borrelien am Mitteldarm und soll somit ihr Verweilen über einen längeren Zeitraum ohne Blutmahlzeit in der Zecke ermöglichen. In gesaugten Zecken und dem entsprechenden Wirt hingegen wurde eine von der Migration der Borrelien abhängige erhöhte Konzentration von OspC gefunden (Schwan und Piesman,

2000; Fingerle et al., 2000, 2002; Pal et al., 2004).

2.2.6 Lyme-Borreliose

Die Lyme-Borreliose zeigt sich beim Menschen als multisystemische Infektionskrankheit. Sie präsentiert sich in vielfältigen klinischen Manifestationen und verläuft im klassischen Fall in drei Stadien. In Stadium I (Lokalinfektion der Haut) bildet sich in den meisten Fällen innerhalb von Tagen bis Wochen nach dem Zeckenstich an der Erregereintrittspforte das in Ausdehnung, Farbintensität und Dauer variierende Erythema migrans (Huppertz et al., 1999). Zusätzlich treten unspezifische grippeartige Symptome wie Fieber, Kopf- und Gliederschmerzen sowie Myalgien auf (Afzelius, 1910; Hof und Dörries, 2005). In seltenen Fällen entwickeln sich bläuliche Hautknötchen (Lymphadenosis cutis benigna). Das erste Stadium endet durchschnittlich nach einem Monat auch ohne Behandlung (Hof und Dörries, 2005). Im zweiten Stadium, der Dissemination der Borrelien in andere Organe, können kardiale und neurologische Symptome beobachtet werden. 80% der Patienten entwickeln in diesem Stadium eine Meningoradikulitis (Bujadoux-Bannwarth-Syndrom) mit Hirnnervenpareesen und radikulären Schmerzen. In diesem Stadium kann sich eine akute Myokarditis entwickeln und zur Myokardinsuffizienz und Herzvergrößerung führen (Van der Linde und Ballmer, 1993). Monate bis Jahre nach dem Zeckenstich kann es zu Symptomen des chronischen dritten Stadiums kommen in dem sich meistens symptomlose Phasen mit akutem Krankheitsgeschehen abwechseln (Steere et al., 1976). In den Akutphasen zeigen sich die Symptome an den Gelenken (Lyme-Arthritis), als Muskelentzündungen, Knochenschmerzen, Fibromyalgien und als Hautatrophien (Acrodermatitis chronica atrophicans) (Asbrink et al., 1993). Der Nachweis von Lyme-Borreliose erfolgt durch den Antikörpernachweis im Serum in Verbindung mit dem klinischen Befund. Der Direktnachweis der Erreger durch Mikroskop oder Kultur ist möglich, aber unsicher (Hof und Dörries, 2005). Gegen die Lyme-Borreliose existiert noch keine Prophylaxe (Hof und Dörries, 2005). Bei der Bevölkerung in endemischen Gebieten kann jedoch häufig eine Serokonversion ohne vorausgehende klinische Symptome beobachtet werden. Daher wird vermutet, dass ein Großteil der Borrelieninfektionen subklinisch verläuft und nicht erfasst wird.

2.2.7 Borreliose in Deutschland und Bayern

Obwohl die Lyme-Borreliose im gesamten Gebiet der Bundesrepublik Deutschland verbreitet ist, sind flächendeckende epidemiologische Daten zu dieser Erkrankung nicht verfügbar. Das 2001 eingeführte Infektionsschutzgesetz (IfSG) sieht für die Lyme-Borreliose keine bundesweite Meldepflicht vor. Die neuen Bundesländer Berlin, Brandenburg, Mecklenburg-Vorpommern, Sachsen, Sachsen-Anhalt und Thüringen jedoch machen von der Möglichkeit der Ausweitung der Meldepflicht Gebrauch und übermitteln seit dem Meldejahr 2002 nach den vorgegebenen Falldefinitionen die Erkrankungsfälle elektronisch an das Robert-Koch-Institut. Die Fallrichtlinien besagen, dass Erkrankungsfälle mit Erythema migrans oder einer frühen, diagnostisch bestätigten Neuroborreliose an das Robert-Koch-Institut übermittelt werden sollen. Verdachtsfälle werden zwar vom Gesundheitsamt erfasst, es besteht jedoch keine Übermittlungspflicht. Die Inzidenz der gemeldeten Fälle lag bei der Einführung der Meldepflicht 2002 bei 17,8 Erkrankungsfällen und stieg innerhalb von drei Jahren auf 37,5 Erkrankungen pro 100000 Einwohner. Für das Bundesland Bayern gibt es leider keine verlässlichen Daten bezüglich der Borreliose-Inzidenz. Basierend auf Hochrechnungen werden in Bayern jährlich 10000 Borreliose-Neuinfektionen vermutet, deutschlandweit zwischen 60000 und 100000 (Pressemitteilung Bayerisches Staatsministerium für Umwelt und Gesundheit Nr. 37/12). Daher sprach sich am 13. März 2012 das Bayerische Staatsministerium für Umwelt und Gesundheit für die Einführung der Borreliosemeldepflicht aus, um die Borrelioseerkrankungen in Bayern präzise zu erfassen und die so gewonnenen Daten für die Aufklärung sowie für die wissenschaftliche Forschung zu nutzen (Pressemitteilung Nr. 37/12). Das Bundesland Rheinland-Pfalz führte bereits im Sommer 2011 als erstes der westdeutschen Bundesländer die Meldepflicht für Borreliose ein (Landesuntersuchungsamt Rheinland-Pfalz; Pressemeldung vom 29. Juni 2011).

2.3 Frühsommer-Meningoenzephalitis (FSME)

2.3.1 Geschichte

Das FSME-Virus ist der Erreger der Frühsommer-Meningoenzephalitis. Das Krankheitsbild von FSME wurde erstmals von Schneider 1936 als Meningitis serosa in Österreich beschrieben. Nach weiteren beschriebenen Krankheitsfällen in Asien und Europa gelang 1938 erstmals die Virusisolierung während einer Expedition zur Erforschung der biphasischen Meningoenzephalitis unter der Leitung von Zilber im heutigen Russland (Gresikova und Calisher, 1989; Kunz, 1992; Gritsun et al., 2003). In Europa wurde das FSME-Virus zuerst 1948 in einem Labor im heutigen Tschechien isoliert (Gallia et al., 1949). FSME gilt als eine der wichtigsten und gefährlichsten vektorübertragenen Virusinfektionen des Menschen in Europa (Nuttall und Labuda, 1994; Gritsun et al., 2003).

2.3.2 Systematik

Das FSME-Virus ist ein RNA-Virus, das der Gattung *Flavivirus* angehört. Neben dem FSME-Virus zählen auch das Gelbfiebervirus, Denguevirus, West-Nile-Virus, Japanese-Encephalitis-Virus und St.-Louis-Encephalitis-Virus zu den Flaviviren. Flaviviren bilden zusammen mit dem Pestivirus und Hepacivirus die Familie der Flaviviridae (Chambers et al., 1990; Modrow et al., 2003). Das FSME-Virus lässt sich zusätzlich den Arboviren (arthropod-borne viruses) zuordnen. So werden Viren bezeichnet, die durch Insekten oder Spinnentiere übertragen werden (Modrow et al., 2003).

2.3.3 Morphologie und Genom

Das FSME-Virus ist ein behülltes Einzel(+)-Strang-RNA-Virus [ss(+)RNA]. Es hat einen Durchmesser von 50 nm und besteht aus einem ikosaedrischen Capsid (Core-Protein), welches von einer Hüllmembran umgeben ist, in welche zwei virale Oberflächenproteine (Membran-Protein und Envelope-Protein) als Homodimere eingelagert sind (Chambers et al., 1990; Modrow et al., 2003; Labuda und Nuttall, 2004). Die Erbinformation liegt als einzelsträngige RNA positiver Polarität mit direkter Infektiosität vor (Gritsun und Gould, 1995; Thiel et al., 2005). Der offene Leserahmen mit 11141 Basen (Stamm Neudoerfl) kodiert für ein vorläufiges Polyprotein, welches im Infektionsverlauf in die einzelnen Komponenten gespalten wird: das E-Protein (Envelope-Protein), das C-Protein (Capsid) und das prM (precursor of Membrane) sowie sieben, nicht strukturelle

Proteine (Kunz, 1992; Modrow et al., 2003; Thiel et al., 2005). Der Leserahmen wird von zwei nichtkodierenden Regionen (Non-Coding-Region, NCR) flankiert. Während die 5'-NCR durch eine Cap-Gruppe modifiziert ist und eine Länge von etwa 130 Nukleotiden (nt) aufweist, variiert die Länge der 3'-NCR je nach Genotyp zwischen 350 bis 800 nt (Wallner et al., 1995; Modrow et al., 2003; Thiel et al., 2005). Aus dem C-Protein wird das Kapsid gebildet, welches die RNA umhüllt und sich mit dieser zu einem Nukleokapsid verbindet. Das M-Protein (membran-assoziierte Protein) liegt erst als Komplex mit dem E-Protein als unreifes prM-Protein vor. Im Verlauf der Virusfreisetzung aus der Wirtszelle wird dieser Komplex gespalten und das prM-Protein in die reife Form, das M-Protein umgewandelt (Modrow et al., 2003; Thiel et al., 2005). Das E-Protein spielt eine zentrale Rolle in der Biologie der Infektion, da es die Adsorption des Virus an die Wirtszelle vermittelt (Gritsun et al., 2003). Zudem fungiert es als wichtiges Immunogen und scheint der entscheidende Faktor der Virulenz des FSME-Virus zu sein (Gritsun et al., 2003; Modrow et al., 2003). Die Funktion der sieben Nicht-Struktur-Proteine (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B, NS5) liegt in der Replikation der viralen RNA in der Wirtszelle (Modrow et al., 2003). Den einzelnen Proteinen kommen dabei die Funktionen einer RNA-Polymerase (NS5-Protein), Protease (NS2B) oder Helikase (NS3) zu. NS1 induziert die Zellmembran-Lyse und unterstützt zusammen mit NS2A die Assoziation mit Membranen (Heinz, 2003; Thiel et al., 2005).

2.3.4 Geographische Verbreitung und Vektoren

Das FSME-Virus wird in Regionen in Zentral- und Osteuropa sowie in weiten Teilen Russlands bis nach China und Japan beschrieben. Anhand dieser geographischen Verbreitung lässt sich das FSME-Virus in drei Subtypen einteilen: Europäischer Subtyp (FSME-Eu), Fernöstlicher Subtyp (FSME-FE) und Sibirischer Subtyp (FSME-Sib) (Sonenshine, 1993). Fernöstlicher Subtyp und Sibirischer Subtyp werden durch *I. persulcatus* übertragen. Ihr Vorkommen wurde in Zentralasien und Sibirien, sowie für einzelne Gebiete im Baltikum und Finnland nachgewiesen (Pogodina et al., 1981; Ecker et al., 1999; Hayasaka et al., 2001; Bormane et al., 2004; Jääskeläinen et al., 2006). Der Europäische Subtyp wird von *I. ricinus* übertragen und findet sich in den Ländern Zentral- und Osteuropas, insbesondere im europäischen Teil Russlands und Skandinaviens (Ecker et al., 1999; Modrow et al., 2003). Die Verteilung des Virus in den beschriebenen Gebieten ist jedoch nur auf Naturherde (Foki) und Mikrofoke beschränkt (Blaškovič und Nosek, 1972; Kunz, 1992). Endemisch tritt es vor

allen in bestimmten Gebieten in Österreich (Kärnten), Süddeutschland (Donaugebiet, Schwarzwald), Slowenien, Kroatien, Ungarn, Tschechische Republik, Slowakei, Polen, Litauen, Lettland und Estland auf (Modrow et al., 2003).

2.3.5 Übertragung

Die Übertragung des FSME-Virus in Europa erfolgt im Normalfall durch einen Stich der Zecke *I. ricinus* bzw. der Zeckenart *I. persulcatus* für den Sibirischen und Fernöstlichen Subtyp (Blaškovič, 1967; Nuttall und Labuda, 1994). Unter experimentellen Bedingungen konnte die Übertragung des FSME-Virus auch für Zeckenarten verschiedener Gattungen wie *Haemaphysalis concinna* und *Dermacentor marginatus* nachgewiesen werden. Unter natürlichen Bedingungen bleiben diese Vektoren für die Übertragung des Virus allerdings vernachlässigbar (Nuttall und Labuda, 1994; Gritsun et al., 2003). Die Übertragung des Virus auf einen Wirt erfolgt durch Speichel, der während des Saugaktes in den Wirt abgegeben wird. Neben dem Zeckenstich sind für den Menschen auch alimentäre Infektionen durch den Verzehr roher Schaf- und Ziegenmilch (gelegentlich auch Kuhmilch) sowie deren Produkte möglich (Holzman et al., 1990; Modrow et al., 2003; Süss, 2003). Infektionen im Labor durch Inhalation und Stichverletzungen während der Arbeit mit infektiösem Material sind möglich (Grešiková und Calisher, 1989; Gritsun et al., 2003).

2.3.6 FSME (Frühsommer-Meningoenzephalitis)

Infektionen mit dem FSME-Virus des Europäischen Subtyps treten gehäuft im Frühsommer und Herbst auf und verlaufen in der Regel relativ mild. Etwa 70% der Infektionen bleiben klinisch unauffällig und werden nicht erkannt. Die restlichen 30% der Infektionen entwickeln eine Erkrankung, die einen biphasischen Verlauf zeigt. Zwischen dem Kontakt mit dem Virus und dem Auftreten der ersten Symptome vergehen 1-2 Wochen. Die ersten Krankheitszeichen äußern sich als unspezifische, grippeartige Symptome wie Kopfschmerzen, Fieber, Übelkeit und Lichtsensibilität (Kunz, 1992; Gritsun et al., 2003). Während dieser Zeit ist eine Isolierung des Virus aus dem Blut möglich. Danach tritt eine merkbare Besserung des klinischen Zustands ein. In der zweiten Phase der Erkrankung entwickeln die Patienten Symptome einer ZNS-Erkrankung wie milde Formen von Meningitis bis zu schweren Formen von Enzephalitis mit Zittern, Schwindel, veränderter Wahrnehmung und

Lähmungserscheinungen (Dumpis et al., 1999; Gritsun et al., 2003). Der Anteil schwerer Krankheitsverläufe steigt merklich mit dem Alter der Patienten (Logar et al., 2006). Die Letalität liegt bei der Infektion mit dem Europäischen Subtyp zwischen einem und fünf Prozent bei Patienten, die einen schweren klinischen Verlauf der Infektion zeigen. Rund 20% der Überlebenden der zweiten Infektionsphase zeigen neurologische Folgeschäden. Da die Behandlung von FSME lediglich symptomatisch und nicht ursächlich erfolgen kann, spielen prophylaktische Maßnahmen bei dieser Virusinfektion eine bedeutende Rolle. Neben der Verwendung von passender Kleidung und Repellents, um Zeckenstiche zu vermeiden, ist zum Schutz gegen das FSME-Virus ein sicherer und effektiver Impfstoff verfügbar (Lehrer und Holbrook, 2011). Der Einfluss einer Impfung auf die Inzidenz der Erkrankung wird am Beispiel Österreichs ersichtlich, wo eine groß angelegte Impfkampagne in der 10fachen Senkung der Zahl der klinischen Fälle innerhalb von zehn Jahren resultiert (Kunz 2002, 2003).

2.3.7 FSME in Deutschland und Bayern

Insgesamt wurden in Deutschland seit der Einführung des Infektionsschutzgesetzes (IfSG) 2001 gemäß § 7 Abs. 1 3669 FSME Erkrankungsfälle an das Robert-Koch-Institut (RKI) gemeldet (SurvStat, RKI, Stand: 29.8.12). Als Erfassungsgrundlage diente dabei, die durch das RKI bereitgestellte Falldefinition (Falldefinitionen des RKI, Ausgabe 2007; 24.3.12). Die epidemiologische Situation bezüglich der FSME in Deutschland gestaltet sich in den einzelnen Bundesländern jedoch sehr unterschiedlich. So wurden die höchsten Inzidenzraten für die südlichen Bundesländer Baden-Württemberg und Bayern, gefolgt von Hessen berichtet. In den nördlichen Bundesländern traten FSME-Erkrankungen jedoch nur vereinzelt auf. Von 2001 bis 2012 wurden in Baden-Württemberg 1662 Fälle und in Bayern 1502 Fälle registriert. In Hessen waren es in diesem Zeitraum 226 Fälle. In den restlichen Bundesländern wurden in dem beobachteten Zeitraum nicht mehr als 44 Erkrankungsfälle je Bundesland gemeldet (SurvStat, RKI, Stand: 29.8.12). Der Durchschnitt der jährlichen gemeldeten Fälle reicht seit 2001 jeweils von 0 Fällen in Bremen und 19.2 Fälle in Hessen bis zu 131.7 Fälle in Bayern und 146.6 Fälle in Baden-Württemberg. Auf der Basis der Zahlen gemeldeter, autochthon erworbener FSME-Erkrankungen wird jährlich eine Einteilung der Stadt- und Landkreise in Deutschland in Risiko- und Hochrisikogebiete vorgenommen. Zum jetzigen Zeitpunkt sind 136 von 440 Landkreisen als FSME-Risikogebiet klassifiziert (Süss, 2011). Obwohl Bayern nach Baden-Württemberg die höchste Zahl an

gemeldeten FSME-Erkrankungen zu verzeichnen hat, zeigt sich bezüglich ihrer Verteilung in den sieben Regierungsbezirken Bayerns eine fokale Verteilung. Die meisten Fälle wurden für die Oberpfalz (294 Fälle) berichtet, gefolgt von Mittelfranken (269 Fälle), Niederbayern (266 Fälle), Oberbayern (245 Fälle), Oberfranken (191 Fälle) und Unterfranken (191 Fälle). Die geringsten Fallzahlen wurden für Schwaben berichtet (46 Fälle).

3 Material und Methoden

3.1 Standorte in Niederbayern und der Oberpfalz

Da diese Arbeit im Rahmen des INTERREG IV A Projektes in Kooperation mit der Tschechischen Republik erstellt wurde, unterlag die Auswahl der zu beprobenden Standorte einheitlicher, mit dem Projektpartner abgestimmter Kriterien. Beide Projektpartner nutzten für die Wahl der Standorte gemäß den Projektrichtlinien ein geographisches Informationssystem (GIS). Insgesamt wurden im Projektgebiet (Ostbayern und Südböhmen) 50 Standorte nach spezifischen Kriterien ausgewählt. Das zu untersuchende Projektgebiet in Ostbayern (Niederbayern und Oberpfalz) umfasste 20 Standorte.

3.1.1 GIS (Geographisches-Informationssystem)-Analyse

Die Aufbereitung, Visualisierung und Analyse von Daten in geographischen Informationssystemen (GIS) findet immer häufiger in epidemiologischen Studien Verwendung. GIS-Analysen eignen sich besonders für die räumliche und zeitliche Darstellung des Auftretens Vektor-übertragener Infektionskrankheiten, da die Übertragung der Infektionserreger durch hämatophage Arthropoden erfolgt, deren spezifische Lebensräume durch eine GIS-Analyse optimal erfasst werden können. Für die räumliche Erfassung des FSME-Virus und *B. burgdorferi* s.l. in *I. ricinus* in den Regierungsbezirken Niederbayern und Oberpfalz wurden die in Tabelle 3.1 aufgeführten Daten bei der Analyse verwendet.

Kriterium	Quelle
FSME-Fälle 2001-2009	SurvStat, Robert-Koch-Institut; Gesundheitsämter der Landkreise in Niederbayern und der Oberpfalz
Vegetation	CORINE Landcover 2006, European Environment Agency
Vektor 500 ATKIS®Basis DLM	Bayerische Vermessungsverwaltung
Einwohnerzahlen	Statistisches Bundesamt
Tourismusaktivität	Bayerisches Landesamt für Statistik und Datenverarbeitung

Tabelle 3.1 Kriterien für die Auswahl von 20 Standorten in Niederbayern und der Oberpfalz durch ein GIS (Geographisches Informationssystem)

FSME-Fälle: bei der Auswahl der Standorte wurden Gebiete mit unterschiedlichem FSME-Erkrankungsrisiko einbezogen. Als Maßstab dafür wurden die gemeldeten FSME-Erkrankungsfälle der Jahre 2001-2009 auf Landkreisebene sowie spezifische Informationen zum lokalen Auftreten der einzelnen gemeldeten Fälle innerhalb der Landkreise in Niederbayern und der Oberpfalz von den lokalen Gesundheitsämtern verwendet.

Vegetation: die geeignete Vegetationsbedeckung für *I. ricinus* Zecken wurde von den Daten von CORINE Landcover 2006 der European Environment Agency abgeleitet. Es wurden dabei nur Vegetationsklassen, die prinzipiell als Lebensraum für *I. ricinus* geeignet sind, in die Analyse mit einbezogen.

Vektor 500 und ATKIS®Basis DLM: diese Karten dienten als topographische Grundlage für die GIS-Analyse und wurden von der Bayerischen Vermessungsverwaltung zur Verfügung gestellt. Zusätzlich gaben sie Aufschluss über die Höhenlage der potentiellen Standorte in Bayern.

Einwohnerzahlen für Oberpfalz und Niederbayern: die Einwohnerzahlen der Landkreise wurden vom Statistischen Bundesamt bezogen.

Tourismusaktivität: die Intensität der Frequentierung der Gebiete in Niederbayern und der Oberpfalz während der Freizeitgestaltung der regionalen und überregionalen Bevölkerung wurde aus Mangel an aussagekräftigen Daten aus der Zahl der Übernachtungen in entsprechenden Unterkünften in diesen Regierungsbezirken abgeleitet. Sie wurden für den ostbayerischen Raum vom Bayerischen Landesamt für Statistik und Datensicherheit bezogen.

3.1.2 Auswahl der 20 Standorte in Niederbayern und Oberpfalz

Die GIS-Analyse der unter 3.1.1. aufgeführten Kriterien und Daten wurde im Rahmen der Projektkooperation mit der Tschechischen Republik von RNDr. Pavel Švec vom Institut für Geoinformatik der Technischen Universität in Ostrava, Tschechien mit der Software ArcGIS 9.3 durchgeführt. Das geographische Informationssystem erstellte für den Projektraum Oberpfalz und Niederbayern Bereiche, die in allen aufgeführten Kriterien übereinstimmten. Aus diesen Bereichen wurden willkürlich 20 Standorte für die weitere Untersuchung der Prävalenzraten der Infektionserreger in *I. ricinus* ausgewählt. Neun Standorte befanden sich in der Oberpfalz und 11 Standorte in Niederbayern. Insgesamt wurden damit zehn der 16 Landkreise Niederbayerns und der Oberpfalz in die Untersuchung einbezogen. Um eine ausreichende Zahl an gesammelten Zecken zu gewährleisten, wurde auf Standorte in Laub- und Mischwäldern mit vorhandenem Untergrundbewuchs geachtet. Die Qualität von jedem der 20

Standorte wurde vor Ort bestätigt und mit Probesammlungen von *I. ricinus* abgesichert. Abbildung 3.1 zeigt eine Übersicht der ausgewählten 20 Standorte in Niederbayern und der Oberpfalz.

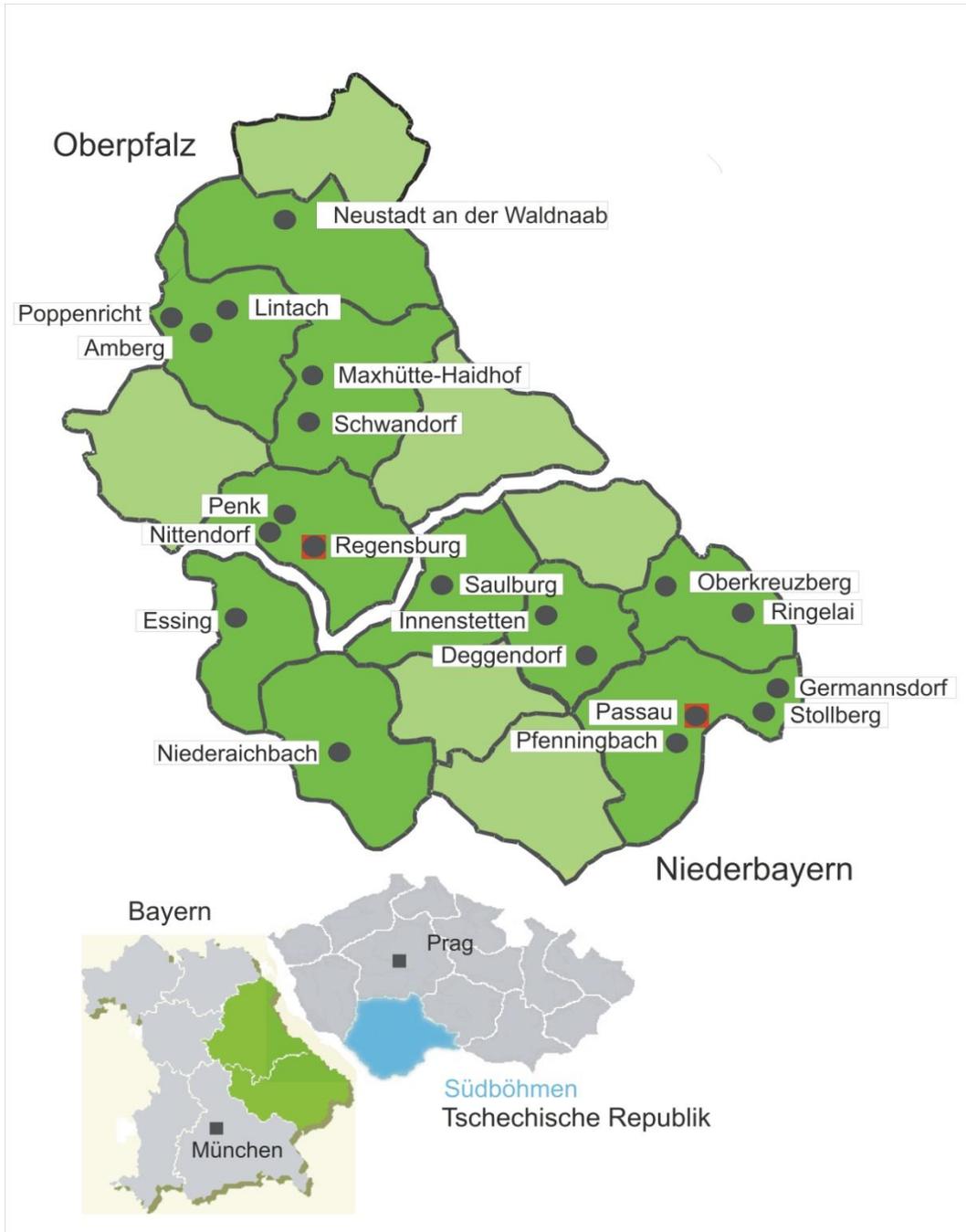


Abbildung 3.1 Übersicht der 20 ausgewählten Standorte in Niederbayern und der Oberpfalz sowie des Projektraum Südböhmen in der Tschechischen Republik (Quelle: Regierung der Oberpfalz, modifiziert).

3.1.3 Charakteristika der 20 Standorte

Neustadt an der Waldnaab (A)



Abbildung 3.2 Neustadt an der Waldnaab (A) (N 49°43'31.97"/ E 12°10'49,61"; 478 m ü. NN)

Der Standort lag im Landkreis Neustadt an der Waldnaab in der Oberpfalz in direkter Nachbarschaft zur schulischen Sportanlage. Die beprobte Fläche war von Kiefern (*Pinus sylvestris*) geprägt. Daneben konnten Rotbuchen (*Fagus sylvatica*), Fichten (*Picea abies*), Eichen (*Quercus robur*), Ebereschen (*Sorbus aucuparia*), Weiden (*Salix caprea*) und Espen (*Populus tremula*) identifiziert werden. Die Strauch- und Krautschicht bestand hauptsächlich aus Maiglöckchen (*Convallaria majalis*), Brombeer- und Himbeersträuchern (*Rubus fruticosus*, *Rubus idaeus*) sowie Sträuchern der Heidelbeere (*Vaccinium myrtillus*).

Poppenricht (B)



Abbildung 3.3 Poppenricht (B) (N 49°28'55.64"/ E 11°46'54.57"; 457 m ü. NN)

Der Standort befand sich im Oberpfälzer Landkreis Amberg-Weizbach in nächster Nähe des gleichnamigen Dorfes. Die Vegetation am Standort war von Rotbuchen (*Fagus sylvatica*), Lärchen (*Larix decidua*), Farnen (*Dryopteris filix-mas*) und Waldsauerklee (*Oxalis acetosella*) geprägt.

Amberg (C)



Abbildung 3.4 Amberg (C) (N 49°26'58"/ E 11°52'22.28"; 464 m ü. NN)

Der Standort Amberg lag in einem kleinen Wäldchen inmitten der kreisfreien Stadt Amberg in der Oberpfalz. Rotbuchen (*Fagus sylvatica*), Winterleichen (*Quercus petraea*), Spitzahorn (*Acer platanoides*), Feldahorn (*Acer campestre*) und Lärchen (*Larix decidua*) konnten am Standort identifiziert werden. Die Strauch- und Krautschicht wurde von Waldmeister (*Galium odoratum*), Goldnesseln (*Lamium galeobdolon*) und Efeu (*Hedera helix*) dominiert.

Lintach (D)



Abbildung 3.5 Lintach (D) (N 49°28'10.57"/ E 11°57'11.76"; 450 m ü. NN)

Der Standort war bei Lintach im Landkreis Amberg-Weilburg in der Oberpfalz lokalisiert und befand sich auf einer Lichtung eines kleinen Buchenwaldes. Neben Weißbuchen (*Carpinus betulus*) waren außerdem Eichen (*Quercus robur*), Holundersträucher (*Sambucus nigra*), Kiefern (*Pinus sylvestris*) und Jungpflanzen der Rosskastanie (*Aesculus hippocastanum*) präsent. Die Kraut- und Strauchschicht bestand hauptsächlich aus Buschwindröschen (*Anemone nemorosa*), Goldnesseln (*Laminum galeobdolon*), Himbeersträuchern (*Rubus idaeus*) und Weißwurz (*Polygonatum multiflorum*).

Schwandorf (E)



Abbildung 3.6 Schwandorf (E) (N 49°20'18.47"/E 12°5'3.8"; 397 m ü. NN)

Der Standort lag auf einer kleinen Lichtung in einem weitreichenden Waldstück bei Schwandorf im Landkreis Schwandorf in der Oberpfalz. Weißbuchen (*Carpinus betulus*), Robinien (*Robinia pseudoacacia*), Rotbuchen (*Fagus sylvatica*), Linden (*Tilia cordata*), Eichen (*Quercus petrae* und *Quercus robur*), Lärchen (*Larix decidua*), Weiden (*Salix caprea*) und Espen (*Populus tremula*) konnten bestimmt werden. Der Untergrundbewuchs bestand überwiegend aus Maiglöckchen (*Convallaria majalis*) und Heidelbeersträuchern (*Vaccinium myrtillus*).

Maxhütte-Haidhof (F)

Der Standort befand sich bei Maxhütte-Haidhof im Landkreis Schwandorf in der Oberpfalz. Die Baumschicht bestand hauptsächlich aus Eichen (*Quercus robur*), Robinien (*Robinia pseudoacacia*), Birken (*Betula pendula*), Weiden (*Salix caprea*), Kiefern (*Pinus sylvestris*), Espen (*Populus tremula*) und Ebereschen

(*Sorbus aucuparia*). Die Kraut- und Strauchschicht war von Gras und Jungpflanzen von Ahorn (*Acer* spp.) und Eschen (*Fraxinus excelsior*) geprägt.



Abbildung 3.7 Maxhütte-Haidhof (F) (N 49°12'20.14"/ E 12°5'40.03"; 500 m ü. NN)

Penk (G)



Abbildung 3.8 Penk (G) (N 49°2'48.81"/ E 11°57'37.66"; 388 m ü. NN)

Der Standort Penk war bei Penk im Landkreis Regensburg in der Oberpfalz lokalisiert. Die Vegetation bestand aus Rotbuchen (*Fagus sylvatica*), Fichten (*Picea abies*), Birken (*Carpinus betulus*), Feldahorn (*Acer campestre*) und Holunder (*Sambucus nigra*). Die Kraut- und Strauchschicht war von Leberblümchen (*Hepatica nobilis*), Frühlings-Platterbsen (*Lathyrus vernus*), Schlüsselblumen (*Primula veris*), Waldmeister (*Galium odoratum*) sowie Wolfsmilch (*Euphorbia verrucosa*) geprägt.

Nittendorf (H)



Abbildung 3.9 Nittendorf (H) (N 49°1'11"/ E11°57'23.80"; 435 m ü. NN)

Der Standort befand sich bei Nittendorf im Landkreis Regensburg in der Oberpfalz. Die Baumschicht am Standort war geprägt von Rotbuchen (*Fagus sylvatica*), Weißbuchen (*Carpinus betulus*), Fichten (*Picea abies*), Heckenkirschen (*Lonicera xylosteum*) und Wolligem Schneeball (*Viburnum lantana*). Die Strauch- und Krautschicht bestand hauptsächlich aus Jungpflanzen der Rotbuche (*Fagus sylvatica*), Weißdorne (*Crataegus spp.*) und Feldahorn (*Acer campestre*), sowie Maiglöckchen (*Convallaria majalis*), Leberblümchen (*Hepatica nobilis*), Akelei (*Aquilegia vulgaris*), Buschwindröschen (*Anemone nemorosa*) und Waldlabkraut (*Galium sylvaticum*).

Essing (I)



Abbildung 3.10 Essing (I) (N 48°54'40"/ E 11°46'47.70; 444 m ü. NN)

Der Standort lag in einem weitläufigen Waldstück bei Essing im Landkreis Kelheim in Niederbayern. Die Baumschicht bestand hauptsächlich aus Eiche

(*Quercus robur*), Birke (*Betula pendula*), Fichte (*Picea abies*), Weißbuche (*Carpinus betulus*) und Weide (*Salix caprea*). Der Untergrundbewuchs bestand aus Seggen (*Carex* spp.), Dornfarn (*Dryopteris dilatata*), Wald-Frauenfarn (*Athyrium filix-femina*), Wurmfarne (*Dryopteris filix-mas*) und Springkraut (*Impatiens parviflora*).

Regensburg (J)



Abbildung 3.11 Regensburg (J) (N 48°58'35.42"/E 12°8'41.48"; 368 m ü. NN)

Der Standort war im Stadtkreis Regensburg in der Oberpfalz lokalisiert. Die Baumschicht war von Rotbuchen (*Fagus sylvatica*), Fichten (*Picea abies*), Lärchen (*Larix decidua*), Weißbuchen (*Carpinus betulus*) und Linden (*Tilia* spp.) geprägt. Der Untergrundbewuchs bestand aus juvenilen Stadien der Esche (*Fraxinus excelsior*) sowie Holunder (*Sambucus nigra*), Brombeersträucher (*Rubus fruticosus*), Waldsauerklee (*Oxalis acetosella*), Brennnessel (*Urtica dioica*), Springkraut (*Impatiens parviflora*) und Weißwurz (*Maianthemum bifolium*).

Saulburg (K)

Der Standort Saulburg lag im Landkreis Straubing-Bogen in Niederbayern in einem Laubwald mit vereinzelt Nadelhölzern. Rotbuche (*Fagus sylvatica*) und Fichte (*Picea abies*) konnten identifiziert werden. Der Untergrund war mit Springkraut (*Impatiens parviflora*), Greiskraut (*Senecio ovatus*), Veilchen (*Viola* spp.) und Wurmfarne (*Dryopteris filix-mas*) sowie jungen Brombeer- und Himbeersträuchern (*Rubus fruticosus*, *Rubus idaeus*) besiedelt.



Abbildung 3.12 Saulburg (K) (N 48°59'42.41"/ E 12°33'49.11"; 461 m ü. NN)

Innenstetten (L)



Abbildung 3.13 Innenstetten (L) (N 48°53'34.50"/ E 12° 54'34.29"; 416 m ü. NN)

Der Standort befand sich in einem kleinen Mischwald in der Nähe eines kleinen Bachlaufs bei Innenstetten im Landkreis Deggendorf in Niederbayern. Die Baumschicht bestand aus Eichen (*Quercus robur*), Rotbuchen (*Fagus sylvatica*), Birken (*Betula pendula*), Schwarzerlen (*Alnus glutinosa*), Bergahorn (*Acer pseudoplatanus*), Fichten (*Picea abies*) und Haselnusssträuchern (*Corylus avellana*). Der Untergrund bestand hauptsächlich aus Buschwindröschen (*Anemone nemorosa*), jungen Brom- und Himbeersträuchern (*Rubus fruticosus*, *Rubus idaeus*) und Seggen (*Carex* spp).

Niederaichbach (M)

Der Standort war bei Niederaichbach im Landkreis Landshut in Niederbayern

lokalisiert. Die Vegetation war geprägt von Rotbuchen (*Fagus sylvatica*), Fichten (*Picea abies*), Bergahorn (*Acer pseudoplatanus*), Eschen (*Fraxinus excelsior*) und Brombeersträuchern (*Rubus fruticosus*).



Abbildung 3.14 Niederaichbach (M) (N 48°36'7.70"/ E 12°18'50.92"; 400 m ü. NN)

Deggendorf (N)



Abbildung 3.15 Deggendorf (N) (N48°48'38.71"/ E 12°59'20.26"; 422 m ü. NN)

Der Standort befand sich im Gebiet der Kreisstadt Deggendorf in Niederbayern. Die Baumschicht bestand aus Weißbuchen (*Carpinus betulus*), Rotbuchen (*Fagus sylvatica*), Birken (*Betula pendula*), Espen (*Populus tremula*) und vereinzelt Fichten (*Picea abies*). In der Strauch- und Krautschicht waren Seggen (*Carex* spp.), Goldnesseln (*Lamium galeobdolon*), Weißwurz (*Polygonatum multiflorum*) und Buschwindröschen (*Anemone nemorosa*) dominant.

Ringelai (O)



Abbildung 3.16 Ringelai (O) (N 48°48'48.39"/ E 13°29'7.74"; 440 m ü. NN)

Der Standort war bei Ringelai im Landkreis Freyung-Grafenau in Niederbayern lokalisiert. Die Vegetation war von Rotbuche (*Fagus sylvatica*), Mädelsüß (*Filipendula ulmaria*), Wolfsmilch (*Euphorbia dulcis*), Zypressen-Wolfsmilch (*Euphorbia cyparissias*), Wurmfarne (*Dryopteris filix-mas*) und Leimkraut (*Silene dioica*) geprägt. Der Untergrundbewuchs bestand zum Großteil aus Waldmeister (*Galium odoratum*) und Walderdbeeren (*Fragaria vesca*)

Germannsdorf (P)



Abbildung 3.17 Germannsdorf (P) N 48°37'43.60"/ E 13°40'15.07"; 565 m ü. NN)

Der Standort befand sich bei Germannsdorf im Landkreis Passau in Niederbayern. Die Baumschicht bestand aus Rotbuchen (*Fagus sylvatica*), Eichen (*Quercus robur*), Fichten (*Picea abies*) und Ebereschen (*Sorbus aucuparia*). Die Strauch- und Krautschicht war von Brombeersträuchern (*Rubus fruticosus*), Heidelbeersträuchern (*Vaccinium myrtillus*), Frauenfarne (*Athyrium*

filix-mas) und Weißwurz (*Polygonatum multiflorum*) geprägt.

Passau (R)



Abbildung 3.18 Passau (R) (N 48°34'47.47"/ E13°26'29.49"; 360 m ü. NN)

Der Standort lag im Gebiet der kreisfreien Stadt Passau in Niederbayern in einem waldähnlichen Stadtpark. Die Baumschicht am Standort war geprägt von Weißbuchen (*Carpinus betulus*), Eichen (*Quercus robur*) und Linden (*Tilia cordata*). Der Untergrundbewuchs bestand hauptsächlich aus Buschwindröschen (*Anemone nemorosa*), Knoblauchrauke (*Alliaria petiolata*), Scharbockskraut (*Ficaria verna*) und Springkraut (*Impatiens parviflora*).

Pfenningbach (S)



Abbildung 3.19 Pfenningbach (S) (N 48°31'57.68"/ E 13°23'19.55"; 446 m ü. NN)

Der Standort lag bei Pfenningbach im Landkreis Passau in Niederbayern in

einem kleinen Waldstück in der Nähe des örtlichen Wertstoffhofes. Die Baumschicht sowie die Strauch- und Krautschicht waren von Weißbuchen (*Fagus sylvatica*), Eichen (*Quercus robur*), Fichten (*Picea abies*) sowie Brennnesseln (*Urtica dioica*) und Himbeersträuchern (*Rubus idaeus*) geprägt.

Stollberg (T)



Abbildung 3.20 Stollberg (T) (N 48°33'0.72/ E 13° 41'37.86; 505 m ü. NN)

Der Standort befand sich in einem kleineren Waldstück bei Stollberg im Landkreis Passau in Niederbayern. Die Vegetation bestand aus Fichten (*Picea abies*), Eichen (*Quercus robur*), Birken (*Betula pendula*), Ebereschen (*Sorbus aucuparia*) und Heidelbeersträuchern (*Vaccinium myrtillus*).

Oberkreuzberg (U)



Abbildung 3.21 Oberkreuzberg (U) N 48°52'36.06"/E 13°21'13.45"; 569 m ü. NN)

Der Standort lag bei Oberkreuzberg im Landkreis Freyung-Grafenau in Niederbayern. Die Vegetation bestand hauptsächlich aus Rotbuchen (*Fagus sylvatica*), Fichten (*Picea abies*), Tannen (*Abies alba*), Waldsauerklee (*Oxalis acetosela*), Waldmeister (*Galium odoratum*), Goldnessel (*Lamium galeobdolon*), Frauenfarn (*Athyrium filix-femina*), Springkaut (*Impatiens parviflora*), Waldsegge (*Carex sylvatica*) und Walderdbeere (*Fragaria vesca*).

3.2 Sammeln der Zecken

Im Mai (25.5.-31.5.), Juni (21.6.-26.6.) und September (15.9.-21.9.) 2010 wurden die 20 ausgewählten Standorte jeweils einmal beprobt. Nüchterne und aktiv nach Wirten suchende Zecken wurden mit einer Flagge vom Boden und der Vegetation abgestreift. Die Zeckenflagge hatte eine Größe von 0.5 x 0.5 m und bestand aus technischem Flanell. Pro Standort wurde eine Fläche von 600 m² beprobt, die in einzelnen Zügen besammelt wurde. Durch dieses Verfahren wurde eine repräsentative Probe von den einzelnen Standorten erhalten. Nach einigen Zügen wurden die auf der Flagge vorhandenen Zecken mit einer Federstahlpinzette abgesammelt und Nymphen, adulte Weibchen und adulte Männchen jeweils separat in ein 50 ml-Röhrchen mit 95%-Ethanol überführt. Die gesammelten Zecken wurden bis zur weiteren Aufbereitung bei -80°C zwischengelagert. Zusätzlich wurden bei jedem Sammeltermin die aktuellen Witterungsverhältnisse dokumentiert sowie Werte für Temperatur und Luftfeuchtigkeit aufgenommen.

3.3 Molekularbiologische Methoden

3.3.1 Identifizierung und Vorbereitung der Zecken

Die gesammelten Nymphen und Adulttiere wurden anhand morphologischer Kriterien nach Hillyard (1996) unter einer Stereolupe bis zur Art bestimmt. Zecken der Art *I. ricinus* wurden für die weiteren Untersuchungen verwendet. In Absprache mit unseren Projektpartner sollten alle Zecken auf das Vorkommen des FSME-Virus untersucht werden. Die Untersuchung der Zecken erfolgte daher in Pools, wobei jeweils 10 Nymphen sowie 5 adulte Weibchen oder 5 adulte Männchen zu einem Pool zusammengefasst wurden. Ein Teil der Zecken sollte zudem auf die Präsenz von *B. burgdorferi* s.l. gescreent werden. Dafür wurden jeweils maximal 125 Nymphen pro Standort und Saison (Mai und September) sowie alle adulten Tiere individuell in ein Reaktionsgefäß überführt, mit 90 µl PBS-Puffer versetzt und mit einem TissueLyzer homogenisiert. Von dem Zeckenhomogenat wurden 60 µl für die anschließende DNA Extraktion in ein weiteres Reaktionsgefäß überführt. Der Rest des Homogenats wurde für die RNA-Extraktion einem Pool zugeführt. Die restlichen Nymphen wurden gepoolt, mit 300 µl PBS-Puffer versetzt und in einem TissueLyzer homogenisiert. Beide

Probenarten wurden bis zur weiteren Verwendung bei -80°C gelagert.

3.3.2 Nachweis von *B. burgdorferi* s.l. DNA in *I. ricinus*

3.3.2.1 DNA-Isolierung aus *I. ricinus*

Aus dem aus 3.3.1 beschriebenen erhaltenem Homogenat wurde mit dem NucleoSpin Tissue Kit (Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, DE) nach der Anleitung des Herstellers die Gesamt-DNA aus der Zecke isoliert. Die DNA wurde in 100 µl Elutionspuffer eluiert. Die Probe wurde entweder sofort verwendet oder bei -20°C verwahrt. Zur Abschätzung der erfolgreichen DNA-Isolierung wurden die einzelnen Proben stichprobenartig mit einem Spectrophotometer (NanoDrop®ND-1000, PeqLab, Erlangen, Deutschland) nach der Anleitung des Herstellers (NanoDrop® User Manual, 2004) vermessen.

3.3.2.2 Nested-PCR für die Detektion des 5S-23S intergenischen Spacers von *B. burgdorferi* s.l.

Die PCR (Polymerase-Kettenreaktion) ist eine ubiquitär einsetzbare Standardmethode zur Vervielfältigung von DNA. Mit Hilfe von, den gesuchten DNA-Abschnitt flankierenden, 15-25 bp langen Oligonukleotiden (Primern) und einer hitzestabilen DNA-Polymerase können so beliebige DNA-Abschnitte vervielfältigt werden. Die klassische PCR wird in 30-50 Zyklen durchgeführt. Jeder Zyklus besteht dabei aus folgenden Phasen:

Denaturierung: die Doppelstrang-DNA wird durch Erhitzung auf 94-95°C in Einzelstrang-DNA getrennt.

Annealing: bei geringerer Temperatur hybridisieren sich die Primer mit dem komplementären Strang der Ziel-DNA.

Elongation: die Einzelstrang-DNA wird mit Hilfe der DNA-Polymerase und einzelnen Nukleotiden zur Doppelstrang-DNA synthetisiert.

Die Wiederholung dieses Zyklus führt im Idealfall zu einer exponentiellen Zunahme des Amplifikats.

Für den Nachweis von *B. burgdorferi* s.l. DNA wurde eine nested PCR verwendet. Diese PCR-Technik ist empfehlenswert, wenn nur eine sehr geringe Menge an zu amplifizierender im Vergleich zur Menge der Ausgangs-DNA vorhanden ist. Bei der nested PCR werden zwei PCRs mit verschiedenen Primern hintereinander ausgeführt. Die Sensitivität der PCR ist hierbei erhöht.

Der Nachweis von *B. burgdorferi* s.l. erfolgte durch die Amplifizierung des intergenischen Spacers der 5S-23S rRNA Gene nach Rijpkema et al. (1995). Die bei der Durchführung verwendeten Primer sind in Tabelle 3.3 aufgeführt. In jedem PCR-Lauf wurde jeweils eine Positivkontrolle und eine Negativkontrolle (Ultrapure DNase-/RNase-Free distilled water, Invitrogen, Karlsruhe) integriert. Für den Nachweis der *B. burgdorferi* DNA wurden die Reagenzien und Cyclerkonditionen wie in Tabelle 3.2 und Tabelle 3.4 beschrieben, verwendet.

	Phase	Temperatur	Dauer
1. Amplifizierung			
1x	initiale Denaturierung	94°C	5 min
25x	Denaturierung	94°C	30 s
	Annealing	52°C	30 s
	Elongation	72°C	1 min
1x	finale Elongation	72°C	5 min
2. Amplifizierung			
1x	initiale Denaturierung	94°C	5 min
25x	Denaturierung	94°C	30 s
	Annealing	55°C	30 s
	Elongation	72°C	1 min
1x	finale Elongation	72°C	5 min

Tabelle 3.2 Cyclerbedingungen der nested PCR für den Nachweis des Spacers der 5S-23S rRNA-Gene nach Rijpkema et al. (1995), modifiziert

Primer	Oligonukleotidsequenzen	Referenz
1. Amplifikation		
23 SN1	5'-ACC ATA GAC TCT TAT TAC TTT GAC-3'	Rijpkema et al., 1995
23 SC1	5'-TAA GCT GAC TAA TAC TAA TTA CCC-3'	
2. Amplifikation		
23 SN2	5'-ACC ATA GAC TCT TAT TAC TTT GAC CA-3'	Rijpkema et al., 1995
5 SCB	5'-GAG AGT AGG TTA TTG CCA GGG-3'	

Tabelle 3.3 Primer der nested PCR für den Nachweis des Spacers der 5S-23S rRNA-Gene nach Rijpkema et al. (1995), modifiziert

Reagenzien	Volumen		Volumen
1. Amplifizierung		2. Amplifizierung	
10x Puffer	2.5 µl	10x Puffer	2.5 µl
MgCl ₂ (1.5 mM)	0.75 µl	MgCl ₂ (1.5 mM)	0.75 µl
dNTP (jeweils 10 mM)	0.25 µl	dNTP (jedes 10 mM)	0.25 µl
Primer 23 SN1 (0.2 µM)	0.5 µl	Primer 23 SN2 (0.2 µM)	0.5 µl
Primer 23 SC1 (0.2 µM)	0.5 µl	Primer 5 SCB (0.2 µM)	0.5 µl
Taq Polymerase (0.5 U)	0.1 µl	Taq Polymerase (0.5 U)	0.1 µl
H ₂ O	15.4 µl	H ₂ O	17.9 µl
DNA	5 µl	DNA	2.5 µl
Total	25 µl	Total	25 µl

Tabelle 3.4 Reaktionsbedingungen der nested PCR für den Nachweis des intergenischen Spacers der 5S-23S rRNA-Gene

3.3.2.3 Agarose-Gelelektrophorese

Die PCR-Produkte wurden mit Ladepuffer versetzt und in einem 2% Agarosegel (2 g Agarose auf 100 ml TAE Puffer) elektrophoretisch aufgetrennt. Zur Visualisierung der PCR-Produkte wurde das Agarosegel mit GelRed (Biotium Inc., USA) versetzt und im UV-Licht eines Geldokumentationssystems (Peqlab Biotechnologie GmbH, DE) sichtbar gemacht, fotografiert, als jpg-Format abgespeichert bzw. über einen Thermoprinter ausgedruckt.

3.3.2.4 DNA-Purifikation

Die Aufreinigung der PCR-Produkte wurde mit dem PCR clean up Gel extraction kit (Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, Deutschland) nach den Anweisungen des Herstellers durchgeführt.

3.3.2.5 Sequenzierung und Sequenzauswertung

Nach der Aufreinigung wurden alle positiven PCR-Produkte spektrophotometrisch auf ihren DNA-Gehalt vermessen und auf eine Konzentration von 5 ng DNA/µl mit reinem Wasser verdünnt und anschließend zum Sequenzieren verschickt (Eurofin MWG Operon, Ebersberg, DE). Die Auswertung der Sequenzen erfolgte mit Chromas©Lite (www.technelysium.com.au/chromas_lite.html). Sequenzhomologien wurden mit Hilfe des BLASTn Tool vom National Center for Biotechnology Information (NCBI) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>) mit den Sequenzen in der Genbank abgeglichen.

3.3.2.6 Statistik

Unterschiede in der Prävalenz von *B. burgdorferi* s.l. in *I. ricinus* Nymphen vers. Adulte Tiere wurden statistisch mit dem Fischer Exakt Test ausgewertet. Ein p-Wert < 0.05 wurde als statistisch signifikant erachtet.

3.3.3 Nachweis von FSME-Virus-RNA in *I. ricinus*

3.3.3.1 Extraktion der Gesamt-RNA

Aus dem unter 3.3.1 beschriebenen erhaltenen gepoolten Homogenat aus jeweils 10 Nymphen oder 5 adulten Weibchen bzw. Männchen wurde die Gesamt-RNA mit dem Viral RNA Mini Kit (Qiagen) isoliert. Die RNA wurde in 80 µl Elutionspuffer eluiert. Die RNA-Proben wurden sofort verwendet oder bei -80°C verwahrt.

3.3.3.2 Real-time Reverse-Transkriptase PCR zum Nachweis von FSME-Virus-RNA

Für den Nachweis von FSME-Virus-RNA in *I. ricinus* wurde die Methode der Real-time RT-PCR verwendet. Bei der Real-time PCR werden Amplifizierung und Detektion in einem einzigen Schritt durchgeführt. Dazu werden dem Reaktionsgemisch ein zunächst inaktiver fluoreszierender, unspezifisch DNA-bindender Farbstoff oder spezifisch bindende Sonden zugefügt. Diese werden durch die fortschreitende DNA-Amplifizierung aktiviert. Der fluoreszierende Farbstoff wird sichtbar, wenn die Fluoreszenzintensität höher als die Hintergrundintensität ist. Die Intensität der Fluoreszenz korreliert mit der Produktkonzentration. Die Visualisierung der PCR-Produkte in einem Agarosegel ist bei dieser Technik nicht nötig, wodurch sich das Risiko von Kontaminationen verringert. Als unspezifisch bindender fluoreszierender Farbstoff wird häufig SYBRGreen verwendet. Da dieser Farbstoff unspezifisch an Doppelstrang DNA bindet, wird er aufgrund der universellen Einsetzbarkeit und der geringen Kosten in PCR-Protokollen sehr oft verwendet. Die unspezifische Bindung stellt allerdings auch den großen Nachteil dieses Farbstoffs dar. Unspezifische PCR-Produkte und Primer-Dimere können als falsch positive Ergebnisse interpretiert werden (Wong und Medrano, 2005). Für den Nachweis der FSME-Virus RNA wurden spezifisch bindende TaqMan® Sonden aus dem Protokoll von Schwaiger und Casinotti (2003) verwendet. TaqMan® Sonden sind Hydrolyse-Sonden mit einem Reporter-Farbstoff am 5'-Ende und einem Quencher-Farbstoff am 3'-

Ende. Bei der inaktiven Sonde reduziert der Quencher die Intensität des Reporterfarbstoffes. Wenn die Sonde an die komplementäre Zielsequenz bindet, wird sie durch die 5'-3'-Exonuklease-Aktivität während des Elongationsprozesses hydrolysiert. Dadurch werden Reporterfarbstoff und Quencher getrennt und ein Fluoreszenzsignal kann detektiert werden. Die bei der Untersuchung eingesetzten Sonden wiesen als Donor-Molekül FAM (TBE-Sonde) oder HEX (16S-Sonde) auf. TAMRA diente bei beiden Sonden als Quencher. Es wurde die 68 bp große Zielsequenz in der 3'-NCR der Virus-RNA amplifiziert. Die Sequenzen der Primer F-TBE 1 und R-TBE 1 sowie der Sonde stammen aus der Publikation von Schwaiger und Cassinotti (2003), jedoch wurden die Reaktionsbedingungen modifiziert. In jedem PCR-Lauf wurden 3 µl isolierte RNA aus einer FSME-Viruskultur verwendet. Als Negativkontrolle diente 5 µl destilliertes Wasser (Ultrapure DNase-/RNase-Free distilled water, Invitrogen, Karlsruhe). In Tabelle 3.5, 3.6 und 3.7 werden die verwendeten Primer und Sonden, sowie Reagenzien und das modifizierte Amplifizierungsprotokoll nach Schwaiger und Cassinotti (2003) aufgeführt.

Primer	Oligonukleotidsequenz	Referenz
F-TBE 1	5' GGG CGG TTC TTG TTC TCC-3'	Schwaiger und Cassinotti, 2003
R-TBE 1	5' ACA CAT CAC CTC CTT GTC AGA CT 3	
TBEV-Sonde	FAM 5' TGA GCC ACC ATC ACC CAG ACA CA 3' TAMRA	

Tabelle 3.5 Verwendete Primer und Sonde für den FSME-Virus Nachweis durch Amplifizierung der 3'-NCR (nach Schwaiger und Cassinotti, 2003)

Reagenzien	Volumen
Reaction Mix	12.5 µl
Primer F-TBE 1 (50 nM)	2.5 µl
Primer R-TBE 1 (300 nM)	2.5 µl
TBE-Sonde (200 nM)	2.5 µl
TaqMan® RT Enzyme Mix	0.6 µl
H ₂ O	3.4 µl
RNA	1 µl
Total	25 µl

Tabelle 3.6 Reaktionsbedingungen der Real-time RT-PCR für den Nachweis der 3'-NCR des FSME-Virus

	Phase	Temperatur	Dauer
1x	Reverse Transkription	48°C	30 min
1 x	Aktivierung der Polymerase	95 °C	10 min
45 x	Denaturierung	95 °C	15 s
	Annealing/Elongation	60°C	1 min

Tabelle 3.7 Cyclerbedingungen der Real-time RT-PCR für den Nachweis der 3'-NCR des FSME-Virus (nach Schwaiger und Casinotti, 2003, modifiziert)

3.3.3.3 Nachweis der 16S rRNA von *I. ricinus*

Zehn Prozent aller untersuchten Proben wurden stichprobenhaft ausgewählt und mittels Real-time RT-PCR auf das Vorhandensein der 16S rRNA von *I. ricinus* getestet. Durch dieses Verfahren sollte das Auftreten von falsch negativen Ergebnissen beim Nachweis der FSME-Virus-RNA durch fehlerhafte RNA-Extraktion oder Inhibitoren während der RT-PCR erfasst werden. Die Reaktionsbedingungen sind in Tabelle 3.8 aufgeführt, die Sequenzen der Primer und der Sonde in Tab. 3.9. Zum einen wurde die extrahierte RNA direkt in die Real-time RT-PCR eingesetzt. Zusätzlich wurden Aliquots derselben RNA-Proben mit Dnase I nach Anweisungen des Herstellers verdaut und ebenfalls in der gleichen Reaktion auf die Präsenz von 16S rRNA von *I. ricinus* getestet. Damit sollten falsch positive Ergebnisse durch Amplifikationen, von in der Probe vorhandenen 16S rDNA-Mengen ausgeschlossen werden. Als Negativkontrolle wurde jeweils 5 µl destilliertes Wasser (Ultrapure DNase-/ RNase-Free distilled water, Invitrogen, Karlsruhe) eingesetzt.

Reagenzien	Volumen
Reaction Mix	12.5 µl
Primer F-16 S (200 nM)	2.5 µl
Primer R-16 S (200 nM)	2.5 µl
16S-Sonde (100 nM)	2.5 µl
TaqMan® RT Enzyme Mix	0.6 µl
H ₂ O	3.4 µl
RNA	1 µl
Total	25 µl

Tabelle 3.8 Reaktionsbedingungen der Real-time RT-PCR für den Nachweis von 16S rRNA in *I. ricinus* (Schwaiger und Cassinotti, 2003, modifiziert).

Primer	Oligonukleotidsequenz	Referenz
F-16 S	5'AAA AAA ATA CTC TAG GGA TAA CAG CGT AA 3'	Schwaiger und Cassinotti, 2003
R-16 S	5'ACC AAA AAA GAA TCC TAA TCC AACA 3'	
16S- Sonde	FAM 5' TTTTGATAGTTCATATAGATAAAAATAGTTTGCGACCTCG 3' TAMRA	

Tabelle 3.9 Primer und Sonde für den Nachweis des 16S rRNA Gens von *I. ricinus* (Schwaiger und Cassinotti, 2003)

3.3.3.4 Statistik

Die Prävalenz der FSME-infizierten Zecken in der jeweiligen Gesamtpopulation wurde für gepoolte Proben nach Abel et al. (1999) mit der folgenden Formel geschätzt:

$$P = 1 - (1 - X_p / n_p)^{1/c}$$

Aufgrund der unterschiedlichen Poolgrößen von Nymphen (Pool ≤ 10 Nymphen) und adulten Zecken (Pool ≤ fünf adulte Tiere) wurden die Prävalenzen an den positiven Standorten ausgehend von der minimalen Infektionsrate (MIR) berechnet. Die minimale Infektionsrate basiert auf der Annahme, dass jeweils maximal eine, für das FSME-Virus positive Zecke in einem Pool vorhanden ist. Die entsprechenden 95%-Konfidenzintervalle für die beiden Prävalenzraten wurden berechnet.

4 Ergebnisse

4.1 Anzahl und Aktivität von *I. ricinus*

Im Mai, Juni und September 2010 wurden an den ausgewählten Standorten in Niederbayern und der Oberpfalz insgesamt 8804 aktiv nach Wirten suchende *I. ricinus* Zecken gesammelt. Davon konnten 8203 Nymphen, 301 weibliche Adulttiere und 300 männliche Adulttiere unterschieden werden. *I. ricinus* Larven wurden nicht in die Untersuchungen mit einbezogen. Eine Übersicht über die gesammelten Zeckenstadien an den 20 Standorten ist in Tabelle 4.1 abgebildet. Die Anzahl der gesammelten Nymphen, weiblichen und männlichen Adulttiere variierte abhängig vom jeweiligen Standort.

	Standort	Nymphen	Weibchen	Männchen	Total
A	Neustadt a.d. Waldnaab	516	44	37	597
B	Poppenricht	1259	23	32	1314
C	Amberg	400	39	37	476
D	Lintach	461	38	29	528
E	Schwandorf	622	6	9	637
F	Maxhütte-Haidhof	70	20	9	99
G	Penk	512	14	18	544
H	Nittendorf	267	5	7	279
I	Essing	478	13	18	509
J	Regensburg	697	7	12	716
K	Saulburg	370	5	7	382
L	Innenstetten	231	5	5	241
M	Niederaichbach	531	5	6	542
N	Deggendorf	600	27	16	643
O	Ringelai	148	7	9	164
P	Germannsdorf	125	6	9	140
R	Passau	126	7	14	147
S	Pfenningbach	550	17	16	583
T	Stollberg	100	11	4	115
U	Oberkreuzberg	140	2	6	148
	Total	8203	301	300	8804

Tabelle 4.1. Übersicht der gesammelten Stadien von *I. ricinus* an den 20 Standorten in Niederbayern und der Oberpfalz

Die Aktivität von *I. ricinus* wurde separat für jeden Standort für Nymphen und Adulttiere als Zeckendichte für eine Fläche von 100 m² berechnet. Die

Gesamtaktivität pro Standort reichte von 16.5 Zecken bis 219 Zecken pro 100 m² in der Oberpfalz (Abbildung 4.1) und von 19.2 Zecken bis 107.2 Zecken pro 100 m² in Niederbayern (Abbildung 4.2). Die Aktivität der Nymphen lag zwischen 11.7 Zecken und 209.8 Zecken pro 100 m² in der Oberpfalz (Abbildung 4.1) und zwischen 16.7 und 100 Zecken pro 100 m² in Niederbayern (Abbildung 4.2). Für adulte Tiere konnte eine Aktivität von 2 Zecken bis 13.5 Zecken pro 100 m² in der Oberpfalz ermittelt werden (Abbildung 4.1). In Niederbayern lag die Aktivität zwischen 1.3 und 5.2 Zecken pro 100 m² (Abbildung 4.2). Insgesamt konnte in der Oberpfalz eine größere Menge an *I. ricinus* in den drei Sammelphasen im Mai, Juni und September gesammelt werden als in Niederbayern. Auch die berechnete Zeckenaktivität wies höhere Werte für die Oberpfalz im Vergleich zu Niederbayern auf.

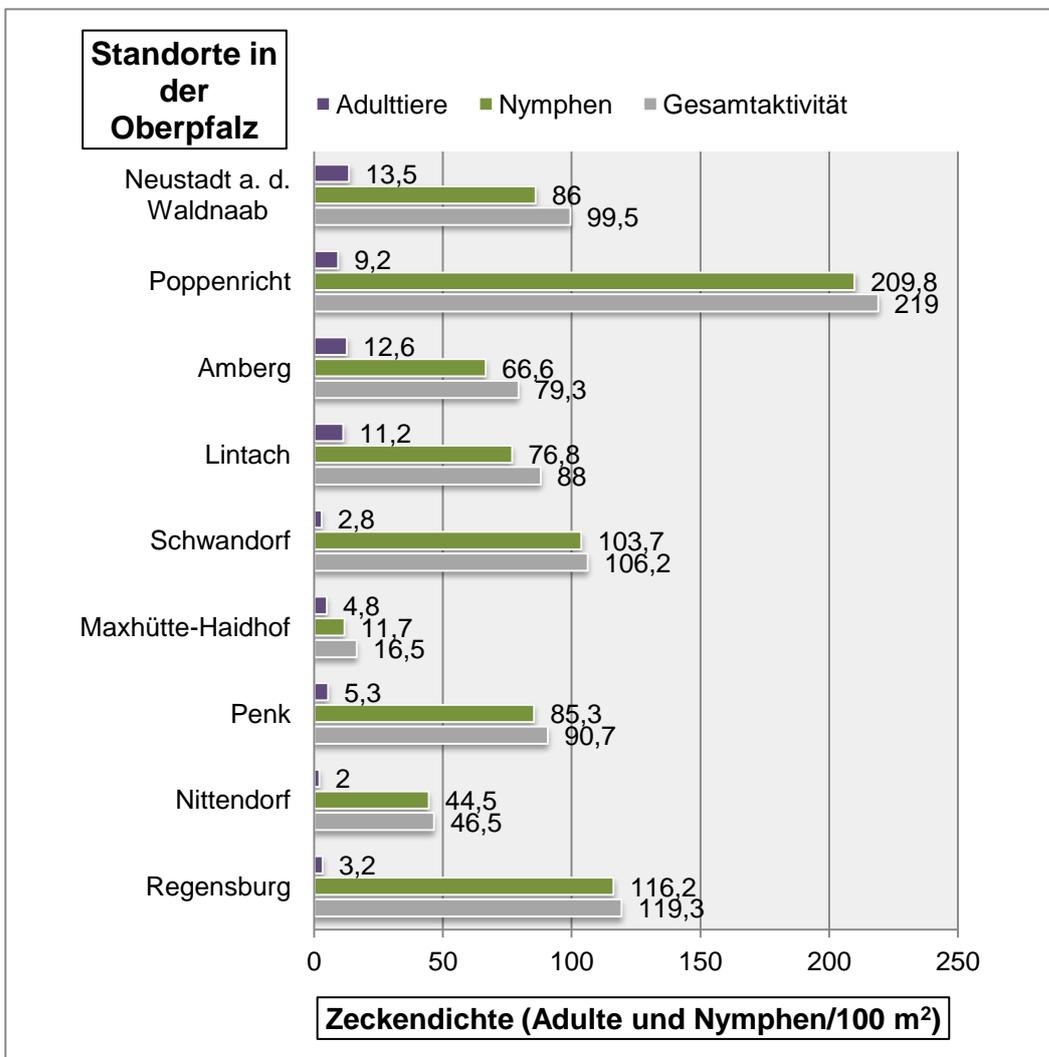


Abbildung 4.1 Aktivität der Nymphen und der adulten Tiere von *I. ricinus* an den neun Standorten in der Oberpfalz

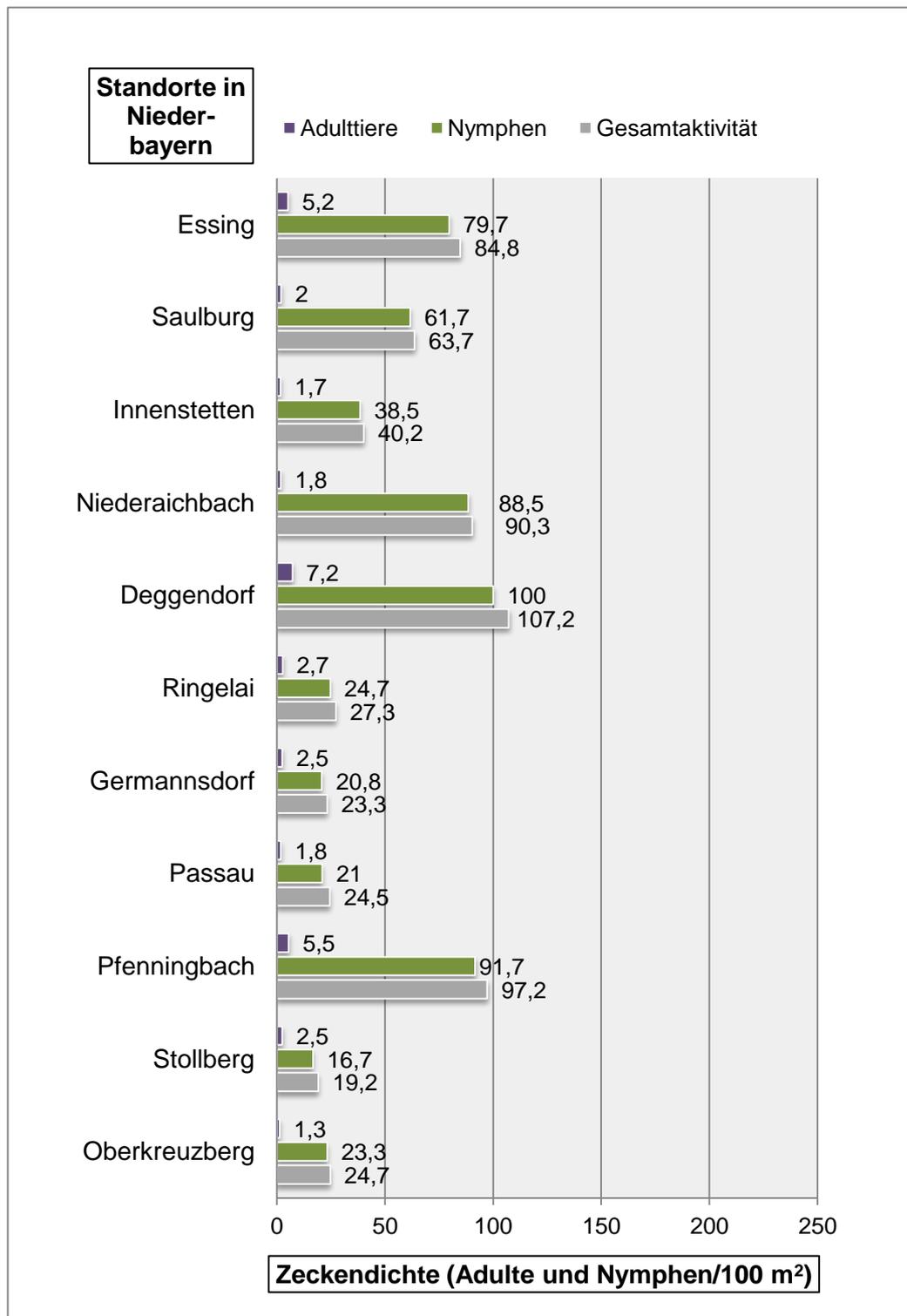


Abbildung 4.2 Aktivität der Nymphen und adulten Tiere von *I. ricinus* an den elf Standorten in Niederbayern

4.2 Nachweis von *B. burgdorferi* s.l. in *I. ricinus*

Für den Nachweis von *B. burgdorferi* s.l. DNA in *I. ricinus* wurden 3969 *I. ricinus* (3600 Nymphen, 180 weibliche Adulte, 189 männliche Adulte) der Sammelzeitpunkte Mai und September untersucht. Die Ergebnisse von vier Standorten in der Oberpfalz zum Sammelzeitpunkt im Mai wurden in einer Publikation organisiert.

4.2.1 Publikation

Diese Publikation wurde durch die freundliche und kooperative Unterstützung und Zusammenarbeit mit Prof. RNDr. Libor Grubhoffer und Mgr. Vaclav Hönig vom Institut für Parasitologie der südböhmischen Universität České Budějovice sowie RNDr. Pavel Švec vom Institut für Geoinformatik der Technischen Universität in Ostrava, Tschechien ermöglicht.

Prevalence of *Borrelia burgdorferi* s.l. in *Ixodes ricinus* ticks from four localities in Bavaria, Germany

Prävalenz von *Borrelia burgdorferi* s.l. in der Schildzecke *Ixodes ricinus* in vier Standorten in Bayern, Deutschland

Maria Vögerl¹, Dana Zubriková^{1,2}, Kurt Pfister¹

Berliner Münchner Tierärztliche Wochenschrift 125, Heft 7/7 (2012), Seite 10-16

Institut für Vergleichende Tropenmedizin und Parasitologie, Ludwig-Maximilians-Universität¹, München, Germany

Institute of Parasitology of the SAS², Košice, Slovakia

Abstract

As a part of a larger survey a total of 599 *Ixodes ricinus* ticks collected from four locations (Neustadt an der Waldnaab, Amberg, Poppenricht and Lintach) in the north of the Upper Palatinate in Bavaria were investigated for infection with *Borrelia burgdorferi* sensu lato (s.l.) species using the 5S-23S intergenic spacer of rRNA gene as a target in a nested PCR (Rijpkema et al., 1995) and a sequencing method. Overall, 15.8% ticks were infected with *B. burgdorferi* s.l.. *Borrelia afzelii* (43.1%) was the predominant genospecies, followed by *Borrelia valaisiana* (14.7%), *Borrelia garinii* (13.7%) and *Borrelia burgdorferi* sensu stricto (6.3%). Also *Borrelia spielmanii* was found (1.1%). Of the infected ticks, 21.1% harbored multiple infections with *B. burgdorferi* s.l. The highest number of infected ticks was found in Amberg (22.5%) and the lowest number in Neustadt an der Waldnaab (11.9%). In Poppenricht and Lintach, the numbers of infected ticks were 12% and 18.7%, respectively. Human pathogenic *Borrelia* species were found to be prevalent at each study site thus representing the potential risk for people living and visiting these areas.

Keywords: *Borrelia*, *Ixodes ricinus*, tick, prevalence

Zusammenfassung

Als Teil eines größeren Projekts hatte die vorliegende Studie das Ziel, das Vorkommen und die Verteilung von *Borrelia burgdorferi* sensu lato (s.l.) in der Schildzecke *Ixodes ricinus* an ausgewählten Standorten in der Oberpfalz, einem Regierungsbezirk von Bayern, Deutschland, zu untersuchen. Dafür wurden 599 *Ixodes ricinus* Zecken aus vier Standorten in der Oberpfalz mit Hilfe einer Nested-PCR für den intergenischen Spacer der 5S-23S rRNA Gene (Rijpkema et al., 1995) und anschließend Sequenzieren, untersucht. Insgesamt waren 15.8% der Zecken mit *B. burgdorferi* s.l. infiziert. *Borrelia afzelii* (43.1 %) war die am häufigsten gefundene Spezies, gefolgt von *Borrelia valaisiana* (14.7 %), *Borrelia garinii* (13.7 %) und *Borrelia burgdorferi* sensu stricto (s.s.) (6.3 %). *Borrelia spielmanii* konnte ebenfalls gefunden werden (1.1%). Von den infizierten Zecken waren 21.1 % mit mehr als einer *Borrelia*-Spezies infiziert. In Amberg wurde die höchste Anzahl infizierter Zecken gefunden (22.5 %), in Neustadt an der Waldnaab die geringste Anzahl (11.9 %). In Poppenricht und Lintach betrug die Anzahl der infizierten Zecken jeweils 12 % bzw. 18.7 %. An allen vier Standorten wurden humanpathogene *Borrelia*-Spezies gefunden.

Schlüsselwörter: *Borrelia*, *Ixodes ricinus*, Zecke, Prävalenz

Introduction

Lyme borreliosis (LB) is the most frequent bacterial tick-borne disease in the northern hemisphere. It is caused by spirochetes belonging to the *Borrelia burgdorferi* sensu lato complex (s.l.). The main vector for *Borrelia burgdorferi* s.l. in Europe is the *Ixodes ricinus* tick. LB can affect different organs such as skin, nervous system, joints or the heart (van Dam et al., 1993; Sigal 1995; Steere 1995; Aberer et al., 1996; Stanek and Strle, 2003). The *B. burgdorferi* s.l. complex includes at least twelve species (Wang et al., 1999; Masuzawa et al., 2001; Richter et al., 2006; Rudenko et al., 2009). Three of them, *B. burgdorferi* sensu stricto (s.s.), *B. afzelii* and *B. garinii* have been described to be pathogenic to humans so far. The pathogenicity of *B. valaisiana*, *B. lusitaniae*, *B. bissetii* and *B. spielmanii* remains still unclear, although these four species had been detected in patient samples (Baranton et al., 1992; Strle et al., 1997; Wang et al., 1999; Collares-Pereira et al., 2004; Fingerle et al., 2008). There is evidence that infections with different genospecies of *Borrelia* correlate with different clinical symptoms of LB. Infections with *B. garinii* are mainly associated with neuroborreliosis, skin manifestations are preferentially associated with *B. afzelii* and *B. burgdorferi* s.s. is attributed with Lyme arthritis (Canica et al., 1993; van Dam et al., 1993; Balmelli und Piffaretti, 1995; Demaerschalck et al., 1995; Rijpkema et al., 1997).

The following genospecies of *B. burgdorferi* s.l. could be detected in *I. ricinus* ticks in Europe: *B. afzelii*, *B. garinii*, *B. burgdorferi* s.s., *B. valaisiana*, *B. lusitaniae* and *B. spielmanii* (Derdáková et al., 2003; Richter et al., 2006; Majláthová et al., 2008; Gern et al., 2010; Kesteman et al., 2010). Considering the distribution of the genospecies, *B. afzelii* and *B. garinii* are usually the most prevalent species followed by *B. burgdorferi* s.s. and *B. valaisiana*, while *B. lusitaniae* and *B. spielmanii* seem to be rare (Hubálek and Halouzka, 1997; Rauter and Hartung, 2005; Fingerle et al., 2008).

The risk potential for humans to be infected with *B. burgdorferi* s.l. through a tick bite depends not only on the density of tick population and the infection of ticks with *Borrelia* but also on the human outdoor leisure activities, where people can come in contact with ticks (Gray, 1999).

The aim of this study was to obtain more information about the epidemiological situation of *B. burgdorferi* s.l. in four locations in the Upper Palatinate in Bavaria. The results of the study show that all relevant *B. burgdorferi* s.l. species described so far for Europe are present in *I. ricinus* ticks in the Upper Palatinate.

Material and Methods

Study sites and collection of questing *Ixodes ricinus* ticks

The selection of four collection sites in the north of the Upper Palatinate was done using the GIS analysis (ArcGis, ESRI Inc., US). All four study sites had to meet the following criteria: a) appropriate vegetation cover for *I. ricinus* ticks (source: CORINE Land Cover 2006 project of European Environment Agency); b) the altitude 750 m above sea level to obtain a satisfactory amount of collected ticks (source: Bayerische Vermessungsverwaltung); c) touristic activity in this regions, recorded by the number of overnight stays to obtain a value, how often people might enter foci of tick-borne pathogens while pursuing leisure activities (source: Landesamt für Statistik und Datensicherheit); d) the occurrence of tick-borne encephalitis cases in humans, recorded for the years 2001–2009 (source: Robert-Koch-Institut, local health authorities) for later investigations of the presence of tick-borne encephalitis virus in an additional study. GIS analysis has provided areas which met all above mentioned criteria. The aim of the GIS-analysis was to obtain areas, which are attractive both for ticks (through vegetation cover) and for humans (touristic activity estimated by the number of overnight stays) and therefore increase the risk of transmission of tick-borne pathogens. Out of these areas we have selected four locations: Neustadt an der Waldnaab, Poppenricht, Amberg und Lintach (Fig. 1). In Neustadt an der Waldnaab, sampling was done in an area with mixed coniferous and deciduous trees and rich groundcover. The study area in Poppenricht was situated in a mixed forest with heterogenous groundcover. The collection area Amberg was located in a small forest-like area in the middle of Amberg with mixed trees and a lot of underbrush. The study area Lintach was situated in a forest dominated by deciduous trees. The collection areas had a size of approximately 600 m². In May 2010 *I. ricinus* ticks (nymphs and adults) were collected by blanket dragging. Ticks were determined to species level and only *I. ricinus* ticks were analyzed. These four study sites are part of a larger survey dealing with the prevalence of tick-borne pathogens in Bavaria and South Bohemia in cooperation with the

Czech Republic. Out of this reason we agreed on the maximum of 125 nymphs (or all nymphs, when less than 125 were collected) per study site since this quantity is completely satisfactory for determining the prevalence of *B. burgdorferi* s.l. in nymphs. All adult ticks per study site were investigated for *B. burgdorferi* s.l. Ticks were stored in 98% ethanol at 80 C until use.

DNA extraction

Each tick was placed individually in a 2.0 ml reaction tube and was homogenized in 90 µl of phosphate-buffered saline (pH=7.4) using the TissueLyzer (Qiagen GmbH, DE). DNA was extracted from 60 µl of the tick homogenate with the NucleoSpin® Tissue Kit (Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, DE) according to the manufacturer's instructions. The final volume of DNA was eluted in 100 µl of elution buffer. The samples were either directly used for PCR or stored at 20 C until use.

PCR amplification

Nymphs and adults were examined using the nested PCR targeting the 5S-23S intergenic spacer of ribosomal RNA gene as described by Rijpkema et al., (1995). The amplification was carried out in a Mastercycler® gradient (Eppendorf AG, DE). A Taq DNA Polymerase recombinant kit (Invitrogen AG, US) was used to prepare PCRs. The primary PCR mixture contained 5 µl of purified template DNA, 15.4 µl of deionized water, 2.5 µl of 10 x buffer (minus Mg²⁺), 1.5 mM of MgCl₂, 0.1 mM of each dNTP (Fermentas, US), 0.5 IU of Taq polymerase and 0.2 µM of each primer 23 SN1 5'-ACCATAGACTCTTATTACTTTGAC-3' and 23SC1 5'-TAAGCTGACTAATACTAATTACCC-3' (Rijpkema et al., 1995). DNA was denaturized at 94 C for 5 min, followed by 25 cycles of 30 s denaturation at 94 C, 30 s annealing at 52 C and 1 min extension at 72 C. The PCR was completed by a final extension at 72 C for 5 min. The secondary PCR mixture contained 2.5 µl of amplification product from first PCR, 17.9 µl deionized water, 2.5 µl of 10 x buffer (minus Mg²⁺), 1.5 mM of MgCl₂, 0.1 mM of each dNTP (Fermentas, US), 0.5 IU of Taq polymerase and 0.2 µM of each primer 23SN2 5'-ACCATAGACTCTTATTACTTTGACCA-3' and 5SCB 5'-GAGAGTAGGTTATTGCCAGGG-3' (Rijpkema et al., 1995). The PCR program was as follows: DNA was denaturized at 94 C for 5 min, followed by 25 cycles of

30 s denaturation at 94 C, 30 s annealing at 55 C and 1 min extension at 72 C. The PCR was completed by a final extension at 72°C for 5 min. Amplification efficiency control included both positive and negative controls that were amplified in parallel. For positive control diluted purified DNA from *B. burgdorferi* s.s. strain SKT-8, kindly provided by Dr. Bhide (LBMI, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Slovakia) was used. Negative controls contained PCR mix with water added instead of DNA extract. Amplification products from secondary PCR were visualized on a 2% agarose gel, stained with GelRed (Biotium Inc., CA), and documented with a Gel Documentation System (Peqlab Biotechnologie GmbH, DE). Amplification products positive for *B. burgdorferi* s.l. were purified with PCR clean-up Gel extraction kit (Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, DE). To avoid contamination of samples all steps of preparation (DNA extraction, PCR mixture preparation, amplification, electrophoresis and product purification) were done in separate rooms.

Sequencing and sequence analysis

Sequencing was performed by Eurofin MWG Operon (Munich, Germany). The sequences were evaluated using the ChromasLite program (www.technelysium.com.au/chromas_lite.html). The sequence homology searches were made by BLASTn analysis of GenBank Sequences (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>).

Statistical analysis

Differences in the prevalence of *B. burgdorferi* s.l. in *I. ricinus* nymphs versus adults were evaluated statistically using the Fisher's exact test. A p-value of ≤ 0.05 was considered statistically significant.

Results

A total of 1004 *I. ricinus* ticks (882 nymphs, 62 female adults, 60 male adults) were collected from Neustadt an der Waldnaab, Poppenricht, Amberg and Lintach. Since this four study sites are embedded in a larger survey we examined a total of 599 ticks (477 randomly selected nymphs, 62 female adults, 60 male adults)(Table 1) for the presence of *B. burgdorferi* s.l. by nested PCR The

prevalence rates of *B. burgdorferi* s.l. at the different locations are given in Table 1. Of the 599 examined ticks, 95 ticks (15.8%) were infected with species of the *B. burgdorferi* s.l. complex. The overall prevalence of *B. burgdorferi* s.l. was 12.3% (15 ticks positive out of 122 tested) in adult ticks and 16.8% (80 ticks positive out of 477 tested) in nymphs (difference statistically not significant, $p = 0.267$). In female and male adults, the infection rate was 17.4% ($n = 11$) and 6.7% ($n = 4$) respectively. The highest number of infected ticks was found in Amberg (22.5%; $n = 31$) and the lowest number in Neustadt an der Waldnaab (11.9%; $n = 16$). In Poppenricht and Lintach, the numbers of infected ticks were 12% ($n = 18$) and 18.7% ($n = 30$), respectively.

The prevalence of *B. burgdorferi* s.l. species according to study site and tick stage is shown in Table 2. Overall, the most common species found in ticks was *B. afzelii* (44.2%), followed by *B. valaisiana* (14.7%), and *B. garinii* (13.7%). *B. burgdorferi* s.s. and *B. spielmanii* were present in 6.3% and 1.1% of the infected ticks, respectively. *B. lusitaniae* and *B. bisetii* were not detected at any collection site. The most frequently identified species in nymphs was *B. afzelii* (47.5%), followed by *B. garinii* (15%) and *B. valaisiana* (10%). *B. burgdorferi* s.s. and *B. spielmanii* were present in 5% and 1.2% of infected ticks, respectively. In adult *I. ricinus* ticks *B. valaisiana* was the predominant species (40%), followed by *B. afzelii* (26.7%) and *B. burgdorferi* s.s. (13.3%). *B. garinii* was present in 6.7% of infected ticks. In female adult ticks, the most predominant species were *B. afzelii* (4.8%) and *B. valaisiana* (4.8%), followed by *B. burgdorferi* s.s. (3.2%) and *B. garinii* (1.6%). In male adult ticks only *B. valaisiana* (5%) and *B. afzelii* (1.7%) were present. Multiple infections with *B. burgdorferi* s.l. were found in 21.1% of *Borrelia* positive ticks and were more common in nymphs (21.3%) than in adults (10.5%). Only female adults harboured multiple infections.

Regarding the different study sites, the proportion of *B. burgdorferi* s.l. species present in infected adult ticks was between 0 and 28.6% for *B. burgdorferi* s.s., between 0 and 50% for *B. garinii*, between 0 and 50% for *B. afzelii* and between 0 and 66.7% for *B. valaisiana*. Concerning nymphal stage, these proportions were between 0 and 12.5% for *B. burgdorferi* s. s., between 0 and 28.6% for *B. garinii*, between 35.7 and 66.7% for *B. afzelii*, between 3.6 and 14.3% for *B. valaisiana*, and between 0 and 3.6% for *B. spielmanii* (Table 2).

Discussion

The data concerning the prevalence of *B. burgdorferi* s.l. in tick population are important to estimate the risk of infection for people, living in areas, where this pathogen is endemic. Therefore, this study was conducted to collect data on the prevalence of *B. burgdorferi* s.l. genospecies in four selected locations in the Upper Palatinate, a federal district of Bavaria. *B. burgdorferi* s.l. was detected in 15.8% (n = 95) of the investigated ticks. Nymphs displayed an infection rate of 16.8% (n = 80), whereas 17.4% (n = 11) and 6.7% (n = 4) of female and male adult ticks were infected, respectively. The prevalence of *B. burgdorferi* s.l. in *I. ricinus* ticks reported from previous studies in Europe ranged from 2-43% for nymphs and 3-58% for adult ticks (Fingerle, 1994; Hubálek and Halouzka, 1997; Baumgarten et al., 1999; Christova et al., 2003; Hildebrandt et al., 2003).

In comparison to other studies conducted in Europe (Hubálek and Halouzka, 1998; Rauter and Hartung, 2005), we have found a higher infection rate of *B. burgdorferi* s.l. in nymphs (16.7%) than in adults (12.3%).

Most studies dealing with prevalence of *B. burgdorferi* s.l. in *I. ricinus* found *B. afzelii* and/or *B. garinii* to be the predominant species, while *B. burgdorferi* s.s. and *B. valaisiana* were less frequent, even detection of *B. lusitaniae* and *B. spielmanii* was rare (Hubálek and Halouzka, 1997; Rauter and Hartung, 2005; Richter and Matuschka, 2006). However, the distribution of these species may differ considerably between European countries and even between closely located areas (van Dam et al., 1993; Eiffert et al., 1995; Rijpkema et al., 1995; Lenčáková et al., 2006).

Accordingly, at our four investigated study sites, *B. afzelii* (43.1%) was the species most frequently identified, surprisingly followed by *B. valaisiana* (14.7%) and *B. garinii* (13.7%). *B. burgdorferi* s.s. (6.3%) and *B. spielmanii* (1.1 %) were only rarely present at our sampling sites. At least one of the human pathogenic *Borrelia* species was found to be most prevalent at each study site. Considering every location separately, the prevalence of *B. burgdorferi* s.l. differs. In Neustadt an der Waldnaab, the most predominant was *B. afzelii* (43.8 %) followed by *B. garinii* (25%), *B. burgdorferi* s.s (12.5%) and *B. valaisiana* (12.5%). In contrast to these findings, in Poppenricht we have found *B. afzelii* (61.1%) to be the most predominant species, and then only *B. valaisiana* was found (22.2%) at this site. In Amberg, *B. afzelii* (41.9%) was the predominant species followed by *B. valaisiana* (22.6%) and *B. burgdorferi* s.s. (12.9%). *B. garinii* was not present at

this location. In Lintach except *B. afzelii* (36.7%) as the most frequently identified species, *B. garinii* (30%) and *B. valaisiana* (3.3%) were present. We were also able to detect *B. spielmanii* (3.3%) which was already described for South Germany (Fingerle et al., 2008). We did not detect any *B. lusitaniae* and *B. bissetii* at our sampling sites.

Several studies suggest that certain species of *B. burgdorferi* s.l. complex seem to be associated with certain vertebrate hosts (Kurtenbach et al., 1998; Bhide et al., 2005, 2009). *B. garinii* and *B. valaisiana* are mainly transmitted to ticks by avian hosts (Humair et al., 1998; Hanincová et al., 2003a), whereas *B. afzelii* is transmitted via rodents (Humair et al., 1995; Hanincová et al., 2003b). *B. lusitaniae* is associated with lizards (Majláthová et al., 2006; Amore et al., 2007). The different genospecies pattern found at our four locations may therefore be the result of different reservoir host composition, availability and density.

Individual ticks can be also infected with more than one genospecies of *B. burgdorferi* s.l. (van Dam et al., 1993; Liebisch et al., 1998; Misonne et al., 1998). At our four study sites, 21.1% of *Borrelia* positive ticks carried mixed infections and these were more frequent in nymphs (22.5%) than in adults (13.3%). Mixed infections can be explained by transovarially obtained infection (Humair and Gern, 2000), by co-feeding (Derdáková and Lenčáková, 2005) and in the case of adult ticks by cumulative feeding on two different hosts.

Our findings demonstrate the unequal distribution of *B. burgdorferi* s.l. at different locations that could be explained by various ecological factors (Kurtenbach et al., 2006; Randolph, 2002). These factors such as composition and availability of reservoir competence hosts for *I. ricinus* at sampling sites as well as factors influencing both *I. ricinus* and hosts (microclimate conditions, vegetation) (Ostfeld et al., 2001; Hermann und Gern, 2010; Jaenson und Lindgren, 2011) are important for future studies to investigate the prevalence of tick-borne pathogens and to estimate the risk of infection for human population.

Acknowledgement

We would like to thank Bayerische Vermessungsverwaltung, Landesamt für Statistik und Datensicherheit, Robert-Koch-Institut and local health authorities for providing data we needed for GIS analysis. We are grateful to Dr. Švec for performing GIS analysis, to Dr. Hönig for helping us with selection of the collection sites, to Dr. Bhide and Dr. Kišová-Vargová for providing the DNA of

Borrelia burgdorferi s.s. SKT-8 strain, to Dr. Fingerle for providing strains of *B. burgdorferi* s.l. complex and to students, who were helping with the tick collections. This study was a part of the Interreg IV project “Ticks and Tick-borne diseases in Bavaria and South Bohemia” and was financed by the European Regional Development Fund of the Europe Union.

Conflict of interest

Es bestehen keine geschützten, finanziellen, beruflichen oder anderen persönlichen Interessen an einem Produkt, Service und/oder einer Firma, welche die im oben genannten Manuskript dargestellten Inhalte oder Meinungen beeinflussen könnten.

Corresponding author

Maria Vögerl, Institut für Vergleichende Tropenmedizin und Parasitologie, Leopoldstr. 5, 80802 München, Germany; Te.: +49 2180 3622, Fax: + 49 2180 3623, E-Mail address: maria.voegerl@tropa.vetmed.uni-muenchen.de

References

- Aberer E, Kersten A, Klade H, Poitschek C, Jurecka W (1996):** Heterogeneity of *Borrelia burgdorferi* in the skin. Am J Dermatophol 18: 571–579.
- Amore G, Tomassone L, Grego E, Ragagli C, Bertolotti L, Nebbia P, Rosati S, Mannelli A (2007):** *Borrelia lusitaniae* in Immature *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae) Feeding on Common Wall Lizards in Tuscany, Central Italy. J Med Entomol 44: 303–307.
- Balmelli T, Piffaretti JC (1995):** Association between different clinical manifestations of Lyme disease and different species of *Borrelia burgdorferi* sensu lato. Res Microbiol 146: 329–340.
- Baranton G, Postic D, Saint-Girons I, Boerlin P, Piffaretti JC, Assous M, Grimont PAD (1992):** Delineation of *Borrelia burgdorferi* sensu stricto, *Borrelia garinii* sp. nov., and group VS461 associated with Lyme borreliosis. Int J Syst Bacteriol 42: 378–383.

- Baumgarten BU, Röllinghoff M, Bogdan C (1999):** Prevalence of *Borrelia burgdorferi* and Granulocytic and Monocytic Ehrlichiae in *Ixodes ricinus* Ticks from Southern Germany. J Clin Microbiol 37: 3448–3451.
- Bhide M, Travnicek M, Levkutova M, Curlik J., Revajova V, Levkut M (2005):** Sensitivity of *Borrelia* genospecies to serum complement from different animals and human: a host-pathogen relationship. FEMS Immunol Med Microbiol 43: 165–172.
- Bhide M, Escudero R, Camafeita E, Gil H, Jado I, Anda P (2009):** Complement factor H binding by different Lyme disease and relapsing fever *Borrelia* in animals and human. BMC Res Notes 15: 134.
- Canica MM, Nato F, du Merle L, Mazie JC, Baranton G, Postic D (1993):** Monoclonal antibodies for identification of *Borrelia afzelii* sp. nov., associated with late cutaneous manifestations of Lyme borreliosis. Scand J Infect Dis 25: 441–448.
- Christova I, van de Pol J, Yazar S, Velo E, Schouls L (2003):** Identification of *Borrelia burgdorferi* sensu lato, *Anaplasma* and *Ehrlichia* Species, and Spotted Fever Group Rickettsiae in Ticks from Southeastern Europe. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 22: 535–524.
- Collares-Pereira M, Couceiro S, Franca I, Kurtenbach K, Schafer SM, Vitorino L, Goncalves L, Baptista S, Vieira ML, Cunha C (2004):** First isolation of *Borrelia lusitaniae* from a human patient. J Clin Microbiol 42: 1316–1318.
- Demaerschack I, BenMessaoud A, De Kesel M, Hoyois B, Lobet Y, Hoet P, Bigaignon G, Bollen A, Godfroid E (1995):** Simultaneous presence of different *Borrelia burgdorferi* genospecies in biological fluids of Lyme disease patients. J Clin Microbiol 33: 602–608.
- Derdáková M, Beati L, Pet'ko B, Stanko M, Fish D (2003):** Genetic variability within *Borrelia burgdorferi* sensu lato genospecies established by PCR-single strand conformation polymorphism analysis of the rrfA-rrlB intergenic spacer in *Ixodes ricinus* ticks from Czech Republic. App Environ Microbiol 69: 509–516.
- Derdáková M, Lenčáková D (2005):** Association of genetic variability within the *Borrelia burgdorferi* sensu lato with the ecology, epidemiology of Lyme borreliosis in Europe. Ann Agric Environ Med 12: 165–172.

Eiffert H, Ohlenbusch A, Christen HJ, Thomssen R, Spielman A, Matuschka FR (1995): Nondifferentiation between Lyme disease spirochetes from vector ticks and human cerebrospinal fluid. *J Infect Dis* 171: 476–479.

Fingerle V (1994): Prevalence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in *Ixodes ricinus* in southern Germany. *J. Spirochetal Tick-Borne Dis* 1: 41–45.

Fingerle V, Schulte-Spechtel UC, Ruzic-Sabljić E, Leonhard S, Hofmann H, Weber K, Pfister K, Strle F, Wilske B (2008): Epidemiological aspects and molecular characterization of *Borrelia burgdorferi* s. l. from southern Germany with special respect to the new species *Borrelia spielmanii* sp. nov. *Int J Med Microbiol* 298: 279–290.

Gern L, Douet v, Lopez Z, Rais O, Cadenas FM (2010): Diversity of *Borrelia* genospecies in *Ixodes ricinus* ticks in a Lyme borreliosis endemic area in Switzerland identified by using new probes for reverse line blotting *Ticks Tick Borne Dis* 1:23–29.

Gray J (1999): Risk assessment in Lyme borreliosis. *Wien Klin Wochenschr* 111: 990–993.

Hanincová K, Taragelova V, Koci J, Schafer SM, Hails R, Ullmann AJ, Piesman J, Labuda M. Kurtenbach K (2003a): Association of *Borrelia garinii* and *B. valaisiana* with songbirds in Slovakia. *Appl Environ Microbiol* 69: 2825–2830.

Hanincová K, Schafer SM, Etti S, Sewell S, Taragelova V, Ziak D, Labuda M, Kurtenbach K (2003b): Association with *Borrelia afzelii* with rodents in Europe. *Parasitology* 126: 11–20.

Hermann C, Gern L (2010): Survival of *Ixodes ricinus* (Acari:Ixodidae) challenging conditions of temperature and humidity influenced by *Borrelia burgdorferi* sensu lato infection. *J Med Entomol* 47: 1196–1204.

Hildebrandt A, Schmidt KH, Wilske B, Dorn W, Straube E, Fingerle V (2003): Prevalence of Four Species of *Borrelia burgdorferi* sensu lato and Coinfection with *Anaplasma phagocytophila* in *Ixodes ricinus* Ticks in Central Germany. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 22: 364–367.

Hubálek Z, Halouzka J (1997): Distribution of *Borrelia burgdorferi* sensu lato genomic groups in Europe, a review. *Eur J Epidemiol* 15: 665–669.

Hubálek Z, Halouzka J (1998): Prevalence rates of *Borrelia burgdorferi* sensu

lato in host-seeking *Ixodes ricinus* ticks in Europe. Parasitol Res 84: 167–172.

Humair PF, Postic D, Wallich R, Gern L (1998): An avian reservoir (*Turdus merula*) of the Lyme borreliosis spirochetes. Zentralbl Bakteriol 287: 521–538.

Humair PF, Peter O, Wallich R, Gern L (1995): Strain variation of Lyme disease spirochetes isolated from *Ixodes ricinus* ticks and rodents collected in two endemic areas in Switzerland. J Med Entomol 32: 433–438.

Humair PF, Gern L (2000): The wild hidden face of Lyme borreliosis in Europe. Microbes Infect 2: 915–922.

Jaenson TG, Lindgren E (2011): The range of *Ixodes ricinus* and the risk of contracting Lyme Borreliosis will increase northwards when the vegetation period becomes longer. Ticks Tick Borne Dis 2: 44–49.

Kesteman T, Rossi C, Bastien P, Brouillard J, Avesani V, Olive N, Martin P, Delmee M (2010): Prevalence and genetic heterogeneity of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in *Ixodes* ticks in Belgium. Acta Lin Belg 65: 319–322.

Kurtenbach K, Peacey M, Rijpkema SG, Hoodless AN, Nuttall PA, Randolph SE (1998): Differential transmission of the genospecies of *Borrelia burgdorferi* sensu lato by game birds and small rodents in England. Appl Environ Microbiol 64: 1169–1174.

Kurtenbach K, Hanincová K, Tsao JI, Margos G, Fish D, Ogden NH (2006): Fundamental process in the evolutionary ecology of Lyme Borreliosis. Nat Rev Microbiol 4: 660–669.

Lenčáková D, Hizo-Teufel C, Pet'ko B, Schulte-Spechtel U, Stanko M, Wilske B, Fingerle V (2006): Prevalence of *Borrelia burgdorferi* s.l. OspA types in *Ixodes ricinus* ticks from selected localities in Slovakia and Poland. Int J Med Microbiol 296: 108–118.

Liebisch G, Sohns B, Bautsch W (1998): Detection and Typing of *Borrelia burgdorferi* Sensu Lato in *Ixodes ricinus* Ticks attached to Human Skin by PCR. J Clin Microbiol 36: 3355–3358.

Majláthová V, Majláth I, Derdáková M, Víchová B, Pet'ko B (2006): *Borrelia lusitaniae* and Green Lizards (*Lacerta viridis*), Karst Region, Slovakia. Emerg Infect Dis 12: 1895–1901.

Majláthová V, Majláth I, Hromada M, Tryjanowski P, Bona M, Antczak M,

- Víchová B, Dzimko Š, Mihalca A, Pet'ko B (2008):** The role of the sand lizard (*Lacerta agilis*) in the transmission cycle of *Borrelia burgdorferi* sensu lato. Int J Med Microbiol 298: 161-167.
- Masuzawa T, Takada N, Kudeken M, Fukui T, Yano Y, Ishiguro F, Kawamura Y, Imai Y, Ezaki T (2001):** *Borrelia sinica* sp. nov., a Lyme disease-related *Borrelia* species isolated in China. Int J Syst Evol Microbiol 51: 1817–1824.
- Misonne MC, Van Impe G, Hoet PP (1998):** Genetic heterogeneity of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in *Ixodes ricinus* ticks collected in Belgium. J Clin Microbiol 36: 3352–3354.
- Ostfeld RS, Schaubert EM, Canham CD, Keesing F, Jones CG, Wolff JD (2001):** Effects on acorn production and mouse abundance on abundance of *Borrelia burgdorferi* infection prevalence of nymphal *Ixodes scapularis* ticks. Vector Borne Zoonotic Dis 1: 55–63.
- Randolph SE (2002):** Ticks and tick-borne disease systems in space and from space. Adv Parasitol 47: 217–243.
- Rauter C, Hartung T (2005):** Prevalence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato genospecies in *Ixodes ricinus* ticks in Europe: a metaanalysis. Appl Environ Microbiol 71: 7203–7216.
- Richter D, Matuschka FR (2006):** Perpetuation of the Lyme disease spirochete *Borrelia lusitaniae* by lizards. Appl Environ Microbiol 70: 6414–6419.
- Richter D, Postic D, Sertour N, Livey I, Matuschka FR, Baranton G (2006):** Delineation of *Borrelia burgdorferi* sensu lato species by multilocus sequence analysis and conformation of the delineation of *Borrelia spielmanii* sp. nov. Int J Syst Evol Microbiol 56: 873–881.
- Rijpkema SGT, Molkenboer M, Schouls L, Jongejan F, Schellekens J (1995):** Simultaneous Detection and Genotyping of Three Genomic Groups of *Borrelia burgdorferi* Sensu Lato in Dutch *Ixodes ricinus* Ticks by characterization of the amplified Intergenic Spacer Region between 5S and 23S rRNA Genes. J Clin Microbiol 33: 3091–3095.
- Rijpkema SGT, Tazelaar DJ, Molkenboer M (1997):** Detection of *Borrelia afzelii*, *Borrelia burgdorferi sensu stricto*, *Borrelia garinii* and group VS116 by PCR in skin biopsies of patients with erythema migrans and acrodermatitis chronica atrophicans. Clin Microbiol Infect 3: 109–116.

- Rudenko N, Golovchenko M, Grubhoffer L, Oliver JH (2009):** *Borrelia carolinensis* sp. nov., a new (14th) member of the *Borrelia burgdorferi* sensu lato complex from the southeastern region of the United States. J Clin Microbiol 47: 134–141.
- Sigal LH (1995):** Early disseminated Lyme disease: cardiac manifestations. Am J Med 98: 25–29.
- Stanek G, Strle F (2003):** Lyme borreliosis. Lancet 362: 1639–1647.
- Steere AC (1995):** Musculoskeletal manifestations of Lyme disease. Am J Med 98: 44–51.
- Strle F, Picken RN, Cheng Y, Cimperman J, Maraspin V, Lotric-Furlan S, Ruzic-Sabljić E, Picken MM (1997):** Clinical findings for patients with Lyme borreliosis caused by *Borrelia burgdorferi* sensu lato with genotypic and phenotypic similarities to strain 25015. Clin Infect Dis 25: 273–280.
- van Dam HK, Vos K, Widjojokusumo A, de Jongh BM, Spanjaard L, Ramselaar ACP, Kramer MD, Dankert J (1993):** Different genospecies of *Borrelia burgdorferi* are associated with distinct clinical manifestations of Lyme borreliosis. Clin Infect Dis 17: 708–717.
- Wang G, van Dam AP, Schwartz I, Dankert J (1999):** Molecular typing of *Borrelia burgdorferi* sensu lato: taxonomic, epidemiological, and clinical implications. Clin Microbiol Rev 12: 633–653.

Figure and Tables:

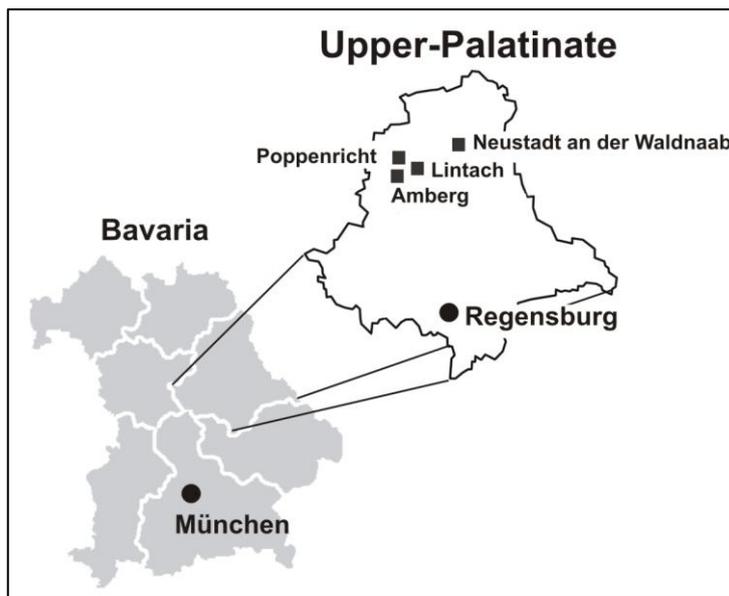


FIGURE 1: Study sites in the Upper Palatinate

TABLE 1: Infections rates with *Borrelia burgorferi* s.l. according to study site and tick stage

Location	Tick stage	No. of ticks collected	No. of ticks examined	No. (%) positive for <i>Borrelia</i>
Neustadt an der Waldnaab	adult males	12	12	0
	adult females	14	14	0
	nymphs	151	125	16 (12.8)
	total	177	151	16 (11.9)
Poppenricht	adult males	14	14	1 (7.1)
	adult females	11	11	2 (18.2)
	nymphs	402	125	15 (12)
	total	427	150	18 (12)
Amberg	adult males	19	19	3 (15.8)
	adults females	17	17	7 (41.2)
	nymphs	102	102	21 (20.6)
	total	138	138	31 (22.5)
Lintach	adult males	15	15	0
	adult females	20	20	2 (10)
	nymphs total	227	125	28 (22.4)
	total	262	160	30 (18.6)
Total	adult males	60	60	4 (6.7)
	adult females	62	62	11 (17.4)
	nymphs	882	477	80 (16.8)
	total	1004	599	95 (15.8)

TABLE 2: Prevalence of the different *B. burgdorferi* s.l. species according to study site and tick stage

Location	Tick stage	n	No. (%) positive				No. (%) positive for each <i>Barrelia</i> species			No. (%) with multiple
			B.a.	B.g.	B.b.s.s.	B.v.	B.s.			
Neustadt an der Waldnaab	N	125	16 (12.8)	7 (43.8)	4 (25)	2 (12.5)	2 (12.5)	0	1 (6.3)	
	M	12	0	0	0	0	0	0	0	
	F	14	0	0	0	0	0	0	0	
total		151	16 (10.6)	7 (43.8)	4 (25)	2 (12.5)	2 (12.5)	0	1 (6.3)	
Poppenricht	N	125	15 (12)	10 (66.7)	0	0	2 (13.3)	0	3 (20)	
	M	14	1 (7.1)	0	0	0	1 (100)	0	0	
	F	11	2 (18.2)	1 (50)	0	0	2 (50)	0	0	
total		150	18 (12)	11 (61.1)	0	0	4 (22.2)	0	3 (16.7)	
Amberg	N	102	21 (20.6)	11 (52.4)	0	2 (9.5)	3 (14.3)	0	5 (23.8)	
	M	19	3 (15.8)	1 (33.3)	0	0	2 (66.7)	0	0	
	F	17	7 (41.2)	2 (28.6)	0	2 (28.6)	4 (57.1)	0	2 (28.6)	
total		138	31 (22.5)	13 (41.9)	0	4 (12.9)	7 (22.6)	0	7 (22.6)	
Lintach	N	125	28 (22.4)	10 (35.7)	8 (28.6)	0	1 (3.6)	1 (3.6)	8 (28.6)	
	M	15	0	0	0	0	0	0	0	
	F	20	2 (10)	1 (50)	1 (50)	0	0	0	0	
total		160	30 (18.6)	11 (36.7)	9 (30)	0	1 (3.3)	1 (3.3)	8 (26.7)	
Total	N	477	80 (16.8)	38 (47.5)	12 (15)	4 (5)	8 (10)	1 (1.2)	17 (21.3)	
	M	60	4 (6.7)	1 (1.7)	0	0	3 (5)	0	0	
	F	62	11 (17.7)	3 (4.8)	1 (1.6)	2 (3.2)	3 (4.8)	0	2 (3.2)	
total		599	95 (15.9)	42 (44.2)	13 (13.7)	6 (6.3)	14 (14.7)	1 (1.1)	19 (20)	

n, number of examined ticks; N, nymphs; M, male adults; F, female adults; *B.a.*; *B. afzelii*; *B.g.*; *B. garinii*; *B.b.s.s.*; *B. burgdorferi sensu stricto*; *B.v.*; *B. valaisiana*; *B.s.*; *B. spielmanii*; *B.b.s.l.*; *B. burgdorferi sensu lato*

4.2.2 Prävalenz von *B. burgdorferi* s.l. in *I. ricinus* in Niederbayern und der Oberpfalz

3969 *I. ricinus* Zecken aus 9 Standorten in der Oberpfalz und 11 Standorten in Niederbayern wurden separat mit einer nested PCR auf das Vorkommen des intergenischen Spacer der 5S-23S rRNA Gene von *B. burgdorferi* s.l. untersucht. Die Probe wurde als positiv befunden, wenn ein PCR-Produkt von ca. 289 bp Länge in der Gelelektrophorese nachweisbar war. Insgesamt wurden 12.8% der Proben (509 von 3969) als positiv für *B. burgdorferi* s.l. gewertet. Die Infektionsrate für Nymphen betrug insgesamt für alle Standorte 12.8 % (n=456). Bei den Adulttieren wurden 19.4% (35 von 180) der Weibchen und 9.5% (18 von 189) der Männchen positiv für *B. burgdorferi* s.l. getestet (Tabelle 4.2). Im Mai war die Infektionsrate von *I. ricinus* mit 14% signifikant höher (p=0.026) als im September (11.6%). Ebenso waren Nymphen von *I. ricinus* in der Sammelphase Mai (14%) signifikant höher mit *B. burgdorferi* s.l. infiziert (p= 0.017) als im September (11.3%). Adulttiere zeigten im September (p=0.85) eine höhere Infektionsrate mit *B. burgdorferi* s.l. als Adulttiere, die im Mai gesammelt wurden (p=0.81)(Tabelle 4.2).

Die Infektionsraten von *I. ricinus* mit *B. burgdorferi* s.l. reichten von 8.8% (n=26) in Neustadt an der Waldnaab (A) bis 24.2% (n=8) in Maxhütte-Haidhof (F) (Tabelle 4.3). In Niederbayern konnte die niedrigste Infektionsrate mit *B. burgdorferi* s.l. in Oberkreuzberg (U)(5.5%) ermittelt werden. Am häufigsten waren *I. ricinus* aus Passau mit *B. burgdorferi* s.l. infiziert. Insgesamt konnte *B. burgdorferi* häufiger in der Oberpfalz (12.8%) in *I. ricinus* nachgewiesen werden als in Niederbayern (12.1%)(p=0.8)(Tabelle 4.3).

Die als positiv für *B. burgdorferi* s.l. gewerteten Proben wurden mit Hilfe von Sequenzierung und Genbank-Sequenzvergleichen bis zum *B. burgdorferi* Spezies-Level identifiziert. Die am häufigsten gefundene Spezies des *B. burgdorferi* s.l. Komplexes war *B. afzelii* mit 41.3%. Dann folgte *B. garinii* mit 18.7%, *B. valaisiana* mit 13.8%, *B. burgdorferi* s.s. mit 11.6%, *B. spielmanii* mit 0.4% und *B. lusitaniae* mit 0.2%. 14.4% der *I. ricinus* Zecken waren mit mehr als einer Spezies infiziert. 0.6% der untersuchten Proben konnten lediglich zum *B. burgdorferi* s.l. Komplex, nicht aber zu einer bestimmten Spezies zugeordnet werden (MI) (Abbildung 4.3).

Ergebnisse

	Nymphen	Weibchen	Männchen	Total
Mai	14 (254/1813)	18.7 (21/112)	9.2 (11/120)	14 (286/2045)
September	11.3 (202/1787)	20.6 (14/68)	10.1 (7/69)	11.6 (223/1924)
Total	12.7 (456/3600)	19.4 (35/180)	9.5 (18/189)	12.8 (509/3969)

Anzahl (%) infizierter Zecken (Anzahl infizierter Zecken/getestete Zecken)

Tabelle 4.2 Infektionsrate von *I. ricinus* mit *B. burgdorferi* s.l. im Mai und September

		Nymphen	Weibchen	Männchen	Total
Oberpfalz	Neustadt				
	A a.d.Waldnaab	10 (25/250)	4 (1/25)	0 (0/0)	8.8 (26/296)
	B Poppenricht	12 (30/250)	15 (3/20)	4.2 (1/24)	11.6 (34/294)
	C Amberg	19.8 (45/227)	32 (8/32)	12 (3/25)	20.2 (56/277)
	D Lintach	18.4 (39/212)	8.3 (2/24)	0 (0/20)	16 (41/256)
	E Schwandorf	6.4 (16/250)	0 (0/4)	28.6 (2/7)	6.9 (18/261)
	F Maxhütte-Haidhof	25 (5/20)	20 (2/10)	33.3 (1/3)	24.2 (8/33)
	G Penk	16.4 (41/250)	16.7 (1/6)	7.7 (1/13)	16 (43/269)
	H Nittendorf	18.1 (27/149)	66.7 (2/3)	20 (1/5)	19.1 (30/157)
	J Regensburg	10.5 (25/237)	0 (0/5)	0 (0/5)	10.1 (25/247)
			14.7		
	Total	13.2 (253/1845)	(19/129)	9.8 (9/92)	13.4 (281/2090)
Niederbayern	I Essing	11.2 (28/250)	22.2 (2/9)	13.3 (2/15)	11.7 (32/274)
	K Saulburg	10.1 (20/198)	0 (0/3)	0 (0/3)	9.8 (20/204)
	L Innenstetten	6.8 (12/177)	0 (0/1)	0 (0/4)	6.6 (12/182)
	M Niederaichbach	5.2 (13/250)	50 (1/2)	25 (1/4)	5.8 (15/256)
	N Deggendorf	4.6 (11/239)	17.6 (3/17)	18.2 (2/11)	6 (16/267)
	O Ringelai	13.8 (13/94)	100 (2/2)	25 (1/4)	16 (16/100)
	P Germannsdorf	13.7 (13/95)	0 (0/2)	16.7 (1/6)	13.6 (14/103)
	R Passau	28 (23/82)	100 (2/2)	25 (1/4)	29.5 (26/88)
	S Pfenningbach	23.2 (56/241)	33.3 (3/9)	11.1 (1/9)	23.2 (60/259)
	T Stollberg	16.4 (10/61)	33.3 (3/9)	0 (0/4)	17.6 (13/74)
	U Oberkreuzberg	5.9 (4/68)	0 (0/2)	0 (0/2)	5.5 (4/72)
		11.5	27.6	13.6	12.1
	Total	(203/1755)	(16/58)	(9/66)	(228/1879)
			19.4	9.5	
	Total	12.7 (456/3600)	(35/180)	(18/189)	12.8 (509/3969)

Anzahl (%) infizierter Zecken (Anzahl infizierter Zecken/getestete Zecken)

Tabelle 4.3 Infektionsraten von *I. ricinus* mit *B. burgdorferi* s.l. an den Standorten in Niederbayern und der Oberpfalz

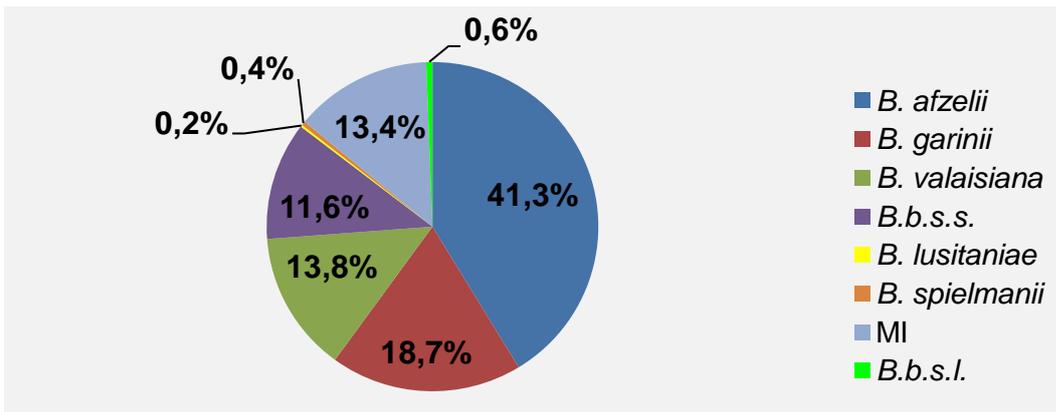


Abbildung 4.3 Gesamtverteilung der Genospezies von *B. burgdorferi* s.l. für Niederbayern und Oberpfalz

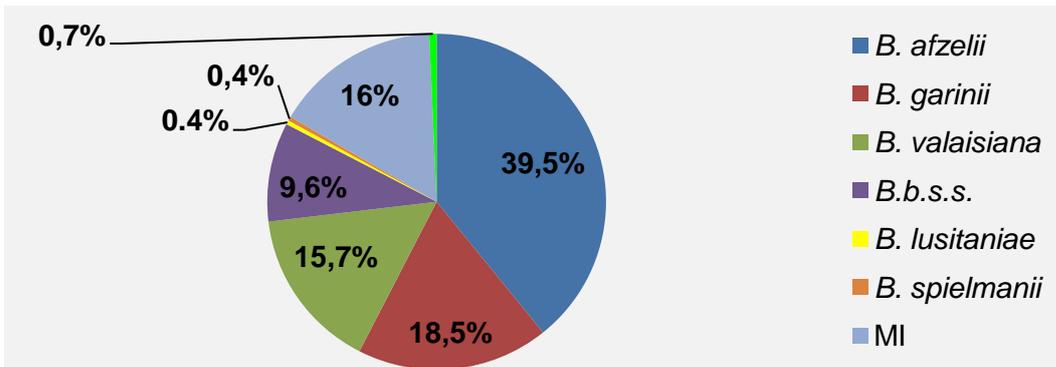


Abbildung 4.4 Verteilung der Genospezies von *B. burgdorferi* s.l. in der Oberpfalz

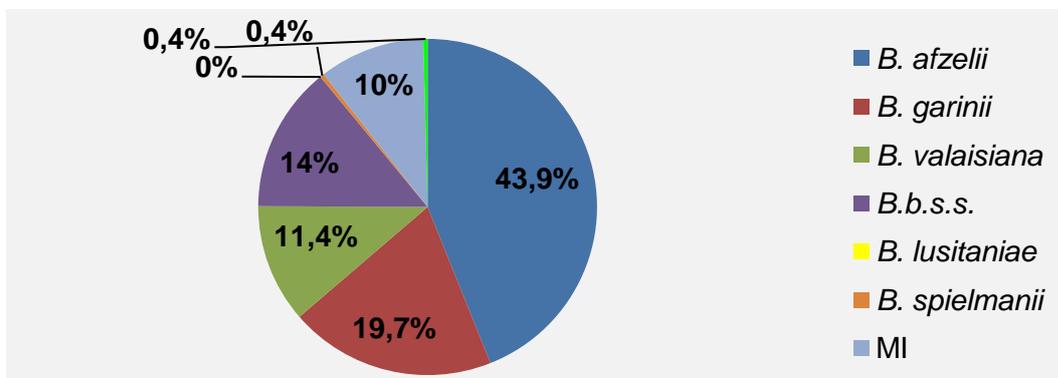


Abbildung 4.5 Verteilung der Genospezies von *B. burgdorferi* s.l. in Niederbayern

In Niederbayern und der Oberpfalz unterschied sich die Verteilung der Spezies des *B. burgdorferi* s.l. Komplexes lediglich in der relativen Häufigkeit. Der Vergleich der einzelnen Infektionsraten zeigte keine signifikanten Unterschiede. So konnte *B. afzelii* häufiger in *I. ricinus* Zecken in Niederbayern (43.9%) nachgewiesen werden, als in der Oberpfalz (39.5%)($p=0.32$) (Abbildung 4.4, Abbildung 4.5). Auch *B. garinii* wurde häufiger in Niederbayern (19.7%) als in der Oberpfalz (18.5%) gefunden ($p=0.65$). *B. burgdorferi* s.s. konnte in Niederbayern häufiger gefunden werden (14%) als in der Oberpfalz ($p=0.13$). *B. valaisiana* hingegen konnte in der Oberpfalz häufiger nachgewiesen werden (15.7%) als in Niederbayern (11.4%) ($p=0.19$) (Abbildung 4.4, Abbildung 4.5). Infektionen mit mehr als einer Spezies von *B. burgdorferi* s.l. (MI=Multiple Infektionen) traten vermehrt in der Oberpfalz (16%) als in Niederbayern auf (10%)($p=0.06$)(Abbildung 4.4, Abbildung 4.5). Zudem konnte in der Oberpfalz in zwei Individuen jeweils einmal *B. lusitaniae* (0.4%) und *B. spielmanii* (0.4%) nachgewiesen werden. In Niederbayern konnte in einem Individuum *B. spielmanii* (0.4%) identifiziert werden (Abbildung 4.4, Abbildung 4.5).

Bei der Zusammenfassung der einzelnen Standorte zu den zugehörigen Landkreisen ergab sich für Verteilung der Spezies von *B. burgdorferi* s.l. in Niederbayern und der Oberpfalz folgende Zusammensetzung.

Landkreis Neustadt an der Waldnaab:



Abbildung 4.6 Landkreis Neustadt an der Waldnaab in der Oberpfalz

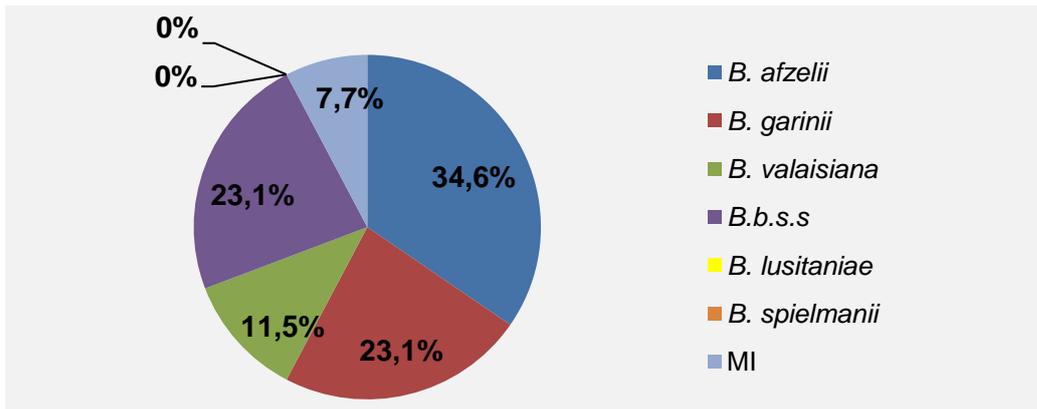


Abbildung 4.7 Verteilung der Spezies von *B. burgdorferi* s.l. im Landkreis Neustadt an der Waldnaab

Am Standort Neustadt an der Waldnaab im gleichnamigen Landkreis (Abbildung 4.6) konnte *B. afzelii* mit 34.6% als häufigste Spezies identifiziert werden, gefolgt von *B. garinii* (23.1%), *B. valaisiana* (23.1%) und *B. burgdorferi* s.s.. *B. lusitaniae* und *B. spielmanii* wurden nicht nachgewiesen. Von den infizierten *I. ricinus* trugen 7.7% mehr als eine Spezies (Abbildung 4.7).

Landkreis Amberg-Sulzbach:



Abbildung 4.8 Landkreis Amberg-Sulzbach in der Oberpfalz

An den Standorten Poppenricht, Amberg und Lintach im Landkreis Amberg-Sulzbach (Abbildung 4.8) wurde *B. afzelii* (29.3%-64.7%) als häufigste Spezies

identifiziert gefolgt von *B. valaisiana* (12.2%-17.6%) und *B. burgdorferi* s.s. (2.9%-8.9%). In Lintach konnte gleichhäufig *B. garinii* (29.3%) nachgewiesen werden, welches in Amberg nur in 5.4% der infizierten *I. ricinus* Zecken auftrat. In Poppenricht hingegen wurde *B. garinii* nicht gefunden. In Lintach konnte in einer Zecke *B. spielmanii* nachgewiesen werden. In 14.7%-19.5% der infizierten *I. ricinus* Zecken wurde mehr als eine Spezies identifiziert (Abbildung 4.9).

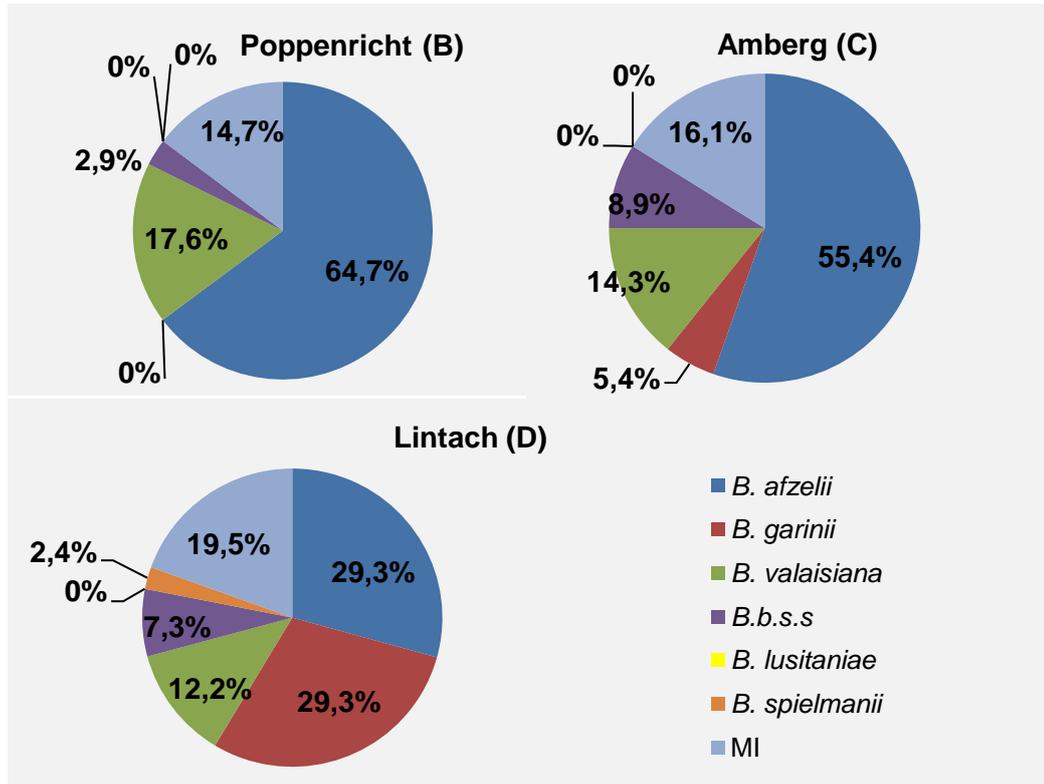


Abbildung 4.9 Verteilung der Spezies von *B. burgdorferi* s.l. an den Standorten im Landkreis Amberg-Sulzbach in der Oberpfalz

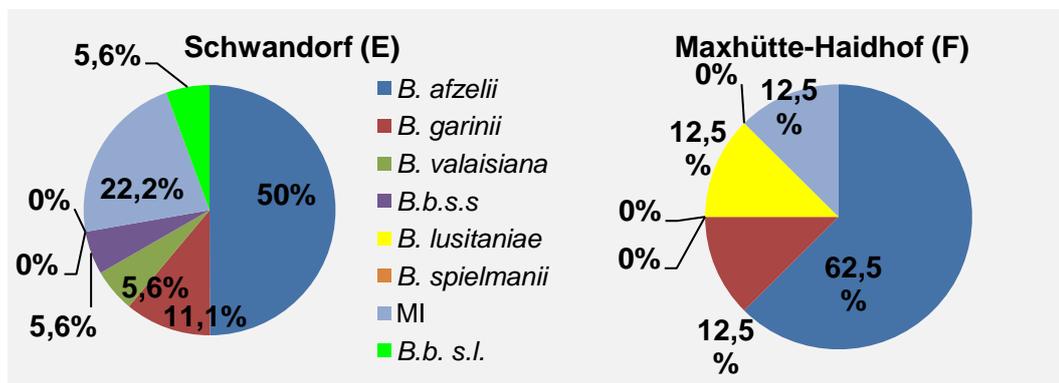


Abbildung 4.10 Verteilung der Spezies von *B. burgdorferi* s.l. an den Standorten im Landkreis Schwandorf in der Oberpfalz

Landkreis Schwandorf in der Oberpfalz



Abbildung 4.11 Landkreis Schwandorf in der Oberpfalz

An den Standorten Schwandorf und Maxhütte-Haidhof im Landkreis Schwandorf (Abbildung 4.11) trat die Spezies *B. afzelii* (50% und 62.5%), gefolgt von *B. garinii* (11.1% und 12.5%) am häufigsten auf (Abbildung 4.10). Am Standort Schwandorf konnten *B. valaisiana* (5.6%) und *B. burgdorferi* s.s. (5.6%) nachgewiesen werden. 22.2% und 12.5% der infizierten Zecken in Schwandorf und Maxhütte-Haidhof waren mit mehr als einer Spezies infiziert. 5.6% der Zecken in Schwandorf konnten nur dem *B. burgdorferi* s.l. Komplex zugeordnet werden und keiner bestimmten Spezies. Am Standort Maxhütte-Haidhof wurde in einer *I. ricinus* Zecke *B. lusitaniae* nachgewiesen (Abbildung 4.10).

Land- und Stadtkreis Regensburg:

Die Standorte Penk und Nittendorf im Landkreis Regensburg (Abbildung 4.12) zeigen *B. garinii* (32.6% und 36.7%) als häufigste Spezies während am Standort Burgweinting im Stadtkreis Regensburg *B. afzelii* (52%) als häufigste Spezies identifiziert werden konnte. *B. garinii* war hier mit 8% vertreten. An allen drei Standorten konnten *B. valaisiana* und *B. burgdorferi* s.s. nachgewiesen werden. 12%-18.6% der infizierten Zecken waren mit mehr als einer Spezies infiziert. 3.3% der infizierten Zecken in Nittendorf konnten lediglich dem *B. burgdorferi* s.l. Komplex zugeordnet werden, jedoch zu keiner Spezies (Abbildung 4.13).



Abbildung 4.12 Land- und Stadtkreis Regensburg in der Oberpfalz

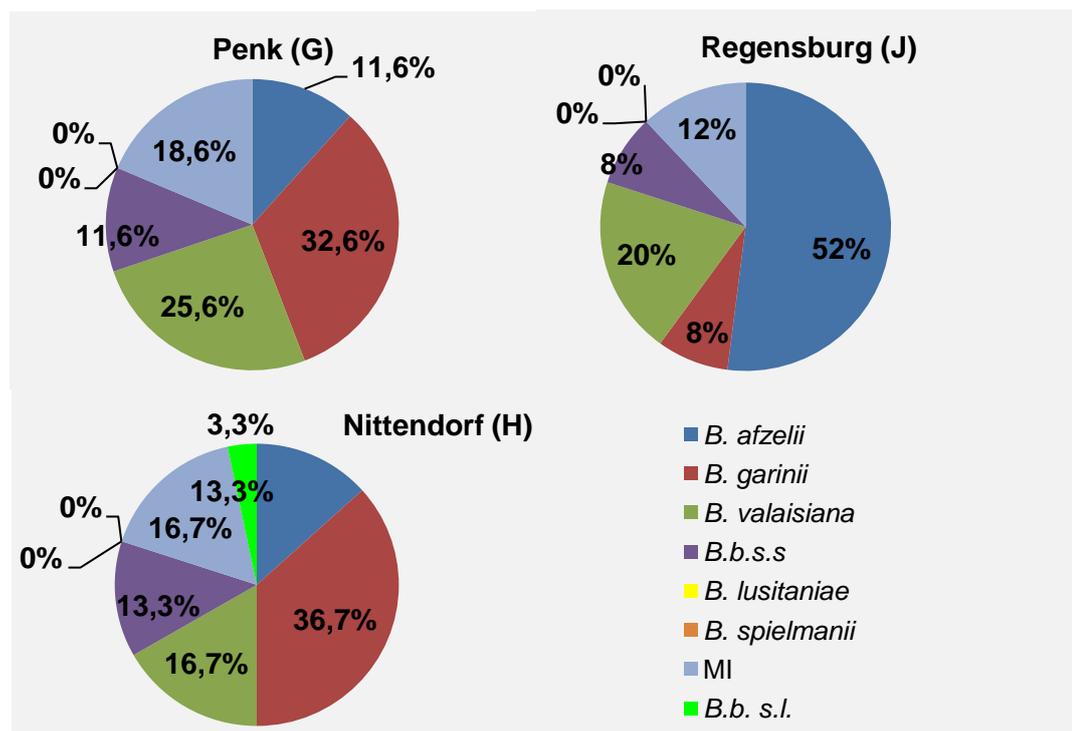


Abbildung 4.13 Verteilung der Spezies von *B. burgdorferi* s.l. an den Standorten im Land- und Stadtkreis Regensburg

Landkreis Kehlheim:

Am Standort Essing im Landkreis Kelheim (Abbildung 4.14) war *B. afzelii* (37.5%) die dominante Spezies, gefolgt von *B. garinii* (21.9%), *B. valaisiana* (18.8%) und

B. burgdorferi s.s. (18.8%). 15.6% der positiven Zecken waren mit mehr als einer Spezies infiziert (Abbildung 4.15).



Abbildung 4.14 Landkreis Kelheim in Niederbayern

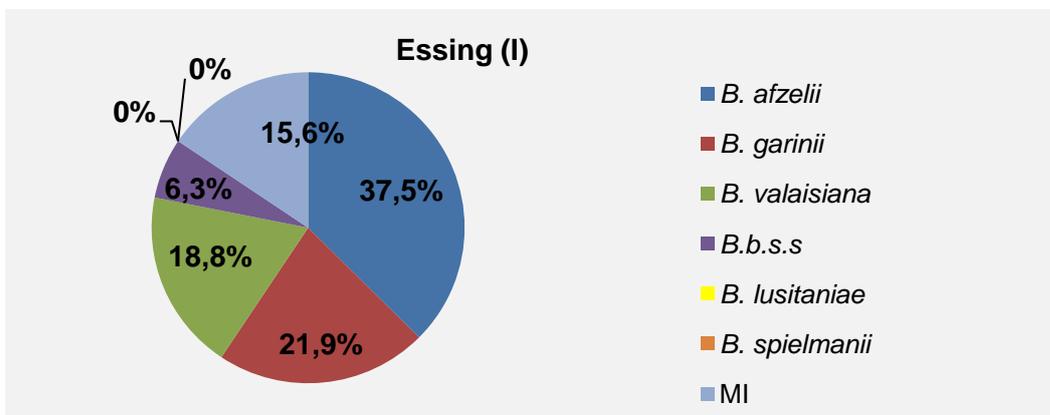


Abbildung 4.15 Verteilung der Spezies von *B. burgdorferi* s.l. an dem Standort im Landkreis Kelheim

Landkreis Straubing-Bogen:

Am Standort Saulburg im Landkreis Straubing-Bogen (Abbildung 4.16) konnte *B. afzelii* (35%) als häufigste Spezies identifiziert werden, gefolgt von *B. garinii* (30%), *B. valaisiana* (25%) und *B. burgdorferi* s.s. (25%). Von den positiven Zecken waren 10% mit mehreren Spezies infiziert (Abbildung 4.17)



Abbildung 4.16 Landkreis Straubing-Bogen in Niederbayern

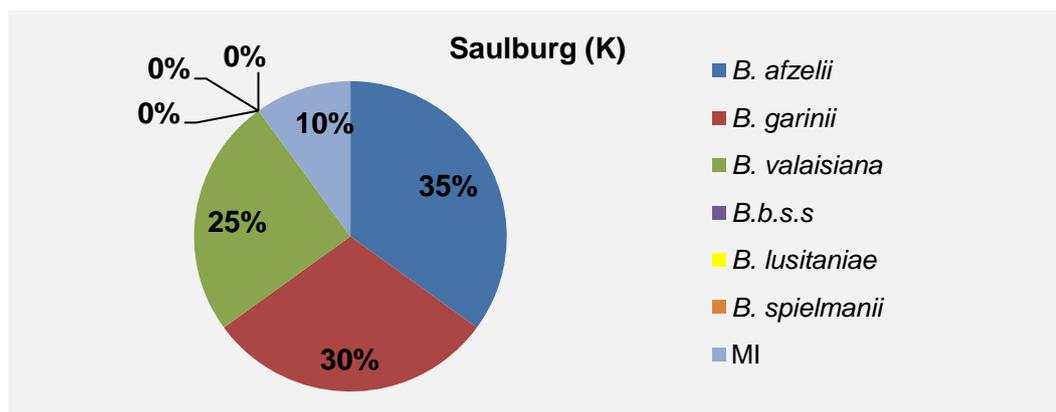


Abbildung 4.17 Verteilung der Spezies von *B. burgdorferi* s.l. am Standort im Landkreis Straubing-Bogen

Landkreis Deggendorf:

An den Standorten Innenstetten und Deggendorf im Land- und Stadtkreis Deggendorf (Abbildung 4.18) traten *B. afzelii* und *B. garinii* jeweils gleich häufig auf. Am Standort Deggendorf stellten sie die häufigsten Spezies. Am Standort Innenstetten konnte *B. burgdorferi* s.s. (41.7%) als häufigste Spezies identifiziert werden. 8.3% der Zecken waren mit mehr als einer Spezies infiziert. Am Standort Deggendorf konnten keine Infektionen mit mehr als einer Spezies festgestellt werden. 6.3% der Zecken waren positiv für *B. spielmanii* (Abbildung 4.19).



Abbildung 4.18 Land- und Stadtkreis Deggendorf in Niederbayern

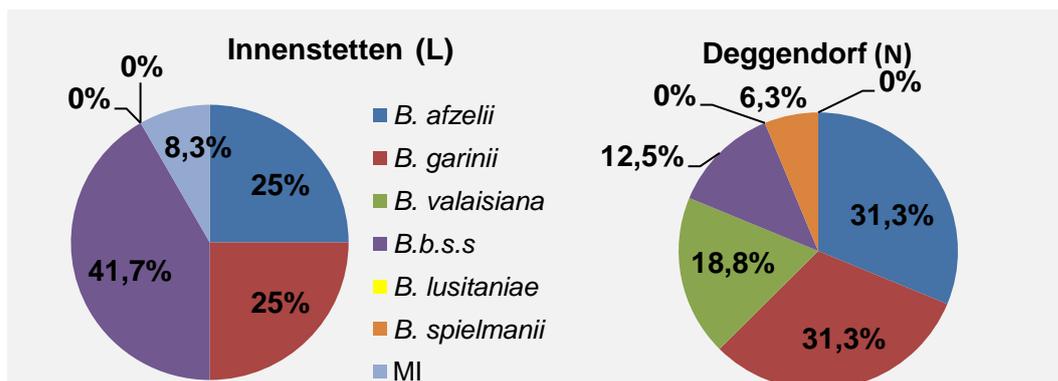


Abbildung 4.19 Verteilung der Spezies von *B. burgdorferi* s.l. an den Standorten im Land- und Stadtkreis Deggendorf

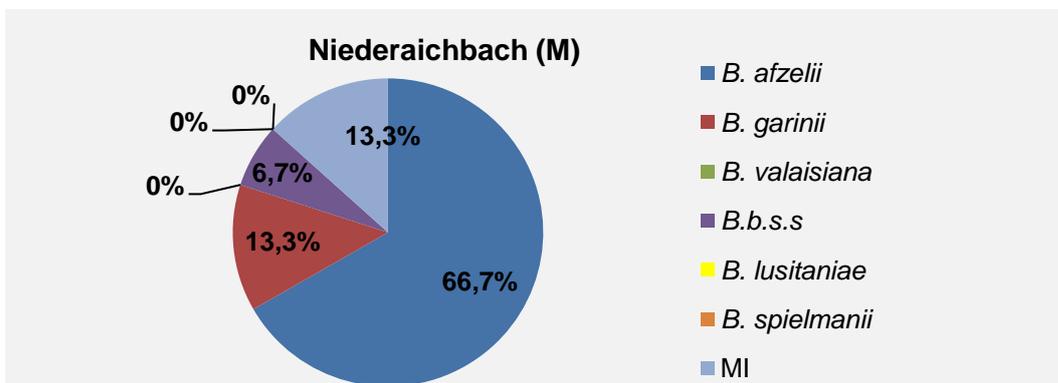


Abbildung 4.20 Verteilung der Spezies von *B. burgdorferi* s.l. am Standort im Landkreis Landshut

Landkreis Landshut:

Der Standort Niederaichbach im Landkreis Landshut (Abbildung 4.21) wies *B. afzelii* (66.7%) als häufigste Spezies auf, gefolgt von *B. garinii* (13.3%) und *B. burgdorferi* s.s. (6.7%). *B. valaisiana* konnte nicht nachgewiesen werden. 13.3% der *I. ricinus* waren mit mehr als einer Spezies infiziert (Abbildung 4.20).



Abbildung 4.21 Landkreis Landshut in Niederbayern

Landkreis Freyung-Grafenau:

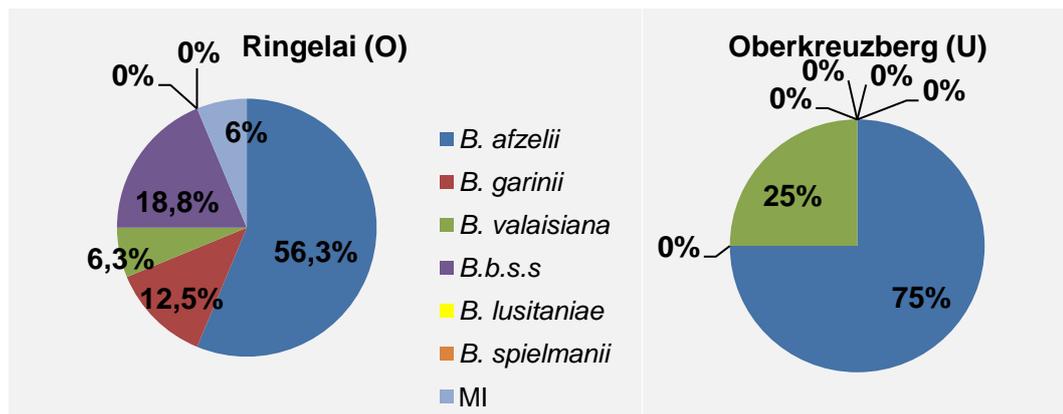


Abbildung 4.22 Verteilung der Spezies von *B. burgdorferi* s.l. an den Standorten im Landkreis Freyung-Grafenau



Abbildung 4.23 Landkreis Freyung-Grafenau in Niederbayern

Die Standorte Ringelai und Oberkreuzberg im Landkreis Freyung-Grafenau (Abbildung 4.23) zeigten *B. afzelii* als dominante Spezies (56.3% und 75%). Während am Standort Oberkreuzberg als zweite Spezies nur *B. valaisiana* (25%) identifiziert werden konnte, waren am Standort Ringelai neben *B. valaisiana* (6.3%) auch *B. garinii* (12.5%) und *B. burgdorferi* s.s. (18.8%) präsent. 6% der positiven Zecken waren mit mehr als einer Spezies infiziert (Abbildung 4.22).

Land- und Stadtkreis Passau:

An den Standorten Pfenningbach, Stollberg, Germannsdorf und Passau im Land- und Stadtkreis Passau (Abbildung 4.24) war die Spezies *B. afzelii* dominant. Am Standort Germannsdorf konnte neben *B. afzelii* *B. valaisiana* gleich häufig identifiziert werden. Am Standort Stollberg konnte weder *B. garinii* noch *B. valaisiana* nachgewiesen werden. 7.7% der infizierten Zecken konnten lediglich dem *B. burgdorferi* s.l. Komplex zugeordnet werden, keiner konkreten Spezies. 5%-21.4% der infizierten Zecken trugen mehr als eine Spezies (Abbildung 4.25).

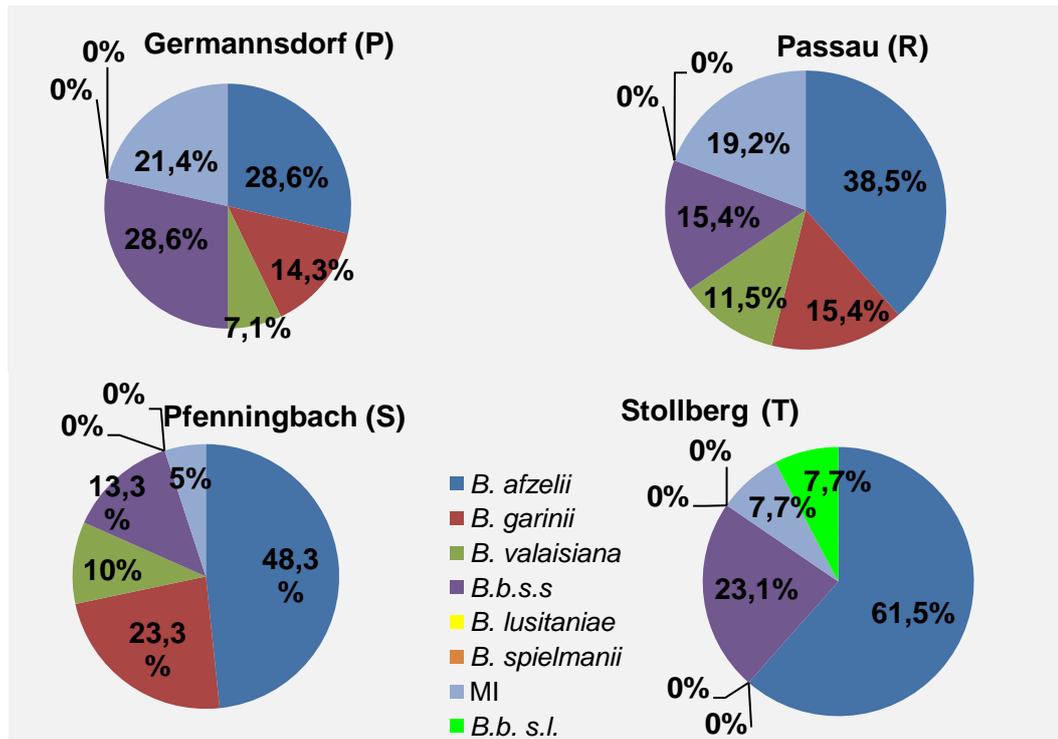


Abbildung 4.24 Verteilung der Spezies von *B. burgdorferi* s.l. an den Standorten im Land- und Stadtkreis Passau

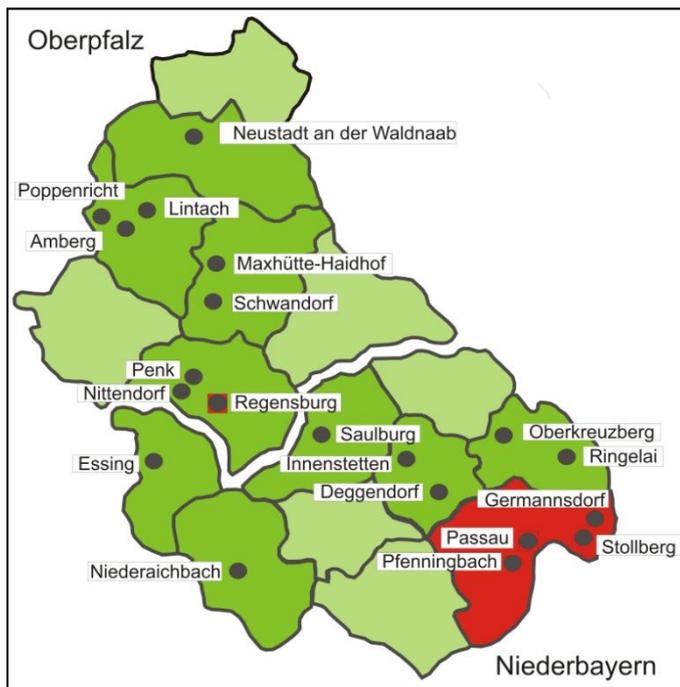


Abbildung 4.25 Land- und Stadtkreis Passau in Niederbayern

Zusammengefasst konnte an 14 von 20 Standorten *B. afzelii* als häufigste Spezies bestimmt werden. Die Häufigkeit variierte dabei zwischen 34.6% in Neustadt an der Waldnaab (A) und 75% in Oberkreuzberg (U). In Lintach (D) und Deggendorf (N) wurden neben *B. afzelii* auch *B. garinii* als häufigste Spezies identifiziert (Abbildung 4.9, Abbildung 4.19). In Germannsdorf (P) wurde neben *B. afzelii* *B. burgdorferi* s.s. als dominante Spezies gefunden (Abbildung 4.25). Am Standort Innenstetten (L) war *B. burgdorferi* s.s. am häufigsten vertreten (Abbildung 4.19). An den Standorten Penk (G) und Nittendorf (H) konnte hingegen *B. garinii* als häufigste Spezies identifiziert werden (Abbildung 4.13).

4.3 Nachweis des FSME-Virus in *I. ricinus*

4.3.1 Prävalenz des FSME-Virus in *I. ricinus* in Niederbayern und der Oberpfalz

Insgesamt wurden 8804 *I. ricinus* Zecken (8203 Nymphen, 301 weibliche Adulttiere, 300 männliche Adulttiere) aus den drei Sammelphasen im Mai, Juni und September mittels Real-time RT-PCR der 3'-NCR auf das Vorkommen von FSME-Virus RNA untersucht. In 23 Zeckenpools aus sieben Standorten wurde RNA des FSME-Virus nachgewiesen (Abbildung 4.26). Von den 23 Zeckenpools stammten 19 Zeckenpools von Nymphen, zwei Zeckenpools stammten von adulten Weibchen und 2 Zeckenpools stammten von adulten Männchen. Die Virusprävalenz lag bei Voraussetzung der minimalen Infektionsrate bei 0.26% (Tabelle 4.4). Nymphen waren mit 0.23% (n=19) und adulte *I. ricinus* waren mit 0.6% (n=4) infiziert. Die Virusprävalenz an den individuellen positiven Standorten reichte von 0.16% in Schwandorf bis 2.86% in Germannsdorf (Tabelle 4.4). In Neustadt an der Waldnaab, Schwandorf und Pfenningbach konnte Virus-RNA nur in Nymphen nachgewiesen werden. In Poppenricht und Stollberg wurde jeweils ein Weibchen positiv getestet. In Germannsdorf und in Passau war jeweils ein *I. ricinus* Männchen positiv (Tabelle 4.4). In Poppenricht, Germannsdorf und Passau konnte das FSME-Virus sowohl in Nymphen als auch in Adulttieren nachgewiesen werden. In Pfenningbach und in Neustadt an der Waldnaab waren nur Nymphen positiv. In Stollberg konnte nur in einem adulten Weibchen das FSME-Virus nachgewiesen werden. Die geschätzte Virusprävalenz (Abel et al., 1999) an den sieben positiven Standorten reichte für Nymphen von 0.15% in Schwandorf bis 3.16% in Germannsdorf (Tabelle 4.4). Bei den adulten Tieren reichte die Prävalenz von 0% in Neustadt an der Waldnaab, Schwandorf und Pfenningbach bis 1.58% in Poppenricht (Tabelle 4.4). Aufgrund der unterschiedlichen Poolgröße von Nymphenpools (10 Individuen) und Adultenpools (5 Individuen) konnte keine abgeschätzte Gesamtprävalenz für alle positiven Zeckenpools berechnet werden.

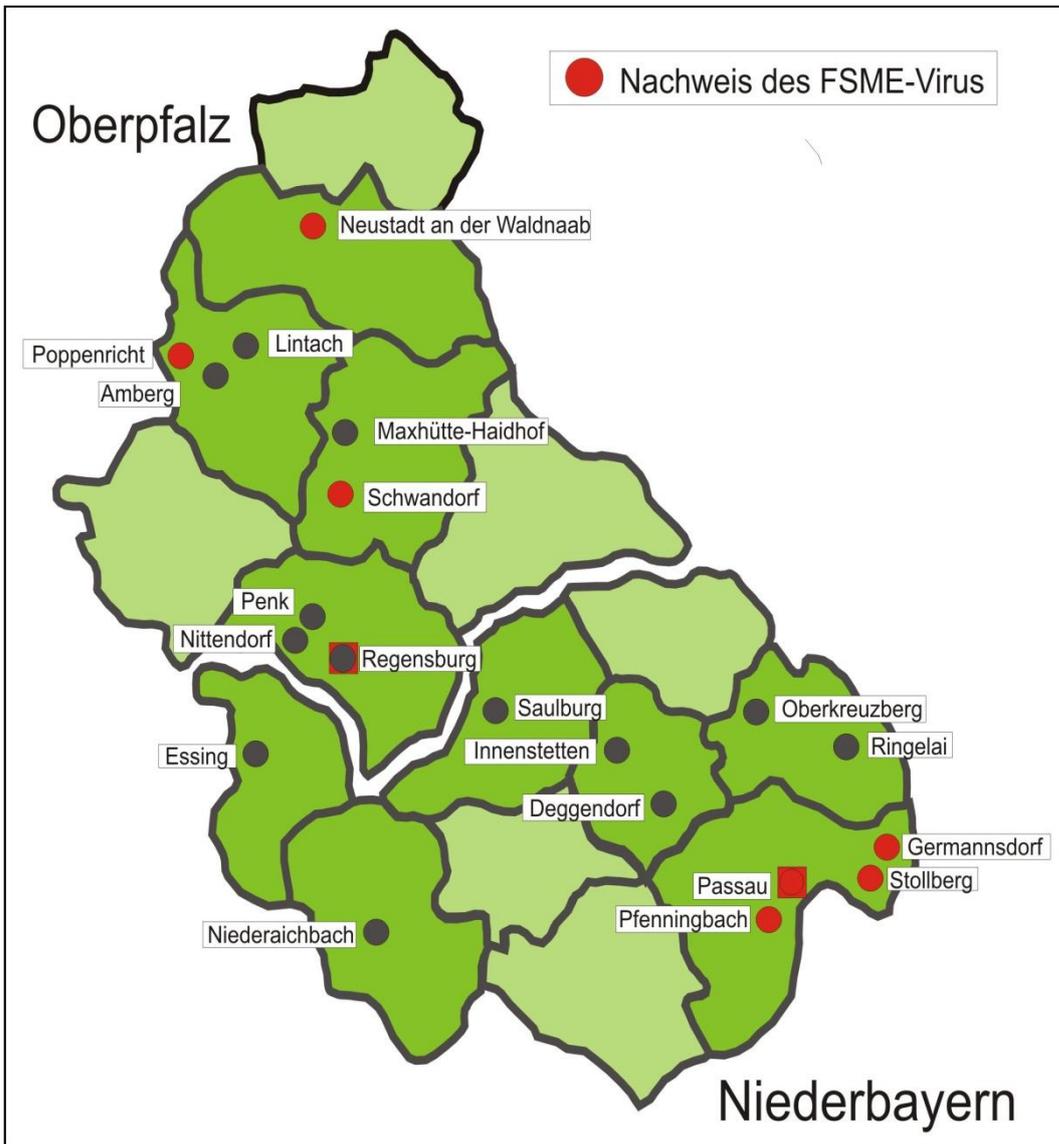


Abbildung 4.26 Übersicht der Standorte mit Nachweis des FSME-Virus in Niederbayern und der Oberpfalz

Ergebnisse

Standort	Stadium	Anzahl Pools (pos. Pools)	Prävalenz-	Konfidenz-	Prävalenz-	Konfidenz-
			rate		rate	
			Pools (%)		MIR (%)	
A Neustadt an der Waldnaab	N	54 (6)	1,17	0,42; 2,26	1,16	0,42; 0,25
	W	10 (0)	0,00	0,00; 2,59	0,00	0,00; 6,58
	M	9 (0)	0,00	0,00; 2,83	0,00	0,00; 7,78
	W+M	19 (0)	0,00	0,00; 1,46	0,00	0,00; 3,63
	gesamt					1,00
B Poppenricht	N	129 (4)	0,31	0,08; 0,77	0,32	0,09; 0,81
	W	6 (1)	3,58	0,04; 6,41	4,35	0,11; 2,19
	M	7 (0)	0,00	0,00; 3,48	0,00	0,00; 8,94
	W+M	13 (1)	1,58	0,01; 3,60	1,82	0,05; 9,72
	gesamt					0,38
E Schwandorf	N	65 (1)	0,15	0,00; 0,82	0,16	0,00; 0,89
	W	3 (0)	0,00	0,00; 6,31	0,00	0,00; 3,93
	M	4 (0)	0,00	0,00; 5,27	0,00	0,00; 2,83
	W+M	7 (0)	0,00	0,00; 3,41	0,00	0,00; 1,80
	gesamt					0,16
P Germannsdorf	N	13 (3)	3,61	0,90; 6,14	2,40	0,88; 7,99
	W	3 (0)	0,00	0,00; 6,31	0,00	0,00; 4,51
	M	3 (1)	0,86	0,00; 6,31	11,10	0,00; 9,06
	W+M	6 (1)	0,83	0,00; 3,93	7,10	0,00; 1,92
	gesamt					2,86
R Passau	N	14 (2)	1,52	0,17; 4,28	1,59	0,19; 5,62
	W	2 (0)	0,00	0,00; 7,76	0,00	0,00; 3,48
	M	4 (1)	0,56	0,06; 8,06	7,14	0,18; 3,38
	W+M	6 (1)	0,36	0,04; 6,41	4,76	0,12; 2,38
	gesamt					2,04
S Pfenningbach	N	57 (3)	0,53	0,1; 1,46	0,54	0,11; 1,59
	W	4 (0)	0,00	0,00; 5,27	0,00	0,00; 1,61
	M	5 (0)	0,00	0,00; 4,50	0,00	0,00; 1,70
	W+M	9 (0)	0,00	0,00; 2,83	0,00	0,00; 0,86
	gesamt					0,51
T Stollberg	N	11 (0)	0,00	0,00; 2,38	0,00	0,00; 2,95
	W	3 (1)	0,78	0,08; 9,06	9,10	0,23; 4,12
	M	2 (0)	0,00	0,00; 7,76	0,00	0,00; 5,27
	W+M	5 (1)	0,44	0,05; 7,16	6,70	0,17; 3,19
	gesamt					0,87

N: Nymphen; W: adulte Weibchen; M: adulte Männchen.

Tabelle 4.4 Übersicht der ermittelten FSME-Prävalenzen der positiven Standorte. Gegenüberstellung der Prävalenz für gepoolte Proben und der minimalen Infektionsrate (MIR) mit der Angabe der 95%-Konfidenzintervalle. N: Nymphen; W: adulte Weibchen; M: adulte Männchen.

5 Diskussion

Ziel dieser Arbeit war das Vorkommen von Zecken an 20 Standorten in den bayerischen Regierungsbezirken Niederbayern und Oberpfalz zu untersuchen, sowie die Prävalenz der Zecken-übertragenen Infektionserreger FSME-Virus und *B. burgdorferi* s.l. mittels molekularbiologischer Methoden zu ermitteln.

5.1 Prävalenz von *B. burgdorferi* s.l. in *I. ricinus* in Niederbayern und der Oberpfalz

In Niederbayern und der Oberpfalz wurden Infektionsraten bei Zecken von 41.1% für *B. afzelii*, 18.8% für *B. garinii*, 13.6% für *B. valaisiana* und 11.6% für *B. burgdorferi* s.s. festgestellt. *B. spielmanii* und *B. lusitaniae* wurden nur in zwei (0.4%) bzw. einer (0.2%) *I. ricinus* gefunden. Fokal vergleichbare Werte wurden für diesen Bereich Bayerns bisher noch nicht erhoben. In drei durchgeführten Studien im südbayerischen Raum konnten aber bereits vergleichbare Infektionsraten von 25%-27% für *B. afzelii*, 22.2-61% für *B. garinii*, 12.7-19.9% für *B. valaisiana* und 11-24.9% für *B. burgdorferi* s.s. ermittelt werden (Fingerle et al., 2004; Leonhard, 2005; Fingerle et al., 2008). Studien aus den umliegenden Ländern zeigten ebenfalls vergleichbare Werte für die Spezies (Hubálek und Halouzka, 1997; Misonne et al., 1998; Gern et al., 1999, Christova et al., 2003; Collares-Pereira et al., 2004; Rauter und Hartung, 2005; Richter und Matuschka, 2006; Fingerle et al., 2008). Ebenso konnte *B. spielmanii* nur an einzelnen Standorten in Deutschland identifiziert werden (Fingerle et al., 2008). Die Verteilung von *B. lusitaniae* erscheint sich bis auf ein paar Ausnahmen auf den mediterranen Bereich zu beschränken (Collares-Pereira et al., 2004).

Ein interessanter Aspekt war der lokale Prävalenzunterschied der untersuchten Standorte. Solche fokalen Unterschiede in der Prävalenz von *B. burgdorferi* s.l. zwischen einzelnen europäischen Ländern und sogar zwischen eng benachbarten Gebieten konnten schon in früheren Studien beobachtet werden (van Dam et al., 1993; Eiffert et al., 1995; Rijpkema et al., 1995; Humair und Gern, 2000; Lençaková et al., 2006). Die Gründe dafür sind aktuell noch nicht vollständig geklärt, aber zahlreiche Studien diskutieren die unterschiedliche Häufigkeit der Spezies innerhalb eines Standortes und an individuellen Standorten unter anderem als Resultat der Dichte und Verfügbarkeit von kompetenten und nicht-kompetenten Wirtstieren (Humair et al., 1998; Etti et al.,

2003). So haben Untersuchungen des Komplementsystems der potentiellen Reservoirwirte gezeigt, dass innerhalb der einzelnen Spezies von *B. burgdorferi* s.l. Wirtsspezifität besteht (Anderson, 1988). *B. afzelii* wird dabei mit Nagetieren, Hasenartigen und Insektenfressern in Verbindung gebracht (Humair et al., 1995, 1998; Hanincová et al., 2003a). *B. garinii* und *B. valaisiana* zirkulieren in aviären Wirten (Hanincová et al., 2003b; Humair et al., 1995, 1998; Kurtenbach et al., 1998), invasive *B. garinii* Spezies werden jedoch in Zusammenhang mit Nagetieren beschrieben (Huegli et al., 2002). Für *B. spielmanii* konnte die Haselmaus als geeigneter Reservoirwirt identifiziert werden (Richter et al., 2011). *B. burgdorferi* s.s. scheint keine bevorzugte Wirtsspezifität zu besitzen, da es sowohl in Nagetieren, als auch in Vögeln nachgewiesen werden konnte (Kurtenbach et al., 2002). *B. lusitaniae* wird im Zusammenhang mit Eidechsen beschrieben (Majláthova et al., 2006; Amore et al., 2007; Majláthova et al., 2008). Von den 20 untersuchten Standorten waren bei 19 Standorten die humanpathogenen Spezies *B. afzelii* und *B. garinii* am häufigsten vertreten, was die Vermutung nahe legt, dass diese Standorte scheinbar optimale Bedingungen für Entwicklung und Fortpflanzung der spezifischen Reservoirwirte (Nagetiere, Insektenfresser, Vögel) verfügt. Tatsächlich wird die Charakteristik der ausgewählten Standorte für viele potentielle Säugetierwirte als Lebensraum beschrieben. So beispielsweise für Nagetiere wie die Waldmaus (*Apodemus sylvaticus*), die Gelbhalsmaus (*Apodemus flavicollis*), den Siebenschläfer (*Glis glis*), das Eichhörnchen (*Sciurus vulgaris*) oder den Igel (*Erinaceus europaeus*). Aber auch Vogelarten wie die Amsel (*Turdus merula*), die Drossel (*Turdus philomelos*) und die Kohlmeise (*Parus major*) sind in diesen Lebensräumen zu finden. Neueste Studien zeigen, dass besonders synantrophe Vogelarten maßgeblich die Prävalenz von *B. garinii* und *B. valaisiana* an verschiedenen Standorten beeinflussen und eine weitreichendere Rolle als Reservoir und Wirt in der Erhaltung und Übertragung von *B. burgdorferi* s.l. besitzen, als bisher angenommen (Franke et al., 2010a, b; Dubska et al., 2011). Durch ihre hohe Mobilität besitzen Vögel einen größeren Aktionsradius im Vergleich mit Säugetieren, sind dafür aber kürzer an einem Standort präsent (Vollmer et al., 2011). Dadurch sinkt die Wahrscheinlichkeit der Infestation mit Zecken und somit der potentiellen Übertragung von *B. garinii* und *B. valaisiana*. Diese Theorie erklärt den Umstand, dass an den meisten Standorten in Niederbayern und der Oberpfalz *B. garinii* und *B. valaisiana* zwar present waren, aber nicht die vorherrschende Spezies stellten. Es muss in Betracht gezogen werden, dass *B. garinii* und *B. valaisiana* durch ihre Wirtsspezifität sowie den

Lebenseigenschaften der Wirte ein Nachteil bezüglich ihrer Häufigkeit im Vergleich zu *B. afzelii* entsteht. Ausnahmen hingegen stellten die Standorte Penk und Nittendorf im Landkreis Regensburg dar, bei denen *B. garinii* vor *B. afzelii* als vorherrschende Spezies gefunden wurde. Die Vegetation dieser Standorte sowie die ausgeprägte Siedlungsnähe machen diese Standorte zu perfekten Lebensräumen für synantrophe Vogelarten. *B. burgdorferi* s.s. als Generalist wird keinem spezifischen Wirt zugeschrieben und wird im Gegensatz zu der USA für Europa weniger häufig beschrieben (Kurtenbach et al., 2001; Houck et al., 2011). Tatsächlich konnte *B. burgdorferi* s.s. an den Standorten in Niederbayern und der Oberpfalz deutlich seltener als *B. afzelii*, *B. garinii* und *B. valaisiana* nachgewiesen werden. *B. lusitaniae* hingegen wird hauptsächlich im Zusammenhang mit Eidechsen der Familie der Lacertidae beschrieben (Majláthova et al., 2006; Amore et al., 2007; Majláthova et al., 2008; Ekner et al., 2011) und wurde häufig in Zecken von Zauneidechsen (*Lacerta agilis*) und Smaragdeidechsen (*Lacerta viridis*) gefunden. Diese Arten bevorzugen sonnenexponierte, trockene Lebensräume mit mosaikartiger Vegetation wie Trockenrasen, vergraste Weinberge, Steppenheiden, Steinbrüche, Kiesgruben aber auch trockene Waldränder (Stichmann-Marny, 2010) und sind folglich selten bis nie an den ausgewählten Standorten zu finden (Majláthova et al., 2006; Amore et al., 2007; Majláthova et al., 2008; Ekner et al., 2011). Daher erscheint es nicht außergewöhnlich, dass nur in einer Zecke *B. lusitaniae* nachgewiesen werden konnte. Für die, in Wäldern lebende Waldeidechse (*Zootoca vivipara*) wurde bisher keine Funktion als Reservoirwirt von *B. lusitaniae* beschrieben. *B. spielmanii* wurde bisher in Verbindung mit Haselmäusen (*Muscardinus avellanarius*) beschrieben und nur fokal in Deutschland nachgewiesen (Fingerle et al., 2008; Richter et al., 2011). Im Projektraum konnte interessanterweise nur an zwei Standorten *B. spielmanii* nachgewiesen werden, obwohl die Vegetation der ausgewählten Standorte den Anforderungen des Lebensraums der Haselmaus vollauf entsprachen (Stichmann-Marny, 2010). Vermutlich spielen auch Faktoren wie die Präsenz von Rehen und Rotwild eine Rolle bei der Verbreitung von *B. burgdorferi* s.l. in einem Gebiet. Unter anderem konnte in Norwegen gezeigt werden, dass an Standorten mit hoher Wilddichte, die Infektionsrate von *I. ricinus* mit *B. burgdorferi* s.l. gemindert war im Gegensatz zu Standorten mit geringem Wildbestand (Rosef et al., 2009). Insgesamt scheint sich Wild als Reservoir für *B. burgdorferi* s.l. nicht zu eignen (Telford et al., 1988; Jaenson und Tälleklint, 1992). Durch ihre Präsenz oder Abwesenheit verringern bzw. erhöhen sie die Prävalenz von *B. burgdorferi* s.l. im Vektor *I. ricinus*

(Keesing et al., 2009; Ostfeld, 2009; Ruiz-Fons et al., 2012). Weitere Studien zeigten diesen Effekt bei domestizierten Wiederkäuern (Richter und Matuschka, 2010). Eine Studie aus Spanien zeigt, dass die steigende Zahl an Rindern scheinbar das Risiko anderer Wirte, sich mit *B. burgdorferi* s.l. zu infizieren, verringert (Ruiz-Fons et al., 2012). Da die ausgewählten Standorte durchwegs als Lebensraum für Wild dienen können und die sporadische Präsenz von domestizierten Wiederkäuern nicht grundsätzlich ausgeschlossen werden kann, ist ihr Einfluss auf die Infektionsrate von *I. ricinus* mit *B. burgdorferi* s.l. ein ernstzunehmender Faktor.

Interessanterweise bestimmen nicht nur die Anzahl oder Zusammensetzung der potentiellen Wirtstiere sowie die Habitatpopulation die Verbreitung von *B. burgdorferi* s.l. in *I. ricinus* und den potentiellen Wirten sondern auch geographische und klimatische Faktoren. So konnte z.B. *B. garinii* in *I. ricinus* von infestierten Vögeln aus höheren Lagen weniger oft nachgewiesen werden, wie in tieferen Lagen (Dubska et al., 2011). Im Projektgebiet war jedoch kein solcher Trend zu erkennen. Ferner spielt der Aufbau und die Unterteilung eines Habitats eine wesentlich Rolle bei der Zirkulierung und Übertragung von *B. burgdorferi* s.l.. Eine Studie aus Frankreich zeigte, dass die Fragmentierung und Gestalt der Wälder Einfluss auf die Infektionsraten von *I. ricinus* mit *B. burgdorferi* s.l. besitzt. Durch kleinere Waldstücke erhöht sich der Anteil der Strauch- und Krautschicht und somit das Vorkommen kleiner Säugetiere und Vögel, die als Reservoirwirt dienen können (Halos et al., 2010).

Insgesamt konnte für die 20 Standorte in Niederbayern und der Oberpfalz eine Infektionsrate von *I. ricinus* mit *B. burgdorferi* s.l. von 14.4% gezeigt werden. Nymphen waren mit 12.7% und adulte *I. ricinus* mit 14.4% infiziert. Vergleichbare Werte wurden bereits in früheren Studien zur Häufigkeit von *B. burgdorferi* s.l. in *I. ricinus* in Deutschland und Bayern gezeigt, bei denen 2%-43% der Nymphen und 3%-58% der adulten Zecken den Infektionserreger trugen (Fingerle, 1994; Baumgarten et al., 1999; Hildebrandt et al., 2003; Fingerle et al., 2008). Die Metaanalyse durchgeführter Häufigkeitsuntersuchungen zu *B. burgdorferi* s.l. ergab ein gesteigertes Auftreten (Peak) von *B. burgdorferi* s.l. in *I. ricinus* zwischen dem 5. und 25. östlichen Längengrad, welche die Schweiz, Österreich, Deutschland, die Tschechische Republik, Slowenien und die Slowakei einschließen (Rauter und Hartung, 2005; Estrada-Peña et al., 2006, 2011). Die höheren Infektionsraten für *B. burgdorferi* s.l. von adulten Tieren gegenüber Nymphen wurde in zahlreichen Studien in Europa erwähnt (Hubálek und

Halouzka, 1998; Rauter und Hartung, 2005; Estrada-Peña et al., 2011). Durch den dreiphasigen Lebenszyklus von *I. ricinus* durchlaufen adulte Tiere drei und Nymphen zwei Blutmahlzeiten. Adulte Tiere haben dadurch eine höhere Wahrscheinlichkeit, sich währenddessen mit einem Infektionserreger zu infizieren. Bei den untersuchten Zecken waren weibliche *I. ricinus* signifikant häufiger (19.4%) mit *B. burgdorferi* s.l. infiziert als adulte männliche Tiere (9.5%). Weibliche Adulttiere nehmen während einer Blutmahlzeit mehr Blut zu sich, als männliche Adulttiere (Dusbábek, 1996), wodurch sich die Wahrscheinlichkeit, sich mit einem Erreger zu infizieren, erhöht. Männliche Zecken befallen zudem häufiger auch Wirte mit geringer oder keiner Reservoirkompetenz, was ebenfalls zu einer niedrigeren Infektionsrate von *B. burgdorferi* s.l. in männlichen *I. ricinus* führt (De Meeûs et al., 2004).

Auch wenn für den Zusammenhang der Infektionsrate der Zecken mit der Zeckendichte in einem Habitat kein direkter Beweis vorliegt, so kann dennoch immer angenommen werden, dass sich die Zeckendichte in einem Habitat auf die Wahrscheinlichkeit auswirkt, mit der die Zecke ein Wirtstier findet und somit auch die Wahrscheinlichkeit, einen Infektionserreger auf einen Wirt zu übertragen oder sich selbst zu infizieren. Durch die, bedingt durch die Erderwärmung stetig zunehmende Ausbreitung von *I. ricinus* in nördlichere Gebiete (Lindgren et al., 2000; Gray, 2002; Materna et al., 2005, 2008), steht die geographische Ausdehnung ihres Habitats und der mit ihr als Vektor verbundenen Infektionskrankheiten im besonderen Fokus des wissenschaftlichen und öffentlichen Interesse. Das Risiko für eine Infektion des Menschen mit einem Erreger durch einen Zeckenstich in einem bestimmten Habitat wird von vielschichtigen Faktoren bestimmt. So spielt neben der Prävalenz der Infektionserreger in *I. ricinus* auch die Aktivität der Zecken sowie die Verteilung der einzelnen Stadien eine bedeutende Rolle (Stafford et al., 1998; Jongejan und Uilenberg, 2004). Durch den besonderen Stellenwert der Nymphen bei der Infektion mit einem Erreger, ist dieses Stadium Gegenstand vieler Untersuchungen zur Aktivität. So konnten Jaenson et al. (2009) in Schweden zwischen mit *B. burgdorferi* s.l. infizierten *I. ricinus* Nymphen und der Dichte bzw. Aktivität aller Nymphen an einem Standort eine signifikante Korrelation feststellen. Basierend auf diesen Untersuchungen kann die Aktivität der Nymphen an einem Standort ein allgemeiner Indikator für das Gefährdungspotential für die Infektion mit *B. burgdorferi* s.l. sein. Interessanterweise konnte dieser Trend bei den untersuchten Habitaten in Niederbayern und der Oberpfalz nicht beobachtet werden. An Standorten mit

hoher Aktivität der Nymphen konnte nicht zwingend eine hohe Infektionsrate der Nymphen mit *B. burgdorferi* s.l. nachgewiesen werden. So zeigte beispielsweise der Standort Poppenricht im Landkreis Amberg-Sulzbach die höchste ermittelte Aktivität der Nymphen (209,8 Zecken pro 100 m²). Die Infektionsrate der Nymphen mit *B. burgdorferi* s.l. war mit 11.6% aber vergleichsweise gering im Gegensatz zu anderen Standorten. Am Standort Passau hingegen, mit vergleichsweise niedriger Nymphenaktivität (21 Nymphen pro 100 m²) konnte die höchste Infektionsrate von *I. ricinus* mit *B. burgdorferi* s.l. von allen Standorten ermittelt werden. Weiterhin konnte eine Untersuchung zur Häufigkeit von *B. burgdorferi* s.l. in *I. ricinus* im italienischen Raum (Nazzi et al., 2010) ebenfalls keine Korrelation zwischen der Aktivität von *I. ricinus* Nymphen und der Prävalenz von *B. burgdorferi* s.l. in selbigen ausmachen, jedoch zwischen der Aktivität der Nymphen und der Inzidenz von Borreliose im untersuchten Gebiet. Eine Studie aus Frankreich konnte ebenfalls einen Zusammenhang zwischen der Aktivität der Nymphen und der Borrelioseinzidenz in einem Endemiegebiet im Elsass zeigen (Ferquel et al., 2006). In Deutschland unterliegt die Borreliose bis zum heutigen Zeitpunkt keiner generellen Meldepflicht. Nur die neuen Bundesländer machen von der erweiterten Meldepflicht für Borreliose Gebrauch. Die Untersuchung einer Korrelation der Aktivität der Nymphen und der Inzidenz von Borreliose an den Standorten im Projektgebiet in Bayern ist daher nicht möglich. Für Deutschland existieren nur geschätzte Werte, die von 60000-150000 Neuinfektionen pro Jahr ausgehen, wobei die Dunkelziffer aufgrund des diffusen Krankheitsbildes noch viel höher liegen dürfte. Die absolute Notwendigkeit der räumlichen und zeitlichen Dokumentation der Borreliose verbunden mit einer klaren Falldefinition muss aus diesem Grund noch einmal betont werden. Inzidenzdaten in einem Gebiet bilden zusammen mit spezifisch erhaltenen Projektdaten eine wichtige Grundlage für die Kalkulation und Abschätzung des Gefährdungspotentials für Infektionen mit *B. burgdorferi* s.l. nach einem Zeckenstich. Seit der eingeführten Meldepflicht im Juni 2001 können Daten zur Borrelioseinzidenz auch für das Bundesland Rheinland-Pfalz und Saarland bezogen werden. In einer Pressemitteilung vom Februar 2012 spricht sich auch Bayern für eine Meldepflicht aus.

5.2 Prävalenz des FSME-Virus in *I. ricinus* in Niederbayern und der Oberpfalz

Insgesamt wurde in 23 Zeckenpools von sieben Standorten das FSME-Virus nachgewiesen. Die Prävalenz für gepoolte Proben reichte dabei von 0.15%-1.52% in Nymphen und von 0.44%-1.58% in adulten *I. ricinus*. Aufgrund der insgesamt niedrigen Prävalenz von maximal 1.52% wurde angenommen, dass in einem Pool maximal eine, mit dem FSME-Virus infizierte Zecke vorhanden ist und daher als Vergleichswert die minimalen Infektionsraten der positiven Standorte berechnet (MIR). Eine Studie zur Häufigkeitsverteilung des FSME-Virus in Bayern, unter anderem auch mit Standorten in Amberg und Passau zeigte interessanterweise ähnliche Prävalenzen des FSME-Virus (Kupça et al., 2010). Für Deutschland wird insgesamt mit einer Virusprävalenz von 0.9% in *I. ricinus* gerechnet, 0.34% in Nymphen und 5.3% in adulten Tieren (Dobler, 1998). Insgesamt berichten verschiedene Studien aus Europa sehr unterschiedliche Prävalenzraten für das FSME-Virus. Bei einer Untersuchung von *I. ricinus* an Standorten in Litauen wurde eine Prävalenzrate von bis zu 1.7 % ermittelt (Han et al., 2001). In einem bekannten Endemiegebiet in der Schweiz konnte bei Untersuchungen sogar in 14.3% der *I. ricinus* Zecken das FSME-Virus nachgewiesen werden (Casati et al., 2006). Insgesamt betrug die Prävalenz des FSME-Virus in den untersuchten Nymphen aller Standorte 0.23%, die adulter Weibchen und Männchen 0.66%. Adulte Tiere sind häufiger mit dem Virus infiziert, da sie eine Blutmahlzeit mehr als Nymphen haben und so, sowie durch das höhere Volumen des aufgenommenen Blutes die Wahrscheinlichkeit der Infektion mit dem FSME-Virus steigt. Die transovarielle Übertragung spielt hier nur eine untergeordnete Rolle (Sonenshine, 1993). Weitere, in Europa durchgeführte Untersuchungen zur Prävalenz des FSME-Virus scheinen dieses Verhältnis zu bestätigen (Danielova et al., 2002; Süss et al., 2004).

Bemerkenswert ist die Tatsache, dass alle Standorte, an denen das FSME-Virus nachgewiesen werden konnte, in einem, vom Robert-Koch-Institut durch die gemeldeten FSME-Erkrankungen klassifizierten Risikogebiet, lagen. Die höchsten Prävalenzraten wurden dabei in Passau und Germansdorf nachgewiesen, welche alle beide im Land- bzw. Stadtkreis Passau liegen. Für diesen Landkreis wurden bis heute 43 FSME-Erkrankungen seit Einführung der Meldepflicht 2001 registriert (RKI, Survstat; Stand 29.8.2012). Er besitzt damit die höchste Zahl gemeldeter FSME-Fälle in Niederbayern. Zum Vergleich besitzt der Landkreis Straubing-Bogen mit der Stadt Straubing mit 16 Fällen die niedrigste

Anzahl gemeldeter FSME-Fälle in Niederbayern (RKI, Survstat; Stand 29.8.2012). Ungewöhnlicherweise wurde für den Standort Schwandorf im Landkreis Schwandorf die niedrigste Prävalenzrate ermittelt, obwohl bisher für diesen Landkreis 80 FSME-Fälle berichtet wurden, die höchste Anzahl im Projektgebiet (RKI, Survstat; Stand 29.8.12). Am erstaunlichsten ist der Umstand, dass für den Standort Neustadt an der Waldnaab eine Prävalenzrate von 1% ermittelt werden konnte, obwohl der Land- bzw. Stadtkreis mit bisher 29 berichteten FSME-Erkrankungen den Landkreis mit den wenigsten Fällen im Projektgebiet darstellt (RKI, Survstat; stand 29.8.12). Aus diesem Grund scheinen die gefundenen Raten nur eine Momentaufnahme der FSME-Virus-Prävalenz in *I. ricinus* in diesen Habitaten zu sein, und sind daher nicht ausreichend, die epidemiologische Situation dieser Standorte vollständig zu erfassen. Interessanterweise konnten Süss et al. (2006) in einer Studie über die FSME-Virus Prävalenz in, von Patienten abgesammelten *I. ricinus* aus den gleichen Landkreisen in Bayern, eine signifikant höhere Prävalenzrate des FSME-Virus nachweisen, als in freien *I. ricinus* aus dem gleichen Gebiet. Die Gesamtprävalenz des FSME-Virus belief sich hierbei auf 8.8%. Prävalenzpeaks wurden in den Landkreisen Regen mit 20.6%, Freyung-Grafenau mit 18.3% und in Cham mit 13.5% gefunden. Dem gegenüber stehen Prävalenzraten von ungesaugten *I. ricinus* aus einer Studie in den gleichen Gebieten von 2002 (Süss et al., 2004) mit 0.6% für adulte Tiere und 0.41% für Nymphen. Bormane et al. (2004) konnten in Lettland ebenfalls höhere Prävalenzraten des FSME-Virus in, von Patienten entfernten *I. ricinus* nachweisen, als in freien *I. ricinus*, obwohl die Ergebnisse aufgrund unterschiedlicher Nachweismethoden nicht vollständig vergleichbar sind. Möglicherweise liegen den unterschiedlichen Prävalenzraten in gesaugten und freien *I. ricinus* verschiedene Replikationsstrategien des FSME-Virus in Zeckenzellen und Säugetierzellen zugrunde (Senigl et al., 2004). Ein Rückschluss von der Inzidenzrate auf die Prävalenzrate des FSME-Virus in *I. ricinus* in einem Habitat ist daher nicht möglich und kann höchstens als Orientierung verwendet werden. Dennoch stellt die Untersuchung von *I. ricinus* Zecken für Informationen zu räumlichen Verbreitung des FSME-Virus eine sinnvolle Methode dar, welche unabhängig von Einflussfaktoren wie z.B. der Impftrate der Bevölkerung ist, und somit eine unabhängige Einschätzung des Gefährdungspotentials des FSME-Virus für den Menschen ermöglicht.

Die präzisen Faktoren, welche die räumliche und zeitliche Verbreitung des FSME-Virus bedingen, sind bis zum heutigen Zeitpunkt noch nicht restlos aufgeklärt. Es gibt jedoch eine Reihe bereits identifizierter Faktoren, die

nachweislich einen Einfluss auf die Verbreitung des FSME-Virus ausüben. So ist die Zirkulierung des FSME-Virus in einem Naturherd von der Präsenz und Verfügbarkeit geeigneter Wirte, hauptsächlich Nagetiere, abhängig, die dem Virus nicht nur zur Vermehrung sondern auch als Reservoir dienen (Süss, 2003; Charrel et al., 2004). Desweiteren konnte eine Abhängigkeit der Viruspräsenz von klimatischen Bedingungen festgestellt werden (Randolph, 2000). So konnte bewiesen werden, dass die herbstliche Abkühlungsrate mit dem FSME-Virus-Vorkommen korreliert. Regionen, in denen das FSME-Virus vorkommt, wiesen eine größere herbstliche Abkühlungsrate auf, als Regionen, die als FSME-frei gelten. Der schnelle Temperaturabfall ist scheinbar eine notwendige Voraussetzung für eine effektive Übertragung des FSME-Virus durch Cofeeding zwischen Nymphen und Larven, da durch die rasche Abkühlung die Larven aus Gelegen desselben Jahres in die Diapause verfallen, bevor sie im nächsten Frühjahr bei steigenden Temperaturen zur selben Zeit wie die Nymphen aktiv werden. Zudem unterliegen die Wirtspopulationen wie auch die Zeckenpopulationen in ihrer Entwicklung und Fortpflanzung klimatischen Bedingungen. Die fortschreitende Erderwärmung scheint in vielen Gebieten Europas eine nicht zu unterschätzende Rolle bei der Verbreitung von *I. ricinus* und des FSME-Virus zu spielen. So konnte eine Ausbreitung des Lebensraum von *I. ricinus* und somit auch des FSME-Virus in höhere Lagen beobachtet werden (Daniel et al., 2003). Auch untypisch milde Winter tragen zur Ausbreitung des FSME-Virus in neue Naturherde bei (Randolph et al., 2008). Grundsätzlich spielt der Klimawandel und mit ihm einhergehende klimatische Veränderungen eine wichtige, aber nicht die alleinige Rolle bei der Ausbreitung und Zirkulierung des FSME-Virus in Naturherden (Randolph, 2008). So müssen auch soziale, politische, ökologische, ökonomische und demographische Faktoren für die Verbreitung des FSME-Virus und die Erhöhung der FSME-Inzidenz in Betracht gezogen werden (Randolph, 2008; Süss, 2008; Šumilo et al., 2008). So führten beispielsweise veränderte Landnutzung, die Erschließung neuer Grünflächen und Gärten sowie die wachsende Popularität von Freizeitaktivitäten wie Wandern und Angeln zu einer vermeintlich gesteigerten Präsenz des FSME-Virus bzw. zu einem erhöhten Gefährdungspotential der Bevölkerung für das FSME-Virus. In Deutschland könnte der Anstieg der FSME-Inzidenz mit dem Anstieg bebauter Flächen und dem verminderten Einsatz von Pestiziden sowie verminderter Umweltverschmutzung zusammen hängen. Diese Faktoren üben einen positiven Effekt auf das Wachstum von Nagetierpopulationen, die den Hauptwirt des FSME-Virus stellen, aus. Strenge Reglementierungen vor und während der

Jagdsaison schützen zudem Populationen von Rotwild und Wildschweinen, die zusätzlich als potentielle Wirte einen bedeutenden Beitrag zur Erhaltung und Zirkulierung des Virus in der Zeckenpopulation leisten (Sumilo et al., 2008). Schlussendlich resultiert die gesteigerte Prävalenzrate in *I. ricinus* auch aus einer stetigen Verbesserung der diagnostischen Methoden und deren Sensitivität sowie in einer stetigen Verbesserung der Qualität des Surveillance Systems (Süss, 2003, 2011). Aufgrund der vielschichtigen Faktoren, die die Prävalenz des FSME-Virus in *I. ricinus* Zecken in Europa beeinflussen, ist eine Analyse und Einschätzung des Gefährdungspotentials des Virus für den Menschen schwierig. Bei ersten Ansätzen erfolgte die Verwendung von Rechner-gestützten Programmen und Anwendungen wie GIS oder Regressionsanalyse, um die Vielzahl an Daten und Faktoren bearbeiten zu können (Randolph, 2002; Bunnell et al., 2003; Rogers und Randolph, 2006).

6 Schlussfolgerung

Die Ergebnisse dieser Studie zeigen, dass in den bayerischen Regierungsbezirken Niederbayern und Oberpfalz die Zecken-übertragenen Pathogene *B. burgdorferi* s.l. und das FSME-Virus in *I. ricinus* Zecken vorkommen. Die vom Standort abhängige, variable Zeckenaktivität, die teils hohen Prävalenzen von *B. burgdorferi* s.l. an den individuellen Standorten sowie der Nachweis des FSME-Virus in einzelnen Foki zeigen, dass diese Habitate grundsätzlich ein Gefährdungspotential für die lokale Bevölkerung, sich mit einem dieser Erreger zu infizieren, besitzen. Die Charakterisierung der Spezies des *B. burgdorferi* s.l. Komplex zeigte ein sehr heterogenes Verteilungsmuster, welches durch zahlreiche, bereits bekannte und unbekannte Faktoren bestimmt wird. Es ist daher von großen, wissenschaftlichen und öffentlichen Interesse, diese Faktoren auch zukünftig unter Verwendung von Klima-, Vegetations- und Populationsdaten von Reservoirwirten weiter zu identifizieren und zu charakterisieren. Zusammen mit weiteren epidemiologischen Studien können sie eine Basis für eine zukünftige Risikoabschätzung der Infektion mit diesen Pathogenen für die lokale Bevölkerung bilden.

7 Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit hatte die Untersuchung der Prävalenzen von *B. burgdorferi* s.l und FSME-Virus in *I. ricinus* an 20 Standorten in Niederbayern und der Oberpfalz in Bayern zum Ziel. Dafür wurden im Mai, Juni und September 2010 in den Landkreisen Neustadt an der Waldnaab, Amberg-Sulzbach, Schwandorf, Regensburg, Kelheim, Straubing-Bogen, Deggendorf, Landshut, Freyung-Grafenau und Passau an insgesamt 20 Standorten 8804 *I. ricinus* Zecken gesammelt. Unterschiede hinsichtlich der Standorte ergaben sich in der Aktivität, sowie der Anteile der verschiedenen Entwicklungsstadien. Für den Nachweis von *B. burgdorferi* s.l. wurde von insgesamt 3969 *I. ricinus* die DNA extrahiert und eine nested PCR für den Nachweis des 5S-23S intergenischen Spacers nach Rijpkema et al. (1995) eingesetzt. Insgesamt konnte in 12.8% (n=509) *B. burgdorferi* s.l. identifiziert werden. Adulte *I. ricinus* waren signifikant höher mit *B. burgdorferi* s.l. infiziert, als Nymphen. Die Prävalenzraten an den einzelnen Standorten reichten dabei von 6.9%-24.2% in der Oberpfalz und von 5.5%-23.3% in Niederbayern. Als häufigste Spezies konnte *B. afzelii* (41.3%) gefolgt von *B. garinii* (18.7%), *B. valaisiana* (13.8%) und *B. burgdorferi* s.s. (11.6%) identifiziert werden. In drei Zecken konnten *B. lusitaniae* (n=1) und *B. spielmanii* (n=2) nachgewiesen werden. Für den Nachweis des FSME-Virus wurden 8804 *I. ricinus* untersucht. Nach der Extraktion der Gesamt-RNA wurde eine Real-time RT-PCR zum Nachweis der 3' NCR-Region des FSME-Virus nach Schwaiger und Cassinotti (2003) angewendet. Insgesamt waren 23 Zeckenpools an 7 von 20 Standorten positiv für das FSME-Virus. Die Prävalenz in *I. ricinus* lag gemäß minimaler Infektionsrate bei 0.23% in Nymphen und 0.6% in adulten *I. ricinus*. Die Prävalenzen des FSME-Virus an den positiven Standorten reichten von 0.16% in Schwandorf bis 2.86% in Germannsdorf. Die variablen Infektionsraten von *I. ricinus* an den 20 Standorten und die unterschiedliche Verteilung der *B. burgdorferi* s.l. Genospezies sowie die Ergebnisse zur Prävalenz des FSME-Virus in *I. ricinus* bestätigten die Verbreitung dieser Infektionserreger in den Regierungsbezirken Niederbayern und Oberpfalz. Die Ermittlung der Infektionsraten in Zecken stellt eine wichtige Grundlage für die Bewertung und Einschätzung des Gefährdungspotentials dieser Infektionserreger für die Bevölkerung dar. Faktoren, die die Verbreitung des Vektors und der Infektionserreger beeinflussen, sind vielschichtig und bedürfen in Zukunft der näheren Analyse.

8 Summary

The aim of this study was to analyze the prevalence of *B. burgdorferi* s.l. and TBE-virus in the hard tick *I. ricinus* at 20 selected sites in the federal districts of Bavaria, Upper Palatinate and Lower Bavaria in Bavaria. Therefore a total of 8804 ticks were collected in May, June and September 2010 at the districts of Neustadt an der Waldnaab, Amberg-Sulzbach, Schwandorf, Regensburg, Kelheim, Straubing-Bogen, Deggendorf, Landshut, Freyung-Grafenau and Passau. Differences regarding the density and stages of ticks could be observed. After isolating the DNA, 3969 *I. ricinus* ticks were investigated for the presence of *B. burgdorferi* s.l. performing a nested PCR targeting the intergenic spacer of 5S-23S rRNA Genes (Rijpkema et al., 1995). From the investigated ticks, 12.8% (n=509) were positive for *B. burgdorferi* s.l.. Adult ticks were significantly more infected than nymphs. The infection rates of *I. ricinus* with *B. burgdorferi* s.l. vary between 6.9% and 24.2% in the Upper Palatinate and between 6.9% and 24.4% in Lower Bavaria. *B. afzelii* was the predominant species with 41.3% followed by *B. garinii* (18.7%), *B. valaisiana* (13.8%) and *B. burgdorferi* s.s. (11.6%). *B. spielmanii* and *B. lusitaniae* could be identified in two and one ticks respectively. 8804 *I. ricinus* ticks were investigated for the presence of TBE-virus performing a real-time RT-PCR from Schwaiger and Cassinotti (2003) targeting the 3'-NCR of TBEV. A total of 23 tick pools at 7 of 20 locations were positive for TBEV. The minimal infection rate was 0.23% for nymphs and 0.6% for adult *I. ricinus* ticks. The minimal infection rates at the individual positive locations vary between 0.16% in Schwandorf and 2.86% in Germannsdorf. The variable prevalences from *B. burgdorferi* s.l. and TBEV at the selected sites in Niederbayern and Oberpfalz confirm the presence of these pathogens in these federal districts. Investigating the prevalence of these pathogens is an important basis for the estimation and calculation of the potential risk of infection for the urban population. Factors, influencing the distribution of these pathogens are numerous and difficult to identify. Therefore future studies will be needed to gain more information about these factors.

9 Literaturverzeichnis

Abel U., Schosser R., Süss J. 1999. Estimating the prevalence of infectious agents using pooled samples: biometrical considerations. *Zbl Bakt.* 1999, 289, S. 550-63.

Adlhoch C., Poggensee G. 2010. Lyme-Borreliose: Ein Situationsbericht aus den sechs östlichen Bundesländern 2007-2009. *Robert Koch Institut.* 2010.

Afzelius, A. 16. Dezember 1910. Verhandlungen der dermatologischen Gesellschaft zu Stockholm. *Deramtol Syph (Berlin).* 16. Dezember 1910, S. 405-6.

Alekseev A.N., Chunikhin S.P. 1990. The exchange of the tick-borne encephalitis virus between ixodid ticks feeding jointly on animals with a subthreshold level of viremia. *Med Parasitol (Mosk.).* 1990, 2, S. 48-50.

Amore G., Tomassone L., Grego E., Ragagli C., Bertolotti L., Nebbia P., Rosati S., Manelli A. 2007. *Borrelia lusitaniae* in immature *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae) feeding on common wall lizards in Tuscany, Central Italy. *J Med Entomol.* 2007, 44, S. 303-7.

Anderson J.F. 1988. Mammalian and avian reservoirs for *Borrelia burgdorferi*. *Ann N Y Acad Sci.* 1988, 539, S. 180-8.

Asbrink E., Hovmark A., Weber K. 1993. Acrodermatitis chronica atrophicans. *In: Weber K., Burgdorfer W. (eds.). Aspects of Lyme borreliosis. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.* 1993, S. 193-204.

Balmelli T., Piffaretti J.C. 1995. Association between different clinical manifestations of Lyme disease and different species of *Borrelia burgdorferi* sensu lato. *Res Microbiol.* 1995, 146, S. 329-340.

Bannwarth, A. 1941. Chronische lymphocytäre Meningitis, entzündliche Polyneuritis und 'Rheumatismus'. *Arch Psychiatr Nervenkr.* 1941, 113, S. 284-76.

Barbour A.G., Hayes S.F. 1986. Biology of *Borrelia* species. *Microbiol Rev.* 1986, 50, S. 381-400.

Barker S.C., Murrell A. 2004. Systematics and evolution of ticks with a list of valid genus and species names. *Parasitology.* 2004, 129, S. 15-36.

Baumgarten B.U., Röllinghoff M., Bogdan C. 1999. Prevalence of *Borrelia*

burgdorferi and Granulocytic and Monocytic Ehrlichiae in *Ixodes ricinus* Ticks from Southern Germany. *J Clin Microbiol.* 1999, 37 (11), S. 3448-51.

Bayerisches Staatsministerium für Umwelt und Gesundheit. 2012. Pressemitteilung Nr. 37/12 13. März. 2012.

Beichel E., Petney T.N., Hassler D., Brückner M., Maiwald M. 1996. Tick infestation patterns and prevalence of *Borrelia burgdorferi* in ticks collected at a veterinary clinic in Germany. *Vet Parasitol.* 1996, 65, S. 147-55.

Belozarov V.N. 1982. Diapause and Biological Rhythms in Ticks. In: *Obenchain F.D., Galun R. (eds.); Physiology of ticks Pergamon Press. Oxford, New York.* 1982, S. 469-500.

Bergström S., Bundoc V.G., Barbour A.G. 1989. Molecular analysis of linear plasmid-encoded major surface proteins, OspA and Osp B, of the Lyme disease spirochete *Borrelia burgdorferi*. *Mol Microbiol.* 1989, 3, S. 479-86.

Blaškovič D. 1967. The public health importance of tick-borne encephalitis in Europe. *Bull Wild Hlth Org.* 1967, 36 (1), S. 5-13.

Blaškovič D., Nosek J. 1972. The ecological approach to the study of tick-borne encephalitis. *Prog Med Virol.* 1972, 14, S. 275-320.

Bormane A., Lucenko I., Duks A., Mavtchoutko V., Ranka R., Salmina K., Baumanis V. 2004. Vectors of tick-borne diseases and epidemiological situation in Latvia in 1993-2002. *Int J Med Microbiol.* 2004, 293 (37), S. 36-42.

Buchwald A. 1883. Ein Fall diffuser idiopathischer Haut-Atrophie. *Dermatol Vierteljahresschr.* 1883, 10, S. 553-56.

Bunnell J.E., Price S.D., Das A., Shields T.M., Glass G.E. 2003. Geographic information systems and spatial analysis of adult *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) in the Middle Atlantic region of the U.S.A. *J Med Entomol.* 2003, 40 (4), S. 570-6.

Burgdorfer W., Barbour A.G., Hayes S.F., Benach J.L., Grunwaldt E., Davis J.P. 1982. Lyme disease - a tick-borne spirochaetosis? *Sci.* 1982, 216, S. 1317-9.

Burgdorfer, W. 1984. Discovery of the Lyme disease spirochete and its relation to tick vectors. *Yale J Biol Med.* 1984, 57, S. 515-20.

Casati S., Gern L., Piffaretti J.C. 2006. Diversity of the population of tick-borne

encephalitis virus infecting *Ixodes ricinus* ticks in an endemic area of central Switzerland (canton Bern). *J Gen Virol.* 2006, 87, S. 2235-2241.

Chambers T.J., Han C.S., Galler R., Rice C.M. 1990. Flavivirus genome organization, expression, and replication. *Ann Rev Microbiol.* 1990, 44, S. 649-688.

Charrel R.N., Attoui H., Butenko A.M., Clegg J.C., Deubel V., Frolova T.V., Gould E.A., Gritsun T.S., Heinz F.X., Labuda M., Lashkevich V.A., Lotkev V., Lundkvist A., Lvov D.V., Mandl C.W., Niedrig M., Papa A., Petrov V.S., Plyusnin A., Randolph S., u. a. 2004. Tick-borne virus diseases of human interest in Europe. *Clin Microbiol Infect.* 2004, Dec;10(12), S. 1040-55.

Christova I., van de Pol J., Yazar S., Velo E., Schouls L. 2003. Identification of *Borrelia burgdorferi* sensu lato, Anaplasma and Ehrlichia Species, and Spotted Fever Group Rickettsiae in Ticks from Southeastern Europe. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2003, 22, S. 524-35.

Collares-Pereira M., Couceiro S., Franca I., Kurtenbach K., Schäfer S.M., Vitorino L., Gonçalves L., Baptista S., Vieira M.L., Cunha C. 2004. First isolation of *Borrelia lusitaniae* from human patient. *J Clin Microbiol.* 2004, 42, S. 1316-18.

Daniel M., Danielová V., Kriz B., Benes C. 2003. Tick-borne encephalitis. In: Climate Change and Adaption Strategies for Human Health. *Mene, B., Ebi, K.L. (Eds).* 2003, S. 189-205 Steinkopff, Darmstadt.

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

Danielová V., Holubová J. 1991. Transovarial transmission rate of tick-borne encephalitis virus in *I. ricinus* ticks. In: *Dusbabek F., Buvka V. (eds.). Modern acarology. Academia, Prague and SPB Academic Publishing, The Hague.* 1991, 2, S. 7-10.

Danielová V., Holubová J., Daniel M. 2002. Tick-borne encephalitis virus prevalence in *Ixodes ricinus* ticks collected in high risk habitats of the South Bohemian region of the Czech Republic. *Exp Appl Acarol.* 2002, 26, S. 145-51.

De Meeûs T., Lorimier Y., Renaud F. 2004. Lyme borreliosis agents and the genetics and sex of their vector *Ixodes ricinus*. *Microb Infect.* 2004, 6, S. 299-304.

Dobler G. 1998. Durchseuchung von Zecken in Bayern und Baden-Württemberg mit FSME. *Internist*.39: 231-232

Dubska L., Literak I., Kocianova E., Taragelova V., Sverakova V., Sychra O., Hromadko M. 2011. Synanthropic Birds Influence the Distribution of *Borrelia* Species: Analysis of *Ixodes ricinus* Ticks Feeding on Passerine Birds. *Appl Environ Microbiol.* 2011, 77 (3), S. 1115-7.

Dumpis U., Crook D., Oksi J. 1999. Tick-borne encephalitis. *Clin Inf Dis.* 1999, 28, S. 882-90.

Dusbábek F. 1996. Nymphal sexual dimorphism in the sheep tick *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae). *Folia Parasitol.* 1996, 43, S. 75-79.

Ecker M., Allison S.L., Meixner T., Heinz F.X. 1999. Sequence analysis and genetic classification of tick-borne encephalitis viruses from Europe and Asia. *J Gen Virol.* 1999, 80, S. 179-185.

Eckert J., Friedhoff K. T., Zahner H., Deplazes P. 2005. Lehrbuch der Parasitologie für die Tiermedizin. *Enke Verlag in MVS Medizinverlag Stuttgart.* 2005, S. 343-363.

Eiffert H., Ohlenbusch A., Christen H.J., Thomssen R., Spielman A., Matuschka F.R. 1995. Nondifferentiation between Lyme disease spirochetes from vector ticks and human cerebrospinal fluid. *J Infect Dis.* 1995, 171, S. 476-79.

Ekner A., Dudek K., Sajkowska Z., Majláthová V., Majláth I., Tryjanowski P. 2011. Anaplasmataceae and *Borrelia burgdorferi* sensu lato in the sand lizard *Lacerta agilis* and co-infection of these bacteria in hosted *Ixodes ricinus* ticks. *Parasit Vectors.* 2011, 4, S. 182.

Estrada-Peña A., Venzal J.M., Sánchez Acedo C. 2006. The tick *Ixodes ricinus* distribution and climate preferences in the western Palearctic. *Med Vet Entomol.* 2006, 20, S. 189-97.

Estrada-Peña A., Ortega C., Sánchez N., DeSimone L., Sudre B., Suk J.E. 2011. Correlation of *Borrelia burgdorferi* sensu lato prevalence in questing *Ixodes ricinus* ticks with specific abiotic traits in the Western Palearctic. *Appl Enc*

Microbiol. 2011, 77, S. 3838-45.

Etti S., Hails R., Schäfer S.M., De Michelis S., Sewell H.S., Bormane A., Donaghy M., Kurtenbach K. 2003. Habitat-Specific Diversity of *Borrelia burgdorferi* Sensu Lato in Europe, Exemplified by Data from Latvia. *Appl Environ Microbiol.* 2003, 69 (5), S. 3008-3010.

Ferquel E., Garnier M., Marie J., Bernède-Baudin C., Baranton G., Pérez-Eid C., Postic D. 2006. Prevalence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato and Anaplasmataceae members in *Ixodes ricinus* ticks in Alsace, a focus of Lyme borreliosis endemicity in France. *Appl Environ Microbiol.* 2006, Apr;72(4), S. 3074-8.

Fingerle V. 1994. Prevalence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in *Ixodes ricinus* in southern Germany. *J Spirochetel Tick-Borne Dis.* 1994, 1, S. 41-45.

Fingerle V., Hauser U., Liegl G., Petko B., Preac-Mursic V., Wilske B. 1995. Expression of outer surface proteins A and C of *Borrelia burgdorferi* in *Ixodes ricinus*. *J Clin Microbiol.* 1995, 33, S. 1867-9.

Fingerle V., Laux H., Munderloh U.G., Schulte-Spechtel U., Wilske B. 2000. Differential expression of outer surface proteins A and C by individual *Borrelia burgdorferi* in different genospecies. *Med Microbiol Immunol (Berl).* 2000, 189, S. 59-66.

Fingerle V., Rauser S., Hammer B., Kahl O., Heimerl C., Schulte-Spechtel U., Gern L., Wilske B. 2002. Dynamics of dissemination and outer surface protein expression of different European *Borrelia burgdorferi* sensu lato strains in artificially infected *Ixodes ricinus* nymphs. *J Clin Microbiol.* 2002, 40, S. 1456-63.

Fingerle V., Michel H., Hettche G., Hizo-Teufel C., Wilske B. 2004. *Borrelia burgdorferi* s.l. OspA-types are widespread in Bavaria but show distinct local patterns. *Int J Med Microbiol.* 2004, 293 (37), S. 165-166.

Fingerle V., Schulte-Spechtel U.C., Ruzic-Sabljic E., Leonhard S., Hofman H., Weber K., Pfister K., Strle F., Wilske B. 2008. Epidemiological aspects and molecular characterization of *Borrelia burgdorferi* s.l. from southern Germany with special respect to the new species *Borrelia spielmanii* sp. nov. *Int J Med Microbiol.* 2008, 298, S. 279-90.

Franke J., Fritzsich J., Tomaso H., Straube E., Dorn W., Hildebrandt A. 2010a. Coexistence of pathogens in host-seeking and feeding ticks within a

single natural habitat in Central Germany. *Appl Environ Microbiol.* 2010a, 76, S. 6829-6836.

Franke J., Moldenhauer A., Hildebrandt A., Dorn W. 2010b. Are birds reservoir hosts for *B. afzelii*? *Ticks Tick Borne Dis.* 2010b, 1, S. 3-10.

Fraser C.M., Casjens S., Huang W.M., Sutton G.G., Clayton R., Lathigra R., White O., Ketchum K.A., Dodson R., Hickey E.K., Gwinn M., Dougherty B., Tomb J.F., Fleischmann R.D., Richardson D., Peterson J., Kerlavage A.R., Quackenbush J., Salzberg S., Hanson M., van Vugt R., Palmer N., Adams M.D., Gocayne J., Weidman J., Utterback T., Watthey L., McDonald L., Artiach P., Bowman C., Garland S., Fuji C., Cotton M.D., Horst K., Roberts K., Hatch B., Smith H.O., Venter J.C. 1997. Genomic sequence of a Lyme Disease spirochaete *Borrelia burgdorferi*. *Nature.* 1997, 390, S. 580-6.

Gallia F., Rampas J., Hollender L. 1949. Laboratorni infekce encefalitickym virem. *Cas Lek Ces.* 1949, 88, S. 224-29.

Gern L., Rais O. 1996. Efficient transmission of *Borrelia burgdorferi* between cofeeding *Ixodes ricinus* ticks (Acari: Ixodidae). *J Med Entomol.* 1996, 33, S. 189-192.

Gern L., Hu C.M., Kocianova E., Vyrostekova V., Rehacek J. 1999. Genetic diversity of *Borrelia burgdorferi* sensu lato isolates obtained from collected *Ixodes ricinus* in Slovakia. *Eur J Epidemiol.* 1999, 15, S. 665-69.

Goldstein S.F., Charon N.W., Kreiling J. A. 1994. *Borrelia burgdorferi* swims with a planar waveform similar to that of eukariotic flagella. *Proct Natl Acad Sci U.S.A.* 1994, 91, S. 3433-7.

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

Gray J.S.. 1991. The development and seasonal activity of the tick *Ixodes ricinus*: a vector of Lyme borreliosis. *Rev Med Vet Entomol.* 1991, 79, S. 323-333.

Gray J.S., Kahl O., Robertson J.N., Daniel M., Estrada-Peña A., Gettinby G., Jaenson T.G., Jensen P., Jongejan F., Korenberg E., Kurtenbach K., Zeman P. 1998. Lyme borreliosis habitat assessment. *Zbl Bakt.* 1998, 287, S. 211-28.

Gray J.S. 2002. Biology of *Ixodes* species ticks in relation to tick-borne

zoonoses. *Wien Klin Wochenschrift*. 2002, 114, S. 473-478.

Gresiková M., Calisher C. 1989. Tick-borne encephalitis. *In: The arboviruses: epidemiology and ecology. Monath, T.P. (ed.) CRC Press, Boca Raton, Florida.* 1989, S. 177-202.

Gritsun T.S., Gould E.A. 1995. Infectious transcripts of tick-borne encephalitis virus, generated in days by RT-PCR. *Virology*. 1995, 214, S. 611-18.

Gritsun T.S., Lashkevich V.A., Gould E.A. 2003. Tick-borne encephalitis. *Antiviral Res.* 2003, 57, S. 129-146.

Halos L., Bord S., Cotté V., Gasqui P., Abrial D., Barnouin J., Boulouis H.-J., Vayssier-Taussat M., Vourc'h G. 2010. Ecological Factors Characterizing the Prevalence of Bacterial Tick-Borne Pathogens in *Ixodes ricinus* Ticks in Pastures and Woodlands. *Appl Environ Microbiol.* 2010, 76 (13), S. 4413-4420.

Han X., Aho M., Vene S., Peltomaa M., Vaheri A., Vapalahti O. 2001. Prevalence of tick-borne encephalitis virus in *Ixodes ricinus* ticks in Finland. *J Med Virol.* 2001, 64, S. 21-8.

Hanincová K., Schäfer S.M., Etti S., Sewell H.S., Taragelová V., Ziak D., Labuda M., Kurtenbach K. 2003a. Association of *B. afzelii* with rodents in Europe. *Parasitology.* 2003a, 126 (1), S. 11-20.

Hanincová K., Taragelová V., Koci J., Schäfer S.M., Hails R., Ullmann A.J., Piesman J., Labuda M., Kurtenbach K. 2003. Association of *B. garinii* and *B. valaisiana* with songbirds in Slovakia. *Appl Environ Microbiol.* 2003, 69 (5), S. 2825-30.

Hayasaka D., Ivanov L., Leonova G.N., Goto A., Yoshii K., Mizutani T., Kairwa H., Takashima I. 2001. Distribution and characterization of tick-borne encephalitis viruses from Siberia and far-eastern Asia. *J Gen Virol.* 2001, 82, S. 1319-28.

Hayes S.F., Burgdorfer W., Aeschlimann A. 1980. Sexual transmission of spotted fever group Rickettsiae in immature spermatozoa of *Ixodes ricinus*. *Infect Immun.* 1980, 27, S. 638-642.

Heinz F.X. 2003. Molecular aspects of TBE virus research. *Vaccine.* 2003, 21 (1), S. S3-S10.

Hellerström, S. 1930. Erythema chronicum migrans Afzelii. *Acta Derm Venerol.*

1930, 11, S. 315-21.

Hildebrandt A., Schmidt K.H., Wilske B., Dorn W., Straube E., Fingerle V. 2003. Prevalence of Four Species of *Borrelia burgdorferi* sensu lato and Coinfection with *Anaplasma phagocytophila* in *Ixodes ricinus* Ticks in Central Germany. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2003, 22, S. 364-67.

Hillyard, P.D. 1996. Ticks of North-West Europe. *The Dorset Press, Dorchester.* 1996.

Hof H., Dörries R. 2005. Medizinische Mikrobiologie. *Thieme Verlag.* 2005.

Holzmann H., Heinz F.X., Mandl C.W., Guirakhoo F., Kunz C. 1990. A single Amino Acid Substitution in Envelope Protein E of Tick-Borne Encephalitis Virus Leads to Attenuation in the Mouse Model. *J Virol.* 1990, 64, S. 5156-9.

Houck J.A., Hojgaard A., Piesman J., Kuchta R.D. 2011. Low-density microarrays for the detection of *Borrelia burgdorferi* s.s. (the Lyme disease spirochete) in nymphal *Ixodes scapularis*. *Ticks Tick Borne Dis.* 2011, Mar; 2(1), S. 27-36.

Hubálek Z., Halouzka J. 1997. Distribution of *Borrelia burgdorferi* sensu lato genomic groups in Europe, a review. *Eur J Epidemiol.* 1997, 15, S. 665-669.

Hubálek Z., Halouzka J. 1998. Prevalence rates of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in host seeking *Ixodes ricinus* ticks in Europe. *Parasitol Res.* 1998, 84, S. 167-72.

Huegli D., Hu C.M., Humair P.F., Wilske B., Gern L. 2002. Apodemus species mice are reservoir hosts of *Borrelia garinii* OspA serotype 4 in Switzerland. *J Clin Microbiol.* 2002, 40 (12), S. 4735-7.

Humair P.F., Wallich R., Gern L. 1995. Strain variation of Lyme disease spirochetes isolated from *Ixodes ricinus* ticks and rodents collected in two endemic areas in Switzerland. *J Med Entomol.* 1995, 32, S. 433-38.

Humair P.F., Postic D., Wallich R. Gern L. 1998. An avian reservoir (*Turdus merula*) of the Lyme Borreliosis spirochete. *Zentralbl Bakteriol Hyg.* 1998, 287 (4), S. 521-38.

Humair P.F., Gern L. 2000. The wild hidden face of Lyme borreliosis in Europe. *Microbes Infect.* 2000, 2, S. 915-22.

Huppertz H.I., Bohme M., Standaert S.M., Karch H., Plotkin S.A. 1999.

Incidence of Lyme borreliosis in the Würzburg region of Germany. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 1999, 18, S. 697-703.

Jääskeläinen A.E., Tikkakoski T., Uzcátegui N.Y., Alekseev A.N., Vaheri A., Vapalathi O. 2006. Siberian subtype tickborne encephalitis virus, Finland. *Emerg Infect Dis.* 2006, 12, S. 1568-71.

Jaenson T.G., Tälleklint L. 1992. Incompetence of roe deer as reservoirs of the Lyme borreliosis spirochete. *J Med Entomol.* 1992, Sep 29(5), S. 813-17.

Jaenson T.G., Eisen L., Comstedt P., Mejlon H.A., Lindgren E., Bergström S., Olsen B. 2009. Risk indicators for the tick *Ixodes ricinus* and *Borrelia burgdorferi* sensu lato in Sweden. *Med Vet Entomol.* 2009, 23 (3), S. 226-37.

Johnson R.C., Schmid G.P., Hyde F.W., Steigerwalt A.G., Brenner D.J. 1984. *Borrelia burgdorferi* sp. nv.: etiologic agent of Lyme disease. *Int J Syst Bacteriol.* 1984, S. 438-97.

Jongejan F., Uilenberg G. 2004. The global importance of ticks. *Parasitology.* 2004, 129, S. 3-14.

Kahl O., Janetzki-Mittmann C., Gray J.S., Jonas R., Stein J., de Boer R. 1998. Risk of infection with *Borrelia burgdorferi* sensu lato for a host in relation to the duration of nymphal *Ixodes ricinus* feeding and the method of tick removal. *Zbl Bakteriol.* 1998, 281, S. 41-52.

Keesing F., Brunner J., Duerr S., Killilea M., LoGiudice K., Schmidt K., Vuong H., Ostfeld R.S. 2009. Hosts as ecological traps for the vector of Lyme disease. *Proc Biol Sci.* 2009, 276, S. 3911-19.

Korenberg E.I. 2000. Seasonal population dynamics of *Ixodes ticks* and tick-borne encephalitis virus. *Exp Appl Acarol.* 2000, 24, S. 665-681.

Kunz C. 1992. Tick-borne encephalitis in Europe. *Acta Leiden.* 1992, 60, S. 1-14.

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

Kunz C. 2003. TBE vaccination and the Austrian experience. *Vaccine.* 2003, 21, S. 50-55.

Kupča A.M., Essbauer S., Zoeller G. de Medonca P.G., Brey R., Rinder M., Pfister K., Spiegel M., Doerrbecker B., Pfeffer M., Dobler G. 2010. Isolation and molecular characterization of a tick-borne encephalitis virus strain from a

new tick-borne encephalitis focus with severe cases in Bavaria, Germany. *Ticks Tick Borne Dis.* 2010, 1 (1), S. 44-51.

Kurtenbach K., Peacey M., Rijpkema G., Hoodles A.N., Nuttall P.A., Randolph S.E. 1998. Differential transmission of the genospecies of *B. burgdorferi* sensu lato by game birds and small rodents in England. *Appl Environ Microbiol.* 1998, 64 (6), S. 1169-74.

Kurtenbach K., De Michelis S., Sewell H-M., Ettis S., Schäfer S.M., Hails R., Collares-Pereira M., Santos-Reis M., Hanincová K., Labuda M., Bormane A., Donaghy M. 2001. Distinct Combinations of *Borrelia burgdorferi* Sensu lato Genospecies Found in Individual Questing Ticks from Europe. *Appl Environ Microbiol.* 2001, 67 (10), S. 4926-9.

Kurtenbach K., De Michelis S., Schäfer S.M., Sewell H.S., Brade V., Kraiczy P. 2002. Host association of *B. burgdorferi* sensu lato - the key role of host complement. *Trends Microbiol.* 2002, 10 (2), S. 74-9.

Labuda M., Danielová V., Jones L.D., Nuttall P.A. 1993 a. Amplification of tick-borne encephalitis virus during co-feeding of ticks. *Med Vet Entomol.* 1993 a, 7, S. 339-342.

Labuda M., Jones L.D., Williams T., Danielova V., Nuttall P.A. 1993b. Efficient transmission of tick-borne encephalitis virus between cofeeding ticks. *J Med Entomol.* 1993b, 30, S. 295-299.

Labuda M., Nuttall P.A. 2004. Tick-borne viruses. *Parasitology.* 2004, 129 Suppl, S. 221-45.

Landesuntersuchungsamt Rheinland-Pfalz. 2011.
<http://lua.rlp.de/einzelansicht/archive/2011/june/article/meldepflicht-fuer-borreliose-in-rheinland-pfalz/> 29.Juni. 2011.

Lehrer A.T., Hoolbrok M.R. 2011. Tick-borne encephalitis vaccines. *J Bioterr Biodef.* 2011, S1, S. 003.

Lençaková D., Hizo-Teufel C., Petko B., Schulte-Spechtel U., Stanko M., Wilske B., Fingerle V. 2006. Prevalence of *Borrelia burgdorferi* s.l. OspA types in *Ixodes ricinus* ticks from selected localities in Slovakia and Poland. *Int J Med Microbiol.* 2006, 296, S. 108-118.

Leonhard S. 2005. Untersuchungen zur Häufigkeit von *Borrelia burgdorferi* sensu lato, *Anaplasma phagocytophylum* und *Babesia* spp. in *Ixodes ricinus* aus

Bayern und Baden Württemberg. *Doktorarbeit. Ludwig-Maximilians-Universität München*. 2005.

Lindgren E., Tälleklint L., Polfeldt T. 2000. Impact of climatic change on the northern latitude limit and population density of the disease-transmitting european tick *Ixodes ricinus*. *Environ Helath Perspect*. 2000, 108, S. 119-123.

Logar M., Bogovic P., Cerar D., Avsic-Zupanc T., Strle F. 2006. Tick-borne encephalitis in Slovenia from 2000 to 2004: comparison of the course in adult and elderly patients. *Wien Klin Wochenschrift*. 2006, 118, S. 702-11.

MacLeod J. 1932. The Bionomics of *Ixodes ricinus* L., the "sheep tick" of Scotland. *Parasitology*. 1932, 24, S. 382-400.

Majláthová V., Majláth I., Derdáková M., Vichová B., Pet'ko B. 2006. *Borrelia lusitaniae* and Green Lizards (*Lacerta viridis*), Karst Region, Slovakia. *Emerg Infect Dis*. 2006, 12, S. 1895-1901.

Majláthová V., Majláth I., Hromada M., Tryjanowski P., Bona M., Antczak M., Vichová B., Dzimko S., Mihalca A., Pet'ko B. 2008. The role of the sand lizard (*Lacerta agilis*) in the transmission cycle of *Borrelia burgdorferi* sensu lato. *Int J Med Microbiol*. 2008, 298, S. 161-67.

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

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

Misonne M.C., Van Impe G., Hoet P.P. 1998. Genetic heterogeneity of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in *Ixodes ricinus* ticks collected in Belgium. *J Clin Microbiol*. 1998, 36, S. 3352-54.

Modrow S., Falke D., Truyen U. 2003. Molekulare Virologie. *Spektrum Akademischer Verlag GmbH Heidelberg, Berlin*. 2003, S. 168-187.

Nazzi F., Martinelli E., Del Fabro S., Bernardinelli I., Milani N., Iob A., Pischiutti P., Campello C., D'Agaro P. 2010. Ticks and Lyme borreliosis in an alpine area in northeast Italy. *Med Vet Entomol*. 2010, 24 (3), S. 220-6.

- Nuttall P.A., Labuda M. 1994.** Tick-borne Encephalitis Subgroup. In: *Ecological Dynamics of Tick-borne Zoonoses*. Sonenshine E., Mather T.N. (eds.). Oxford University Press. 1994, S. 351-391.
- Olsen B., Jaenson T.G., Noppa L., Bunikis J., Bergstrom S.A. 1993.** Lyme borreliosis cycle in seabirds and *Ixodes uriae* ticks. *Nature*. 1993, 362, S. 340-2.
- Olsen B., Jaenson T.G., Bergstrom S. 1995.** Prevalence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato-infected ticks on migrating birds. *Appl Environ Microbiol*. 1995, 61, S. 3082-7.
- Ostfeld R.S. 2009.** Biodiversity loss and the rise of zoonotic pathogens. *Clin Microbiol Infect*. 2009, 15, S. 40-43.
- Pal U., Yang X., Chen M., Bockenstedt L.K., Anderson J.F., Flavell R.A., Norgard M.V., Fikrif E. 2004.** OspC facilitates *Borrelia burgdorferi* invasion of *Ixodes scapularis* salivary glands. *J Clin Inv*. 2004, 113, S. 220-230.
- Parola P., Raoult D. 2001.** Ticks and Tickborne bacterial diseases in Humans: An emerging infectious threat. *Clin Inf. Dis*. 2001, 32, S. 897-928.
- Pogodina V.V., Bochkova N.G., Koreshkova G.V. 1981.** Properties of strains of tick-borne encephalitis virus with the Aina/1448 serotype. *Vopr Virusol*. 1981, 6, S. 741-6.
- Postic D., Korenberg E., Gorelova N., Kovalevski Y.N., Bellener E., Baranton G. 1997.** *Borrelia burgdorferi* sensu lato in Russia and neighbouring countries: high incidence of mixed isolates. *Res Microbiol*. 1997, 148, S. 691-702.
- Randolph S.E., Miklisova D., Lysy J., Rogers D.J., Labuda M. 1999.** Incidence from coincidence: patterns of tick infestation on rodents facilitate transmission of tick-borne encephalitis virus. *Parasitology*. 1999, 118, S. 177-186.
- Randolph S.E. 2000.** Ticks and tick-borne disease systems in space and from space. *Adv Parasitol*. 2000, 47, S. 217-43.
- Randolph S.E. 2002.** Predicting the risk of tick-borne diseases. *Int J Med Microbiol*. 2002, 291 (33), S. 6-10.
- Randolph S.E., Asokliene L., Avsic-Zupanc T., Bormane A., Burri C., Gern L., Golovljova I., Hubalek Z., Knap N., Kondrusik M., Kupça A., Pejcoch M., Vasilenko W., Zygutiene M. 2008.** Variable spikes in tick-borne encephalitis incidence in 2006 independent of variable tick abundance but related to weather.

Parasit Vectors. 2008. 1:44

Rauter C., Hartung T. 2005. Prevalence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato genospecies in *Ixodes ricinus* in Europe: a metaanalysis. *Appl Environ Microbiol.* 2005, 71, S. 7203-16.

Richter D., Schlee D.B., Allgöwer R., Matuschka F.R. 2004. Relationship of a novel Lyme disease spirochete, *Borrelia spielmanii* sp nov, with its hosts in central Europe. *Appl Environ Microbiol.* 2004, 70, S. 6414-9.

Richter D., Matuschka F.R. 2006. Perpetuation of the Lyme disease spirochete *Borrelia lusitaniae* by lizards. *Appl Environ Microbiol.* 2006, 70, S. 6414-19.

Richter D., Matuschka F.R. 2010. Elimination of Lyme Disease Spirochetes from Ticks Feeding on Domestic Ruminants. *Appl Environ Microbiol.* 2010, 76(22), S. 7650-7652.

Richter D., Schlee D.B., Matuschka F.-R. 2011. Reservoir Competence of Various Rodents for the Lyme Disease Spirochete *Borrelia spielmanii*. *Appl Environ Microbiol.* 2011, 77 (11), S. 3565-70.

Rijpkema S.G.T., Molkenboer M., Schouls L., Jongejan F., Schellekens J. 1995. Simultaneous Detection and Genotyping of Three Genomic Groups of *Borrelia burgdorferi* Sensu Lato in Dutch *Ixodes ricinus* Ticks by Characterization of the Amplified Intergenic Spacer Region between 5S and 23 S rRNA Genes. *J Clin Microbiol.* 1995, 33, S. 3091-95.

Rijpkema S.G., Tazelaar D.J., Molkenboer M.J. Noordhoek G.T., Plantinga G., Schouls L.M., Schellekens J.F. 1997. Detection of *Borrelia afzelii*, *Borrelia burgdorferi* sensu stricto, *Borrelia garinii* and group VS116 by PCR in skin biopsy of patients with erythema migrans and acrodermatitis chronica atrophicans. *Clin Microbiol Infect.* 1997, 3, S. 109-116.

Robert-Koch-Institut; SurvStat

http://www.rki.de/DE/Content/Infekt/SurvStat/survstat_node.html

Rogers D.J., Randolph S.E. 2006. Tick-borne disease systems: mapping geographic and phylogenetic space. *Adv Parasitol.* 2006, 62, S. 263-91.

Rosef O., Paulauskas A., Radzijeuskaja J. 2009. Prevalence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato and *Anaplasma phagocytophilum* in questing *Ixodes ricinus* ticks in relation to the density of wild cervids. *Acta Vet Scand.* 2009, Nov 27;51, S. 47.

Ruiz-Fons F., Fernández-de-Mara I.G., Acevedo P., Gortázar C., de la Fuente J. 2012. Factors Driving the Abundance of *Ixodes ricinus* Ticks and the Prevalence of Zoonotic *I. ricinus*-Borne Pathogens in Natural Foci. *Appl Environ Microbiol.* 2012, 78 (8), S. 2669-76.

Schneider, H. 1931. Ueber epidemische akute "Meningitis seroasa.1931. *Wien.. Klin. Wochenschr.*, 44, 350-352.

Schwaiger M., Cassinotti P. 2003. Development of a quantitative real-time rt-PCR assay with internal control for the laboratory detection of tick-borne encephalitis virus (TBEV) RNA. *J Clin Virol.* 2003, 27, S. 136-145.

Schwan T.G., Piesman J.,. 2000. Temporal changes in outer surface proteins A and C of the Lyme disease-associated spirochete, *Borrelia burgdorferi*, during the chain of infection in ticks and mice. *J Clin Microbiol.* 2000, 38, S. 382-8.

Senigl F., Grubhoffer L., Kopecky J. 2006. Differences in maturation of tick-borne encephalitis virus in mammalian and tick cell line. *Intervirology* . 2006. 49(4): 239-48

Sonenshine D.E. 1991. Biology of ticks Vol 1. *Oxford University Press, New York.* 1991, S. 13-64.

Sonenshine D.E. 1993. Biology of ticks Vol 2. *Oxford University Press, New York.* 1993, S. 3-103.

Stafford K. III., Cartter M.L., Magnarelli L.A., Ertel S.H., Mshar P.A. 1998. Temporal Correlations between Tick Abundance and Prevalence of Ticks Infected with *Borrelia burgdorferi* and Increasing Incidence of Lyme Disease. *J Clin Microbiol.* 1998, May 36(5), S. 1240-1244.

Stanek G., Reiter M. 2011. The expanding Lyme Borrelia complex-clinical significance of genomic species? *Clin Microbiol Infect.* 2011, 17 (4), S. 487-93.

Steere A.C., Malawista S.E., Snyderman D.R., Andiman W.A. 1976. A cluster of arthritis in children and adults in Lyme, Connecticut. *Arthritis Rheum.* 1976, 19, S. 824.

Stichmann-Marny. 2010. Tier-und Pflanzenführer. *Kosmos.* 2010.

Sumilo D., Bormane A., Asokliene L., Vasilenko V., Golovljova I., Avsic-Zupanc T., Hubalek Z., Randolph S. 2008. Socio-economic factors in the differential upsurge of tick-borne encephalitis in Central and Eastern Europe.

2008. *Rev Med Virol* 2008. 18(2). 81-95

Süss J. 2003. Epidemiology and ecology of TBE relevant to the production of effective vaccines. *Vaccine*. 2003, 21, S. 19-35.

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

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

Süss J., Schrader C., Falk U., Wohanka N. 2004. Tick-borne encephalitis (TBE) in Germany - epidemiological data, development of risk areas and virus prevalence in field-collected ticks and in ticks removed from humans. *Int J Med Microbiol*. 2004, 293 (37), S. 69-79.

Süss J., Klaus C., Diller R., Schrader C., Wohanka N., Abel U. 2006. TBE incidence versus virus prevalence and increased prevalence of the TBE virus in *Ixodes ricinus* removed from humans. *Int J Microbiol*. 2006. 296 (40):63-8

Telford S.R. III, Mather T.N., Moore S.I., Wilson M.L., Spielmann A. 1988. Incompetence of deer as reservoirs of the Lyme disease spirochete. *Am J Trop Med Hyg*. 1988, Jul;39(1), S. 105-9.

Thiel H.-J., Collett M.S., Gould E.A., Heinz F.X., Houghton M., Meyers G., Purcell R.H., Rice C.M. 2005. Flaviviridae. In: *Virus Taxonomy. Eight Report of the International Committee on the Taxonomy of Viruses*. Fauquet C.M., Mayp M.A., Maniloff J., Desselberger U., Ball L.A. (Eds.) Elsevier Academic Press. 2005, S. 981-98.

van Dam H.K., Widjojokusumo A., de Jongh B.M., Spanjaard L., Ramselaar A.C.P., Kramer M.D., Dankert J. 1993. Different genospecies of *Borrelia burgdorferi* are associated with distinct clinical manifestations of Lyme borreliosis. *Clin Infect Dis*. 1993, 17, S. 708-17.

Van der Linde M.R., Ballmer P.E. 1993. Lyme carditis. IN: *Weber K., Burgdorferi W. (eds.) Aspects of Lyme borreliosis*. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York. 1993, S. 131-151.

Vollmer S.A., Bormane A., Dinnis R.E., Seelig F., Dobson A.D., Aanensen D.M., James M.C., Donaghy M., Randolph S.E., Feil E.J., Kurtenbach K.,

- Margos G. 2011.** Host migration impacts on the phylogeny of Lyme Borreliosis spirochetes species in Europe. *Environ Microbiol.* 2011, 13, S. 184-192.
- Wallner G., Mandl C.W., Kunz C., Heinz F.X. 1995.** The flavivirus 3'-noncoding region: extensive size heterogeneity independent of evolutionary relationships among strains of tick-borne encephalitis virus. *Virology.* 1995, 213, S. 169-78.
- Wang G., van Dam A.P., Schwartz I., Dankert J. 1999.** Molecular typing of *Borrelia burgdorferi* sensu lato: taxonomic, epidemiological and clinical implications. *Clin Microbiol Rev.* 1999, 12, S. 633-53.
- Wilske B., Barbour A.G., Bergstrom S., Burman N., Restrepo B.I., Rosa P.A., Schwan T., Soutschek E., Wallich R. 1992.** Antigenic variation and strain heterogeneity in *Borrelia* spp. *Res Microbiol.* 1992, 143, S. 583-96.
- Wilske B., Busch U., Fingerle V., Jauris-Heipke S., Preac-Mursic V., Rossler D., Will G. 1996.** Immunological and molecular variability of OspA and Osp C. Implications for *Borrelia* vaccine development. *Infection.* 1996, 24, S. 208-12.
- Wong M.L., Medrano J.F. 2005.** Real-time PCR for mRNA quantitation. 2005. *Biotechniques.* 39. 75-85.

10 Abbildungen

Abbildung 2.1 Entwicklungsstadien von <i>I. ricinus</i> : Larve, Nymphe, adultes Männchen, adultes Weibchen (von links)	4
Abbildung 3.1 Übersicht der 20 ausgewählten Standorte in Niederbayern und der Oberpfalz sowie des Projektraum Südböhmen in der Tschechischen Republik (Quelle: Regierung der Oberpfalz, modifiziert)	22
Abbildung 3.2 Neustadt an der Waldnaab (A) (N 49°43'31.97"/ E 12°10'49,61"; 478 m ü. NN)	23
Abbildung 3.3 Poppenricht (B) (N 49°28'55.64"/ E 11°46'54.57"; 457 m ü. NN)	23
Abbildung 3.4 Amberg (C) (N 49°26'58"/ E 11°52'22.28"; 464 m ü. NN)	24
Abbildung 3.5 Lintach (D) (N 49°28'10.57"/ E 11°57'11.76"; 450 m ü. NN)	24
Abbildung 3.6 Schwandorf (E) (N 49°20'18.47"/E 12°5'3.8"; 397 m ü. NN).....	25
Abbildung 3.7 Maxhütte-Haidhof (F) (N 49°12'20.14"/ E 12°5'40.03"; 500 m ü. NN)	26
Abbildung 3.8 Penk (G) (N 49°2'48.81"/ E 11°57'37.66"; 388 m ü. NN)	26
Abbildung 3.9 Nittendorf (H) (N 49°1'11"/ E11°57'23.80"; 435 m ü. NN)	27
Abbildung 3.10 Essing (I) (N 48°54'40"/ E 11°46'47.70; 444 m ü. NN)	27
Abbildung 3.11 Regensburg (J) (N 48°58'35.42"/E 12°8'41.48"; 368 m ü. NN).....	28
Abbildung 3.12 Saulburg (K) (N 48°59'42.41"/ E 12°33'49.11"; 461 m ü. NN)	29
Abbildung 3.13 Innenstetten (L) (N 48°53'34.50"/ E 12° 54'34.29"; 416 m ü. NN)	29
Abbildung 3.14 Niederaichbach (M) (N 48°36'7.70"/ E 12°18'50.92"; 400 m ü. NN)	30
Abbildung 3.15 Deggendorf (N) (N48°48'38.71"/ E 12°59'20.26"; 422 m ü. NN).....	30
Abbildung 3.16 Ringelai (O) (N 48°48'48.39"/ E 13°29'7.74"; 440 m ü. NN)	31
Abbildung 3.17 Germansdorf (P) N 48°37'43.60"/ E 13°40'15.07"; 565 m ü. NN).....	31
Abbildung 3.18 Passau (R) (N 48°34'47.47"/ E13°26'29.49"; 360 m ü. NN).....	32
Abbildung 3.19 Pfenningbach (S) (N 48°31'57.68"/ E 13°23'19.55"; 446 m ü. NN).....	32
Abbildung 3.20 Stollberg (T) (N 48°33'0.72/ E 13° 41'37.86; 505 m ü. NN)	33
Abbildung 3.21 Oberkreuzberg (U) N 48°52'36.06"/E 13°21'13.45"; 569 m ü. NN).....	33
Abbildung 4.1 Aktivität der Nymphen und der adulten Tiere von <i>I. ricinus</i> an den neun Standorten in der Oberpfalz	44
Abbildung 4.2 Aktivität der Nymphen und adulten Tiere von <i>I. ricinus</i> an den elf Standorten in Niederbayern	45
Abbildung 4.3 Gesamtverteilung der Genospezies von <i>B. burgdorferi</i> s.l. für Niederbayern und Oberpfalz	66
Abbildung 4.4 Verteilung der Genospezies von <i>B. burgdorferi</i> s.l. in der Oberpfalz	66
Abbildung 4.5 Verteilung der Genospezies von <i>B. burgdorferi</i> s.l. in Niederbayern.....	66
Abbildung 4.6 Landkreis Neustadt an der Waldnaab in der Oberpfalz	67
Abbildung 4.7 Verteilung der Spezies von <i>B. burgdorferi</i> s.l. im Landkreis Neustadt an der Waldnaab	68
Abbildung 4.8 Landkreis Amberg-Sulzbach in der Oberpfalz	68

Abbildung 4.9 Verteilung der Spezies von <i>B. burgdorferi</i> s.l. an den Standorten im Landkreis Amberg-Sulzbach in der Oberpfalz	69
Abbildung 4.10 Verteilung der Spezies von <i>B. burgdorferi</i> s.l. an den Standorten im Landkreis Schwandorf in der Oberpfalz	69
Abbildung 4.11 Landkreis Schwandorf in der Oberpfalz	70
Abbildung 4.12 Land- und Stadtkreis Regensburg in der Oberpfalz.....	71
Abbildung 4.13 Verteilung der Spezies von <i>B. burgdorferi</i> s.l. an den Standorten im Land- und Stadtkreis Regensburg.....	71
Abbildung 4.14 Landkreis Kelheim in Niederbayern	72
Abbildung 4.15 Verteilung der Spezies von <i>B. burgdorferi</i> s.l. an dem Standort im Landkreis Kelheim	72
Abbildung 4.16 Landkreis Straubing-Bogen in Niederbayern	73
Abbildung 4.17 Verteilung der Spezies von <i>B. burgdorferi</i> s.l. am Standort im Landkreis Straubing-Bogen.....	73
Abbildung 4.18 Land- und Stadtkreis Deggendorf in Niederbayern.....	74
Abbildung 4.19 Verteilung der Spezies von <i>B. burgdorferi</i> s.l. an den Standorten im Land- und Stadtkreis Deggendorf	74
Abbildung 4.20 Verteilung der Spezies von <i>B. burgdorferi</i> s.l. am Standort im Landkreis Landshut.....	74
Abbildung 4.21 Landkreis Landshut in Niederbayern.....	75
Abbildung 4.22 Verteilung der Spezies von <i>B. burgdorferi</i> s.l. an den Standorten im Landkreis Freyung-Grafenau	75
Abbildung 4.23 Landkreis Freyung-Grafenau in Niederbayern.....	76
Abbildung 4.24 Verteilung der Spezies von <i>B. burgdorferi</i> s.l. an den Standorten im Land- und Stadtkreis Passau	77
Abbildung 4.25 Land- und Stadtkreis Passau in Niederbayern.....	77
Abbildung 4.26 Übersicht der Standorte mit Nachweis des FSME-Virus in Niederbayern und der Oberpfalz.....	80

11 Tabellen

Tabelle 2.1 Übersicht der Systematik der Zecken (nach Eckert et al., 2005)	3
Tabelle 2.2 Auswahl durch <i>I. ricinus</i> übertragener Pathogene (nach Modrow et al., 2003; Eckert et al., 2005)	8
Tabelle 3.1 Kriterien für die Auswahl von 20 Standorten in Niederbayern und der Oberpfalz durch ein GIS (Geographisches Informationssystem)	20
Tabelle 3.2 Cyclerbedingungen der nested PCR für den Nachweis des Spacers der 5S-23S rRNA-Gene nach Rijpkema et al. (1995), modifiziert	37
Tabelle 3.3 Primer der nested PCR für den Nachweis des Spacers der 5S-23S rRNA-Gene nach Rijpkema et al. (1995), modifiziert	37
Tabelle 3.4 Reaktionsbedingungen der nested PCR für den Nachweis des intergenischen Spacers der 5S-23S rRNA-Gene	38
Tabelle 3.5 Verwendete Primer und Sonde für den FSME-Virus Nachweis durch Amplifizierung der 3'-NCR (nach Schwaiger und Cassinotti, 2003)	40
Tabelle 3.6 Reaktionsbedingungen der Real-time RT-PCR für den Nachweis der 3'-NCR des FSME-Virus	40
Tabelle 3.7 Cyclerbedingungen der Real-time RT-PCR für den Nachweis der 3'-NCR des FSME-Virus (nach Schwaiger und Casinotti, 2003, modifiziert)	41
Tabelle 3.8 Reaktionsbedingungen der Real-time RT-PCR für den Nachweis von 16S rRNA in <i>I. ricinus</i> (Schwaiger und Cassinotti, 2003, modifiziert).	41
Tabelle 3.9 Primer und Sonde für den Nachweis des 16S rRNA Gens von <i>I. ricinus</i> (Schwaiger und Cassinotti, 2003)	42
Tabelle 4.1. Übersicht der gesammelten Stadien von <i>I. ricinus</i> an den 20 Standorten in Niederbayern und der Oberpfalz.....	43
Tabelle 4.2 Infektionsrate von <i>I. ricinus</i> mit <i>B. burgdorferi</i> s.l. im Mai und September	65
Tabelle 4.3 Infektionsraten von <i>I. ricinus</i> mit <i>B. burgdorferi</i> s.l. an den Standorten in Niederbayern und der Oberpfalz.....	65
Tabelle 4.4 Übersicht der ermittelten FSME-Prävalenzen der positiven Standorte. Gegenüberstellung der Prävalenz für gepoolte Proben und der minimalen Infektionsrate (MIR) mit der Angabe der 95%-Konfidenzintervalle. N: Nymphen; W: adulte Weibchen; M: adulte Männchen.....	81
Tabelle 12.1 Verwendete Geräte	114
Tabelle 12.2 Verwendete Kits, Oligonukleotide, Enzyme, Chemikalien und Positivkontrollen	115
Tabelle 12.3 Anzahl der gesammelten <i>I. ricinus</i> Zecken an den drei Sammelzeitpunkten	117
Tabelle 12.4 Anzahl der getesteten und positiven <i>I. ricinus</i> für <i>B. burgdorferi</i> s.l.	118
Tabelle 12.5 Übersicht der Verteilung der Spezies des <i>B. burgdorferi</i> s.l. Komplex im Mai und September.....	119

12 Anhang

12.1 Material

12.1.1 Geräte

Geräte	Firma
AB-7500 Real-Time PCR System	Applied Biosystems, Darmstadt, Deutschland
Mastercycler®Gradient	Eppendorf, Hamburg; Deutschland
NanoDrop R ND-1000	PeqLab Biotechnologie GmbH, Erlangen, Deutschland
TissueLyser	Qiagen, Hilden, Deutschland
Geldokumentationssystem	PeqLab Biotechnologie GmbH, Erlangen, Deutschland

Tabelle 12.1 Verwendete Geräte

12.1.2 Kits, Oligonukleotide, Enzyme, Chemikalien, Positivkontrollen

Kits	Firma
NucleoSpin Tissue Kit	Macherey-Nagel GmbH&Co. KG, Deutschland
PCR clean up Gel extraction Kit	Macherey-Nagel GmbH&Co. KG, Deutschland
QIAamp Viral RNA Mini Kit	Qiagen, Hilden, Deutschland

Oligonukleotide/Nukleotide	Firma
23 SN1	Eurofin MWG Operon, Ebersberg Deutschland
23SC1	Eurofin MWG Operon, Ebersberg Deutschland
23SN2	Eurofin MWG Operon, Ebersberg Deutschland
5SCB	Eurofin MWG Operon, Ebersberg Deutschland
F-TBE 1	Eurofin MWG Operon, Ebersberg Deutschland
R-TBE-1	Eurofin MWG Operon, Ebersberg Deutschland
TBEV-Sonde	Eurofin MWG Operon, Ebersberg Deutschland
F-16S	Eurofin MWG Operon, Ebersberg Deutschland
R-16S	Eurofin MWG Operon, Ebersberg Deutschland
16S-Sonde	Eurofin MWG Operon, Ebersberg Deutschland
Fermentas dNTP Mix	Fermentas, St. Leon-Rot, Deutschland
TaqMan®Fast Reagents Starter Kit	Applied Biosystems, Darmstadt, Deutschland

Enzyme	Firma
TaqMan®RT Enzyme Mix	Applied Biosystems, Darmstadt, Deutschland
Taq DNA Polymerase, recombinant	Invitrogen, Karlsruhe, Deutschland
DNase I Rnase-free	Fermentas, St. Leon-Rot, Deutschland

Chemikalien	Firma
Phosphat.Buffered-Saline	Sigma-Aldrich Chemie München, Deutschland
Ultrapure DNase/RNase-Free distilled water	Invitrogen, Karlsruhe, Deutschland
Agarose	Biorad, München, Deutschland
TAE-Puffer (50x)	Qiagen, Hilden, Deutschland
Ethanol, reinst	Roth, Karlsruhe, Deutschland
GelRed	Biotium Inc., USA
Gene Ruler™ 1 kb DNA ladder	Fermentas, St. Leon-Rot, Deutschland
Gene Ruler™ 100 bp DNA ladder	Fermentas, St. Leon-Rot, Deutschland
6x Orange DNA loading dye	Fermentas, St. Leon-Rot, Deutschland
Positivkontrollen	
SKT-8, SKT-4	Institut für Parasitologie, Universität Košice, Slowakei
isolierte FSME-Virus RNA Stamm Neudoerfl	Institut für Parasitologie, Universität České Budějovice, Tschechische Republik

Tabelle 12.2 Verwendete Kits, Oligonukleotide, Enzyme, Chemikalien und Positivkontrollen

12.2 Tabellen mit Rohdaten

25.5.2010-31.5.2010					
Standort	N	W	M	Adulte	Total
Neustadt a.d. Waldnaab	151	14	12	26	177
Poppenricht	402	11	14	25	427
Amberg	102	17	19	36	138
Lintach	227	20	15	35	262
Schwandorf	187	3	6	9	196
Maxhütte-Haidhof	8	8	3	11	19
Penk	172	2	9	11	183
Nittendorf	29	2	1	3	32
Essing	164	7	9	16	180
Burgweinting	209	2	3	5	214
Saulburg	131	1	2	3	134
Innenstetten	95	1	2	3	98
Niederaichbach	181	1	3	4	185
Deggendorf	154	8	4	12	166
Ringelai	57	2	3	5	62
Germannsdorf	30	1	3	4	34
Passau	56	2	4	6	62
Pfenningbach	187	5	3	8	195
Stollberg	34	4	3	7	41
Oberkreuzberg	27	1	2	3	30
Total	2603	112	120	234	2835

21.6.2010-26-6-2010					
Standort	N	W	M	Adulte	Total
Neustadt a.d. Waldnaab	225	19	16	35	260
Poppenricht	431	3	8	11	442
Amberg	140	14	12	26	166
Lintach	147	14	9	23	170
Schwandorf	287	2	2	4	291
Maxhütte-Haidhof	50	10	6	16	66
Penk	172	8	5	13	185
Nittendorf	118	2	2	4	122
Essing	165	4	3	7	172
Burgweinting	376	2	7	9	385
Saulburg	166	2	4	6	172
Innenstetten	54	4	1	5	59
Niederaichbach	221	3	2	5	226
Deggendorf	332	10	5	15	347
Ringelai	54	5	5	10	64
Germannsdorf	30	4	3	7	37

Anhang

Passau	44	5	10	15	59
Pfeningbach	247	8	7	15	262
Stollberg	39	2	0	2	41
Oberkreuzberg	72	0	4	4	76
Total	3370	121	111	233	3602

15.9.2010-21.9.2010					
Standort	N	W	M	Adulte	Total
Neustadt a.d. Waldnaab	140	11	9	20	160
Poppenricht	426	9	10	19	445
Amberg	158	8	6	14	172
Lintach	87	4	5	9	96
Schwandorf	148	1	1	2	150
Maxhütte-Haidhof	12	2	0	2	14
Penk	168	4	4	8	176
Nittendorf	120	1	4	5	125
Essing	149	2	6	8	157
Burgweinting	112	3	2	5	117
Saulburg	73	2	1	3	76
Innenstetten	82	0	2	2	84
Niederaichbach	129	1	1	2	131
Deggendorf	114	9	7	16	130
Ringelai	37	0	1	1	38
Germannsdorf	65	1	3	4	69
Passau	26	0	0	0	26
Pfeningbach	116	4	6	10	126
Stollberg	27	5	1	6	33
Oberkreuzberg	41	1	0	1	42
Total	2230	68	69	137	2367

Tabelle 12.3 Anzahl der gesammelten *I. ricinus* Zecken an den drei Sammelzeitpunkten

Mai	Nymphen		Weibchen		Männchen		Total	
	getestet	positiv	getestet	positiv	getestet	positiv	getestet	positiv
Neustadt a.d. Waldnaab	125	16	14	0	12	0	151	16
Poppenricht	125	15	11	2	14	1	150	18
Amberg	102	21	17	7	19	3	138	31
Lintach	125	28	20	2	15	0	160	30
Schwandorf	125	9	3	0	6	2	134	11
Maxhütte-Haidhof	8	2	8	1	3	1	19	4
Penk	125	35	2	1	9	0	136	36
Nittendorf	29	5	2	1	1	0	32	6
Essing	125	15	7	1	9	2	141	18
Burgweinting	125	10	2	0	3	0	130	10

Anhang

Saulburg	125	11	1	0	2	0	128	11
Innenstetten	95	7	1	0	2	0	98	7
Niederaichbach	125	7	1	0	3	1	129	8
Deggendorf	125	4	8	0	4	0	137	4
Ringelai	57	8	2	2	3	0	62	10
Germannsdorf	30	4	1	0	3	0	34	4
Passau	56	18	2	2	4	1	62	21
Pfeningbach	125	31	5	2	3	0	133	33
Stollberg	34	5	4	0	3	0	41	5
Oberkreuzberg	27	3	1	0	2	0	30	3
Total	1813	254	112	21	120	11	2045	286

September	Nymphen		Weibchen		Männchen		Total	
Standort	getestet	positiv	getestet	positiv	getestet	positiv	getestet	positiv
Neustadt a. d. Waldnaab	125	9	11	1	9	0	145	10
Poppenricht	125	15	9	1	10	0	144	16
Amberg	125	24	8	1	6	0	139	25
Lintach	87	11	4	0	5	0	101	11
Schwandorf	125	7	1	0	1	0	127	7
Maxhütte-Haidhof	12	3	2	1	0	0	14	4
Penk	125	6	4	0	4	1	133	7
Nittendorf	120	22	1	1	4	1	125	24
Essing	125	13	2	1	6	0	133	14
Burgweinting	112	15	3	0	2	0	117	15
Saulburg	73	9	2	0	1	0	76	9
Innenstetten	82	5	0	0	2	0	84	5
Niederaichbach	125	6	1	1	1	0	127	7
Deggendorf	114	7	9	3	7	2	130	12
Ringelai	37	5	0	0	1	1	38	6
Germannsdorf	65	9	1	0	3	1	69	10
Passau	26	5	0	0	0	0	26	5
Pfeningbach	116	25	4	1	6	1	126	27
Stollberg	27	5	5	3	1	0	33	8
Oberkreuzberg	41	1	1	0	0	0	42	1
Total	1787	202	68	14	69	7	1924	223

Tabelle 12.4 Anzahl der getesteten und positiven *I. ricinus* für *B. burgdorferi* s.l.

Mai								
Standort	<i>B. afzelii</i>	<i>B. garinii</i>	<i>B. valaisiana</i>	<i>B.b.s. s.</i>	<i>B. lusitaniae</i>	<i>B. spielmanii</i>	M	Total
Neustadt a.d. Waldnaab	7	4	2	2	0	0	1	16
Poppenricht	11	0	4	0	0	0	3	18
Amberg	13	0	7	4	0	0	7	31
Lintach	11	9	1	0	0	1	8	30

Anhang

Schwandorf	7	0	1	0	0	0	3	11
Maxhütte-Haidhof	2	1	0	0	1	0	0	4
Penk	4	13	10	4	0	0	5	36
Nittendorf	0	3	2	0	0	0	1	6
Essing	7	3	4	1	0	0	3	18
Burgweinting	2	2	3	1	0	0	2	10
Saulburg	1	5	4	0	0	0	1	11
Innenstetten	2	3	0	1	0	0	1	7
Niederaichbach	5	2	0	0	0	0	1	8
Deggendorf	2	2	0	0	0	0	0	4
Ringelai	5	2	1	2	0	0	0	10
Germannsdorf	2	0	0	1	0	0	1	4
Passau	8	3	3	2	0	0	5	21
Pfenningbach	16	10	4	1	0	0	2	33
Stollberg	5	0	0	0	0	0	0	5
Oberkreuzberg	2	0	1	0	0	0	0	3
Total	112	62	47	19	1	1	4	286

Standort	<i>B. afzelii</i>	<i>B. garinii</i>	<i>B. valaisiana</i>	<i>B.b.s. s.</i>	<i>B. lusitaniae</i>	<i>B. spielmanii</i>	M	Total
September								
Neustadt a.d. Waldnaab	2	2	1	4	0	0	1	10
Poppenricht	11	0	2	1	0	0	2	16
Amberg	18	3	1	1	0	0	2	25
Lintach	1	3	4	3	0	0	0	11
Schwandorf	2	2	0	1	0	0	1	7
Maxhütte-Haidhof	3	0	0	0	0	0	1	4
Penk	1	1	1	1	0	0	3	7
Nittendorf	4	8	3	4	0	0	4	24
Essing	5	4	2	1	0	0	3	14
Burgweinting	11	0	2	1	0	0	1	15
Saulburg	6	1	1	0	0	0	1	9
Innenstetten	1	0	0	4	0	0	0	5
Niederaichbach	5	0	0	1	0	0	1	7
Deggendorf	3	3	3	2	0	1	0	12
Ringelai	4	0	0	1	0	0	1	6
Germannsdorf	2	2	1	3	0	0	2	10
Passau	2	1	0	2	0	0	0	5
Pfenningbach	13	4	2	7	0	0	1	27
Stollberg	3	0	0	3	0	0	1	8
Oberkreuzberg	1	0	0	0	0	0	0	1
Total	98	34	23	40	0	1	4	223

Tabelle 12.5 Übersicht der Verteilung der Spezies des *B. burgdorferi* s.l. Komplex im Mai und September

13 Danksagung

Besonders möchte ich mich bei Prof. Pfister für die Überlassung des Dissertationsthemas, die Möglichkeit, die Dissertation am Institut für Vergleichende Tropenmedizin und Parasitologie durchzuführen sowie für die Unterstützung bei der Anfertigung und Fertigstellung der Dissertation recht herzlich bedanken.

Bei Dr. Dana Zubrikova bedanke ich mich für Betreuung des praktischen Teils der Arbeit, für die Hilfe bei der Auswahl und Durchführung der Methoden sowie bei für die Hilfe bei allen aufkommenden Fragen und Problemstellungen.

Ein besonderer Dank für die nette und produktive Zusammenarbeit gilt unseren tschechischen Projektpartnern, allen voran Prof. Grubhoffer und Vaclav Hönig.

Bei Pavel Sveç möchte ich mich für die Durchführung der GIS-Analyse sowie für die Hilfe bei der Auswahl der Standorte bedanken.

Bei allen Mitarbeitern des Instituts möchte ich mich für die freundliche Aufnahme und die tolle Zusammenarbeit und Unterstützung, die ich erfahren habe, bedanken.

Allen Helfern, die mit mir zum Zeckensammeln gefahren sind, sei herzlich gedankt.

Ich danke der Europäischen Union sowie dem Europäischen Fond für regionale Entwicklung für die Finanzierung dieses Projekts.

Ein großer Dank geht an meine Familie, die mich immer unterstützt hat und sogar beim Sammeln der Zecken mitgeholfen hat.

Mein größter Dank geht an meinen Freund Thomas, der immer für mich da war und nie müde wurde zu betonen, dass mit Latex alles viel einfacher gewesen wäre.



édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

VVB LAUFERSWEILER VERLAG
STAUFENBERGRING 15
D-35396 GIESSEN

Tel: 0641-5599888 Fax: -5599890
redaktion@doktorverlag.de
www.doktorverlag.de

ISBN: 978-3-8359-6040-4



9 783835 1960404