

Aus dem Nationalen Referenzzentrum für Borrelien am Bayerischen Landesamt für
Gesundheit und Lebensmittelsicherheit in Oberschleißheim

Präsident: Dr. med. Andreas Zapf

**Klinische und molekularepidemiologische Untersuchungen zur Pathogenität von
Borrelia garinii und *Borrelia bavariensis*: Ein MLST-basierter Ansatz zur
Populationsanalyse der Heterogenität von *Borrelia garinii* und *Borrelia bavariensis***

Dissertation

zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin

an der Medizinischen Fakultät der

Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Melissa Sabrina Jessica Rieger, geb. Kraus

aus Moosburg an der Isar

2018

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Dr. phil. A. Sing

Mitberichterstatter: Prof. Dr. Uwe Ködel
Prof. Dr. Barbara Stecher

Mitbetreuung durch die promovierten Mitarbeiter: Dr. med. V. Fingerle
Dr. rer. nat. G. Margos

Dekan: Prof. Dr. med. dent. Reinhard HICKEL

Tag der mündlichen Prüfung: 13.12.2018

Meinen Eltern

Gender Hinweis:

In dieser Dissertation wird zu Gunsten der besseren Lesbarkeit sowie aus Platzgründen zu-
meist die männliche Form verwendet. Selbstverständlich sind diese Begriffe sowohl auf die
weibliche als auch auf männliche Menschen bezogen.

Publikationshinweis:

Themen dieser Dissertation wurden im Vorfeld bereits in Form verschiedener Poster-
Beiträge auf unterschiedlichen Kongressen präsentiert (siehe hierzu auch Veröffentlichun-
gen, Seite 213). Eine Arbeit mit dem Titel „CXCL13 for diagnosis and therapy control in neu-
roborreliosis following long-term storage of CSF“ bei der Zeitschrift *Clinical Microbiology and
Infection* eingereicht. Eine Veröffentlichung steht noch aus. Darüber hinaus ist derzeit ein
weiteres Paper zu den Ergebnissen der Sequenztypen-Analyse von *B. garinii* und *B. bava-
riensis* in Arbeit, voraussichtlicher Zeitpunkt der Einreichung ist März 2018.

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	V
Abbildungsverzeichnis	VIII
Tabellenverzeichnis.....	X
Formelverzeichnis	XII
Abkürzungs- und Symbolverzeichnisverzeichnis	XIII
1 Einleitung	1
1.1 Historische Entdeckung der Lyme-Borreliose.....	1
1.2 Der Erreger der Lyme-Borreliose - <i>Borrelia burgdorferi</i> sensu lato.....	2
1.2.1 Taxonomie der Borrelien	2
1.2.2 Der Erregerkomplex <i>Borrelia burgdorferi</i> sensu lato.....	3
1.2.3 Geographische Verbreitung der Borrelien	5
1.2.4 Morphologie, Erbgut und Stoffwechsel von <i>Borrelia burgdorferi</i> sensu lato.....	6
1.3 Infektion mit und Übertragung von <i>B. burgdorferi</i> s. l.....	9
1.3.1 Taxonomie der Zecken	9
1.3.2 Lebensraum, Entwicklung und Prävalenz von Ixodidae	10
1.3.3 Mögliche Wirte von <i>Ixodes</i> -Zecken.....	13
1.3.4 <i>Ixodidae</i> und Übertragung der Borrelien.....	13
1.3.5 Weitere durch Zecken übertragene Erkrankungen	15
1.3.6 Korrekte Entfernung einer Zecke	16
1.4 Klinische Manifestationen der Lyme-Borreliose	17
1.5 Diagnostik der Lyme-Borreliose.....	22
1.5.1 Serologischer Antikörpernachweis.....	24
1.5.2 Kultureller Erregernachweis und Polymerase-Kettenreaktion	25
1.5.3 Historie und aktueller Stand des Multilocus Sequence Typings	27
1.5.4 Chemokin CXCL13 bei Neuroborreliose.....	27
1.5.5 Meldepflicht in Bayern.....	28
1.6 Therapie der Lyme-Borreliose.....	29
1.7 Post-Lyme-Syndrom	31
1.8 Prophylaxe der Lyme-Borreliose	31
1.9 Zielsetzung	32
2 Material und Methoden.....	34
2.1 Multilocus Sequence Typing im Überblick.....	34
2.2 Einschlusskriterien	35
2.3 OspA-Typ-Bestimmung.....	36

2.4	Kultivierung von <i>Borrelia burgdorferi</i> sensu lato.....	37
2.4.1	Anzucht der Borrelien aus dem Patientenmaterial	37
2.4.2	Wachstumskontrolle	38
2.5	DNA-Extraktion.....	39
2.6	Messung der DNA-Konzentration mittels NanoDrop	40
2.7	Borrelien-Diagnostik mittels Polymerase-Kettenreaktion.....	40
2.7.1	Touchdown-PCR.....	41
2.7.2	Vorbereitung der PCR.....	42
2.7.3	PCR der Housekeeping-Gene von <i>B. garinii</i> und <i>B. bavariensis</i>	43
2.8	Agarose-Gelelektrophorese.....	45
2.9	Sanger-Sequenzierung	47
2.10	Auswertung der DNA-Sequenzen	48
2.10.1	Smartgene IDNS®	48
2.10.2	Allel- und Sequenztyp-Bestimmung mithilfe der MLST-Datenbank.....	51
2.10.3	PHYLOViZ	53
2.10.4	MEGA – Molecular Evolutionary Genetics Analysis.....	53
2.10.5	Spatialepidemiology	54
2.11	CXCL13	54
2.12	Qualitätskontrolle der experimentellen Untersuchungen	56
3	Ergebnisse	58
3.1	Diversität und Populationsstruktur von <i>B. garinii</i> und <i>B. bavariensis</i>	58
3.1.1	Allel- und Sequenztypen.....	58
3.1.2	Genetische Variabilität von <i>B. garinii</i> und <i>B. bavariensis</i>	61
3.1.3	Populationsstruktur von <i>B. garinii</i> und <i>B. bavariensis</i>	62
3.1.4	Zusammenhang zwischen dem OspA- und MLST-Sequenztyp	65
3.2	Zusammenhang zwischen Sequenztyp und klinischer Manifestation.....	68
3.2.1	Wahrnehmung und geografische Lokalisation des Zeckenstich-Ortes	69
3.2.2	Früh- und Spätmanifestationen von <i>B. garinii</i> und <i>B. bavariensis</i>	74
3.2.3	Lokalisierte und disseminierte Manifestationen	75
3.2.4	Klinische Symptomatik verursacht durch <i>B. garinii</i> und <i>B. bavariensis</i>	76
3.2.5	Therapie im Rahmen der betrachteten Kohorte	91
3.3	Populationsstruktur und klinische Manifestationen von <i>B. garinii</i> und <i>B. bavariensis</i> unter Einbezug der MLST-Datenbank	92

3.4	Ergebnisse des CXCL13-Nachweises nach Langzeitaufbewahrung in akuter und später Neuroborreliose	98
4	Diskussion	102
4.1	Genetische Heterogenität von <i>B. garinii</i> im Vergleich zu <i>B. bavariensis</i>	103
4.2	Betrachtung der Spezies im medizinischen Kontext	105
4.3	Vergleich der Heterogenität und Ermittlung regionaler Häufungen der MLST-Sequenztypen unter Einschluss der MLST-Datenbank	110
4.4	Nachweisbarkeit von CXCL13 nach Langzeitaufbewahrung und Einordnung der Relevanz bezüglich Krankheitsaktivität und Therapieansprechen	114
5	Zusammenfassung und Ausblick.....	116
6	Literaturverzeichnis	118
7	Anhang.....	155
	Danksagung	212
	Veröffentlichungen.....	213
	Eidesstattliche Versicherung.....	215
8	Tabelle 7.15 Pairwise Distance (Print-Version s.CD).....	216

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1.1: Taxonomie der Borrelien.....	3
Abbildung 1.2: Morphologie von <i>B. burgdorferi</i> s. l.	7
Abbildung 1.3: Schematischer Querschnitt einer Spirochäte	8
Abbildung 1.4: Phänotyp eines adulten <i>Ixodes ricinus</i> -Weibchens	10
Abbildung 1.5: Saisonale Aktivität der Zecken (Kurtenbach et al. 2006, modifiziert).....	11
Abbildung 1.6: Lebenszyklus von <i>I. ricinus</i>	12
Abbildung 1.7: Erythema migrans.....	18
Abbildung 1.8: Lymphozytom	19
Abbildung 1.9: Acrodermatitis chronica atrophicans	19
Abbildung 1.10: Lyme-Arthritis.....	21
Abbildung 2.1: Schematische Darstellung des Ablaufes einer MLST-Analyse	35
Abbildung 2.2: Herstellung eines Agarose-Elektrophoresegels.....	45
Abbildung 2.3: Fotografie eines Elektrophoresegels am Beispiel von <i>pyrG</i>	47
Abbildung 2.4: Beispiel I für ein Sequenzalignment des Gens <i>rplB</i>	49
Abbildung 2.5: Beispiel II für ein Sequenzalignment des Gens <i>recG</i>	49
Abbildung 2.6: Sequenzalignment der Mischsequenz PFCa	50
Abbildung 2.7: AT-Bestimmung mit der MLST-Datenbank am Beispiel des Gens <i>clpA</i>	52
Abbildung 2.8: ST-Bestimmung mit der MLST-Datenbank am Beispiel von PHe (ST 86)	52
Abbildung 3.1: Absolute Häufigkeiten von <i>B. garinii</i> - und <i>B. bavariensis</i> -ST.....	60
Abbildung 3.2: Phylogenetische Übersicht von <i>B. garinii</i> und <i>B. bavariensis</i>	63
Abbildung 3.3: Maximum Likelihood Tree von <i>B. garinii</i> (n = 43)	64
Abbildung 3.4: OspA- und MLST-ST von <i>B. garinii</i>	67
Abbildung 3.5: OspA- und MLST-ST von <i>B. burgdorferi</i> s. l.	68
Abbildung 3.6: Wahrnehmung des Zeckenstichs.....	70
Abbildung 3.7: Verteilung der <i>B. garinii</i> - und <i>B. bavariensis</i> -Isolate in Europa.....	73
Abbildung 3.8: Relative Häufigkeiten der Manifestationsstadien.....	75
Abbildung 3.9: Symptomatik der mit <i>B. garinii</i> -infizierten Patienten	78
Abbildung 3.10: Symptomatik der mit <i>B. bavariensis</i> -infizierten Patienten.....	80
Abbildung 3.11: Altersstruktur der Patienten zum Zeitpunkt der Probeentnahme	81
Abbildung 3.12: Alterspyramide 1992.....	82
Abbildung 3.13: Vergleich der LB zwischen Erwachsenen und Kindern	83
Abbildung 3.14: Symptomatik von <i>B. garinii</i> und <i>B. bavariensis</i> im Vergleich	87
Abbildung 3.15: Geografische Verteilung der Symptomatik	88
Abbildung 3.16: Zusammenschau von Manifestation und MLST-Sequenztyp.....	89
Abbildung 3.17: Maximum Likelihood Tree mit assoziierter klinischer Manifestation.....	90

Abbildung 3.18: Maximum Likelihood Tree basierend auf der MLST-Datenbank.....	96
Abbildung 3.19: CXCL13 und die Zeitspanne zwischen Beginn der NB und der LP	100
Abbildung 7.1: Algorithmus nach Ergebnis der Dunkelfeld-Mikroskopie	159
Abbildung 7.2: High Filter und Collection Tube.....	161
Abbildung 7.3: Polymerase-Kettenreaktion.....	163
Abbildung 7.4: Didesoxyribonukleosidtriphosphat.....	167
Abbildung 7.5: Absolute Häufigkeiten der Alleltypen von Gen <i>clpA</i>	170
Abbildung 7.6: Absolute Häufigkeiten der Alleltypen von Gen <i>clpX</i>	171
Abbildung 7.7: Absolute Häufigkeiten der Alleltypen von Gen <i>nifS</i>	171
Abbildung 7.8: Absolute Häufigkeiten der Alleltypen von Gen <i>pepX</i>	172
Abbildung 7.9: Absolute Häufigkeiten der Alleltypen von Gen <i>pyrG</i>	172
Abbildung 7.10: Absolute Häufigkeiten der Alleltypen von Gen <i>recG</i>	173
Abbildung 7.11: Absolute Häufigkeiten der Alleltypen von Gen <i>rpIB</i>	173
Abbildung 7.12: Absolute Häufigkeiten der Alleltypen von Gen <i>uvrA</i>	174
Abbildung 7.13: <i>B. garinii</i> und <i>B. bavariensis</i> in Asien, Europa und Nordamerika.....	209
Abbildung 7.14: CXCL13-Konzentration und Blut-Liquor-Schrankenstörung in Fallserien ..	211

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1.1: <i>B. burgdorferi</i> sensu lato-Komplex	4
Tabelle 1.2: Diagnosekriterien der Lyme-Arthritis	21
Tabelle 1.3: Zusammenfassung der indizierten LB-Diagnostik	23
Tabelle 1.4: Therapie der unterschiedlichen Manifestationsformen	29
Tabelle 2.1. Reagenzien des Master Mixes für den PCR-Einzelansatz	43
Tabelle 2.2: Protokoll der TD-PCR	44
Tabelle 2.3: PCR-Protokoll des Housekeeping-Gens <i>recG</i>	44
Tabelle 2.4: Annealing-Temperatur der Housekeeping-Gene	44
Tabelle 2.5: Herstellung eines Agarose-Elektrophorese-Gels.....	46
Tabelle 2.6: Arbeitsschritte in der CXCL13-Diagnostik	56
Tabelle 3.1: Probematerialien der 81 isolierten Borrelien-Stämme	59
Tabelle 3.2: Tajima Neutrality Test	62
Tabelle 3.3: Verteilung der OspA-Typen in den unterschiedlichen Probematerialien	65
Tabelle 3.4: Vergleich zwischen dem OspA- und MLST-Sequenztyp	66
Tabelle 3.5: Zeitspanne zwischen dem ZS und der ersten LB-Manifestation	72
Tabelle 3.6: Absolute und relative Häufigkeiten der Manifestationsstadien.....	74
Tabelle 3.7: Altersstruktur zum Zeitpunkt der Probeentnahme	84
Tabelle 3.8: Gegenüberstellung von Geschlecht und Symptomatik	85
Tabelle 3.9: Übersicht über die Isolationsquellen und die Fundkontinente.....	93
Tabelle 3.10: Übersicht der Patienten für den CXCL13-Nachweis.....	99
Tabelle 7.1: Reagenzien für die Kultivierung	158
Tabelle 7.2: Arbeitsgeräte für die Kultivierung	158
Tabelle 7.3: DNA-Extraktion Schritt 1 – Bakterien-Extraktion	160
Tabelle 7.4: DNA-Extraktion Schritt 2 – DNA-Extraktion	160
Tabelle 7.5: DNA-Extraktion Schritt 3 – DNA-Elution	160
Tabelle 7.6: NanoDrop-Verdünnung	162
Tabelle 7.7: Reagenzien der PCR	164
Tabelle 7.8: Arbeitsgeräte der PCR.....	164
Tabelle 7.9: Übersicht der verwendeten MLST-PCR-Primer der acht Housekeeping-Gene	165
Tabelle 7.10: Arbeitsgeräte für die Herstellung des Agarose-Elektrophoresegels.....	166
Tabelle 7.11: Reagenzien für die Herstellung des Agarose-Elektrophoresegels.....	166
Tabelle 7.12: Übersicht der sequenzierten Stämme	170
Tabelle 7.13: Nukleotidgehalt	180
Tabelle 7.14: Profile und Isolate Data.....	182
Tabelle 7.15: Pairwise Distance	182

Tabelle 7.16: Overall Mean Distance der Housekeeping-Gene	183
Tabelle 7.17: OspA-Sequenz und -RFLP	186
Tabelle 7.18: Isolate Data einschließlich Informationen der MLST-Datenbank	191
Tabelle 7.19: Geografischer Ort des Zeckenstiches	194
Tabelle 7.20: Klinische Manifestationen	197
Tabelle 7.21: <i>B. garinii</i> - und <i>B. bavariensis</i> -Isolate der MLST-Datenbank	208
Tabelle 7.22: Sequenztypen mit mehr als einer Isolationsquelle.....	210

Formelverzeichnis

Formel 2.1: Melting-Temperatur	41
Formel 2.2: Berechnung der Anzahl der DNA-Amplifikate	44

Abkürzungs- und Symbolverzeichnis

%	Prozent
°C	Grad Celsius
A	Ampere
ACA	Acrodermatitis chronica atrophicans
AG	Aktiengesellschaft
AI	Liquor-Serum-Antikörper-Index (Liquor-Serum-Index)
AK	Amikacin (Antibiotikum)
AK	Antikörper
Anm.	Anmerkung
Art. Nr.	Artikelnummer
AT	Alleltyp
AUS	Österreich
<i>B.</i>	<i>Borrelia</i>
BCA-1	B-Cell-Attracting chemokine-1
BLC	B-Lymphocyte Chemoattractant
bp	Basenpaar
BSG	Blutsenkungsgeschwindigkeit
c	candidatus
CAN	Kanada
CHN	China
CMRL	Connaught Medical Research Laboratories
CRP	C-reaktives Protein
CXCL13	C-X-C motif chemokine 13
d	die (Tag)
d. h.	das heißt
ddNTP	Didesoxyribonukleosidtriphosphat
DLV	Double Locus Variant
DNA	Desoxyribonuclein acid/ Desoxyribonukleinsäure
DNS	Desoxyribonukleinsäure (s. DNA)
dNTP	Desoxyribonukleosidtriphosphat
EFNS	European Federation of Neurological Societies
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
EM	Erythema migrans
Fa.	Firma
FF	Fosfomycin (Antibiotikum)
FRA	Frankreich

FSME	Frühsommer-Meningoenzephalitis
g	Gramm
g	Maß der Zentrifugalbeschleunigung
GBR	Großbritannien
GER	Deutschland
GRPM	G-force Rotations Per Minute
<i>I.</i>	<i>Ixodes</i>
i.m.	intramuskulär
i.v.	intravenös
IE	Internationale Einheiten
Ig	Immunglobulin
Inc.	Incorporated
ITA	Italien
JPN	Japan
kbp	Kilobasenpaare
KS	Kutane Symptomatik
LB	Lyme-Borreliose
LGL	Bayerisches Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit
LK	Lyme-Karditis
LVA	Lettland
LZ	Lymphozytom
M	Marker (Agarose-Elektrophoresegelel, Lauflinie Längenstandard)
mg	Milligramm
MgCl ₂	Magnesiumchlorid
MGL	Mongolei
MHK	Minimale Hemm-Konzentration
Mio.	Millionen
MKP-Medium	Modifiziertes Kelly-Pettenkofer Medium
ml	Milliliter
MLST	Multilocus Sequence Typing
Mm.	Musculi
mm	Millimeter
mM	Einheit der Stoffmengenkonzentration, entspricht mmol/l
MS	Mischsequenz
N.	Nervus
NaCl	Natriumchlorid

NaOH	Natriumhydroxid
NB	Neuroborreliose
ng	Nanogramm
NGFN	Nationales Genomforschungsnetz
NK	Negativkontrolle
nLV	<i>n</i> Locus Variant
nm	Nanometer
NRZ	Nationales Referenzzentrum
∅	durchschnittlich
Osp	Outer surface protein
p.o.	per os
PBS	Phosphate buffered saline
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
pg	Pikogramm
pmol	Pikomol
POL	DNA-Polymerase
p	proposed
%	Prozent
PZN	Pharmazentralnummer
RFLP	Restriktionsfragment-Längenpolymorphismus
RKI	Robert-Koch-Institut
RT	Raumtemperatur
RUS	Russland
s	Sekunde
s.	siehe
s. a.	siehe auch
s. l.	sensu lato
s. s.	sensu stricto
SER	Serbien
SLN	Slowenien
SLV	Single Locus Variant
ST	Sequenztyp
SXT	Sulfomethoxazol (Antibiotikum)
T _A	Annealing-Temperatur
Th ₂ -Zelle	T-Helfer-Zelle vom Subtyp 2
<i>Taq</i>	<i>Thermus aquaticus</i>
TBE-Puffer	TRIS-Borat-EDTA-Puffer

TD-PCR	Touchdown-Polymerase-Kettenreaktion
TIA	Transiente Ischämische Attacke
TLV	Triple Locus Variant
T_M	Melting-Temperatur
TrisHCl	Tris(hydroxymethyl)-aminomethan-gepufferte Salzsäure
Unb. N.	Unbekannte Neurologie
UpM	Umdrehungen pro Minute
ursp.	ursprünglich
USA	Vereinigte Staaten von Amerika
YU	Ehemaliges Jugoslawien
z. B.	zum Beispiel
μg	Mikrogramm
μl	Mikroliter
μm	Mikrometer
μM	Einheit der Stoffmengenkonzentration, entspricht $\mu\text{mol/l}$
ZS	Zeckenstich

1 Einleitung

Lyme-Borreliose (LB) ist die häufigste Vektor-übertragene humane Erkrankung in Europa und in den Vereinigten Staaten von Amerika (USA) (Lindgren und Jaenson 2006, Fingerle et al. 2008), welche durch Bakterien des *Borrelia burgdorferi* sensu lato-Komplexes verursacht wird (Burgdorfer et al. 1982). Wenn die Infektion klinisch manifest wird, lassen sich vielseitige Symptome feststellen, da sowohl die Haut als auch die Gelenke, das Nervensystem und das Herz betroffen sein können (Stanek et al. 2011, Herzer et al. 2014, Krause und Fingerle 2014). Therapiert wird mit einer antibiotischen Chemotherapie (Robert-Koch-Institut (RKI) 2013 a, Herzer et al. 2014, Krause und Fingerle 2014). Ein Impfstoff für den Humangebrauch steht derzeit nicht zur Verfügung.

Für Deutschland wird basierend auf einer im Raum Würzburg umfassenden prospektiven, populationsbasierten Studie eine Inzidenz von 60.000 - 100.000 LB-Fällen geschätzt (Huppertz et al. 1999). Derartige Schätzungen werden durch eine nicht bundesweit geltende Meldepflicht erschwert (Nationales Referenzzentrum (NRZ) für Borrelien 2013). Beruhend auf Berechnungen und Schätzungen von Daten der Krankenkasse DAK aus den Jahren 2007 und 2008 wird von Müller et al. (2012) die Inzidenz mit 213.912 LB-Fällen in Deutschland angegeben. Die steigenden Fallzahlen der Lyme-Borreliose können unter anderem in der erhöhten Aufmerksamkeit und der besseren Diagnosestellung begründet sein (Krause und Fingerle 2014). Seit 2013 besteht auch in Bayern eine Meldepflicht (NRZ für Borrelien 2013) und bereichert die Kenntnis über Ausbreitung, Prävalenz und Inzidenz.

1.1 Historische Entdeckung der Lyme-Borreliose

Buchwald beschrieb in Europa am Ende des 19. Jahrhunderts erstmals eine chronische Hauterscheinung ohne nähere ätiologische Kenntnisse (Buchwald 1883). Diese wurde etwa 20 Jahre später Acrodermatitis chronica atrophicans (ACA) benannt (Herxheimer und Hartmann 1902). 1910 stellte Afzelius eine zweite Hauterscheinung namens Erythema migrans (EM) vor, eine sich langsam ringförmig ausbreitende Hautläsion (Lipschütz 1913). Kurze Zeit später wurde das Lymphozytom (LZ) beschrieben (Afzelius 1910, Burckhardt 1911), das später detaillierter von Bäfverstedt abgehandelt wurde (1943), der auch den Begriff Lymphadenosis benigna cutis prägte (Bäfverstedt 1943). Die französischen Neurologen Garin und Bujadoux zogen 1922 einen Zeckenstich als Ursache einer Meningoradikulitis in Betracht (Garin und Boujadoux 1922), welche 1941 von dem Münchner Neurologen Bannwarth näher

beschrieben wurde (Bannwarth 1941). Einige Jahre später wurde auch das EM mit Zeckenstichen assoziiert (Hellerström 1930).

Obwohl nach dem Ende des Zweiten Weltkriegs über die Identität des Vektors nur gemutmaßt wurde und der Erreger selbst noch völlig unklar war, wurden Antibiotika gegen die klinischen Manifestationen eingesetzt und erwiesen sich als erfolgreich (Stanek et al. 2002).

In den USA wurde 1975 erstmals die Borrelien-Arthritis im Ort Lyme, Connecticut beschrieben (Steere et al. 1977). Es wird angenommen, dass die Lyme-Arthritis (LA) in Connecticut mindestens seit dem Jahr 1972 kumuliert auftrat und es anfangs Schwierigkeiten bei der Differenzierung von der idiopathischen juvenilen Arthritis gab (Steere et al. 1977). Schnell wurde der Zusammenhang mit anderen Manifestationen der LB erkannt und wenig später wurde die Zecke *Ixodes (I.) scapularis* als Vektor in den USA entdeckt (Burgdorfer et al. 1982).

Burgdorfer konnte in den USA 1982 erstmals Spirochäten als Erreger der LB ausmachen, indem ihm die Isolation und die anschließende Kultivierung im modifizierten Kelly-Medium gelangen (Burgdorfer et al. 1982). Diese wurden *Borrelia (B.) burgdorferi* nach dem französischen Mikrobiologen Amédée Borrel (1867 - 1936) und dem Amerikaner Willy Burgdorfer (1925 - 2014) benannt (Brade und Hunfeld 2009). Kurze Zeit später wurden Borrelien auch aus Hautbiopsaten und Liquorpunktaten isoliert (Steere et al. 1983, Preac-Mursic et al. 1984). Mithilfe der Outer surface protein (Osp) A-Typing-Methode wurden schnell weitere Spezies wie *B. afzelii* und *B. garinii* unterschieden und neben *B. burgdorferi* sensu stricto (s. s. = im engen Sinne) unter dem Komplex *B. burgdorferi* sensu lato (s. l. = im weiten Sinne) zusammengefasst (Johnson et al. 1984 b, Baranton et al. 1992, Canica et al. 1993, Wilske et al. 1993).

1.2 Der Erreger der Lyme-Borreliose - *Borrelia burgdorferi* sensu lato

Borrelien gehören zu den Spirochäten, welche spiralig gekrümmte, bewegliche Bakterien sind. Sie sind mikroaerophil und werden als gram-negativ klassifiziert (Johnson et al. 1984 a). Borrelien sind mit der Fuchsin- (NRZ für Borrelien 2013) oder Giemsa-Färbung darstellbar (Barbour und Hayes 1986).

1.2.1 Taxonomie der Borrelien

Die Ordnung der *Spirochaetales* wird durch zwei Familien repräsentiert, welche zur besseren Übersicht in Abbildung 1.1 dargestellt sind. Die Familie der *Borreliaceae* zählt zwei Gattungen, die *Borrelia* und die *Cristispira*. Die *Spirochaetaceae* umfasst sieben Gattungen, welche

auch die *Treponema*, zu welcher der Erreger der Syphilis zählt, beinhaltet (Gupta et al. 2013, Oren und Garrity 2014, Euzéby 2016).

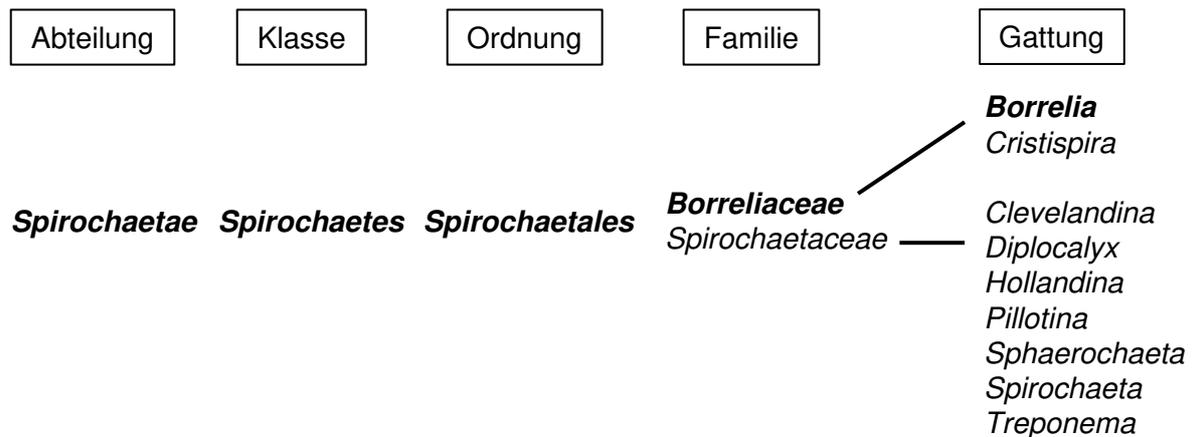


Abbildung 1.1: Taxonomie der Borrelien

Die Abbildung richtet sich nach den Kriterien von Gupta et al. 2013, Oren und Garrity 2014 und Euzéby 2016. Sie ist mit Ausnahme der Gattungen für eine bessere Übersicht stark vereinfacht.

Innerhalb der Gattung *Borrelia* können weitere Gruppen abgegrenzt werden. Es zählen der *B. burgdorferi* s. l.-Komplex, welcher in Abschnitt 1.2.2 genauer betrachtet wird, und die Rückfallfieber-Borrelien dazu. Letztere umfassen die Erreger des Läuserückfallfiebers (*B. recurrentis*) und des Zeckenrückfallfiebers (unter anderem *B. duttoni*, *B. persica* und *B. hispanica*) (Euzéby 2016).

Die verschiedenen Gattungen wurden anhand ihres Guanin-Cytosin-Gehalts der Desoxyribonukleinsäure (desoxyribonucleic acid - DNA) verglichen. Für *B. burgdorferi* s. l. liegt dieser zwischen 27,3 bis 30,5 Prozent (%), wohingegen Leptospiren und Treponemen respektive einen Gehalt von 35,3 und 53,0 % aufweisen. *Borrelia* spp. zeigen eine genetische Homologie von nur 0 bis 2 % mit *Leptospira* und *Treponema* (Hyde und Johnson 1984, Johnson et al. 1984 a).

1.2.2 Der Erregerkomplex *Borrelia burgdorferi* sensu lato

Zum *B. burgdorferi* s. l.-Komplex werden derzeit 20 gesicherte und eine vorgeschlagene Spezies gezählt (Tabelle 1.1). Die Spezies unterscheiden sich bezüglich Organotropismus, Verbreitung, Wirtsspezifität und humaner Infektionsfähigkeit (Margos et al. 2011).

Spezies	Referenzen	Spezies	Referenzen
<i>B. afzelii</i>	Canica et al. (1993)	<i>B. kurtenbachii</i>	Margos et al. (2010)
<i>B. americana</i>	Rudenko et al. (2009 b)	<i>B. lanei</i>	Margos et al. (2017 a)
<i>B. andersonii</i> (p)	Marconi et al. (1995)	<i>B. lusitaniae</i>	Le Fleche et al. (1997)
<i>B. bavariensis</i>	Margos et al. (2009)	<i>B. mayonii</i>	Pritt et al. (2016)
<i>B. bissettae</i>	Margos et al. (2016)	<i>B. sinica</i>	Masuzawa et al. (2001)
<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Johnson et al. (1984)	<i>B. spielmanii</i>	Richter et al. (2006)
<i>B. californiensis</i>	Margos et al. (2016)	<i>B. tanukii</i>	Fukunaga et al. (1996)
<i>B. carolinensis</i>	Rudenko et al. (2009 a)	<i>B. texasensis</i> (c)	Lin et al. (2005)
<i>B. chilensis</i>	Ivanova et al. (2014)	<i>B. turdi</i>	Fukunaga et al. (1997)
<i>B. garinii</i>	Baranton et al. (1992)	<i>B. valaisiana</i>	Wang et al. (2015 b)
<i>B. japonica</i>	Kawabata et al. (1993)	<i>B. yangtzensis</i>	Margos et al. (2015 b)

Tabelle 1.1: *B. burgdorferi* sensu lato-Komplex

20 Spezies sind bestätigt, 2017 wurde *Genospecies2* (Postic et al. 2007) als *B. lanei* validiert (Margos et al. 2017 a). *B. andersonii* ist bisher nur für den *B. burgdorferi* s. l.-Komplex vorgeschlagen und in der Tabelle mit p (proposed) gekennzeichnet. *B. texasensis* ist *candidatus* (c) (in Anlehnung an Stanek und Reiter 2011, Margos et al. 2011, Margos et al. 2015 a und b, Euzéby 2016, Margos et al. 2017 a).

Die Spezies *B. afzelii*, *B. bavariensis*, *B. burgdorferi* s. s., *B. mayonii*, *B. garinii* und *B. spielmanii* sind gesichert humanpathogen (Kurtenbach et al. 2006, Fingerle et al. 2008, Margos et al. 2011, Stanek und Reiter 2011, Vollmer et al. 2011, Pritt et al. 2016). Es konnte bisher kein Nachweis über Humanpathogenität für die Spezies *B. americana*, *B. andersonii*, *B. californiensis*, *B. carolinensis*, *B. chilensis*, *B. kurtenbachii*, *B. japonica*, *B. sinica*, *B. tanukii*, *B. turdi* und *B. yangtzensis* erbracht werden (Kawabata et al. 1993, Marconi et al. 1995, Fukunaga et al. 1996 und 1997, Richter et al. 2006, Rudenko et al. 2009 a und b, Margos et al. 2010 und 2015 b und 2016, Masuzawa et al. 2001, Ivanova et al. 2014). Die Pathogenität von *B. bissettae* und *B. lusitaniae* ist noch nicht abschließend geklärt, sie können aber in humanen Probematerialien nachgewiesen werden (Fingerle et al. 2008, Margos et al. 2010). *B. valaisiana*-DNA konnte bereits aus humanen Proben isoliert werden, bisher aber kein lebender Erreger (Collares-Pereira et al. 2004, Diza et al. 2004, Margos et al. 2017 b). *B. spielmanii* konnte in humanen Hautbiopsaten nachgewiesen werden (Földvári et al. 2005, Maraspin et al. 2006, Richter et al. 2006, Fingerle et al. 2008, Stanek und Reiter 2011).

In Europa sind mindestens acht OspA-Serotypen definiert, welche im Zusammenhang mit den genetisch differenten Spezies des *B. burgdorferi* s. l.-Komplexes stehen. OspA-Serotyp 1 kongruiert mit *B. burgdorferi* s. s., OspA-Serotyp 2 mit *B. afzelii*, OspA-Serotyp 3 und 5 bis

8 mit *B. garinii* und OspA-Serotyp 4 mit *B. bavariensis* (Wilske et al. 1993, NRZ für Borrelien 2008, Margos et al. 2009). OspA-Typ 9 und 10 (jeweils *B. garinii*) beruhen auf einer internen Klassifizierung am NRZ für Borrelien. Die OspA-Serotypen von *B. burgdorferi* s. l. zeichnen sich durch einen unterschiedlichen Organotropismus und differente Disseminationsfähigkeiten aus. Dies lässt auf unterschiedliche Virulenz zwischen den Stämmen schließen (Wilske et al. 1993). Der OspA 4-Serotyp stellt beispielsweise einen hyperinvasiven und aggressiven Phänotyp dar (Kurtenbach et al. 2006), der obwohl selten in Zecken häufig bei Neuroborreliose nachgewiesen wurde (Fingerle et al. 2008).

Wirtsspezifität

Experimentelle Untersuchungen zeigen, dass Komplement-resistente Spirochäten Komplement-regulatorische Proteine auf ihrer Oberfläche binden und dadurch der Lyse entgehen. Daraus ergibt sich die Hypothese, dass die Komplementresistenz ein Selektionsfaktor für die Wirtsspezifität ist. Im kontinentalen Europa sind die verschiedenen vorherrschenden *B. burgdorferi* s. l.-Spezies sehr spezialisiert und können unterschiedliche Wirbeltiergruppen infizieren (Kurtenbach et al. 2006). Während *B. burgdorferi* s. s. bezüglich des Reservoirwirts Generalist ist, bevorzugen *B. afzelii* und *B. bavariensis* Nagetiere (Margos et al. 2011). Bei den Wirten von *B. garinii* und *B. valaisiana* handelt es sich um Vögel (Kurtenbach et al. 2006, Gern 2008, Taragelova et al. 2008, Dubska et al. 2009, Margos et al. 2011, Vollmer et al. 2011). *B. lusitanae* wurde vor allem in Vögeln, Eidechsen und Igel nachgewiesen (Dsouli et al. 2006, Gern 2008). *B. spielmanii* belegt - mit den Wirten Gartenschläfer (*Eliomys quercinus*) und Haselmaus (*Muscardinus avellanarius*) - eine kleine Nische des ökologischen Systems (Richter et al. 2006, Richter et al. 2012).

Organotropismus

Die verschiedenen Spezies des *B. burgdorferi* s. l.-Komplexes sind mit verschiedenen Organsystem-Manifestationen im Menschen assoziiert. *B. burgdorferi* s. s. wird vor allem bei Lyme-Arthritis gefunden, kann jedoch auch andere Krankheitsmanifestationen auslösen. Während *B. afzelii* am häufigsten aus Hautbiopsaten isoliert wurde, werden *B. garinii* und *B. bavariensis* mit Neuroborreliose in Verbindung gebracht (Barbour und Hayes 1986, Ornstein et al. 2001, Canica et al. 1993, Wilske et al. 1993, Pfister et al. 1994, Richter et al. 2006, Fingerle et al. 2008, NRZ für Borrelien 2008, Stanek und Strle 2009, Margos et al. 2011). Im einzelnen Patienten ist meist nur ein Organsystem im Rahmen einer Borrelien-Infektion betroffen (Krause und Fingerle 2014).

1.2.3 Geographische Verbreitung der Borrelien

Die Verbreitung der LB steht in direkter Korrelation mit dem regionalen Auftreten des Vektors. In Zentral- und Osteuropa sind die Inzidenz der LB und die Prävalenz der Borrelien-

spezifischen Antikörper höher als in Westeuropa. In Skandinavien fällt die LB-Inzidenz von Süden nach Norden und umgekehrt von Norden nach Süden in Italien, Spanien und Griechenland (Lindgren und Jaenson 2006). Die Fallzahl ist stark regional abhängig und wird mit 0,6 - 155/100.000 Einwohnern angegeben (Lindgren und Jaenson 2006, Gray und Stanek 2009). Die höchste Inzidenz lässt sich innerhalb Europas in den baltischen Staaten, Schweden, Österreich, Tschechien, Deutschland und Slowenien erkennen (Lindgren und Jaenson 2006).

Europa weist mit insgesamt acht Spezies des *B. burgdorferi* s. l.-Komplexes eine hohe Speziesdichte auf (*B. afzelii*, *B. bavariensis*, *B. bissettae*, *B. burgdorferi* s. s., *B. garinii*, *B. lusitaniae*, *B. spielmanii*, *B. valaisiana*), wobei für fünf die Humanpathogenität gesichert ist (Kurtenbach et al. 2006, Margos et al. 2011). Am häufigsten tritt *B. afzelii* (25,1 %) gefolgt von *B. garinii* in Europa auf (Rauter und Hartung 2005, Fingerle et al. 2008, Krause und Fingerle 2014). Hierbei ist zu beachten, dass bis 2009 *B. bavariensis* und *B. garinii* nicht als getrennte Spezies betrachtet wurden (Margos et al. 2009). *B. garinii* ist im ganzen terrestrischen Eurasien verbreitet (Kurtenbach et al. 2006, Gern 2008, Margos et al. 2009, Margos et al. 2011, Vollmer et al. 2011). *B. garinii* und *B. valaisiana* finden sich zudem auf den britischen Inseln aufgrund ihrer Wirtspräferenz für Vögel (Kurtenbach et al. 2006, Vollmer et al. 2011). *B. garinii* kommt darüber hinaus auch in Seevogelkolonien in Island, an der Ostküste Kanadas und an den Küsten Neufundlands vor (Margos et al. 2011). *B. lusitaniae* wurde im Mittelmeerraum und in Portugal nachgewiesen (Collares-Pereira et al. 2004, Amore et al. 2007, Grego et al. 2007, Margos et al. 2011).

In Nordamerika treten die Spezies *B. americana*, *B. andersonii*, *B. californiensis*, *B. carolinensis*, *B. lanei*, *B. kurtenbachii*, *B. bissettae*, *B. burgdorferi* s. s. und *B. mayonii* auf (Margos et al. 2011, Margos et al. 2017 a).

In Asien sind die drei humanpathogenen Spezies *B. afzelii*, *B. bavariensis* und *B. garinii* vorherrschend. Darüber hinaus werden regional die für den Menschen ungefährlichen Spezies *B. sinica*, *B. yangtzensis* und in Japan *B. tanukii*, *B. turdi* und *B. japonica* nachgewiesen (Margos et al. 2011).

1.2.4 Morphologie, Erbgut und Stoffwechsel von *Borrelia burgdorferi* sensu lato

Die Spezies des Erregerkomplexes *B. burgdorferi* s. l. gehören zu den längsten Borrelien mit 20 bis 30 Mikrometer (μm) und haben einen Durchmesser von 0,18 bis 0,25 μm (Burgdorfer et al. 1982, Barbour und Hayes 1986). Bakterien gewinnen an Länge, je näher sie an die stationäre Wachstumsphase kommen (Aristowsky und Hoelzer 1926). Darüber hinaus wird die Länge auch vom Kulturmedium beeinflusst (Barbour und Hayes 1986). Abbildung 1.2 zeigt Borrelien vergrößert mittels Dunkelfeld- und Elektronenmikroskopie.

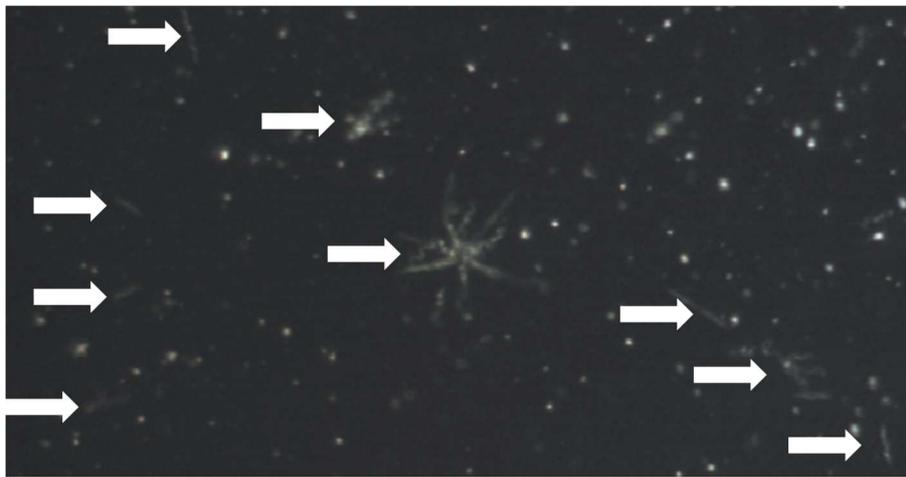
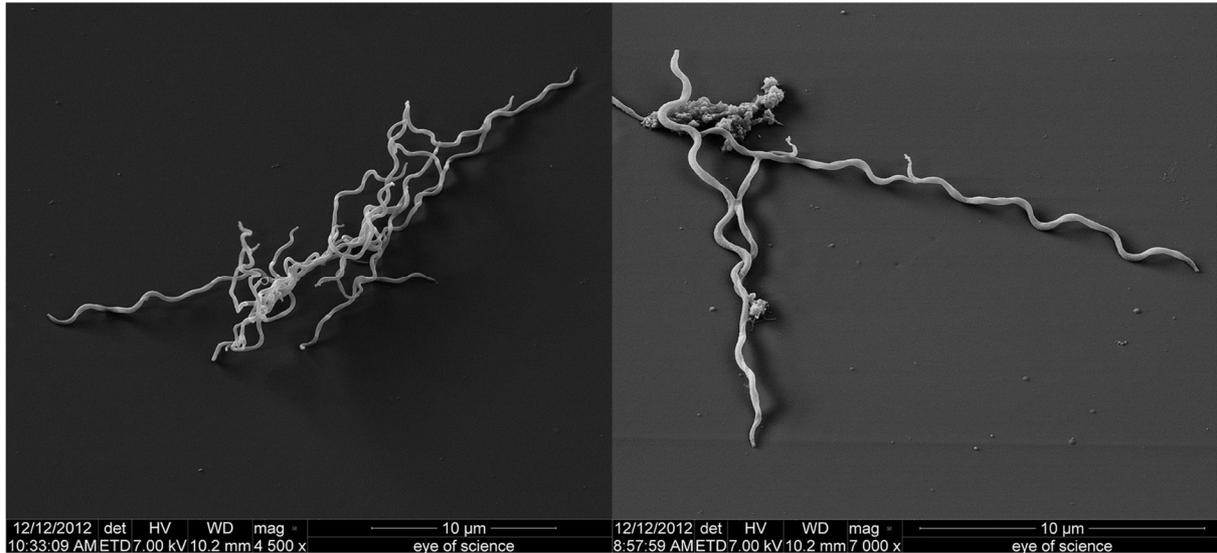


Abbildung 1.2: Morphologie von *B. burgdorferi* s. l.

Abbildungen oben rechts und links: *B. bavariensis* fotografiert mit einem Elektronenmikroskop (4500-fache Vergrößerung) (mit freundlicher Genehmigung von eye of science (www.eyeofscience.de)).

Abbildung unten: Mit weißen Pfeilen markierte, zum Teil zusammengelagerte Bakterien des *B. burgdorferi* s. l.-Komplexes vergrößert mit einem Dunkelfeld-Mikroskop (mit freundlicher Genehmigung von Dr. rer. nat. G. Margos – Bayerisches Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit).

Der schematische Aufbau einer Spirochäte kann Abbildung 1.3 entnommen werden. Das Bakterium besitzt eine äußere und eine innere Zellmembran, wobei letztere das Zytoplasma mit Zellorganellen und Kern umfasst. Zwischen den Membranen liegt der sogenannte periplasmatische Raum, in diesem finden sich reichlich Peptidoglykane und Endoflagellen (Holt 1978, Johnson et al. 1984 a, Barbour und Hayes 1986). Letztere ähneln Flagellen von gram-positiven Bakterien (Holt 1978, Hovind-Hogen 1984, Barbour und Hayes 1986). Die Anzahl der Flagellen variiert innerhalb der Gattung *Borrelia*, die Isolate von *B. burgdorferi* s. l. wei-

sen zwischen sechs und elf Stück auf (Holt 1978, Burgdorfer et al. 1982, Hovind-Hougen 1984, Barbour und Hayes 1986). Die Flagellen erlauben eine schraubenartige Fortbewegung und dienen als Stütze der Spiralform (Holt 1978, Johnson et al. 1984 a, Barbour und Hayes 1986, Hof und Dörries 2009).

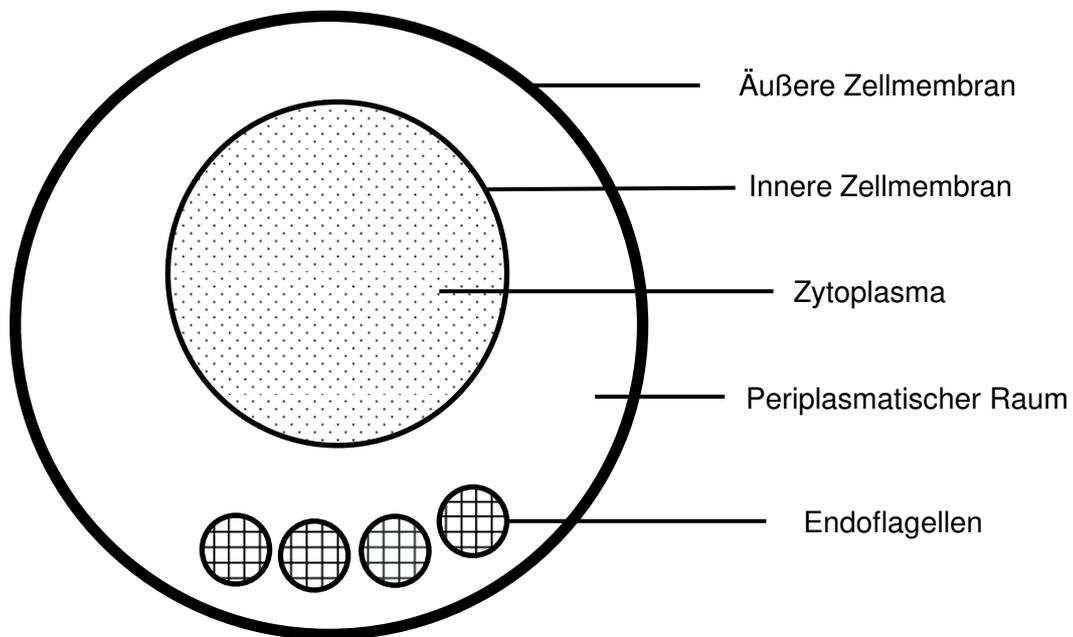


Abbildung 1.3: Schematischer Querschnitt einer Spirochäte

Die Erbinformation der Borrelien ist in einer für Prokaryoten seltenen Form eines linearen Chromosoms und gleichzeitig vorliegenden zirkulären und linearen Plasmiden gespeichert (Baril et al. 1989, Barbour 1989, Ferdows und Barbour 1989). Für das kleine lineare Chromosom wurden – beispielhaft am *B. burgdorferi* s. s.-Stamm B31 - 853 Gene und insgesamt 910.725 Basenpaare (Fraser et al. 1997) mit einem durchschnittlichen Guanin-Cytosin-Gehalt von 28,6 % ermittelt (Hyde und Johnson 1984, Schmid et al. 1984, Casjens und Huang 1993, Fraser et al. 1997). Der Guanin-Cytosin-Gehalt ist vor allem an den Restriktionsstellen erhöht (Casjens und Huang 1993).

B. burgdorferi s. l. weist neben einigen zirkulären Plasmiden auch lineare Plasmide mit kovalenten Enden auf (Barbour und Garon 1987, Hinnebusch et al. 1990), wobei letztere den Hauptteil der extrachromosomalen DNA ausmachen (Barbour und Garon 1987, Fraser et al. 1997). Gemeinsam bilden sie das größte extrachromosomale DNA-Komplement in bisher charakterisierten Bakterien, für welches sich 535 Plasmid-Gene ermitteln ließen (Stewart et

al. 2005, Casjens et al. 2000). Die zirkulären Plasmide weisen multiple homologe Abschnitte auf und stärken somit die Annahme, dass diese bedeutend für den Lebenszyklus von Borrelien sind (Casjens et al. 1997). Die Plasmid-Elemente können zwischen den verschiedenen Borrelien-Stämmen variieren (Terekhova et al. 2006), aber die phylogenetische Beständigkeit der Plasmide suggeriert keinen schnellen horizontalen Genaustausch ganzer linearer Plasmide (Casjens et al. 2017). Darüber hinaus tragen die Plasmide zur Virulenz der Borrelien bei (Labandeira-Rey und Skare 2001). Die Gene *outer surface protein (osp) A* und *B* sind auf dem linearen Plasmid lp54 lokalisiert (Fraser et al. 1997, Pal et al. 2004, Yang et al. 2004, Munderloh und Kurtti 2005). Diese sind zu 53 % identisch und zu 63 % ähnlich. Das führte zu der Annahme, dass diese Lipoproteine durch eine Genduplikation entstanden sind (Yang et al. 2004). *OspA* ist für gewöhnlich sehr homogen, zeigt bei *B. garinii* aber analog zu serologischen Untersuchungen eine hohe Variation (Wilske et al. 1996 a und b, Margos et al. 2011). *OspC* umfasst 16 verschiedene, mit monoklonalen Antikörpern und Sequenzanalysen bestimmte Typen und ist sehr heterogen (Wilske et al. 2006, Hanson und Edelman 2003, Margos et al. 2011). Letzteres ist auf dem zirkulären Plasmid cp26 lokalisiert (Pal et al. 2004, Yang et al. 2004, Munderloh und Kurtti 2005) und zeigt eine Übereinstimmung von 70 - 80 % innerhalb einer Spezies, welche vermutlich noch geringer zwischen verschiedenen Spezies ist (Hanson und Edelman 2003). Diese Heterogenität ist von großer Bedeutung für der Impfstoffentwicklung.

Die im Multilocus Sequence Typing (MLST) verwendeten Housekeeping-Gene *clpA*, *clpX*, *nifS*, *recG*, *pyrG*, *rplB* und *uvrA* sind auf dem Chromosom lokalisiert (Margos et al. 2008, Wang et al. 2014).

Als primäre Energiequelle nutzen Borrelien Glucose, aber die Verstoffwechslung anderer Nährstoffe wie Fructose und Maltose ist auch möglich (Fraser et al. 1997). Darüber hinaus kann auch N-Acetylglucosamin (NAG), welches ein Bestandteil des Chitins der Zeckenkultikula ist, als Kohlenhydrat von *B. burgdorferi* s. l. verwertet werden (Barbour und Hayes 1986).

1.3 Infektion mit und Übertragung von *B. burgdorferi* s. l.

B. burgdorferi s. l. nutzt hauptsächlich Vektoren der Gattung *Ixodes*. Im Folgenden wird genauer auf die Taxonomie und den Lebensraum der Zecken eingegangen.

1.3.1 Taxonomie der Zecken

Weltweit sind circa 900 Zeckenspezies bekannt (Belongia 2002, Barker und Murrell 2004). Sie werden der Klasse der Spinnentiere (Arachnida) und der Unterklasse der Milben (Acari)

zugeordnet. Man unterscheidet zwei Hauptfamilien: Einerseits die Ixodidae, Schildzecken mit einer sklerosierten Kutikula, welche fast 700 Spezies zählt und andererseits die Argasidae, Lederzecken ohne Rückenschild mit einer ledernen Kutikula (Hillyard 1996, Nava et al. 2009). Ixodidae differenzieren sich von den Argasidae unter anderem durch morphologische Aspekte, Reproduktion, Wirtsverhalten und saisonale Aktivität (Pfister et al. 1994, Hillyard 1996, Parola und Raoult 2001).

1.3.2 Lebensraum, Entwicklung und Prävalenz von Ixodidae

Neben dem Gemeinen Holzbock *Ixodes ricinus* (Abbildung 1.4) als vorherrschender Vektor in Europa existiert noch die Taigazecke *I. persulcatus* in Eurasien, wohingegen in Nordamerika die Vektoren *I. scapularis* (Reh- oder Hirschzecke) und *I. pacificus* als Überträger der Spirochäten ausgemacht wurden (Sonenshine und Roe 1991, Loye und Lane 1998, Xu et al. 2003, Hubalek et al. 2004). Es handelt sich um temporäre, generalisierte Ektoparasiten (Anderson 1991, Pfister et al. 1994, Hillyard 1996, Kurtenbach et al. 2006, Margos et al. 2011).



Abbildung 1.4: Phänotyp eines adulten *Ixodes ricinus*-Weibchens

Aufsicht (links) und Ansicht von unten (rechts), die Größenskala in der rechten Abbildung entspricht 1 mm. Es sind vier Beinpaar erkennbar, mit Pfeilen sind die Pedipalpen markiert (mit freundlicher Genehmigung von Dr. rer. nat. G. Margos – Bayerisches Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit (LGL)).

I. ricinus ist von Portugal bis nach Russland und zwischen dem 39. und 65. Breitengrad heimisch (Gern 2009). Für die USA ist eine deckungsgleiche Verbreitung von Vektor und der LB-Erkrankung beschrieben (Steere und Malawista 1979). Vorzugsweise dienen Laub- und

Mischwälder mit einer relativen Luftfeuchtigkeit von über 80 % als Habitat (Lindgren und Jaenson 2004, Gern 2009, RKI 2013). Mit Anstieg der Humidität erhöhen Larven ihre Aktivität bezüglich der Wirtssuche und der Saugbereitschaft und schränken diese bei trockeneren Bedingungen ein, um möglicherweise der Austrocknung zu entgehen (Randolph und Storey 1999). Auch die Temperatur hat einen Einfluss auf die saisonale Aktivität und das Stichverhalten von Zecken (Lindgren und Jaenson 2004, Kurtenbach et al. 2006, Gern 2009). Nach milden Wintern ist die wirtssuchende Nymphe aktiver (Lauterbach et al. 2013). Diese können im Rahmen der Klimaerwärmung in immer höheren Lagen und in nördlicheren Regionen angetroffen werden (Lindgren und Jaenson 2004, Gern 2009, Gray et al. 2009).

In Europa wird für *I. ricinus* eine erhöhte Aktivität von Frühjahr bis Herbst mit Spitzenwerten im April und Oktober beschrieben (RKI 2013). Abbildung 1.5 zeigt, dass alle Entwicklungsstadien (Larve, Nymphe und adulte Zecke) über längere Zeit und synchron aktiv sind, sodass die Übertragung persistierender *B. burgdorferi* s. l.-Stämmen begünstigt wird. In den nordöstlichen USA weisen die Entwicklungsstadien der Zecke *I. scapularis* eine differente saisonale Aktivität auf. Die Asynchronität von Larve und Nymphe scheint langlebende Spirochäten-Stämme zu selektieren (Kurtenbach et al. 2006).

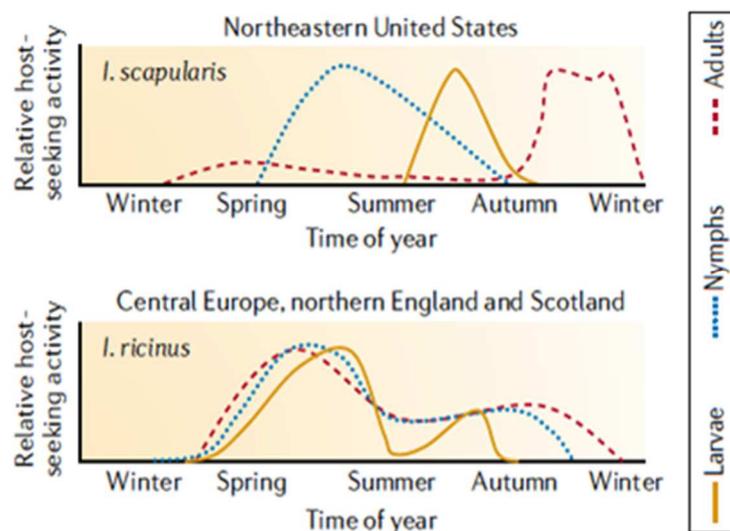


Abbildung 1.5: Saisonale Aktivität der Zecken (Kurtenbach et al. 2006, modifiziert)

Die Zecke durchläuft die Entwicklungsstadien Ei, Larve, Nymphe und entwickelt sich anschließend zu einer adulten Zecke. Letztere wird in Männchen und Weibchen unterschieden. Die etwa 0,5 mm messenden Larven besitzen nur drei Beinpaare, während Nymphen und

Adulte jeweils vier Beinpaare aufweisen. *I. ricinus*-Nymphen sind 1,3 - 1,5 mm lang, während adulte Weibchen mit circa 3,3 mm größer als adulte Männchen mit 2,6 mm sind. Ein Lebenszyklus umfasst zwei bis fünf Jahre und die Dauer ist unter anderem abhängig von Umweltfaktoren wie Temperatur und Humidität (Hillyard 1996, Parola und Raoult 2001, Lindgren und Jaenson 2006, Gern 2009). Nymphen sind weniger tolerant gegenüber warmen Temperaturen als adulte Zecken (Alekseev und Dubinina 2000), weshalb sie die unteren Grasschichten zur Aufstockung ihres Wasserhaushaltes aufsuchen und dort auf ihre Wirtstiere wie beispielsweise Nager treffen (Lauterbach et al. 2013). In Abbildung 1.6 ist eine schematische Übersicht des Lebenszyklus einer *I. ricinus*-Zecke dargestellt.

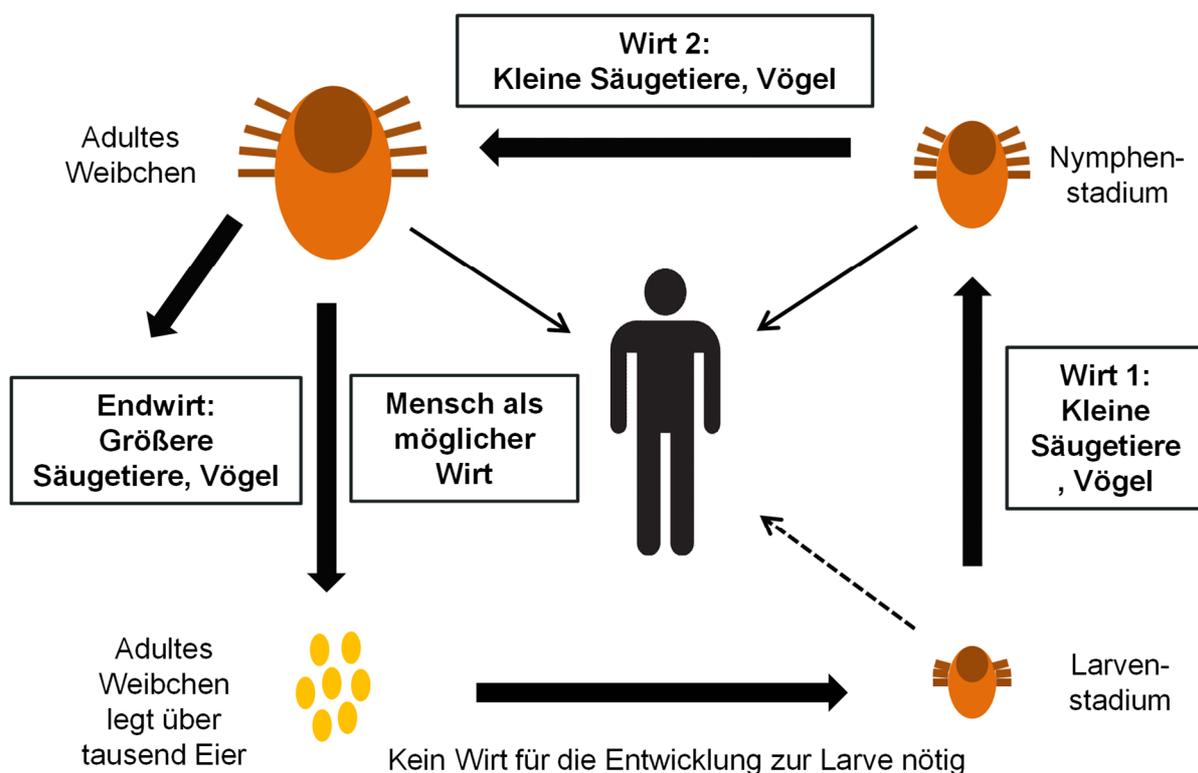


Abbildung 1.6: Lebenszyklus von *I. ricinus*

Abbildung in Anlehnung an Parola und Raoult 2001. Bei den kleinen Säugetieren handelt es sich beispielsweise um Nager, bei den großen Säugetieren um Schalenwild. Der unterbrochene Pfeil zwischen Larve und Mensch deutet an, dass der Mensch nur selten Wirt in diesem Entwicklungsstadium ist, wobei er in jedem Stadium als Fehlwirt klassifiziert wird (Gern 2008).

Circa 20 % der adulten Zecken und 10 % der Nymphen sind in Europa durchschnittlich mit *B. burgdorferi* s. l. infiziert, wobei für Adulte eine regionale Zunahme von West nach Ost beschrieben wird (Rauter und Hartung 2005). Die höchsten Infektionsraten treten in Österreich, Tschechien, Süddeutschland, Slowakei, Slowenien und der Schweiz auf (Fingerle et al.

1995, Maiwald et al. 1998, Rauter und Hartung 2005, Fingerle et al. 2008). Fingerle et al. (2008) fand *B. garinii* häufiger in Nymphen als in Adulten, während *B. valaisiana* öfter aus adulten Zecken isoliert wurde. In der Metaanalyse von Rauter und Hartung (2005) zeigte sich kein Prävalenz-Unterschied der Borrelien-Spezies in Nymphen im Vergleich mit adulten Zecken. Am häufigsten ließen sich in Europa *B. afzelii* und *B. garinii* nachweisen (Rauter und Hartung 2005). Hierbei handelt es sich um Erhebungen, welche vor der Differenzierung zwischen *B. garinii* und *B. bavariensis* durchgeführt wurden (Margos et al. 2009), sodass der *B. garinii*-Anteil möglicherweise überschätzt wird.

Darüber hinaus sind Mischinfektionen von zwei oder mehr Borrelien-Spezies in Nymphen und adulten Zecken beschrieben, welche jedoch seltener als Einzelinfektionen sind. Am häufigsten tritt in Europa die DNA-Kombination von *B. garinii* und *B. valaisiana* gefolgt von *B. garinii* und *B. afzelii* auf. Auch hier wird der *B. garinii*-Anteil gegebenenfalls überschätzt (Rauter und Hartung 2005, Fingerle et al. 2008, Gern 2009, Margos et al. 2009).

1.3.3 Mögliche Wirte von *Ixodes*-Zecken

Über 300 Wirbeltierspezies sind als Wirte für *I. ricinus* bekannt, unter anderem Säugetiere, Vögel und Reptilien (Gern 2008). Für die parasitischen Entwicklungsstadien nutzt die Zecke jeweils einen neuen Wirt (Parola und Raoult 2001, Gern 2008), aber nicht unbedingt unterschiedliche Spezies (Margos et al. 2011). Der Mensch ist Fehlwirt (Gern 2009).

Als Wirt für Larven und Nymphen bieten sich kleine Säugetiere wie Mäuse, Eichhörnchen, Igel und Hasen an. Adulte Weibchen bevorzugen größere Säugetiere wie beispielsweise Schalenwild (Gern 2008, Margos et al. 2011), welche nicht für eine Borrelieninfektion empfänglich sind (Kurtenbach et al. 2002, Richter und Matuschka 2006). Wenn Vögel als Wirtstiere dienen, handelt es sich vor allem um Drosseln (*Turdidae*), Rotkehlchen (*Erithacus rubecula*), Fasane (*Phasianus colchicus*), Zaunkönige (*Troglodytes troglodytes*), Kohlmeisen (*Parus major*) und Nachtigallen (*Luscinia megarhynchos*), denn diese nisten entweder am Boden oder suchen dort ihre Nahrung und exponieren sich somit gegenüber Zecken (Gern 2008, Heylen et al. 2014, Heylen et al. 2016). Vögel helfen, infizierte Zecken über größere Strecken zu verbreiten (Pfister et al. 1994, Margos et al. 2011). Andere Spezies können dazu differente Wirte bevorzugen: Die Igelzecke *I. hexagonus* saugt vor allem an Insektivoren und *I. uriae* steht in Assoziation mit Seevögeln (Gern 2008).

Nur wenige Wirte bleiben nach einem Zeckenstich dauerhaft mit Borrelien infiziert und gelten als Reservoirwirte für *B. burgdorferi* s. l. (Gern 2009).

1.3.4 *Ixodidae* und Übertragung der Borrelien

Die Schildzecke findet ihren Wirt mittels chemischer Stimuli wie Kohlenstoffdioxid und Ammoniak, Phenolen, Humidität, Vibrationen in der Luft und der Körpertemperatur der Wirte

(Parola und Raoult 2001, Gern 2009). Zecken verfolgen zwei unterschiedliche Strategien zur Wirtsfindung: *I. ricinus*-Zecken klettern die Vegetation hinauf und warten mit ausgestreckten Vorderbeinen auf einen vorbeistreifenden Wirt. Im Gegensatz dazu laufen Zecken der Jägerstrategie, welche aber für gewöhnlich keine Borrelien des LB-Komplexes übertragen, aktiv zu einem Wirt, wenn sie diesen in der Nähe wahrnehmen (Sonenshine und Roe 1991, Sonenshine und Roe 1993, Hillyard 1996, Parola und Raoult 2001). Wenn die Zecke den Wirt erreicht, wandert diese über den Wirt, um eine geeignete Stichstelle zu finden (Sonenshine und Roe 1991, Hillyard 1996, Gern 2009). Im Speichel der Zecke befindet sich eine Art Zement, welcher die Mundwerkzeuge der Zecke im Stichkanal verankert, sowie Enzyme, Vasodilatoren, antiinflammatorische, antihämostatische und immunsuppressive Substanzen (Sonenshine und Roe 1991, Sonenshine und Roe 1993, Hillyard 1996). Zudem konnte ein Anästhetikum nachgewiesen werden, welches den Stich für gewöhnlich schmerzlos erscheinen lässt (Sonenshine und Roe 1991, Parola und Raoult 2001). Der Saugakt der Larve dauert zwei bis vier Tage, der der Nymphe vier bis sechs Tage und weibliche Adulte saugen mit sechs bis zehn Tagen am längsten (Hillyard 1996, Gern 2009). Die gesamte parasitische Saugdauer ist mit zwölf bis zwanzig Tagen im Vergleich zur Lebensdauer sehr gering (Gern 2009). Männliche Adulte nehmen keine oder nur eine sehr kleine Blutmahlzeit zu sich, während weibliche Adulte ihr Körpergewicht bei der Blutmahlzeit um bis zu 120-fach erhöhen (Hillyard 1996, Gern 2009). Nach dem abgeschlossenen Saugprozess lassen sich die Zecken vom Wirt fallen und treten für die Verdauung in die sogenannte Diapause ein, der Metabolismus verlangsamt sich. Die Zecke beginnt das gesaugte Blut bereits während des Saugens zu konzentrieren, indem sie Wasser und Elektrolyte über die Speicheldrüsen abgibt. Während der Diapause tritt die Zecke in das nächste Entwicklungsstadium ein (Parola und Raoult 2001). Die Weibchen der *I. ricinus* legen circa 2.000 – 3.000 Eier (Hillyard 1996, Gern 2009), überziehen diese jeweils einzeln mit einer wächsernen Lipidschicht und einem Antioxidans (Hillyard 1996), und sterben anschließend (Hillyard 1996, Gern 2009).

Im Darm der Zecke halten sich Borrelien mit dem OspA über den Rezeptor TROSPA (tick receptor for OspA) an der Darmwand fest, um der Ausscheidung zu entgehen. pH- und Temperaturveränderungen sowie Zecken-spezifische Faktoren und Blut wirken sich erleichternd auf die Übertragung von Spirochäten auf den Wirt aus (Schwan et al. 1995, Carroll et al. 1999, Obonyo et al. 1999, Carroll et al. 2000, Schwan und Piesman 2000, Schwan und Piesman 2002, Tokarz et al. 2004). Mit Beginn des Saugaktes wird die OspA-Expression hinab reguliert, während die Expression von OspC ansteigt. Diese Veränderungen führen dazu, dass sich die Borrelien von dem Rezeptor TROSPA lösen und durch den Darm in die Speicheldrüsen wandern, um von dort mit dem Zeckenspeichel auf den Wirt übertragen zu werden (Schwan et al. 1995, Ohnishi et al. 2001, Fingerle et al. 2002, Munderloh und Kurtti

2005). Die Hochregulierung von OspC beginnt am ersten Tag der Blutmahlzeit und erreicht 48 Stunden nach Beginn des Saugaktes den Höhepunkt (Schwan und Piesman 2000). Die vermehrte OspC-Expression bleibt bis in die frühe Phase der Infektion eines Wirbeltiers bestehen (Pal et al. 2004, Schwan und Piesman 2000, Schwan und Piesman 2002, Pal et al. 2004). Vermutlich gibt es auch andere Möglichkeiten für Borrelien in Zecken zu persistieren und alternative Rezeptoren zu TROSPA zu verwenden (Fikrig et al. 2004, Munderloh und Kurtti 2005). Im Wirt kann ein Überwiegen der Th₂-Immunreaktion gemessen werden, dies erleichtert die Infektion (Müller-Doblies et al. 2007, Zeidner et al. 2008).

Die Effizienz der Spirochäten-Übertragung auf den Wirt ist unter anderem von der Borrelien-Spezies abhängig. Zum Beispiel wird *B. afzelii* früher und effektiver als *B. burgdorferi* s. s. durch *I. ricinus* übertragen (Crippa et al. 2002). Für andere Spezies gibt es keine Daten. Der Beginn der Erregerübertragung ist unter anderem abhängig vom Vektor (Gern 2009). Bei einem Versuch von Kahl et al. (1998) wurde gezeigt, dass 16,7 Stunden nach einem Stich von *I. ricinus* 50 % der Labortiere mit *B. burgdorferi* s. l. infiziert waren. Dem gegenüber ist in den USA für Nymphen eine Übertragung von *I. scapularis* auf den Wirt nach einer Mindestsaugdauer von 24 Stunden ermittelt worden (Piesman et al. 1987, des Vignes et al. 2001, Ohnishi et al. 2001, Gern 2009). Unabhängig von den oben genannten Einflussfaktoren ist die Effizienz der Transmission am Ende des Saugaktes am höchsten (des Vignes et al. 2001, Ohnishi et al. 2001, Gern 2009).

Neben der Übertragung durch Wirtstiere ist eine transovarielle Übertragung von Borrelien möglich, welche gegebenenfalls von der Zeckenspezies abhängig ist (Burgdorfer et al. 1991, Margos et al. 2011). So wird die Zecke selbst zum Borrelien-Reservoir (Bonnet et al. 2007) und darüber hinaus steigt die Wahrscheinlichkeit für Mischinfektionen (Gern 2009). Bislang gibt es keine Hinweise auf eine Übertragung von Borrelien zwischen Menschen außer einer transplazentaren Transmission während der Schwangerschaft. Bisher wurde keine gesicherte Schädigung des Fetus bei einer Infektion während der Schwangerschaft nachgewiesen (Pfister et al. 1994). Bei dem sogenannten Co-feeding können Spirochäten zwischen zwei Zecken ausgetauscht werden, wenn diese am gleichen Wirtstier saugen (Gern 2009, Margos et al. 2011).

1.3.5 Weitere durch Zecken übertragene Erkrankungen

Der Frühsommer-Meningoenzephalitis (FSME) -Virus wird in Eurasien durch Zecken übertragen (Dobler et al. 2012, RKI 2013 b). Die FSME-Virusprävalenz unterliegt in Deutschland einer starken regionalen Schwankung und ist vor allem auf Süddeutschland beschränkt (RKI 2013 b). Im Gegensatz zu den Borrelien kann der Flavivirus bereits mit Beginn der Blutmahlzeit übertragen werden. Der in Deutschland vorherrschende Virussubtyp verursacht bei 30 %

der Infizierten nach ein bis zwei Wochen eine erste Krankheitsphase mit erhöhter Körpertemperatur und Allgemeinsymptomen, an welche sich nach einem fieberfreien Intervall neurologische Symptome und erneutes Fieber anschließen. Die FSME-Infektion wird symptomatisch therapiert und es sind keine Isolationsmaßnahmen zu treffen. Darüber hinaus ist eine Übertragung der FSME-Viren über Rohmilchprodukte beschrieben und auch eine transplazentare und eine mittels Muttermilch erfolgende Transmission sind vorstellbar (Dobler et al. 2012, RKI 2013 b). Präventiv wird exponierten Personen in Risikogebieten eine Impfung von der Ständigen Impfkommission empfohlen (RKI 2015).

In Deutschland können ebenso Humane Granulozytäre Anaplasmen, Babesien, verschiedene Rickettsien und Fungi von Zecken übertragen werden, ausgelöste Erkrankungen konnten aber nicht oder nur in Einzelfällen in Deutschland beobachtet werden (Sonenshine und Roe 1991, Fingerle et al. 1999, Bonnet et al. 2007, RKI 2013 a). In den USA, wo die oben genannten Krankheiten häufiger als in Europa sind, werden in 39 % der LB-Erkrankungen Koinfektionen beschrieben. In 80 % der Fälle handelt es sich um die Kombination LB und Babesiose. Es wird über eine größere Symptomvielfalt und eine länger andauernde Symptomatik als bei einer alleinigen LB-Erkrankung berichtet (Belongia 2002).

1.3.6 Korrekte Entfernung einer Zecke

Wenn eine Zecke frühzeitig entfernt wird, kann die Übertragung von Borrelien vermieden werden (Piesman 1993).

Geeignete Werkzeuge zur Entfernung einer Zecke sind eine spitze Pinzette oder eine Zeckenkarte, falls keiner dieser Gegenstände zur Hand ist, können gegebenenfalls auch die Fingernägel ausreichend sein. Die Zecke sollte möglichst nah an der Haut gefasst und dann langsam herausgezogen werden. Die Einstichstelle ist anschließend zu desinfizieren (NRZ für Borrelien 2013). Von der Verwendung von Öl, Nagellack oder Klebstoff wird abgeraten, da diese Stoffe reizend auf die Zecke wirken und zur Abgabe von Speichel und Infektionserregern führen können (Rauer et al. 2012, RKI 2013 a). Nach der Zeckenentfernung ist die Stichstelle für etwa sechs Wochen auf das Auftreten eines Erythema migrans zu kontrollieren (RKI 2013 a). Die betroffenen Personen sind über Zeichen und Symptomatik von Zecken-übertragenen Erkrankungen aufzuklären und im Falle von Symptomen wird ein Arztbesuch angeraten (Wormser et al. 2000).

Eine routinemäßige Einnahme von einem Antibiotikum nach einem Zeckenstich wird in Deutschland nicht empfohlen (Rauer et al. 2012, Krause und Fingerle 2014). In den USA wird eine Doxycyclin-Einnahme innerhalb der ersten 72 Stunden nach einem Zeckenstich in einem Endemiegebiet angeraten (Wormser et al. 2006), welche zu 87 % effektiv ist (Nadelman et al. 2001). Die statistische Signifikanz dieser Ergebnisse wird kontrovers diskutiert

(Rauer et al. 2012). Der Erregernachweis aus angesogenen Zecken wird wegen fehlender Zuverlässigkeit nicht empfohlen (Wormser et al. 2006, Wilske et al. 2007 a).

Falls nach der Entfernung der Zecke noch Teile des Mundstücks in der Haut verbleiben, besteht eine unspezifische Infektionsgefahr, gegebenenfalls muss eine chirurgische Entfernung des Zeckenrestes angeschlossen werden (Wormser et al. 2003, NRZ für Borrelien 2013).

1.4 Klinische Manifestationen der Lyme-Borreliose

Bis vor einigen Jahren wurden die klinischen Manifestationen der LB in drei Stadien klassifiziert (Pfister et al. 1994). Dieses System wurde von einem neuen Konzept abgelöst, welches auf der Unterscheidung von Früh- und Spätmanifestationen und der Differenzierung von nicht disseminierten gegenüber disseminierten Krankheitsmanifestationen beruht (Herzer et al. 2014, Krause und Fingerle 2014). Die LB kann sich erstmals mit sowohl einer Früh- als auch Spätmanifestation zeigen und im Krankheitsverlauf müssen nicht alle klinischen Erscheinungsformen auftreten (Pfister et al. 1994, Herzer et al. 2014). Spätmanifestationen der LB weisen im Gegensatz zu den Frühmanifestationen keine saisonale Häufung auf (NRZ für Borrelien 2013). Bei Kindern wird das gleiche Manifestationsspektrum beschrieben, doch gibt es altersspezifische Unterschiede in der Häufigkeit der jeweiligen Manifestationsformen (Christen 1996).

Neben den typischen Manifestationen der LB werden im Frühstadium der Infektion als Begleitsymptome auch ein allgemeines Krankheitsgefühl mit eventuell subfebrilen Temperaturen, Fatigue, muskuloskelettale Beschwerden, Kopfschmerzen und regionale Lymphadenopathien beschrieben. Der schnelle Beschwerdewechsel ist gerade im Hinblick auf die unspezifische Symptomatik charakteristisch für die LB-Erkrankung (Herzer et al. 2014, Krause und Fingerle 2014). Die genannte Begleitsymptomatik wird nur selten in der späten Krankheitsphase beobachtet (Krause und Fingerle 2014).

Manifestationen an der Haut

Das Erythema migrans (EM, Abbildung 1.7), im Volksmund auch Wanderröte genannt, ist mit 80 – 90 % aller Fälle die häufigste Manifestation und Leitsymptom der frühen LB. Es tritt zwei Tage bis vier Wochen nach einer Infektion mit *B. burgdorferi* s. l. auf und breitet sich im Verlauf zentrifugal aus, wobei es an Größe zunimmt und im Allgemeinen das Zentrum abblasst. Der Richtwert des Durchmessers liegt bei mindestens fünf Zentimetern. Meist treten weder Schmerz noch Juckreiz auf. Durch physikalische Reize – zum Beispiel Sonnenbestrahlung oder heißes Wasser – kann es zum „Aufflammen“ des Erythems kommen. Das EM kann für

einige Monate sichtbar bleiben, heilt aber im Verlauf spontan ab (Stanek et al. 2011, Herzer et al. 2014, Krause und Fingerle 2014, Hofmann et al. 2016). Die Borrelien, welche sich im Randbereich des Erythems finden, können jahrelang ohne Entzündungsreaktion in der Haut verweilen und auch durch diese wandern (Hofmann et al. 2016). Bei Kindern treten Zeckenstiche und EM häufiger in der Nacken- und Kopfregion auf (Christen et al. 1993, Christen 1996). Multiple EM (Erythemata migrantia) kommen häufiger in den USA als in Europa vor. Ein typisches EM ist eine Blickdiagnose und erfordert keine weiteren diagnostischen Schritte vor Therapiebeginn (Herzer et al. 2014, Krause und Fingerle 2014).



Abbildung 1.7: Erythema migrans

Mit freundlicher Genehmigung von Dr. med. V. Fingerle – Bayerisches Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit.

Eine weitere kutane Frühmanifestation ist die Lymphadenosis cutis benigna, welche meist nur Lymphozytom (LZ) genannt wird (Abbildung 1.8). Es zeigt sich als meist singulär auftretende, knotige, benigne Schwellung von blauroter Färbung mit prall-elastischer Konsistenz. Auch das LZ bereitet meist keine Schmerzen. Es tritt häufiger bei Kindern als bei Erwachsenen auf, Prädilektionsstellen sind Ohrläppchen, Brustwarze und Skrotalhaut (Herzer et al. 2014, Krause und Fingerle 2014, Hofmann et al. 2016). Histologisch handelt es sich um gemischte B- und T-lymphozytäre Infiltrate (Hofmann et al. 2016).



Abbildung 1.8: Lymphozytom

Mit freundlicher Genehmigung von Dr. med. V. Fingerle – Bayerisches Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit.

Die Acrodermatitis chronica atrophicans (ACA, Abbildung 1.9) ist eine progressive kutane Spätmanifestationsform der LB. Erwachsene sind häufiger betroffen als Kinder und Frauen öfter als Männer. Die ACA tritt vorwiegend über den Streckseiten der Extremitäten auf und ist über den Gelenken am stärksten ausgeprägt. Zu Beginn besteht die ACA meist unilateral, doch lässt sich im Verlauf auch eine Ausbreitung auf die kontralaterale Seite finden. Selten sind der Stamm und das Gesicht betroffen. Erst zeigt sich ein Hautbefall mit einer teigigen Schwellung und häufig den sogenannten Ulnar- beziehungsweise Tibiastreifen, welche sich als streifenförmige Verfärbungen darstellen. Im Krankheitsverlauf entwickelt sich eine diffuse Hautatrophie, welche die Haut dünn und gefältelt erscheinen lässt und zum deutlichen Hervortreten der Blutgefäße führt (Stanek et al. 2009, Herzer et al. 2014, Krause und Fingerle 2014, Hofmann et al. 2016).



Abbildung 1.9: Acrodermatitis chronica atrophicans

Mit freundlicher Genehmigung von Prof. Dr. med. H. Hofmann – Dermatologie Technische Universität München – und Dr. med. V. Fingerle – Bayerisches Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit.

Manifestationen am Nervensystem

Es werden sowohl eine akute als auch eine späte Form der Neuroborreliose (NB) unterschieden. Erstere tritt circa drei bis sechs Wochen nach der Infektion auf und äußert sich bei Erwachsenen meist als Meningoradikulitis Garin-Boujadoux-Bannwarth. Diese zeichnet sich durch radikuläre Schmerzen aus, welche häufig nachts betont multilokulär und wandernd sind. Es finden sich meist unilaterale Hirnnervenparesen, vorherrschend des Nervus (N.) facialis gefolgt vom N. abducens. In den meisten Fällen heilt die Symptomatik unter adäquater Therapie vollständig ab (Mygland et al. 2010, Stanek et al. 2011, Rauer et al. 2012, Herzer et al. 2014, Krause und Fingerle 2014). Bei Kindern äußert sich die NB am häufigsten als akute periphere Facialisparesie oder lymphozytäre Meningitis, wobei eine Korrelation zwischen Zeckenstichstelle und Klinik beschrieben ist. Bei einem Stich im Nacken-Kopfbereich zeigt sich meist eine ipsilaterale periphere Facialisparesie, während ein Stich am Stamm oder der unteren Extremitäten eher zu einer Hirnnervenneuritis führt (Christen et al. 1993, Christen 1996).

In der Liquor-Diagnostik ist ein entzündliches Liquorsyndrom mit lymphozytärer Pleozytose, intrathekaler Antikörper-Produktion, oligoklonalen Banden, erhöhtem Liquorprotein und einer Blut-Liquor-Schrankenstörung typisch (Pfister et al. 1994, Mygland et al. 2010, Stanek et al. 2011, Rauer et al. 2012, Herzer et al. 2014, Krause und Fingerle 2014). Die akute NB gilt als gesichert, wenn die folgenden drei Kriterien erfüllt sind: 1, Neurologie unter Ausschluss anderer Ursachen für die vorliegende klinische Symptomatik; 2, ein entzündliches Liquorsyndrom und 3, die Produktion spezifischer intrathekaler Borrelien-Antikörper oder ein kultureller oder Nukleinsäurenachweis mittels Polymerase-Kettenreaktion (Mygland et al. 2010, Rauer et al. 2012, Fingerle et al. 2017). Die akute Neuroborreliose ist häufig selbstlimitierend (Mygland et al. 2010).

Die späte NB ist selten und äußert sich in Form unterschiedlicher Krankheitsbilder. Im Rahmen der chronisch progredienten Borrelien-Enzephalitis oder -Enzephalomyelitis zeigt sich eine Para- oder Tetraspastik mit einem spastisch-ataktischen Gangbild und einer Blasenentleerungsstörung. Ein weiteres spätes Krankheitsbild ist die zerebrale Vaskulitis, welche sich in Form einer Transienten Ischämischen Attacke (TIA) oder eines Apoplexes äußern kann. Darüber hinaus wird im Rahmen der späten NB die ACA-assoziierte Polyneuropathie beschrieben. Diese meist asymmetrische Polyneuropathie zeigt einen primär axonalen Befall und tritt bei circa 40 % der Patienten mit ACA auf (Herzer et al. 2014).

Manifestationen am Bewegungsapparat

In der Frühphase können Myalgien und Arthralgien auftreten. Die typische Lyme-Arthritis (LA, Abbildung 1.10) ist davon abzugrenzen und tritt erst als Spätmanifestation der LB Wochen bis Monate nach Infektion auf. Eine Übersicht der diagnostischen Kriterien sind in Ta-

belle 1.2 aufgeführt. Die LA äußert sich als Mon- oder Oligoarthritis, welche typischerweise die Kniegelenke unilateral, abwechselnd oder beidseits befällt. Auch andere Gelenke wie das Sprung- und Ellbogengelenk können betroffen sein. Typischerweise zeigen sich eine Schwellung und ein Gelenkerguss, wobei letzterer eine erhöhte Zellzahl mit vorherrschend neutrophilen Granulozyten aufweist. Meist treten rezidivierende Episoden mit schmerzfreen Intervallen auf. Darüber hinaus sind Baker-Zysten häufig (Herzer et al. 2014, Krause und Fingerle 2014).



Abbildung 1.10: Lyme-Arthritis

Es lässt sich eine verstrichene Gelenkkontur am rechten Kniegelenk erkennen, welche auf einen Erguss hindeutet, in diesem Fall verursacht durch eine Infektion mit *B. burgdorferi* s. l.. Mit freundlicher Genehmigung von Dr. med. V. Fingerle – Bayerisches Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit.

Diagnosekriterien der Lyme-Arthritis

obligat

- Mon- oder Oligoarthritis großer Gelenke
- Ausschluss anderer Ursachen
- Fehlende Beteiligung des Achsenskeletts
- Nachweis Borrelien-spezifischer Antikörper im Serum
- Gelenkpunktat: Granulozytäre Pleozytose

unterstützend

- Andere Manifestationsformen der Lyme-Borreliose in der Anamnese
- Zeckenstich in der Anamnese
- Rezidivierende Arthritis
- Nachweis von *B. burgdorferi* s. l. aus dem Punktat mittels Kultur oder PCR

Tabelle 1.2: Diagnosekriterien der Lyme-Arthritis

Zusammenfassung der Kriterien in Anlehnung an Krause und Fingerle 2014.

Die typischen laborchemischen Entzündungsparameter wie das C-reaktive Protein (CRP) und die Blutsenkungsgeschwindigkeit (BSG) sind meist normwertig (Stanek et al. 2011). Auch nach längerem Verlauf sind im Röntgenbild nur selten Zeichen der Gelenkerosion erkennbar (Steere et al. 1987, Herzer et al. 2014, Krause und Fingerle 2014). Durch eine Antibiotika-Therapie wird der Krankheitsverlauf meist verkürzt (Herzer et al. 2014, Krause und Fingerle 2014).

Darüber hinaus können am Bewegungsapparat Myositiden, Bursitiden, Tenosynovialitiden und Enthesitiden auftreten (Stanek et al. 2011, Herzer et al. 2014, Krause und Fingerle 2014).

Manifestationen am Herzen

Eine kardiale Beteiligung als Manifestation einer Borreliose-Infektion (Lyme-Karditis (LK)) ist in Europa mit weniger als 5 % der LB-Fälle sehr selten. Circa 21 Tage nach einem EM können in der frühen Phase eine Perimyokarditis, eine Störung des Reizleitungssystems oder eine atrioventrikuläre Blockierung auftreten (Herzer et al. 2014). Der Patient kann unter Symptomen wie Palpitationen, thorakalen Schmerzen, Dyspnoe, Schwindel und Adams-Stokes-Anfällen leiden. In der späten Phase sind seltene Fälle von dilatativer Kardiomyopathie beschrieben, ein kausaler Zusammenhang wird diskutiert (Scheffold et al. 2003, Herzer et al. 2014, Krause und Fingerle 2014).

Weitere Manifestationsformen

Okulär kann es im Rahmen einer LB zu Konjunktivitis, Iridozyklitis, Choroiditis, optischer Neuropathie mit Papillenödem und Panophthalmitis kommen. Darüber hinaus sind Hepatomegalie, Hepatitis, Splenomegalie, trockener Husten, Vaskulitiden und testikuläre Schwellungen möglich (Pfister et al. 1994, Stanek et al. 2011, Krause und Fingerle 2014). Auch bei diesen ungewöhnlichen Manifestationsformen sollte an eine LB gedacht und diese mit geeigneter Diagnostik ausgeschlossen werden.

1.5 Diagnostik der Lyme-Borreliose

Der LB-Diagnostik geht eine vollständige Anamnese einschließlich der Frage nach einem vorausgegangenem Zeckenstich und eine gründliche körperliche Untersuchung voraus. Das EM ist meist eine Blickdiagnose. Für die weitere Diagnostik gibt es verschiedene Untersuchungsmethoden. Diese umfassen die Serologie, den kulturellen Borrelien-Nachweis, Polymerase-Kettenreaktion (PCR) -Untersuchungen und Protein-Bestimmungen (Mygland et al. 2010, Stanek et al. 2011, Rauer et al. 2012, Herzer et al. 2014, Krause und Fingerle 2014,

Fingerle et al. 2017). In Tabelle 1.3 wird eine Zusammenschau der Manifestationsformen mit der geeigneten Diagnostik und deren Sensitivität abgebildet.

Die Antikörper (AK) -Bestimmung ist, abgesehen vom typischen EM, obligat. Gegebenenfalls können entsprechende Punktate oder Biopsien zur weiteren Abklärung beitragen. Derzeit werden Untersuchungsverfahren wie die PCR aus Blut oder Urin und der Lymphozytentransformationstest nicht für die Diagnose der LB empfohlen (Wilske et al. 2007 a, Mygland et al. 2010, Stanek et al. 2011, Rauer et al. 2012, Herzer et al. 2014, Krause und Fingerle 2014, Fingerle et al. 2017). Darüber hinaus ist die Untersuchung der Zecke auf Spirochäten nur für wissenschaftliche Zwecke zu empfehlen (Wilske et al. 2007 a, Fingerle et al. 2017).

Manifestation	AK-Nachweis	Sensitivität (%)	Punktat oder Biopsie	Sensitivität (%)
Frühmanifestationen				
EM	Nicht obligat Atypisch: IgM- + IgG-AK	20 - 50	Atypisch: Hautbiopsie	50 - 70
LZ	IgM- + IgG-AK	70 - 90	Atypisch: Hautbiopsie	unbekannt
NB (akut)	IgM- + IgG-AK + intrathekale AK	70 - 90	Liquorpunktat	10 - 30
LK	IgM- + IgG-AK	unbekannt	Myokardbiopsie	unbekannt
Spätmanifestationen				
ACA	IgG-AK	90 - 100	Atypisch: Hautbiopsie	50 - 70
NB (spät)	IgG-AK + intrathekale AK	90 - 100	Liquorpunktat: Kultur und PCR meist negativ	unbekannt
LA	IgG-AK	90 - 100	• Gelenkpunktion und/oder Synovialisbiopsie + PCR • Kultur meist negativ	50 - 70

Tabelle 1.3: Zusammenfassung der indizierten LB-Diagnostik

In Anlehnung an Herzer et al. 2014 und Krause und Fingerle 2014 und Fingerle et al. 2017. ACA Acrodermatitis chronica atrophicans; AK Antikörper; EM Erythema migrans; Ig Immunglobulin; LA Lyme-Arthritis; LK Lyme-Karditis; LZ Lymphozytom; NB Neuroborreliose.

Das Risiko für eine Borrelien-Infektion nach einem Zeckenstich beträgt sowohl in Europa als auch in den USA 2 – 6 %, klinische Manifestationen entwickeln sich aber nur in 1 – 2 % der Fälle (Shapiro et al. 1992, Maiwald et al. 1998). Diese Differenz ergibt sich aus den häufig asymptomatisch verlaufenden Infektionen, welche trotzdem zur Serokonversion führen. Die Seroprävalenz selbst ist regional unterschiedlich. Gesunde Erwachsene zeigen in 5 – 25 % Antikörper gegen *B. burgdorferi* s. l. (Fahrer et al. 1991, Herzer et al. 2014). Borrelien-spezifische Immunglobulin (Ig) G-Antikörper in gesunden Kindern nehmen vor allem ab dem Alter von fünf Jahren zu, davor handelt es sich häufig um maternal übertragene Antikörper. Insgesamt ist die Seroprävalenzrate von Kindern niedriger als die von Erwachsenen, sodass ein positives Testergebnis bei einem Kind einen höheren diagnostischen Wert aufweist (Christen et al. 1993, Christen 1996).

Die in Abschnitt 1.4 genannten seltenen Manifestationsformen der LB erfordern gegebenenfalls eine weiterführende Diagnostik, welche für den Einzelfall individuell zusammengestellt wird. Wenn beispielsweise eine okuläre Symptomatik mit Verdacht auf LB vorliegt und zu diagnostischen Zwecken Kammerwasser extrahiert wird, ist eine PCR-Untersuchung auch aus diesem Material möglich (Stanek et al. 2011).

1.5.1 Serologischer Antikörpernachweis

Für die serologische Untersuchung wird Serum und gegebenenfalls Liquor verwendet und die Antwort des humoralen Immunsystems auf eine Borrelien-Infektion bestimmt. Es handelt sich um ein zweistufiges Verfahren mit einem möglichst sensitiven Suchtest und einem Bestätigungstest hoher Spezifität. Für ersteren wird ein IgM- und IgG-Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) verwendet, welcher bei einem positiven Ergebnis in einem zweiten Schritt bestätigt werden muss. Hierfür bedient man sich eines Immunoblots und nur wenn dieser ebenfalls ein positives Resultat zeigt, gilt der Borrelien-spezifische Antikörpernachweis als erfolgreich (Johnson et al. 1996, Wilske et al. 2007 a, Stanek et al. 2011, Herzer et al. 2014, Krause und Fingerle 2014, Fingerle et al. 2017).

Bei der Serologie handelt es sich um die Standarddiagnostik der LB. Die humorale Immunantwort entwickelt detektierbare IgM-Antikörper circa drei bis sechs Wochen nach der Infektion, IgG-Antikörper benötigen weitere zwei Wochen. Die frühe Immunantwort (IgM betont) richtet sich insbesondere gegen Flagellin, OspC und VlsE (Krause und Fingerle 2014, Fingerle et al. 2017). Die Sensitivität des Immunoblots kann durch die Verwendung rekombinanter Proteine, welche primär *in vivo* exprimiert werden (zum Beispiel VlsE), und durch Kombination homologer Proteine verschiedener Stämme (DbpA) erhöht werden (Wilske et al. 2007 a, Fingerle et al. 2017).

Ein positives Ergebnis beweist aber nicht die Diagnose einer LB (Stanek et al. 2011, Herzer et al. 2014). Beispielsweise können IgM-Antikörper sowohl bei einer akuten Infektion als auch bei einer in der Vergangenheit unbemerkten oder erfolgreich behandelten Infektion nachweisbar sein (Wilske et al. 2007 a, Herzer et al. 2014, Krause und Fingerle 2014). Darüber hinaus können Autoimmunerkrankungen und einige Bakterien wie *Anaplasma phagocytophilum*, der Erreger der ebenso durch Zecken übertragenen Humanen Granulozytären Anaplasrose, *Treponema pallidum* und Viren wie Ebstein-Barr- und Herpes-Viren zu falsch positiven Ergebnissen führen (Johnson et al. 1996, Steere et al. 1998, Wormser et al. 1997, Wilske et al. 2007 a, Mygland et al. 2010, RKI 2013 b, Fingerle et al. 2017). Im Gegensatz dazu kann eine nachweisbare Antikörperbildung bei Immunsuppression ausbleiben (Krause und Fingerle 2014).

Werden beim Auftreten eines EM die Borrelien-spezifischen Antikörper bestimmt, so sind diese in circa 50 % der Fälle noch nicht nachweisbar. Dem gegenüber sind bei früh disseminierten Manifestationsformen die IgM- und IgG-Antikörper in 70 - 90 % positiv. Bei Frühmanifestationen mit negativer Serologie oder einem kurzen Krankheitsverlauf ist gegebenenfalls eine serologische Verlaufskontrolle angebracht. Im Falle von Spätmanifestationen ist das IgG positiv, gelegentlich nachweisbare spezifische IgM-Antikörper haben keine diagnostische Relevanz. Borrelien-spezifische IgG-Antikörper sind häufig auch nach erfolgreicher Therapie weiterhin positiv und eignen sich deswegen nicht zur Therapiekontrolle (Wilske et al. 2007 a, Mygland et al. 2010, Herzer et al. 2014). Bei Verdacht auf NB sind die Borrelien-spezifischen Antikörper in einer Serum- und Liquorprobe desselben Tages zu bestimmen und anschließend der Liquor-Serum-Index (AI) zu ermitteln. Dies erlaubt den Rückschluss auf eine Borrelien-spezifische intrathekale Immunglobulin-Synthese, welche zu den Diagnosekriterien der NB zählt (Mygland et al. 2010, Rauer et al. 2012).

Derzeit werden Versuche zu einem einstufigen serologischen Untersuchungsverfahren durchgeführt, bei dem ein ELISA zum Nachweis von Antikörpern gegen das C6-Peptid-Antigen verwendet wird. Die erfolgreiche Anwendung in Europa ist durch die Heterogenität der Spezies limitiert (Wilske et al. 2007 a, Stanek et al. 2009).

1.5.2 Kultureller Erregernachweis und Polymerase-Kettenreaktion

Als Materialien für den kulturellen Erregernachweis und die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) eignen sich Haut- und Myokardbiopsate sowie Gelenk- und Liquorpunktate (Wilske et al. 2007 a, Herzer et al. 2014, Krause und Fingerle 2014; Fingerle et al. 2017). Der Borrelien-Nachweis aus Blut hat nur eine geringe Sensitivität und wird nicht empfohlen (Wilske et al. 2007 a, Rauer et al. 2012, Herzer et al. 2014, Krause und Fingerle 2014, Fingerle et al.

2017). Gelegentlich können zwei verschiedene Borrelien-Spezies aus einer Probe isoliert werden (Wilske et al. 2007 a und b, Gern 2009).

Die *in vitro*-Kultivierung ist aufgrund der Ansprüche an das Nährmedium von *B. burgdorferi* s. l. schwierig, zeit- und arbeitsintensiv und wird nur von wenigen Laboren durchgeführt (Wilske et al. 2007 a, Fingerle et al. 2007). Es wird ein modifiziertes Kelly-Medium oder ein käuflich erwerbbares Barbour-Stoenner-Kelly-Medium verwendet (Preac-Mursic et al. 1991). Obwohl der kulturelle Erregernachweis Goldstandard ist, führen die lange Generationszeit, die schwierige Kultivierung und die vom Untersuchungsmaterial und der Manifestation abhängige Sensitivität dazu, dass es sich nicht um eine Erstliniendiagnostik handelt (Hof und Dörries 2009, Stanek et al. 2011).

Bei der Polymerase-Chain-Reaction (PCR, Polymerase-Kettenreaktion) handelt es sich um eine *in vitro*-Amplifizierungsmethode bestimmter DNA-Abschnitte, welche an chromosomalen (zum Beispiel *Flagellin*, *p66*, *16S-rRNA*, *5S/23S-rRNA Intergenic Spacer Regions*) beziehungsweise auf Plasmid-lokalisieren (zum Beispiel *ospA*, *ospB* und *ospC*) Genen durchgeführt werden kann (Mullis et al. 1986, Wilske et al. 2007 a).

Auf molekularer Ebene wird in vielfachen Zyklen der zu vervielfältigende DNA-Doppelstrang denaturiert, dann erfolgt die Primer-Anlagerung und in einem dritten Schritt vervollständigt eine DNA-Polymerase den Komplementärstrang. Die PCR wurde durch die Einführung einer thermostabilen Polymerase (*Taq*-Polymerase) aus dem thermophilen Bakterium *Thermus aquaticus* optimiert. Letzteres ist an sein Lebensumfeld in heißen Quellen angepasst, sodass eine Proteindenaturierung bis 95 °C unterbleibt. Die Verwendung der *Taq*-Polymerase mit der Temperaturstabilität macht es möglich, nicht für jeden PCR-Zyklus erneut das Enzym zugegeben zu müssen und verringert somit das Kontaminationsrisiko.

Heutzutage gehört die PCR zum Standard mikrobiologischer Labore und wird in einer Vielzahl von Untersuchungen und Bereichen eingesetzt (Saiki et al. 1988, Holland et al. 1991). Jedoch ist die PCR-Untersuchung nicht standardisiert und variiert stark zwischen verschiedenen Laboren. Bei einem positiven Ergebnis kann eine anschließende Sequenzierung Kreuzreaktionen aufdecken (Stanek et al. 2011, Herzer et al. 2014, Fingerle et al. 2017).

Die DNA-Amplifizierung und eine folgende Sequenzierung wurden im Rahmen dieser Arbeit für die Bestimmung von Heterogenität und der phylogenetischen Abstammungsverhältnisse verschiedener Borrelien-Spezies verwendet.

Sowohl die Kultivierung als auch die PCR werden in unklaren Fällen, bei Immundefizit, während der diagnostischen Lücke seronegativer früher Krankheitsstadien oder bei besonderer Fragestellung angewandt. Die Sensitivität ist abhängig vom Manifestationsstadium und der

Art des Untersuchungsmaterials (Tabelle 1.3) und bei beiden Methoden meist gleichwertig. Ein negativer Befund kann eine Borrelien-Infektion nicht ausschließen. Bei später NB gelingt der Nachweis meist nicht (Wilske et al. 2007 a, Krause und Fingerle 2014, Herzer et al. 2014). Die PCR besitzt bei der LA eine Sensitivität von 50 – 70 %, die Kultur ist meist negativ (Nocton et al. 1994, Wilske et al. 2007 a, Herzer et al. 2014, Krause und Fingerle et al. 2014, Fingerle et al. 2017). Der Borrelien-Nachweis ist in Kultur als auch mittels PCR aus Gewebeproben schwieriger als aus Körperflüssigkeiten (Jaulhac et al. 1996, Wilske et al. 2007 a).

1.5.3 Historie und aktueller Stand des Multilocus Sequence Typings

Vor der Standardisierung des Multilocus Sequence Typing (MLST) wurden verschiedene Methoden wie die DNA-DNA-Hybridisierung, die Sequenzierung der 16S-rRNA, die 5S/23S-rRNA Intergenic Spacer Region-Analyse, die OspA-Klassifizierung und die Untersuchung von Flagellin-Genen zur Speziesbestimmung und -abgrenzung durchgeführt. Die traditionellen Typisierungsschemata waren zu grob und hatten eine zu geringe Sensitivität, um eine genetische Verwandtschaft zwischen Stämmen aufzulösen und die Ergebnisse waren schlecht zwischen verschiedenen Laboren vergleichbar (Fukunaga et al. 1996, Wilske et al. 1996 a, Margos et al. 2011).

Nach der Einführung des MLST im Jahre 1998 ist dieses seit 2006 Bestandteil der LB-Forschung (Maiden et al. 1998, Margos et al. 2009). Es handelt sich um eine Methode zur Sequenzierung der Basensequenz multipler Loci, wobei konservierte Housekeeping-Gene verwendet werden. Das MLST lässt sich bei den meisten Bakterien und haploiden Organismen anwenden (Maiden et al. 1998). Eine detaillierte Beschreibung der Methodik findet sich in Abschnitt 2.1. In der Borrelien-Diagnostik erlaubt die Bestimmung von MLST-Sequenztypen die Zuordnung zu bekannten Borrelien-Spezies. Mit Stand vom 19.08.2017 umfasste die Datensammlung der PubMLST-Homepage für Borrelien 2023 verschiedene Sequenzen, welche 730 differente MLST-Sequenztypen ergeben und über das Internet frei verfügbar sind (www.pubmlst.org, Margos et al. 2015 a). Das MLST erlaubt die Erfassung der genetischen Distanz verschiedener Stämme sowie den Einfluss von Rekombination (Francisco et al. 2009). Die Ergebnisse sollen die klinische Diagnostik verbessern und können für epidemiologisches Monitoring, Pathogenität, Evolution und Populationsstudien verwendet werden (Maiden et al. 1998, Margos et al. 2009, Margos et al. 2011).

1.5.4 Chemokin CXCL13 bei Neuroborreliose

In vielzähligen Publikationen wurde veröffentlicht, dass das C-X-C motif chemokine 13 (CXCL13) im Liquor von NB-Patienten schon zu Beginn der Infektion erhöht ist (Rupprecht et al. 2009, Senel et al. 2010, van Burgel et al. 2011, Schmidt et al. 2011, Kowarik et al. 2012, Rupprecht et al. 2014).

Bei CXCL13, welches auch als B-Lymphocyte Chemoattractant (BLC) und B-Cell-Attracting chemokine-1 (BCA-1) bekannt ist (Kowarik et al. 2012), handelt es sich um ein Chemokin mit anziehender Wirkung auf B-Zellen (Brandes et al. 2000). Produziert wird es von Stromazellen und bindet nach Freisetzung am CXCR5-Rezeptor, um an der Regulierung und Chemotaxis von B-Zellen mitzuwirken (Legler et al. 1998, Zlotnik et al. 1999, Ansel et al. 2000, Moser et al. 2002, Aloisi et al. 2008). Die hohe Konzentration von CXCL13 im Liquor bei NB führt zur Immigration von B-Zellen über die Blut-Liquor-Schranke. Dort reifen diese zu Plasmazellen und können so Borrelien-spezifische Antikörper produzieren. Diese Abfolge erklärt die Beobachtung, dass die CXCL13-Konzentration früher als der Liquor-Serum-Antikörper-Index (AI) steigt (Rupprecht et al. 2006). Darüber hinaus ist der CXCL13-Nachweis sensitiver als der AI (Ljøstad et al. 2008, van Burgel et al. 2011, Tjernberg et al. 2011, Rupprecht et al. 2014) und die CXCL13-Konzentration fällt kurz nach der Einleitung der therapeutischen Borrelien-Elimination ab (Senel et al. 2010). CXCL13 wurde deshalb als spezifischer Marker für die Diagnostik der früher NB vorgeschlagen (Rupprecht et al. 2009, Senel et al. 2010, van Burgel et al. 2011, Schmidt et al. 2011, Rupprecht et al. 2014).

Die CXCL13-Konzentration ist ebenfalls bei zahlreichen anderen Erkrankungen des zentralen Nervensystems wie beispielsweise Multipler Sklerose, Neurosyphilis, Kryptokokkenmeningitis, zerebralen Lymphomen und zerebralen HIV-Infektionen erhöht (Magliozzi et al. 2004, Rupprecht et al. 2007, Fischer et al. 2009, van Burgel et al. 2011, Kowarik et al. 2012, Bremell et al. 2013, Cerar et al. 2013, Rupprecht et al. 2014). Hierbei handelt es sich um seltene Erkrankungen, welche keine klassischen Differenzialdiagnosen der NB darstellen und zudem meist in spezialisierten Zentren der Maximalversorgung betreut werden (Rupprecht et al. 2014).

1.5.5 Meldepflicht in Bayern

Wenn ein EM klinisch oder eine andere LB-Manifestation labordiagnostisch nachgewiesen wird, unterliegen Ärzte in Bayern seit März 2013 einer nicht-namentlichen Meldepflicht. Innerhalb des ersten untersuchten Jahres wurden 6.107 LB-Fälle in Bayern gemeldet, was einer Inzidenz von 48,8 Fällen pro 100.000 Einwohner entspricht. Damit liegt Bayern im bundesweiten Vergleich im oberen Bereich hinter Brandenburg und Mecklenburg-Vorpommern. Die Region Bayerischer Wald weist das höchste Infektionsrisiko für LB auf. Es ließ sich eine deutliche saisonale Meldeaktivität erkennen, welche einen Gipfel von circa 250 Meldungen pro Woche im Juli verzeichnete (Binder et al. 2015). Die Meldepflicht in Bayern ist zunächst bis zum 28.02.2018 befristet (NRZ für Borrelien 2013). In anderen Bundesländern ist eine Meldepflicht bereits seit einigen Jahren ärztlich verpflichtend (Binder et al. 2015).

1.6 Therapie der Lyme-Borreliose

Die Prognose der LB ist gut, denn sie heilt entweder spontan oder nach einer antibiotischen Chemotherapie aus (Krause und Fingerle 2014). Jede Manifestation ist antibiotisch zu behandeln, ein alleiniger serologischer Nachweis Borrelien-spezifischer AK ohne Erkrankungszeichen ist nicht zu therapieren. Ein frühzeitiger Behandlungsbeginn kann eventuelle Spätfolgen vermeiden (RKI 2013 a, Herzer et al. 2014, Krause und Fingerle 2014). Zudem sind die Frühstadien meist einfacher als die Spätmanifestationen zu therapieren (Fingerle und Wilske 2006). Die Therapiemöglichkeiten finden sich in Tabelle 1.4.

Manifestation	Wirkstoff	Dosierung	Therapiedauer (d)
EM, LZ	Doxycyclin	1 x 200 mg/d oder 2 x 100 mg/d p.o.	10 - 21
	Amoxicillin	3 - 4 x 500 - 750 mg/d p.o.	14 - 21
	Cefuroxim	2 x 500 mg/d p.o.	14 - 21
	Azithromycin	2 x 250 mg/d p.o.	10
ACA	Doxycyclin	1 x 200 mg/d oder 2 x 100 mg/d p.o.	30
	Amoxicillin	3 - 4 x 500 - 750 mg/d p.o.	30
	Ceftriaxon	1 x 2 g/d i.v.	21 - 28
	Cefotaxim	3 x 2 g/d i.v.	21 - 28
Akute NB	Doxycyclin	2 - 3 x 100 mg/d p.o.	14
	Ceftriaxon	1x 2 g/d i.v.	14
	Cefotaxim	3 x 2 g/d i.v.	14
	Penicillin G	18 - 24 Mio. IE/d i.v.	14
Späte NB	Ceftriaxon	1 x 2 g/d i.v.	14 - 21
	Cefotaxim	3 x 2 g/d i.v.	14 - 21
	Penicillin G	18 - 24 Mio. IE/d i.v.	14
	Doxycyclin	2-3 x 100 mg/d p.o.	14 - 21
LA	Doxycyclin	1 x 200 mg/d oder 2 x 100 mg/d p.o.	30
	Amoxicillin	3 - 4 x 500 - 750 mg/d p.o.	30
	Ceftriaxon	1 x 2 g/d i.v.	14 - 21
	Cefotaxim	3 x 2 g/d i.v.	14 - 21
LK	Ceftriaxon	1 x 2 g/d i.v.	14 - 21
	Cefotaxim	3 x 2 g/d i.v.	14 - 21
	Penicillin G	4 x 5 Mio. IE/d i.v.	14 - 21
	Doxycyclin	200 - 300 mg/d p.o.	14 - 21

Tabelle 1.4: Therapie der unterschiedlichen Manifestationsformen

Häufig wird bei der Therapie der ACA mit einer i.v.-Therapie begonnen, welche anschließend oralisiert wird. Die Tabelle umfasst Empfehlungen für Erwachsene. In Anlehnung an Rauer et al. 2012, Herzer et al. 2014 und Hofmann et al. 2016. ACA Acrodermatitis chronica atrophicans; EM Erythema migrans; I.E. internationale Einheiten; i.v. intravenös; LA Lyme-Arthritis; LK Lyme-Karditis; LZ Lymphozytom; NB Neuroborreliose; p.o. per os.

Meist ist ein EM eine Blickdiagnose und erlaubt den zügigen Einsatz einer adäquaten antibiotischen Therapie ohne weiterführende Diagnostik (RKI 2013 a, Herzer et al. 2014). Die Therapie schlägt sowohl beim EM als auch beim LZ schnell an, wohingegen eine längere Therapie bei der ACA nötig ist und die Hautatrophie residual verbleibt (Herzer et al. 2014). Eine Metaanalyse von Halperin et al. 2007 ergab keinen statistisch signifikanten Unterschied beim Vergleich des Behandlungserfolges der akuten NB mit parenteralem Ceftriaxon oder Penicillin G und oralem Doxycyclin. Während Doxycyclin bisher meist bei Meningoradikulitis eingesetzt wurde, wird bei schweren Verläufen, bei Hirnparenchyembeteiligung und fehlendem oder verzögertem Ansprechen auf Doxycyclin eine primäre beziehungsweise sekundäre parenterale Therapie durchgeführt. Bei Doxycyclin ist die optimale Tagesdosis derzeit unklar. Bei der chronischen NB wird mit allen eingesetzten Antibiotika unter Ausnahme von Penicillin G eine längere Therapiedauer angestrebt, doch ist die ideale Zeitspanne noch nicht evaluiert. Darüber hinaus besteht für Doxycyclin bei dieser Manifestation nur Evidenzgrad C (Mygland et al. 2010, Rauer et al. 2012). Die LA wird im ersten Therapieversuch mit einem oralen Antibiotikum über 30 Tage behandelt, sollte es jedoch zu einem Rezidiv kommen, wird eine parenterale Therapie angeschlossen (Herzer et al. 2014, Krause und Fingerle 2014). Intraartikuläre Glukokortikoid-Injektionen vor einer antibiotischen Therapie können zur Chronifizierung führen, bei einer ineffektiven Antibiotikatherapie sind die Injektionen aber eventuell hilfreich. Darüber hinaus kann bei rezidivierenden Beschwerden auch eine Synovialektomie in Erwägung gezogen werden. Bei den kardialen Manifestationsformen wird für die Therapie eines AV-Blocks ein orales Antibiotikum bevorzugt, bei einer Karditis eine intravenöse Applikation. Doxycyclin darf nur bei einem AV-Block I° eingesetzt werden und ist bei einem AV-Block III° kontraindiziert (Wormser et al. 2000, Herzer et al. 2014). Bei einem höhergradigen AV-Block besteht zudem die Indikation für Glukokortikoide (Krause und Fingerle 2014). Sowohl in der Schwangerschaft wie auch bei Kindern sind Tetrazykline kontraindiziert, sodass auf Penicillin G, Amoxicillin und Cephalosporine zurückgegriffen wird. Azithromycin kann bei Unverträglichkeiten und Allergien eingesetzt werden (Wormser et al. 2000, Krause und Fingerle 2014). Bei Kindern werden dem Körpergewicht angepasste Antibiotika-Dosen verwendet. Doxycyclin wirkt zudem gegen den Erreger der Humanen Granulozytären Anaplasiose, welcher ebenfalls durch Zecken übertragen wird (Wormser et al. 2000).

Ohne Therapie können Borrelien Monate bis Jahre im Wirt trotz messbarer Immunreaktion und in Anwesenheit von Borrelien-spezifischer Antikörper persistieren (Norris et al. 1995, Hofmann et al. 2016). Eine Borreliose-Infektion hinterlässt keine Immunität und eine Reinfektion ist jederzeit möglich (Herzer et al. 2014).

1.7 Post-Lyme-Syndrom

Beim Post-Lyme-Syndrom handelt es sich um eine unspezifische, bisher nicht eindeutig definierte Krankheitsentität, bei welcher sechs Monate nach einer adäquaten LB-Therapie Symptome persistieren oder neu auftreten. Sie geht mit einer Symptomatik wie einem reduzierten Allgemeinzustand, Fatigue, Myalgien, Arthralgien, Parästhesien, Irritabilität und emotionaler Labilität einher. Häufig treten auch Störungen von Konzentration, Schlaf und Gedächtnis auf. Diese Erscheinungen sind jedoch rein symptomatisch zu therapieren und rechtfertigen nicht den Einsatz einer zusätzlichen oder verlängerten antibiotischen Therapie (Seidel et al. 2007, Stanek et al. 2011, Herzer et al. 2014). Die Betrachtung möglicher Differenzialdiagnosen ist unabdingbar (Seidel et al. 2007, Herzer et al. 2014).

1.8 Prophylaxe der Lyme-Borreliose

Die individuelle Primärprävention von Zeckenstichen ist billig und schadet den Menschen vermutlich nicht, jedoch ist die Effektivität nicht abschließend geklärt (Hayes und Piesman 2003). Letztere ist unter anderem von der Annahme der Maßnahmen in der Bevölkerung und der Mitarbeit des Einzelnen sowie von gesellschaftlicher Zustimmung abhängig (Hayes et al. 1999). Bei der Verhaltensprävention handelt es sich um verschiedene Methoden wie dem Einsatz von Repellentien und langer Kleidung (Hayes und Piesman 2003). Bei einem Aufenthalt mit möglicher Zeckenexposition wird das Tragen langer, heller Kleidungsstücke und das Meiden von hohem Gras angeraten. Nach einem Aufenthalt im Freien soll der ganze Körper einschließlich des behaarten Kopfes nach möglichen Zecken abgesucht werden. Die Zecke wandert vor dem Stich auf der Suche nach einer geeigneten Einstichstelle über die Haut, denn sie zieht geschützte und feuchtwarme Stellen wie beispielsweise Achseln, Bauchnabel und Kniekehlen vor. Ergänzend zum Absuchen des Körpers kann das Duschen Zecken abspülen, wenn diese noch nicht gestochen haben. Das Erhitzen der Kleidung im Rahmen des Waschvorgangs oder im Trockner auf 60 °C führt zum Abtöten daran noch eventuell haftender Zecken (RKI 2013 a). Die korrekte Entfernung der Zecke wird in Abschnitt 1.3.6 erläutert.

Der Vertrieb der sich von 1998 bis 2002 auf dem US-amerikanischen Markt befindlichen Impfung gegen LB wurde wegen zu geringen Verkaufszahlen und der fraglichen Induktion von Autoimmunität eingestellt (Hayes und Piesman 2003). Die Impfung erwies sich bei Hamstern (Lovrich et al. 1995), Hunden (Chang et al. 1995) und Affen (Philipp et al. 1996) als effektiv; im Menschen waren für eine ausreichende Schutzwirkung mindestens drei Impfdosen nötig (Steere et al. 1998). Durch die Impfung wurde der Körper zur Bildung von Antikörpern gegen OspA der Borrelien angeregt, welche bei einem Zeckenstich zur Inaktivierung der Borrelien

im Mitteldarm der Zecke führten und somit die Transmission auf den Wirt verhinderten (de Silva et al. 1996, de Silva et al. 1999, Munderloh und Kurtti 2005). Der Einsatz dieses Impfstoffs wäre für Europa limitiert gewesen, da hier eine größere OspA-Heterogenität herrscht. Neben einem neuen, multivalenten OspA-Impfstoff, für den nach erfolgreicher Phase II-Studie noch die Phase III-Studie aussteht (Wressnigg et al. 2013), fokussiert sich die derzeitige Forschung auch auf OspC (Hansen und Edelman 2003).

Der Verhaltensprävention einzelner Individuen steht die Verhältnisprävention gegenüber, welche primär an der Reduktion des Vektors ansetzt. Hierzu zählen Methoden wie eine biologische oder chemische Zeckenkontrolle sowie eine kontrollierte Verbrennung (Stafford et al. 1991 und 1998, Wilson und Deblinger 1993, Curran et al. 1993, Samish 2000).

1.9 Zielsetzung

B. garinii und *B. bavariensis* sind in Eurasien weit verbreitet und werden erst seit 2009 als differente Spezies definiert (Margos et al. 2009). Sie unterscheiden sich unter anderem in ihrer Wirtstierpräferenz beziehungsweise Komplementresistenz (Kurtenbach et al. 2006, Gern 2008, Taragelova et al. 2008, Dubska et al. 2009, Margos et al. 2011, Vollmer et al. 2011). Es ist für beide Spezies ein Organotropismus zum neurologischen System beschrieben (Barbour und Hayes 1986, Canica et al. 1993, Wilske et al. 1993, Pfister et al. 1994, Richter et al. 2006, Fingerle et al. 2008, Ornstein et al. 2001, Stanek und Strle 2009, Margos et al. 2011). *B. bavariensis* lässt sich häufig in Liquorpunktaten von NB-Patienten und nur selten in Zecken nachweisen, während *B. garinii* in beiden Gruppen häufig gefunden wird (Fingerle et al. 2008). Bisher existieren keine ausreichenden Studien, welche sich auf die aus humanen Probematerialien isolierten *B. garinii* und *B. bavariensis* konzentrieren. Deshalb soll diese Arbeit einen systematischen Überblick der *B. garinii*- und *B. bavariensis*-Infektionen unter Einbezug der MLST-Sequenztypen und der klinischen Symptomatik geben. Die Zielsetzung dieser Arbeit ist im Folgenden formuliert:

- I. Die Heterogenität von den aus humanen Probematerialien isolierten *B. garinii* und *B. bavariensis* wird unter anderem mit phylo- und populationsgenetischer Analyseprogramme zwischen den genannten Spezies verglichen. Anschließend werden die Ergebnisse in den internationalen Kontext der MLST-Datenbank gesetzt. Diese umfasst nicht nur humane Isolate, sondern auch aus Zecken und tierischen Wirten isolierte Stämme. Sie ermöglicht daher die Einordnung der Ergebnisse bezüglich eines geographischen Sequenztyp-Vorkommens, Wirtstieren, Vektoren und der verursachten Klinik einschließlich einer möglichen Vorhersagbarkeit des Krankheitsverlaufes.

- II. Hanincova et al. (2013) postulierte, dass klonale Komplexe unterschiedliche Fähigkeiten aufweisen, disseminierte Infektionen im Menschen auszulösen, und dass der Grad der Pathogenität von Stämmen eines klonalen Komplexes stabil ist. Die Zuordnung der Sequenztypen zu klonalen Komplexen in dieser Arbeit soll eine Tendenz bezüglich lokalisierter oder disseminierter LB-Manifestationen und eine mögliche Korrelation zwischen Sequenztyp und der klinisch verursachten Symptomatik aufdecken.
- III. Die OspA-Typen-Zuordnung im Rahmen einer Serologie, der Bestimmung des Restriktionsfragment-Längenpolymorphismus (RFLP) oder einer OspA-Sequenzierung half in Europa bisher, verschiedene Borrelien-Spezies zu differenzieren. Im Rahmen dieser Arbeit werden die Ergebnisse der OspA- und der MLST-Typisierungen miteinander verglichen, wobei eine größere Genauigkeit der MLST-Ergebnisse anzunehmen ist, da die Grundlage eine Analyse chromosomaler, konservierter Housekeeping-Gene ist. Darüber hinaus werden mögliche Häufungen der MLST-Sequenztypen bezüglich der verschiedenen OspA-Typen betrachtet, um gegebenenfalls eine Korrelation abzuleiten.
- IV. Studien haben erhöhte Konzentrationen des Chemokins CXCL13 im Liquor von NB-Patienten nachgewiesen (Rupprecht et al. 2009, Senel et al. 2010, van Burgel et al. 2011, Schmidt et al. 2011, Kowarik et al. 2012, Rupprecht et al. 2014). In dieser Arbeit wird geprüft, ob CXCL13 in Liquorpunktaten nachweisbar ist, welche für mindestens 15 Jahre bei -20 °Celsius aufbewahrt worden sind. Eine ELISA-Diagnostik erweitert das Wissen über CXCL13 bei NB einschließlich der Relevanz für Diagnostik und Therapiekontrolle. Die Nachweisbarkeit und der Konzentrationsverlauf von CXCL13 wird thematisiert.

Die Betrachtung dieser vier Punkte soll das Wissen über humane LB-Infektionen und deren Erreger erweitern und Fragestellungen aufzeigen, welche in der Zukunft einen intensiveren Forschungsbedarf benötigen.

2 Material und Methoden

Im Folgenden wird die Auswahl der Proben, deren experimentelle Bearbeitung und die MLST-Untersuchung einschließlich der Sequenztypen-Analyse beschrieben. Diese Arbeit konzentriert sich auf die Spezies *B. garinii* und *B. bavariensis*. Darüber hinaus werden die Untersuchungen am Chemokin CXCL13 bezüglich dessen Nachweisbarkeit nach Langzeit-aufbewahrung bei -20 °Celsius im Rahmen akuter und chronischer Neuroborreliose im Abschnitt 2.11 genauer erläutert.

2.1 Multilocus Sequence Typing im Überblick

Das Multilocus Sequence Typing (MLST) ist eine Methode zur Sequenzierung von Basensequenzen multipler Loci, welche sowohl die Datensammlung als auch -analyse umfasst. Die Arbeit von Urwin und Maiden (2003) fasst die generelle Methodik zusammen und Abbildung 2.1 beinhaltet eine schematische Übersicht des Ablaufes. MLST basiert auf der Analyse von konservierten, chromosomal lokalisierten Housekeeping-Genen, in denen die meisten Polymorphismen (Mutationen) nahezu neutral sind. Es handelt sich somit um Mutationen, die keine Aminosäure-Änderung nach sich ziehen (Urwin und Maiden 2003, Margos et al. 2008). Es wird angenommen, dass solche Variationen (d. h. synonyme Mutationen) nicht unter Selektionsdruck stehen und deshalb konstant im Zeitverlauf auftreten, sodass die resultierende genetische Distanz direkt proportional zu der verstrichenen Zeit seit der Divergenz der Allele ist (Francisco et al. 2009).

Im Falle von Borrelien werden die Vorwärts- und Rückwärtssequenzen von acht Housekeeping-Genen (*clpA*, *clpX*, *nifS*, *pepX*, *pyrG*, *recG*, *rplB*, *uvrA*), welche auf dem Chromosom lokalisiert sind, amplifiziert und anschließend wird die Basensequenz bestimmt (Margos et al. 2008, Margos et al. 2010, Wang et al. 2014). Aus den Ergebnissen der acht Genloci wird ein definierendes allelisches Profil aus Alleltypen (AT) erstellt, welches einem Sequenztyp (ST) zugeordnet wird (Margos et al. 2011, Margos et al. 2015 a).

Einen Überblick über die Anwendungsgebiete, Ziele und Vorteile des MLST findet sich in Abschnitt 1.5.3.

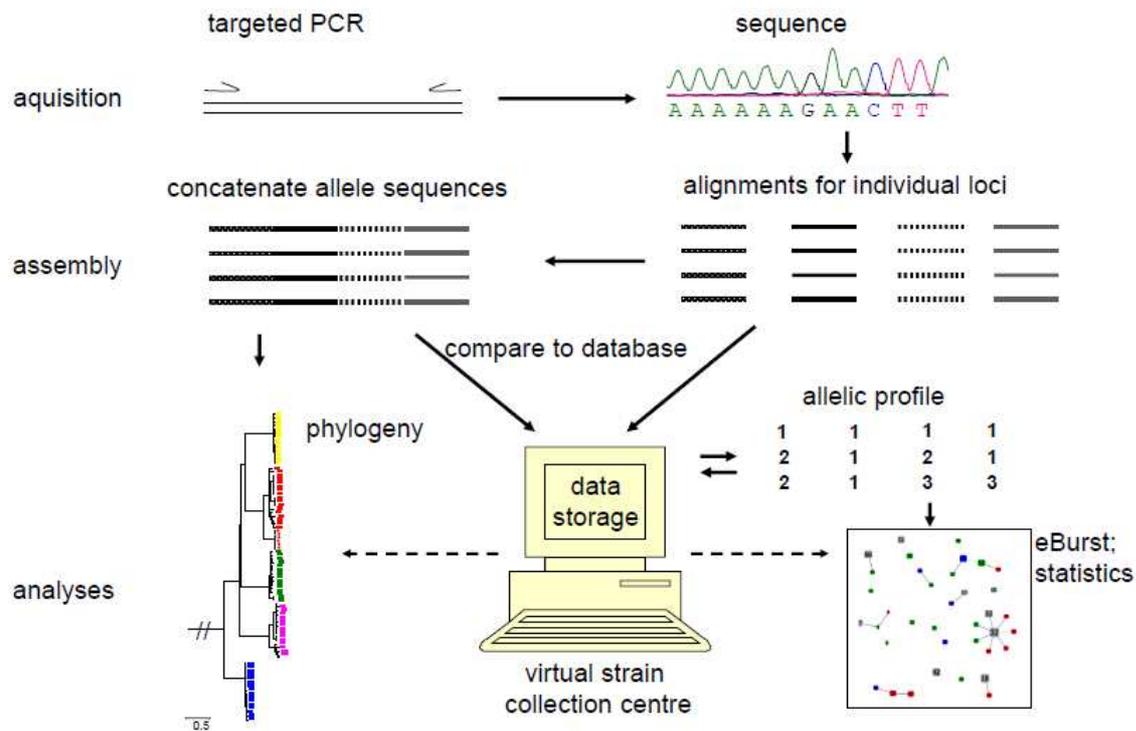


Abbildung 2.1: Schematische Darstellung des Ablaufes einer MLST-Analyse

Mit freundlicher Genehmigung von Dr. rer. nat. G. Margos – Bayerisches Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit.

2.2 Einschlusskriterien

Das Nationale Referenzzentrum (NRZ) für Borrelien wurde im Max von Pettenkofer-Institut in München etabliert und anschließend dem Bayerischen Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit in Oberschleißheim angegliedert. An dieses wurden viele Zecken- und auch Patientenisolate bei Verdacht auf LB gesandt. Die im Rahmen dieser Arbeit untersuchten Isolate stammten aus Deutschland, Österreich, Frankreich und dem ehemaligen Jugoslawien. Bei den eingesandten Probenmaterialien handelte es sich um Zecken, Hautbiopsate sowie Liquor- und Synoviapunktate, aus welchen die Borrelien isoliert wurden.

Um Vergleichbarkeit zu schaffen und standardisierte, fehlerfreie Arbeitsvorgänge zu ermöglichen, wurden Proben mit den folgenden Einschlusskriterien ausgewählt:

- (I) Borrelien isoliert aus korrekt beschriftetem und zuordenbarem Probenmaterial, biopsiert oder punktiert aus Haut, Liquor und / oder Synovia oder isoliert aus Zecken
- (II) Probenentnahme in den Jahren 1984 bis einschließlich 2001

- (III) Probenvolumen ausreichend für eine OspA-Typisierung und die anschließende Weiterbearbeitung einschließlich der MLST-Untersuchung
- (IV) Einschluss der OspA-Typen 3 - 10 oder unsichere OspA-Zuordnung
- (V) Einschluss ohne erneute Sequenzierung von im NRZ-Labor gespeicherten, bereits sequenzierten Proben mit Nachweis von *B. garinii* oder *B. bavariensis* bei gleichzeitiger Erfüllung der Einschlusskriterien (I) bis (IV)

Das Einschlusskriterium (IV) ermöglichte die Auswahl der Spezies *B. garinii* und *B. bavariensis*, da diese respektive durch die OspA-Typen 3 und 5 - 8 beziehungsweise OspA-Typ 4 vertreten werden (Wilske et al. 1993, NRZ für Borrelien 2008, Margos et al. 2009; Abschnitt 1.2.2). Die OspA-Typen 9 und 10 beruhen auf OspA-Sequenz-Untersuchungen zur internen Klassifizierung am NRZ, sie sind nicht publiziert. Bei unsicherer OspA-Typ-Zuordnung erfolgte der Probeneinschluss, um eine möglichst große Stammzahl einzubeziehen und die Spezies-Bestimmung mittels OspA-Typisierung beziehungsweise MLST vergleichen zu können. Wünschenswert war ein vollständig ausgefüllter Patientenfragebogen, welcher jedoch kein Einschlusskriterium darstellte.

Mithilfe der genannten Einschlusskriterien konnten insgesamt 81 Borrelien-Stämme eingeschlossen werden. 17 Stämme des OspA-Typs 4 waren bereits von Frau Dr. rer. nat. G. Margos (Bayerisches Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit, Oberschleißheim) in früheren Untersuchungen sequenziert worden, sodass die folgenden Schritte an insgesamt 64 Proben durchgeführt wurden.

2.3 OspA-Typ-Bestimmung

Der folgende Abschnitt über die OspA-Typisierung dient dem besseren Verständnis der Einschlusskriterien (Abschnitt 2.2). Wilske et al. (1993) differenzierte die Borrelien-Spezies des *B. burgdorferi* s. l.-Komplexes bereits 1993 anhand des OspA-Typs, der eng mit der Spezies-Einteilung korreliert. Diese Möglichkeit wurde verwendet, um die an das NRZ gesandten Borrelien-Stämme den jeweiligen Spezies zuzuordnen. So konnten Stämme der Spezies *B. garinii* und *B. bavariensis* für den Einschluss in diese Arbeit selektiert werden (Abschnitt 2.2, Einschlusskriterium IV).

Das OspA ist ein Lipoprotein auf der Borrelienoberfläche, welches anhand des OspA-Serotyps, der OspA-Sequenz und einer OspA-Typ-Bestimmung mittels Restriktionsfragment-Längenpolymorphismus (RFLP) klassifiziert werden kann. Für die meisten Stämme, die im Rahmen dieser Arbeit untersucht wurden, lag der OspA-Typ bereits zu Beginn dieser Arbeit

vor, da er entweder am Original oder an einer der folgenden Generations-Passagen bestimmt worden war. Eine gezielte Wiederholung der OspA-Typisierung wurde bei unklaren, nicht bestimmbar Ergebnissen oder für den Vergleich von OspA- und MLST-Sequenztypen durchgeführt (Abschnitt 3.1.4). Da auf der OspA-Typ-Bestimmung nicht der Fokus dieser Arbeit lag, wird im Folgenden nur ein kurzer Überblick über die oben genannten Verfahren gegeben.

- (I) Bei der OspA-Serotypisierung wurde der OspA-Serotyp anhand der Reaktion mit verschiedenen monoklonalen Antikörpern im Western Blot bestimmt. Die unterschiedlichen monoklonalen Antikörper reagierten jeweils nur mit einem Epitop der verschiedenen OspA-Typ-Antigene.
- (II) Für die OspA-Sequenz-Bestimmung wurde das *ospA* mittels PCR amplifiziert und anschließend eine Sequenzierung des Amplifikats durchgeführt.
- (III) Bei der RFLP-Bestimmung des OspA-Typs wurde nach Amplifikation mithilfe von Restriktionsendonukleasen die DNA an unterschiedlich lokalisierten Schnittstellen, welche teilweise auch innerhalb einer Spezies differenzieren, geschnitten und anschließend mit einer Gelelektrophorese ausgewertet.

2.4 Kultivierung von *Borrelia burgdorferi sensu lato*

Für den kulturellen Borrelien-Nachweis wurde das Modifizierte Kelly-Pettenkofer (MKP) - Medium verwendet (Preac-Mursic et al. 1986, Preac-Mursic et al. 1991), welches im Labor des NRZ für Borrelien hergestellt wird. Ziel der Kultur war einerseits der mikroskopische Nachweis der LB-Erreger und andererseits die Borrelien-Vermehrung, damit genügend Ausgangsmaterial für die Sequenzierung zur Verfügung stand. Es wurden mehrere Generations-Passagen erstellt. Eine detaillierte Arbeitsanleitung für die Herstellung des Mediums kann Preac-Mursic et al. 1986 entnommen werden. Die benötigten Reagenzien und Arbeitsgeräte für die Kultivierung sind in den Tabellen 7.1 und 7.2 im Anhang aufgeführt. Bei der Mehrheit der eingeschlossenen Proben war zu Versuchsbeginn bereits ausreichend eingefrorene Borrelien-DNA vorhanden, sodass nur für zehn Stämme (PFe, PHC, PMag, PMa, PMel, PMik, PShI, PSma, PWat, PWudII) eine Kultivierung und DNA-Extraktion vorausging.

2.4.1 Anzucht der Borrelien aus dem Patientenmaterial

Die Aufbereitung des Probenmaterials und die Isolation der darin enthaltenen Borrelien war abhängig vom eingesandten Material und wird im Folgenden zusammengefasst:

- (I) Liquorpunktat: Erreichten das NRZ für Borrelien weniger als 1 Milliliter (ml) Liquorpunktat, wurde das komplette Probenmaterial in ein Sieben-Milliliter-MKP-

Röhrchen pipettiert. Bei einem Eingangsvolumen von mindestens 1 ml Liquor wurden 0,5 ml Liquor in ein Sieben-Milliliter-MKP-Röhrchen gegeben. Der restliche Liquor wurde bei 12.000 Umdrehungen pro Minute (UpM) für 20 Minuten zur Borrelien-Konzentrierung zentrifugiert und das Sediment anschließend in ein zweites Sieben-Milliliter-MKP-Röhrchen pipettiert. Der Überstand des Zentrifugats wurde gekühlt aufbewahrt, falls weitere Untersuchungen wie beispielsweise eine Serologie durchgeführt werden sollten.

- (II) Hautbiopsat: Die Hautproben wurden mit physiologischer Natriumchlorid (NaCl 0,9 %) -Lösung bedeckt in das Labor des NRZ für Borrelien gesandt. Die Haut wurde mithilfe einer sterilen Schere in Ober- und Unterhaut getrennt und anschließend in kleine Stücke zerschnitten. Die Oberhaut-Stücke wurden separat von denen der Unterhaut abhängig der Biopsat-Größe in jeweils ein bis zwei Sieben-Milliliter-MKP-Röhrchen gegeben. War mehr als 1 ml der Transport-NaCl-Lösung verblieben, wurde diese in ein weiteres Sieben-Milliliter-MKP-Röhrchen pipettiert. Wenn weniger als 1 ml NaCl-Lösung vorhanden war, wurde diese bei 12.000 UpM für 20 Minuten zentrifugiert und das Zentrifugat-Sediment in ein Sieben-Milliliter-MKP-Röhrchen pipettiert. Da trotz der Hautdesinfektion vor der Biopsie aufgrund der Hautflora des Patienten nicht alle Bakterien entfernt werden konnten, wurden den MKP-Röhrchen mit Hautproben Antibiotika hinzugefügt. In das Röhrchen mit der Oberhaut wurden sechs Plättchen Sulfamethoxazol (SXT, 25 Mikrogramm (μg) /Plättchen), vier Plättchen Fosfomycin (FF, 50 μg /Plättchen) und zwei Plättchen Amikacin (AK, 30 μg /Plättchen) gegeben. In das Röhrchen mit der Unterhaut wurden vier Plättchen SXT, zwei Plättchen FF und ein Plättchen AK hinzugefügt. Diese Antibiotika zeigen weder bakteriostatische noch bakterizide Wirkung auf die Borrelien.
- (III) Gelenkpunktat: 1 ml Synoviapunktat wurde ohne weitere Aufbereitung in ein Sieben-Milliliter-MKP-Röhrchen pipettiert.
- (IV) Eingefrorene Proben: Die in 15-prozentigem Glycerin bei - 70 °C in Eppendorf-Röhrchen eingefrorenen Borrelien wurden aufgetaut und anschließend jeweils 1 ml in zwei Sieben-Milliliter-MKP-Röhrchen überimpft.

2.4.2 Wachstumskontrolle

Die Proben wurden in einem Brutschrank (Heraeus Elektronik, Hanau, Deutschland) bei 33 +/- 2 °C bebrütet. Nach sieben bis zehn Tagen erfolgte eine erstmalige Wachstumskontrolle. Vor einer mikroskopischen Betrachtung wurde das Röhrchen makroskopisch auf Farbe, Konsistenz, Sediment und schwimmende Aggregate untersucht. Eine reine Kultur hatte eine

orange-rötliche, klare Flüssigkeit ohne Sediment und Fremdkörper. Eine Kultur mit starkem Borrelien-Wachstum zeigte eine gelbe und klare Flüssigkeit, in der gegebenenfalls Flocken schwammen. Wirkte das Medium gelb, aber trüb, konnte dies ein Hinweis auf Verunreinigung sein, welche eine mikroskopische Überprüfung erforderte.

Für die Herstellung eines mikroskopischen Präparates wurde mit einer Glaspipette ein Tropfen von circa 50 µl auf einen 76 x 26 mm großen Objektträger gegeben und mit einem Deckglas der Größe 24 x 60 mm abgedeckt. Für die mikroskopische Darstellung wurde das Dunkelfeldmikroskop Dialux 20EB (Leitz, Hexagon Metrology GmbH, Wetzlar, Deutschland) mit einer 400-fachen Vergrößerung verwendet. Bei der mikroskopischen Beurteilung wurde die Anzahl der Spirochäten pro Blickfeld, deren Form und ihre Beweglichkeit beurteilt. Zudem wurde auf mögliche Verunreinigungen durch andere Mikroorganismen, beispielsweise Kokken, Stäbchen oder Pilzhyphe, geachtet. Die möglichen Situationen während der mikroskopischen Betrachtung und das anschließende Vorgehen werden in einem Algorithmus (Abbildung 7.1) im Anhang erschlossen.

2.5 DNA-Extraktion

Da für die folgenden Untersuchungen nur die Borrelien-DNA ohne die weiteren Bakterienkomponenten relevant war, wurde die DNA bei ihrer Extraktion von den restlichen Zellbestandteilen und dem Kulturmedium getrennt. Als Ausgangsmaterial wurden die Sieben-Milliliter-MKP-Röhrchen mit den kultivierten Borrelien (Abschnitt 2.4) für 20 Minuten bei 12.000 UpM/s zentrifugiert (Zentrifuge ZK 401, Berthold Hermle AG, Gosheim, Deutschland). Die DNA-Extraktion selbst wurde mit dem High Pure PCR Template Preparation Kit® (Roche, Grenzach, Deutschland) entsprechend des Protokolls durchgeführt. Der Vorgang bis zum Erhalt einer weiterverarbeitbaren DNA kann in die drei Schritte Bakterien-Extraktion, DNA-Extraktion und DNA-Elution gegliedert werden. Bei der Bakterien-Extraktion wurden die Borrelien von den restlichen Mediumbestandteilen durch Zentrifugation (3000 x g für fünf Minuten, 4515-D-Tischzentrifuge, Eppendorf, Hamburg, Deutschland) getrennt und in phosphatgepufferter Salzlösung (PBS) resuspendiert (Tabelle 7.3). Anschließend wurde die DNA von den weiteren bakteriellen Organellen nach Zellwand-Lyse separiert. Hierfür war eine Inkubation mit Lysozym für 15 Minuten bei 37 °C notwendig (Thermomixer compact, Eppendorf, Hamburg, Deutschland), anschließend wurde mit Binding Puffer und Proteinase K erneut inkubiert. Durch mehrfaches Waschen mithilfe von High Filter und Collection Tubes wurde die DNA aufgereinigt (Tabelle 7.4, Abbildung 7.2). Um die DNA wieder in Lösung zu

bringen, wurde auf 72 °C vorgewärmter Elution Buffer hinzugefügt und anschließend erneut zentrifugiert (Tabelle 7.5).

2.6 Messung der DNA-Konzentration mittels NanoDrop

Ein essentieller Arbeitsschritt zwischen DNA-Extraktion und der anschließenden Vervielfältigung der DNA war die Messung der DNA-Konzentration, da diese einen Einfluss auf das PCR-Ergebnis hat. Der DNA-Gehalts jeder einzelnen Probe wurde mit dem Gerät NanoDrop 1000 Spectrophotometer (Thermo Fischer Scientific Inc., Schwerte, Deutschland) ermittelt, um anschließend eine geeignete Verdünnungsstufe zu finden. Vor der DNA-Entnahme wurde der DNA-Probenbehälter mittels eines Vortexmischers durchmischt und dann 2 Mikroliter (μl) der Probe verwendet. Die DNA-Zielkonzentration, welche im Labor des NRZ für Borrelien bereits bei früheren Versuchen ermittelt wurde, lag bei 5 ng/ μl . In der Tabelle 7.6 ist der jeweilige DNA-Gehalt der Probe und die dazu errechnete Verdünnungsstufe aufgeführt. Die optimale DNA-Konzentration des NRZ für Borrelien ist im Vergleich zu Richtwerten von mindestens 10.000 DNA-Template-Molekülen (Mülhardt 2009) hoch angesetzt. Die Konzentration erwies sich jedoch in früheren Untersuchungen im Verhältnis zur hinzugefügten Primer-Menge im Rahmen der PCR als günstig, sodass aufgrund der guten Ergebnisse die Ziel-Konzentration auch in dieser Untersuchung verwendet wurde. Eine zu hohe DNA-Konzentration birgt die Gefahr, die PCR zu inhibieren (Mülhardt 2009).

2.7 Borrelien-Diagnostik mittels Polymerase-Kettenreaktion

Bei der Polymerase-Kettenreaktion (PCR, Polymerase-Chain-Reaction) handelt es sich um ein *in vitro*-Vervielfältigungsverfahren für DNA (Mullis et al. 1986). Ein Überblick über die Entwicklung der PCR wird in Abschnitt 1.5.2 gegeben. Für die PCR wurde der HotStarTaq® Master Mix (Qiagen, Hilden, Deutschland) verwendet, welcher eine Aktivierungsphase vor den eigentlichen PCR-Zyklen benötigte. Durch eine chemische Reaktion ist das aktive Zentrum der DNA-Polymerase aufgrund einer Blockade essentieller Aminosäuren nicht reaktiv und löst sich erst durch eine Temperaturerhöhung auf 95 °C für 15 Minuten (telefonische Auskunft des technischen Service der Firma Qiagen, Hilden, Deutschland). Anschließend folgte eine Vielzahl an PCR-Zyklen, welche sich jeweils aus den Schritten Denaturierung, Primer-Annealing und Elongation zusammensetzten (Abschnitt 1.5.2 und Abbildung 7.3). Durch den Einsatz einer *Taq*-Polymerase (Abschnitt 1.5.2) können hoher Temperaturen verwendet werden, was die Sensitivität und Spezifität erhöht, eine quantitative PCR-Produkt-

Steigerung und die Amplifikation längerer DNA-Segmente ermöglicht (Saiki et al. 1988, Holland et al. 1991). Im Rahmen der Borrelien-Untersuchung wurde für sieben Housekeeping-Gene eine Touch-Down-PCR verwendet, welche in Abschnitt 2.7.1 erläutert wird. Nach Abschluss der PCR-Zyklen wird für fünf Minuten auf 72 °C erhitzt.

Im Folgenden wird neben der Methode der Touch-Down-PCR (Abschnitt 2.7.1) die Vorbereitung der PCR (Abschnitt 2.7.2) und die PCR der Housekeeping-Gene von *B. garinii* und *B. bavariensis* (Abschnitt 2.7.3) erläutert.

2.7.1 Touchdown-PCR

Die Touchdown-PCR (TD-PCR) wurde ursprünglich entwickelt, um Primer-Fehlbindungen und unspezifische PCR-Produkte zu minimieren. Es handelt sich um eine PCR-Methode, bei der die Annealing („Anlagerungs-“) -Temperatur mit jedem Zyklus gesenkt und somit eine Variable des Untersuchungsansatzes verändert wird (Korbie und Mattick 2008). Die Anzahl der Zyklen, welche nötig sind, um unspezifische Produkte zu minimieren, ergibt sich aus der Effizienz der Amplifikation in den ersten Zyklen mit einer höheren Annealing-Temperatur T_A als der Melting („Schmelz-“) -Temperatur T_M ($T_A > T_M$) (Hecker und Roux 1996).

Eine Bestimmung von T_M geht der PCR voraus. Sie beruht auf dem Verhältnis der Basenanteile A/T gegenüber C/G und kann mit folgender Formel berechnet werden:

$$T_M = 4 \times (G + C) + 2 \times (A + T)$$

Formel 2.1: Berechnung der Melting-Temperatur

Neben der Abhängigkeit der Schmelztemperatur T_M spielen für die Auswahl der Temperatur auch Faktoren wie Puffer und Desoxyribonukleotidtriphosphate (dNTPs) eine wesentliche Rolle (Hecker und Roux 1996, Panjkovich und Melo 2004).

Bei der TD-PCR wird im ersten Zyklus eine Annealing-Temperatur T_A verwendet, welche über der berechneten Schmelztemperatur T_M liegt und durch die kontinuierliche Temperaturabnahme um 1 °C pro Zyklus eine T_A des letzten Zyklus unter der errechneten T_M ergibt (Korbie und Mattick 2008). Dadurch werden die Limitierungen durch die T_M -Berechnung und die stochastische Variation der PCR verringert, sodass quantitativ mehr PCR-Produkt mit gesteigerter Spezifität gewonnen werden kann. In Versuchen wurde evaluiert, dass eine T_A über der berechneten T_M besonders für die Spezifität des PCR-Produkts und eine T_A unterhalb T_M vor allem für die quantitative Menge des PCR-Produkts wichtig ist. Die TD-PCR ermöglicht somit eine großteilig kompromisslose Erhöhung von Spezifität und Menge. Es wird

davon ausgegangen, dass durch die Temperatur $T_A > T_M$ in den ersten Zyklen den spezifischen PCR-Amplifikaten ein Vorsprung für die folgenden Zyklen zur Produktvervielfältigung gegeben wird (Hecker und Roux 1996).

2.7.2 Vorbereitung der PCR

Im Rahmen dieser Arbeit wurde eine einzeitige PCR (Abschnitt 2.7.3) mit den folgenden Vorgehensweisen und Materialien basierend auf den Kriterien von Wang et al. 2014 und laborinternen Vorversuchen des NRZ für Borrelien durchgeführt. Diese Art von PCR wurde unter anderem aufgrund des hohen DNA-Gehalts (5 ng/ μ l, Abschnitt 2.6) und einem Überwiegen der Borrelien-Isolate aus humanen Proben gewählt. Zuerst sind detaillierte Plattenpläne erstellt worden, die neben der Anzahl der DNA-Proben auch deren Well-Zuordnung und Positiv- sowie Negativkontrollen enthielten. Zumeist wurden 96-Well-Platten oder bei geringerer Probenanzahl Einzelröhrchen verwendet. Der nächste Schritt war die Herstellung des PCR-Ansatzes. In den Tabellen 7.7 und 7.8 im Anhang sind die verwendeten Arbeitsgeräte und Reagenzien aufgeführt.

Die verwendeten Primer (Metabion, Planegg, Deutschland) wurden mit einer Konzentration von 100 pmol/ μ l geliefert und mussten im Rahmen der PCR-Vorbereitung mit PCR-grade Wasser verdünnt werden, sodass sich eine Primer-Konzentration von 10 pmol/ μ l für den PCR-Ansatz ergab. PCR-grade Wasser bezeichnet ein Nuklease-freies Wasser, das gereinigt, doppelt destilliert, deionisiert und autoklaviert ist. Die Primer wurden bei - 20 °C gelagert. Die Basensequenzen der Outer Forward- und Reverse-Primer aller acht Housekeeping-Gene sind in Tabelle 7.9 aufgelistet. Die Inner Primer wurden erst nach der PCR im Rahmen der MLST-Vorbereitung relevant. Bei dem Gen *rpIB* steht nur ein Reverse-Primer und bei *nifS* nur ein Forward-Primer zu Verfügung.

Nach Anpassung der Primer-Konzentration wurde in einem zweiten Schritt der Master Mix für die PCR hergestellt. Es wurde der HotStarTaq® Master Mix (Firma Qiagen, Hilden, Deutschland) verwendet. Dieser enthielt bereits *Taq*-Polymerase und PCR-Puffer mit 3 mM Magnesiumchlorid ($MgCl_2$) und 400 μ M jedes dNTPs. Tabelle 2.1 können die nötigen Reagenzien einschließlich des Volumens für einen Einzelansatz entnommen werden. Die Zusammensetzung orientiert sich an laborinternen Standards und Wang et al. 2014.

Zur Berechnung des Gesamtvolumens des benötigten Master Mixes war der Einzelansatz mit der Anzahl der zu amplifizierenden Proben einschließlich der Negativ- und Positivkontrollen zu multiplizieren.

Reagenzien	Menge (µl)
PCR HotStarTaq® Master Mix	15
Outer-Forward-Primer	3
Outer-Reverse-Primer	3
Wasser, PCR-grade	6
Summe	27

Tabelle 2.1. Reagenzien des Master Mixes für den PCR-Einzelansatz

Die Reagenzien (Tabelle 2.1) wurden mit einem Vortex-Labormischer vermischt und in ein steriles Eppendorf-Röhrchen pipettiert. Es war darauf zu achten, dass die bei -20 °C gelagerten Primer vollständig aufgetaut waren und keine gefrorenen Rückstände in der Suspension schwammen. In jedes Well der PCR-Platte (siehe oben) wurden 27 µl PCR-Ansatz pipettiert und anschließend 3 µl der zu amplifizierenden, zuvor gemischten Borrelien-DNA hinzugefügt. Da es sich um DNA-Produkte handelt, waren Pipettenspitzen mit einem sterilen Filter zu verwenden. Für die Negativkontrollen wurde zu dem PCR-Ansatz 3 µl destilliertes, RNAase-freies Wasser anstelle der Borrelien-DNA hinzugefügt. Die Platte wurde mit einer selbstklebenden Aluminiumfolie bedeckt, da diese im Gegensatz zu einer Plastikfolie einen besseren Verdunstungsschutz bei den angestrebten PCR-Temperaturen von 95 °C bot und somit einen quantitativen Vorteil in Bezug auf das gewonnene PCR-Produkt hatte. Die Platte wurde für eine Minute bis zu einer Maximalgeschwindigkeit von 4.000 UpM zentrifugiert (Zentrifuge 5810R, Eppendorf, Hamburg, Deutschland).

2.7.3 PCR der Housekeeping-Gene von *B. garinii* und *B. bavariensis*

Die Auswahl der acht Housekeeping-Gene *clpA*, *clpX*, *nifS*, *pepX*, *pyrG*, *recG*, *rplB* und *uvrA* für ressourcensparende Untersuchungen und aussagekräftige Ergebnisse beruhte auf Voruntersuchungen von Frau Dr. rer. nat. Margos (Margos et al. 2008). Die PCR der Housekeeping-Gene von *B. garinii* und *B. bavariensis* wurde mit dem PCR-Zykler Mastercycler® nexus gradient (Eppendorf, Hamburg, Deutschland) beziehungsweise dem Applied Biosystems 2720 Thermal Cycler (Thermo Fisher Scientific Inc., Schwerte, Deutschland) durchgeführt. Die PCR-Protokolle für das jeweilige Housekeeping-Gen können Tabelle 2.2 und 2.3 entnommen werden. Mit Ausnahme des Gens *recG* wurde für alle Housekeeping-Gene eine TD-PCR durchgeführt. Die Laufzeit betrug circa 80 bis 116 Minuten. Nach Abschluss der PCR kühlte der PCR-Zykler auf 12 °C ab und die PCR-Amplifikate standen zur Verfügung. Die Annealing-Temperatur ist abhängig von dem jeweiligen Housekeeping-Gen und kann Tabelle 2.4 entnommen werden.

Reaktionsschritt	Temperatur (°C)	Dauer (s)	Anzahl der Zyklen
Aktivierung <i>Taq</i> -Polymerase	95	900	
Denaturierung	94	30	9 (-1 °C/Zyklus)
Annealing	60 - 52	30	
Elongation	72	60	
Denaturierung	94	30	40
Annealing	52	30	
Elongation	72	60	
Finale Elongation	72	300	

Tabelle 2.2: Protokoll der TD-PCR

Das Protokoll gilt für die Housekeeping-Gene *clpA*, *clpX*; *nifS*, *pepX*, *pyrG*, *rplB* und *uvrA*. Die ersten 15 Minuten bei einer Temperatur von 95 °C aktivierten die *Taq*-Polymerase (Abschnitt 2.7). Anschließend erfolgte die DNA-Amplifikation in 49 Zyklen wie in Abschnitt 1.5.2 und 2.7.2 beschrieben und Abbildung 7.3 (Anhang) veranschaulicht.

Reaktionsschritt	Temperatur (°C)	Dauer (s)	Anzahl der Zyklen
Aktivierung <i>Taq</i> -Polymerase	95	900	
Denaturierung	94	30	40
Annealing	55	30	
Elongation	72	60	
Finale Elongation	72	300	

Tabelle 2.3: PCR-Protokoll des Housekeeping-Gens *recG*

Für Anmerkungen siehe auch Abschnitt 1.5.2 und 2.7.2, Tabelle 2.2 (in Abschnitt 2.7.3) und Abbildung 7.3 (Anhang).

Housekeeping-Gen	<i>clpA</i>	<i>clpX</i>	<i>nifS</i>	<i>pepX</i>	<i>pyrG</i>	<i>recG</i>	<i>rplB</i>	<i>uvrA</i>
Annealing-Temperatur (°C)	60-52	60-52	60-52	60-52	60-52	55	60-52	60-52

Tabelle 2.4: Annealing-Temperatur der Housekeeping-Gene

Rechnerisch lässt sich der DNA-Gehalt nach Abschluss der PCR mit Formel 2.2 ermitteln (Saiki et al. 1988, Coen 2006).

$$\text{Anzahl DNA-Amplifikate} = 2^n; n = \text{Anzahl der Zyklen}$$

Formel 2.2: Berechnung der Anzahl der DNA-Amplifikate

Bei den Genen *clpA*, *clpX*, *nifS*, *pepX*, *pyrG*, *rplB* und *uvrA* wurde eine TD-PCR mit 49 Zyklen verwendet, sodass sich etwa $2^{49} = 5,6 \times 10^{14}$ Amplifikate ergaben. Für das Gen *recG* mit 30 Zyklen ließen sich $2^{30} = 10^9$ Amplifikate berechnen.

Die Ergebnisse der PCR wurden mit der Agarose-Gelelektrophorese überprüft (Abschnitt 2.8).

2.8 Agarose-Gelelektrophorese

Für eine erste Bewertung der PCR-Produkte wurden die DNA-Amplifikate in einem 1,5%-Agarose-Elektrophoresegel aufgetrennt. Während der Agarose-Gelelektrophorese-Herstellung wurde einige Fotografien angefertigt, welche in Abbildung 2.2 zu sehen sind.

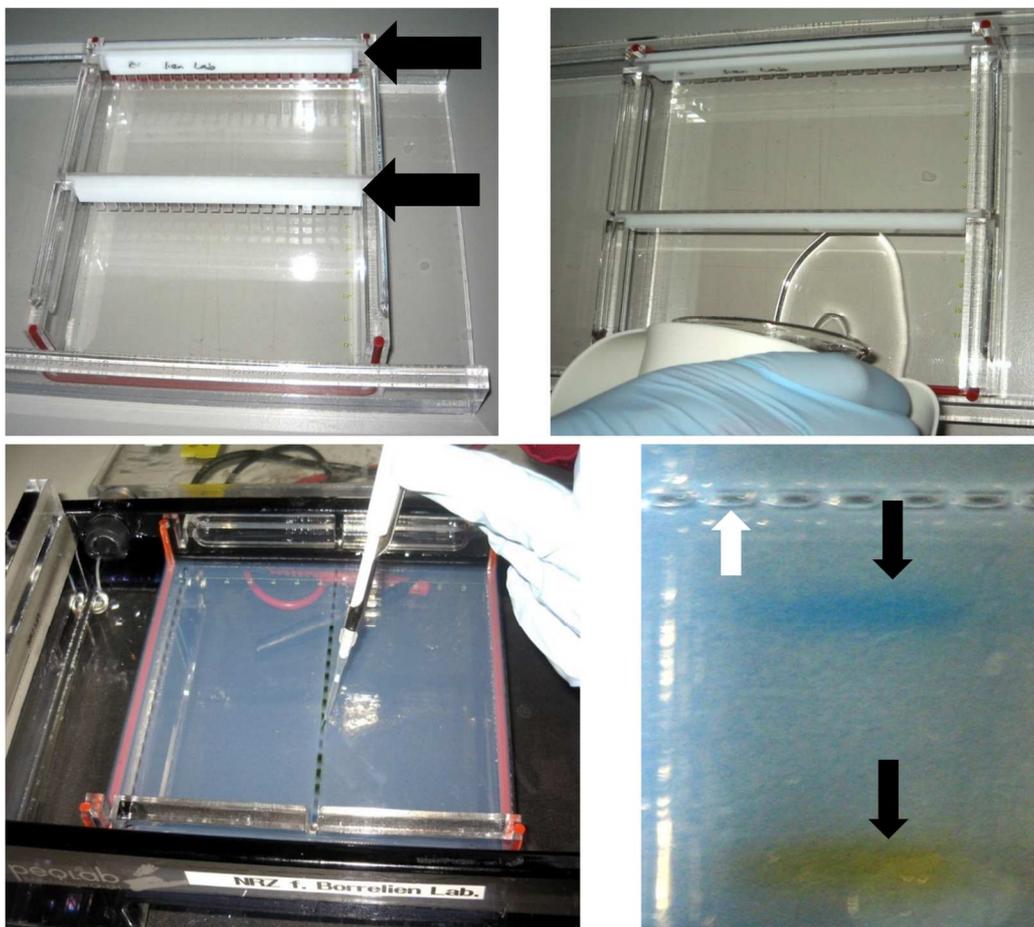


Abbildung 2.2: Herstellung eines Agarose-Elektrophoresegels

Oben links: Die Pfeile markieren die Kämme in der Kammer. Oben rechts: Guss des flüssigen Gels in die Kammer. Unten links: Pipettieren des PCR-Produkts und des Längenstandards in die Geltaschen. Unten rechts: Gel nach der Elektrophorese, der weiße Pfeil markiert eine Geltasche, die schwarzen Pfeile die Elektrophorese-Banden. Quelle: Eigene Fotografien.

Tabelle 2.5 enthält einen Überblick über Herstellung und Auswertung der Gelelektrophorese. Es lief ein Referenzmarker (OGeneRuler 50 bp DNA Ladder, ursp. Firma Invitrogen, Thermo Fisher Scientific Inc., Schwerte, Deutschland) aus DNA-Molekülen verschiedener bekannter Längen mit. Der Längenstandard fungierte für einen Referenzbereich von 50 – 1000 Basenpaaren (bp) bei einer Gellänge von circa acht Zentimetern und einer Laufzeit von einer Stunde. Mit dem Referenzmarker ließ sich der DNA-Gehalt der Banden in ng/0,5 µg und in Prozent angeben. Die benötigten Arbeitsgeräte und Reagenzien sind in den Tabellen 7.7 und 7.8 im Anhang zu finden. Die Gelelektrophorese gibt einen ersten Hinweis auf die Ausbeute der PCR (Voytas 2001). Anschließend erfolgten die Auswertung und Dokumentation der Gele (Abbildung 2.3).

Arbeits-schritt	Reagenz-volumen	Reagenz	Methodik
1	300 ml 4,5 g	TBE-Puffer Agarose	Vermischung und Erwärmung in Mikrowelle (600 Watt, 5 min); Überprüfung auf sichtbare Kristalle
2	18 µl	Gel Real Nucleoid Stain Acid	Hinzufügen und Vermischung mit Magnetrührer
3	-	-	Präparation der Gelkammer
4	-	-	Einfügen des flüssigen Gels in die Gelkammer und Entfernung möglicher Luftblasen
5	-	-	Aushärtung des Gels (30 min), Einlegen in die Elektrophoresekammer (Peqlab Biotechnologie GmbH, Erlangen, Deutschland) und Bedeckung mit TBE-Puffer
6	2 µl	OGeneRuler 50 bp DNA	Einfügen des Längenstandards in einzelne Geltaschen
7	2 µl 6 µl	Loading Dye PCR-Produkt/ NK	Vermischung und Einfügen in die Geltaschen
8	-	-	Betrieb der Gelelektrophoresekammer (160 Ampère, 1 h)
9	-	-	Entnahme des Gels; Abspülen mit destilliertem Wasser
10	-	-	Auswertung, Beschriftung und fotografische Dokumentation mit einer Polaroid-Land-Kamera im Integration-Modus (BioCapt, Darmstadt, Deutschland)

Tabelle 2.5: Herstellung eines Agarose-Elektrophorese-Gels

Gelkonzentration 1,5 %, Kapazität für 100 Proben. Für weitere Ausführungen siehe Text. TBE TRIS-Borat-EDTA, NK Negativkontrolle.

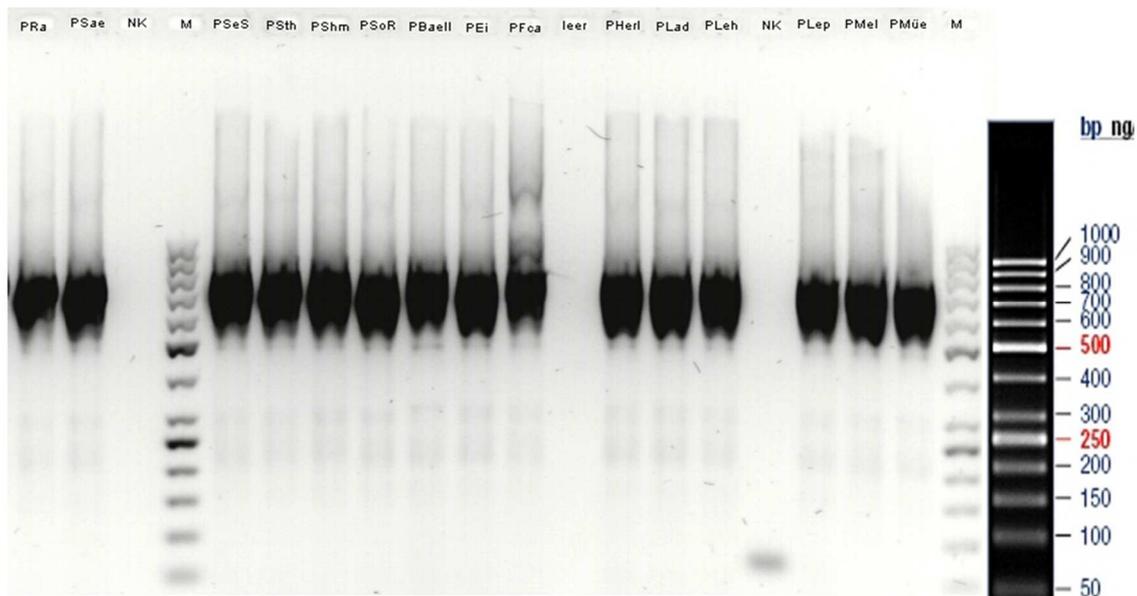


Abbildung 2.3: Fotografie eines Elektrophoresegels am Beispiel von *pyrG*

Im rechten Teil der Abbildung ist eine Lesehilfe für den 50-bp-Längenstandard eingefügt. Die schwarzen Banden in den Lauflinien der Proben lassen die Länge der PCR-Produkte zwischen 500 und 900 Basenpaaren einordnen. Die NK müssen sich zum Ausschluss einer Kontamination oder Verwechslung als richtig negativ erweisen. In der Spalte der zweiten NK von links ist eine hellgraue Bande mit einer Länge von circa 50 bp zu sehen, welche die Oligonukleotid-Zugabe in Form von PCR-Primern darstellt. Es handelt sich um eine Positiv-Fotografie und somit um ein originaltreues Bild. NK Negativkontrolle, M Marker (Lauflinie des Längenstandards). Quelle: Eigene Fotografie, Längenstandard-Referenz ursp. Firma Invitrogen, Thermo Fisher Scientific Inc., Schwerte, Deutschland.

Konnte eine Bande mit der erwarteten Länge der PCR-Produkte im Elektrophoresegel nachgewiesen werden, wurden weitere Arbeitsschritte wie beispielsweise die im folgenden Abschnitt beschriebene Sanger-Sequenzierung angeschlossen.

2.9 Sanger-Sequenzierung

Die Sequenzierungen der PCR-Produkte wurden mittels Sanger-Sequenzierung von den Firmen Source BioScience GmbH (Berlin, Deutschland) und GATC Biotech AG (Köln, Deutschland) durchgeführt.

1977 wurde die sogenannte Sanger-Sequenzierung von Sanger et al. publiziert. Für die Sequenzierung wurde der DNA-Doppelstrang durch Erwärmung in zwei Einzelstränge denaturiert. In vier Reaktionsansätzen wurden der DNA-Einzelstrang mit der zu sequenzierenden DNA-Sequenz, Primer, DNA-Polymerase, ausreichend Desoxyribonukleosidtriphosphate

(dATP, dCTP, dGTP, dTTP) und jeweils ein radioaktiv markiertes Didesoxynukleosidtriphosphat (ddATP, ddCTP, ddGTP, ddTTP) zugegeben. Die Besonderheit an den ddNTP ist, dass der Zuckerring am 3'-C-Atom ein Wasserstoffatom anstelle einer Hydroxygruppe trägt und es somit an dieser Stelle bei der DNA-Elongation zum Kettenabbruch kommt (Abbildung 7.4). Aufgrund der radioaktiven Markierung konnte nach Auftrennung der Produkte mittels Gelelektrophorese einer Basensequenz erkannt werden. In der Weiterentwicklung wurde anstelle einer radioaktiven Markierung ein Fluoreszenz-markierter Farbstoff verwendet, sodass ein einzelner Reaktionsansatz möglich wurde. Eine anschließende Kapillarelektrophorese konnte in Kombination mit einer Laser-Analyse zur Sequenzdetektion verwendet werden (Sanger et al. 1977, Hof und Dörries 2009, Nationales Genomforschungsnetz (NGFN) 2014).

Die PCR-Produkte waren nach der Gelelektrophorese für die Sequenzierung vorzubereiten. Für alle acht Housekeeping-Gene wurde nach dem gleichen Prozess verfahren, indem 5 µl PCR-Amplifikat mit 15 µl destilliertem Wasser und 20 µl Inner Forward- beziehungsweise Inner Reverse-Primer auf eine 96-Well-Platte aufgebracht wurden. Fünf Proben (PHaf, PHei, PKi, PLa, 20047) des Gens *nifS* bildeten eine Ausnahme, da sie eine äußerst schmale Bande im Agarose-Elektrophoreseigel zeigten. Zu diesen Proben wurden lediglich 7,5 µl destilliertes Wasser hinzugefügt, um eine zu starke Verdünnung zu verhindern. Es wurde die Analyse der Vorwärts- und Rückwärts-Sequenz durchgeführt.

2.10 Auswertung der DNA-Sequenzen

Nach der externen Sequenzierung wurden die Daten in Form von ab1-, fas- und seq-Dateien zur Verfügung gestellt. Die Bearbeitung der Daten wurde mit verschiedenen Programmen durchgeführt. Für die Sequenzanalyse wurde Smartgene IDNS® verwendet (Abschnitt 2.10.1) und die Allel- und Sequenztypen wurden mithilfe der MLST-Datenbank bestimmt (Abschnitt 2.10.2). Aus den 81 eingeschlossenen Proben (Abschnitt 2.2) mit Vorwärts- und Rückwärtssequenz von acht Genloci ergaben sich 1.296 Sequenzen zur Analyse. Die Statistik wurde mit einem Online-Rechner kalkuliert (www.socscistatistics.com).

2.10.1 Smartgene IDNS®

Mithilfe des Software-Programms Smartgene IDNS®, Version v3_6_13r3 (r29973) (<https://apps.idns-smartgene.com/apps>, Smartgene, Lausanne, Schweiz), wurde ein Alignment der Sequenzen durchgeführt. Es erlaubte unter anderem die Bestimmung der Sequenzlänge. Es wurden die Vorwärts- und Rückwärtselektropherogramme der Proben hochgeladen und in der Maske „Proofreader“ angezeigt (Abbildung 2.4, 2.5 und 2.6).

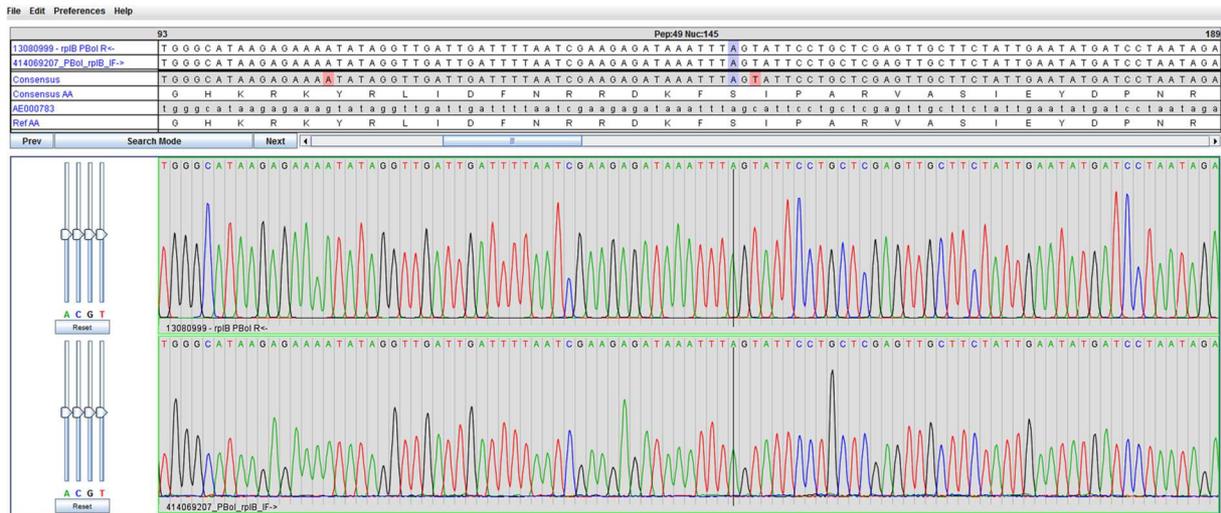


Abbildung 2.4: Beispiel I für ein Sequenzalignment des Gens *rpIB*

Dargestellt ist ein Auszug der Sequenz von Stamm PBoI, ST 86, AT 27, *B. garinii*. Die Nukleotidbasenpeaks werden für Adenin grün, für Cytosin blau, für Guanin schwarz und für Thymin rot dargestellt. Die Höhe des Basenpeaks gibt die Konzentration der jeweiligen Base wieder, kann aber manuell verändert werden, um beispielsweise die Basenpeaks in ein definiertes Verhältnis zu setzen. Im oberen Drittel der Maske wird die Sequenz im Buchstabenformat angezeigt. Die Zahlen links und rechts in der obersten Zeile markieren den Ausschnitt der Sequenz, hier von Base 93 - 189. Des Weiteren kann eine Base blau markiert und deren genaue Peptid- und Nukleotid-Position angezeigt werden, hier Adenin an der Nukleotidbasen-Position 145, Peptid 49. Darüber hinaus wird in der Consensus-Zeile (dritte Zeile von oben) des Proofreaders das Ergebnis der Vorwärts- und Rückwärts-Sequenz markiert. Stimmen diese überein, wird die jeweilige Base angezeigt. Wenn diese rot hinterlegt ist, weicht die Base von der Nukleotidbase der Referenz an dieser Position ab.

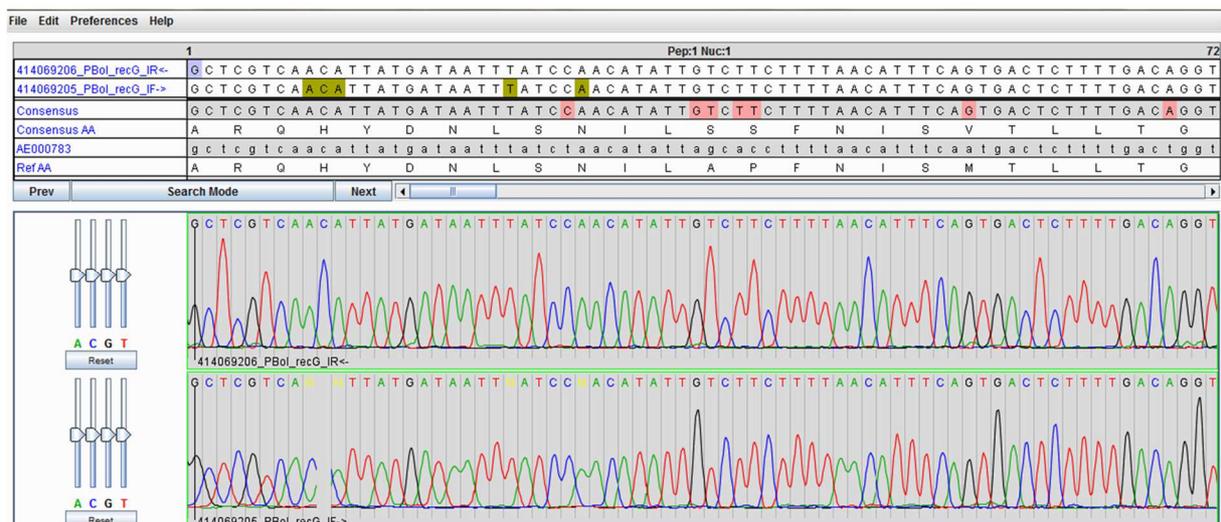


Abbildung 2.5: Beispiel II für ein Sequenzalignment des Gens *recG*

Die olivgrüne Unterlegung der Basen im Buchstabenformat zeigt Bereiche manueller Ergänzungen beziehungsweise Verbesserungen an. Es lässt sich eine schlechte Differenzierung des zwei-gipfligen,

deformierten Basenpeaks von Adenin an der achten und neunten Nukleotid-Position in der Vorwärtssequenz erkennen. Zur Korrektur wurde manuell eine Insertion vorgenommen, um einen Leserasterfehler zu vermeiden.

Bei drei Stämmen (PFCa, PHaf, PWudII) ergaben sich bei der Auswertung mit Smartgene IDNS® Mischsequenzen. Mischsequenzen (MS) sind durch zwei oder mehr Basenpeaks an derselben Position in sowohl der Vorwärts- als auch Rückwärtssequenz an der gleichen Nukleotid-Position gekennzeichnet. Es war bei den genannten Stämmen davon auszugehen, dass DNA von mindestens zwei verschiedenen AT und somit zweier oder mehr Borrelien mit differenten ST vorlag. PWudII zeigte nur im Gen *clpA* eine MS und PHaf nur im Gen *nifS*. Dem gegenüberstehend konnte für PFCa in allen acht untersuchten Genen MS nachgewiesen werden (Abbildung 2.6).

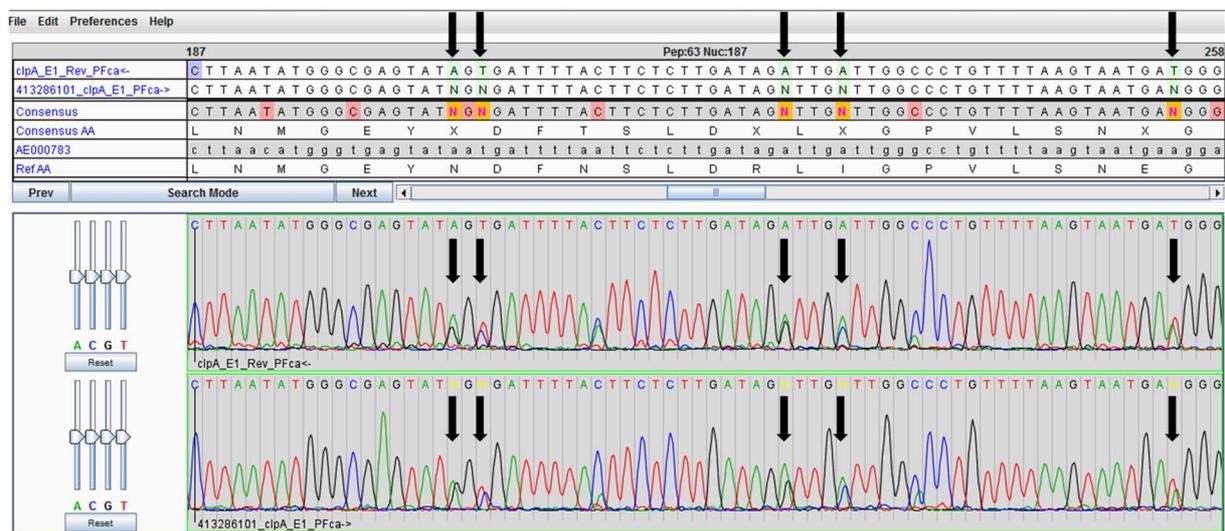


Abbildung 2.6: Sequenzalignment der Mischsequenz PFCa

Gen *clpA*, keine Spezies-Zuordnung möglich. Die Mischsequenz-typischen Basenpeaks sind grafisch mit schwarzen Pfeilen markiert.

Durch die alleinige Betrachtung der MS konnte keine Aussage darüber getroffen werden, welcher Basenpeak im Verlauf einer MS einem AT zugeordnet werden kann. Somit konnten die zwei oder mehr vertretenen AT nicht bestimmt werden. Bei der Betrachtung des alleischen Profils eines Stammes ist dieser auch dann als MS zu klassifizieren, wenn eine MS nur in einem Housekeeping-Gen nachgewiesen werden konnte. Anhand der Sequenz-Analyse kann nur festgestellt werden, dass sich mehr als ein Borrelien-ST in der Probe befindet, jedoch nicht, ob die stechende Zecke zwei oder mehr Borrelien-Stämme mit verschiedenen AT trug oder der Patient von zwei mit Borrelien infizierten Zecken gestochen wurde.

Nachdem die Sequenz-Überprüfung und Korrektur in der Maske „Proofreader“ abgeschlossen waren, war für jede hochgeladene Sequenz unter der Registrierkarte des jeweiligen Gens die Buchstabensequenz zu finden. Diese bestand im Idealfall aus Großbuchstaben. Fanden sich auch Kleinbuchstaben, war die betroffene Base entweder nur durch die Vorwärts- oder die Rückwärtssequenz bestätigt, da die Sequenz im Bereich des Komplementärstranges nicht auswertbar oder nicht vorhanden war. Zudem wurde für jeden eingespielten Stamm ein Stammbblatt ausgefüllt, welches Fragen zu Fundort, Isolationsjahr und weitere Daten aufführte.

2.10.2 Allel- und Sequenztyp-Bestimmung mithilfe der MLST-Datenbank

Mithilfe des Smartgene IDNS®-Softwareprogramms (Abschnitt 2.10.1) ließen sich die Basensequenzen der amplifizierten Gene anzeigen. Um anschließend den Allel- und Sequenztyp zu bestimmen, wurde auf die MLST-Datenbank zugegriffen (www.pubmlst.org, The Department of Zoology, University of Oxford, Vereinigtes Königreich Großbritannien und Nordirland, Kuratorin für Borrelien: Dr. rer. nat. G. Margos). So wird ein elektronischer Austausch von vergleichbaren Informationen zwischen Laboren ebenso wie die internationale Sammlung großer Datenmengen mit einheitlicher Nomenklatur und freiem Zugriff für Interessierte möglich (Maiden et al. 1998, Urwin und Maiden 2003, Aanensen und Spratt 2005).

Nach Auswahl von „*Borrelia spp.*“ und „Profile and sequence definitions“ sowie „Sequence query“ konnten der AT und dessen Sequenzlänge bestimmt werden (Abbildung 2.7). War kein übereinstimmender AT zu finden, konnte die Basensequenz in einem vorherigen Schritt falsch bestimmt worden sein, ein Übertragungsfehler der Basensequenz stattgefunden haben oder es konnte sich um eine neue Basensequenz handeln, welche in der vorliegenden Form noch nicht in der Datenbank hinterlegt war.

Die acht AT ergeben in Zusammenstellung einen ST, welcher ebenso mit der MLST-Datenbank bestimmt wurde. Abbildung 2.8 stellt das Einfügen von den AT in die Maske dar. Wenn ein unvollständiges allelisches Profil vorlag, war keine Bestimmung des ST möglich. Durch die Auswahl des ST ließen sich die bereits in der MLST-Datenbank gespeicherten Isolate mit dem gleichen ST inklusive zusätzlicher Informationen wie beispielsweise Fundort, Spezies sowie Isolationsjahr und -quelle anzeigen.

Sequence query - *Borrelia* locus/sequence definitions

Please paste in your sequence to query against the database. Query sequences will be checked first for an either DNA or peptide sequences. [?](#)

— Please select locus/scheme — — Order results by —
 clpA locus

— Enter query sequence (single or multiple contigs up to whole genome in size) —

```
GTTTAAAGTAATGAAGGGTATTATGAATCTACTAGATTTTTTAATTTTTAAACAAATCT
TCTAATTCATTATTTTTCTATCAGATTTTGATAAAATGTAACAAAAGGGTTTTAGATTTT
TTTTTGGAAAGGATTTAAACAGGCAAGCTTTTTGATGGTCTTGGGAAAAAGGTAAGTTTA
TCAGAAAGTTAATAGTAATAAGTATTAATGCTGAGGGCAATGAGCTTAATAGTATTGGC
TTTAAAAATAAAATGACAGGGGAAAATGATTTTAATCTTATATTAGAGAAGAGATTTTCT
AATGAATTTTTAGAGTTAATAGATTATGTTCTTTTATTT
```

1 exact match found.

[Translate query](#)

Allele	Length	Start position	End position
clpA: 42	579	1	579

Abbildung 2.7: AT-Bestimmung mit der MLST-Datenbank am Beispiel des Gens *clpA*

Stamm PHe, Alleltyp 42, Sequenzytp 86, Spezies *B. garinii*. Zuerst ist der Locus zu wählen und die Basensequenz zu übertragen. Der Hinweis „1 exact match found“ nach „Submit“ bedeutet, dass eine genaue Übereinstimmung der eingegebenen Basensequenz mit Referenzsequenzen vorhanden ist.

Search *Borrelia* locus/sequence definitions database by combinations of loci

— Please enter your allelic profile below. Blank loci will be ignored. — Autofill profile

clpA	clpX	nifS	pepX	pyrG	recG	rplB
42	27	29	38	29	36	27
uvrA						
33						

ST: [Autofill](#)

Options Display/sort options Action

Search: Order by: [Reset](#) [Submit](#)

Exact or nearest match ST ascending Display: records per page [?](#)

Exact matches found (8 loci).

1 record returned. Click the hyperlink for detailed information.

ST	clpA	clpX	nifS	pepX	pyrG	recG	rplB	uvrA	clonal complex
86	42	27	29	38	29	36	27	33	

Analysis tools:

Export: [Sequences](#)

Abbildung 2.8: ST-Bestimmung mit der MLST-Datenbank am Beispiel von PHe (ST 86)

2.10.3 PHYLOViZ

Das Programm PHYLOViZ (www.philoviz.net, Feil et al. 2004, Francisco et al. 2009) setzt verschiedene Stämme aufgrund ihres allelischen Profils miteinander in Verbindung und kann über farbige Kodierungen weitere Merkmale einbeziehen. Traditionelle Clustertechniken wie beispielsweise Dendrogramme repräsentieren klonale Komplexe nur schlecht, da sie kürzlich eingetretene evolutionäre Veränderungen nicht korrekt abbilden (Feil et al. 2004). Das Programm PHYLOViZ verwendet den goeBURST (global optimal eBURST) -Algorithmus, der grafisch auf die Verwandtschaft zwischen zwei und mehr Stämmen unter Berufung auf das allelische Profil schließen und zudem den Gründer-Genotyp des klonalen Komplexes ermitteln lässt. Dies basiert auf der Vorstellung, dass ein Genotyp in einer Population häufiger aufgrund eines Selektionsvorteils oder eines zufälligen genetischen Drifts wird und die Diversität einer Population durch die Ansammlung von Mutationen und Rekombinationen steigt. Unter dieser Annahme widerfahren einem Gruppenfounder im Laufe der Zeit Mutationen und Rekombinationen, sodass ein zunächst enger Komplex von phylogenetisch nah verwandten Stämmen entsteht. Stämme, welche sich nur in einem Housekeeping-Gen unterscheiden, werden als Single Locus Variants (SLV) bezeichnet und analog werden Double Locus Variants (DLV) und Triple Locus Variants (TLV) definiert. Ziel von PHYLOViZ ist die verständliche und anschauliche Identifizierung und Vernetzung von verschiedenen Stämmen zu klonalen Komplexen, wobei diese Komplexe nicht als statisch zu betrachten und stark von den vorhandenen Daten abhängig sind. Klonale Strukturen einer Population können mit PHYLOViZ quantitativ beschrieben werden (Feil et al. 2004, Francisco et al. 2009). PHYLOViZ ist kostenlos zugänglich und erfordert eine Java-Applikation. Unter anderem kann die Analyse von Datenmaterial auch online durchgeführt werden.

Bei der Verwendung des Programms bedeutet ein Tree cut-off-Wert x , dass alle Verbindungen zwischen Nodes von allelischen Profilen mit x oder mehr allelischen Differenzen gelöscht werden. Die Größe des Kreissymbols ist proportional zu der Anzahl der Stämme des jeweiligen ST, aber logarithmisch skaliert (Log Scale-Option). Die Länge der Verbindungen zwischen den Kreissymbolen ist direkt proportional zu der Anzahl der Unterschiede, wobei die Skalierung nicht linear ist. In Abschnitt 3.1.3 werden die Ergebnisse im Rahmen dieser Arbeit mit PHYLOViZ genauer betrachtet.

2.10.4 MEGA – Molecular Evolutionary Genetics Analysis

Mit dem Programm MEGA 7.0 (Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0, www.megasoftware.net) wurden im Rahmen dieser Dissertation unter anderem phylogenetische Stammbäume erstellt (Tamura et al. 2011, Tamura et al. 2013, Kamura et al. 2016) (Abschnitt 3.1.2, 3.1.3 und 3.3). Die Anwendung von MEGA 7.0 beruht auf der effizienten Kalkulation des Programms und der Genauigkeit der Vorhersage der berechneten Stamm-

bäume (Tamura et al. 2011, Tamura et al. 2013). Die derzeit frei verfügbare Option bietet die Möglichkeit, die Daten zeitlich zu skalieren, was bei der Betrachtung der molekularen Evolution entscheidend ist (Tamura et al. 2013). MEGA 7.0 erlaubt im Vergleich zu der vorherigen Version die Bearbeitung größerer Datensets (Kumar et al. 2016). Wie Tamura et al. (2011) zusammenfasst, verwendet MEGA bei der Generierung von Stammbäumen den Neighbor-Joining-Algorithmus, welcher auf der Matrix der paarweisen Distanz-Berechnung bestimmt mit dem Jones-Thornton-Taylor-Modell für Aminosäuresequenzen oder dem Tamura-Nei-Modell für Nukleotidsequenzen beruht. Anschließend wird von dem Programm die Astlänge des Stammbaumes an die vorliegenden Daten angepasst. Der Durchschnitt und die Standardabweichungen der erstellten Stammbäume waren in Tamura et al. (2011) sehr ähnlich zu den tatsächlichen Werten und zwischen dem automatisch generierten und wahren Stammbaum nahezu identisch.

2.10.5 Spatialepidemiology

Das Programm Spatialepidemiology (www.spatialepidemiology.net) erlaubt unter der Voraussetzung, dass die geographischen Koordinaten bekannt sind, die Beschreibung von geografischen Variationen von Erkrankungen (Elliott und Wartenberg 2004). In dieser Arbeit wurde das Programm beispielsweise zur Anordnung von LB-auslösenden Zeckenstichen auf einer geografischen Karte verwendet.

2.11 CXCL13

Liquor von Patienten mit NB oder Neurosyphilis wurde nach Abschluss laboratorischer Routineuntersuchungen im NRZ für Borrelien bei -20 °C aufbewahrt. Laborwerte und klinische Daten wurden gesammelt, mit der Probe vernetzt und anschließend anonymisiert. Folgende Einschlusskriterien wurden zur Untersuchung der Nachweisbarkeit von CXCL13 in Liquor nach Langzeitlagerung definiert:

- (I) Einzelne Liquorprobe oder eine Folge von Liquorpunktaten von Patienten mit gesicherter NB oder Neurosyphilis
- (II) Dokumentation des exakten Entnahmedatums
- (III) Entnahme der Probe vor oder innerhalb der ersten drei Tage nach Therapiebeginn; im Falle einer Probenserie ist diese Anforderung nur für die erst entnommene Probe obligat
- (IV) Probevolumen von mindestens 200 µl
- (V) Aufbewahrung der Liquorprobe für mindestens 15 Jahre; im Falle einer Probenserie ist diese Anforderung nur für die erst entnommene Probe obligat

Die Liquorproben von insgesamt zwölf Patienten erfüllten die oben genannten Einschlusskriterien. Elf Patienten wurden mit gesicherter NB gemäß den Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Neurologie (Rauer et al. 2012) und den European Federation of Neurological Societies (EFNS) -Richtlinien (Mygland et al. 2010) diagnostiziert, bei einem Patienten lag eine gesicherte Neurosyphilis vor.

Für die quantitative CXCL13-Bestimmung wurde der Human CXCL13/BLC/BCA-1 Immunoassay Quantikine (R&D Systems Minneapolis, MN, USA) verwendet. Interne Analyse-Validierungen von Liquorproben mit dem genannten Immunoassay wurden am NRZ für Borrelien durchgeführt, das Kit wird dort auch für die Routinediagnostik von CXCL13 eingesetzt. Das Kit wurde entsprechend den Empfehlungen des Herstellers angewandt. Bei dem Kit handelt sich um einen Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) mit solider Phase. Ein ELISA ist ein Testverfahren, welches Antikörper und einen Farbumschlag zum Nachweis einer Substanz nutzt. Die Wells der 96-Well-Platte waren mit einem rekombinanten, monoklonalen Antikörper, welche spezifisch für BLC/BCA-1 ist, überzogen. Zuerst war eine Standardverdünnungsreihe zu erstellt werden (Tabelle 2.6). Es wurde ein Standard von 500 pg/ml als Höchststandard definiert. Mit einem Calibrator Diluent RD6-41 wurde über sechs Schritte bis zu einem Nullstandard mit reinem Calibrator Diluent RD6-41 (0 pg/ml) verdünnt. Assay Diluent RD1S und Standard, Probe oder Kontrolle wurden in die Wells eingefügt. Die weitere Abfolge von Waschzyklen und Inkubationen kann Tabelle 2.6 entnommen werden. Color Reagenzien A und B wurden miteinander vermischt und in die Wells pipettiert. Eine anschließende Inkubation unter Lichtausschluss wurde durch Zugabe einer Stop Solution beendet. Die optische Dichte wurde mit einem BEP III (Behring ELISA Prozessor III, Siemens Healthcare GmbH, Erlangen, Deutschland) bei 450 Nanometer (nm) analysiert und die CXCL13-Konzentrationen wurden gemäß einer Referenzkurve berechnet. Die gemeinsame Verwendung von BEP III und dem Quantikine-Immunoassay erlaubten die Bestimmung von CXCL13-Konzentrationen über 7,8 pg/ml, aber eine Differenzierung von Werten über 500,0 pg/ml war ohne eine Verdünnung mit Calibrator Diluent RD6-41 (1 : 10 beziehungsweise 1 : 100) nicht möglich. Ein cut-off-Wert von 250 pg/ml erlaubte eine hohe Spezifität bei gleichzeitig guter Sensitivität, welcher auf Validierungen des NRZ für Borrelien und verschiedener Publikationen basierte (Senel et al. 2010, van Burgel et al. 2011, Tjernberg et al. 2011, Rupprecht et al. 2014).

Arbeits-schritt	Reagenz-volumen (µl/Well)	Reagenz	Methodik
1	nach Verdünnungsreihe	Standard, Calibrator Diluent RD6-41	Erstellung einer Standardverdünnungsreihe (250 pg/ml; 125 pg/ml; 62,5 pg/ml; 31,2 pg/ml; 15,6 pg/ml; 7,8 pg/ml; 0 pg/ml)
2	100 50	Assay Diluent RD1S Standard/Probe/ Kontrolle	Einfügen auf ELISA-96-Well-Platte, Inkubation (Raumtemperatur RT, 2 h)
3	400	Wash Buffer	Waschvorgang: 4 x
4	200	BLC/BCA-1 Konjugat	Hinzufügen und anschließende Inkubation (RT, 2 h)
5	400	Wash Buffer	Wiederholung von Arbeitsschritt 3
6	200 200	Color Reagenz A Color Reagenz B	Vermischung von Color Reagenzien A und B, Inkubation unter Lichtausschluss (RT, 30 min)
7	50	Stop Solution	Beendigung der Inkubation
8	-	-	Messung der optischen Dichte

Tabelle 2.6: Arbeitsschritte in der CXCL13-Diagnostik

2.12 Qualitätskontrolle der experimentellen Untersuchungen

Bei PCR, MLST und CXCL13-ELISA waren fehlerfreie Durchführungen der Untersuchungen unter optimierten Arbeitsbedingungen ausschlaggebend für eine hohe Ergebnisqualität und die anschließende Datenanalyse

Eine Degradierung der Borrelien-DNA durch Probegewinnung, Proben transport und Aufbewahrung ist möglich (Aguero-Rosenfeld et al. 2005). Wiederholtes Auftauen und Einfrieren von DNA, Liquorpunktaten und Reagenzien wie beispielsweise Primern wurde vermieden. Eine einheitliche Prozessierung der Proben wurde angestrebt.

Allgemein wurde bei allen Arbeitsschritten das Tragen von Handschuhen und Laborkittel und teils Schutzbrillen eingehalten. Darüber hinaus wurden nur Pipettenspitzen mit integrierten, sterilen Filtern verwendet. Vor den Versuchen wurden exakte Plattenpläne erstellt, um Verwechslungen zu vermeiden.

Da es sich bei PCR um eine hochempfindliche Methode handelt, wurden möglichst viele Vorkehrungen getroffen, um Kontaminationen und Verwechslungen zu vermeiden. Der Master Mix für die PCR wurde auf einer sterilen Werkbank angefertigt. Die Zusammenführung der DNA mit dem Master Mix erfolgte auf einer räumlich getrennten Werkbank. Die Werkbänke waren mit

Abzügen ausgestattet. Negativkontrollen in Form von Master Mix und destilliertem Wasser erfolgten sowohl bei der PCR als auch in der anschließenden Agarose-Gelelektrophorese mit. Eine Positivkontrolle in Form des Agarose-Elektrophoresegels wies Banden als Ergebnis für eine erfolgreiche PCR-Reaktion auf.

Die Sanger-Sequenzierung erfolgte in dafür spezialisierten Zentren. Bei nicht auswertbaren Sequenzen wurden diese unter teils optimierten Bedingungen wiederholt und gegebenenfalls erneut PCR-Amplifikate an die Firmen gesandt.

Der CXCL13-ELISA erfolgte entsprechend des Protokolls des Herstellers. Die Inkubationszeiten wurden streng eingehalten, um gleichwertige Ergebnisse in verschiedenen Untersuchungen zu erlangen. Nach Zugabe der Stop-Lösung (Schritt 7, Tabelle 2.6) schloss sich eine zügige Weiterbearbeitung und Bestimmung der optischen Dichte an (Schritt 8).

3 Ergebnisse

Im Folgenden werden die Multilocus Sequence Typing (MLST) -Ergebnisse den entsprechenden Allel- und Sequenztypen von *B. garinii* und *B. bavariensis* zugeordnet und anschließend auf phylo- und populationsgenetischer Ebene analysiert (Abschnitt 3.1.1 bis 3.1.3). Anschließend werden die MLST- und die OspA-Typing-Methode gegenübergestellt (Abschnitt 3.1.4). Der folgende Abschnitt (3.2.1 bis 3.2.5) fokussiert sich auf die Analyse der verschiedenen LB-Manifestationen sowie den direkten Vergleich der genannten Spezies unter klinischen Gesichtspunkten. In Abschnitt 3.3 werden die Daten der MLST-Datenbank für *B. garinii* und *B. bavariensis* einbezogen und eine Gegenüberstellung der identifizierten Sequenztypen durchgeführt. Abschließend wird die Nachweisbarkeit von CXCL13 in akuter und chronischer Neuroborreliose behandelt (Abschnitt 3.4).

Im gesamten Kapitel ist zu beachten, dass es sich bei der Analyse der an das NRZ für Borrelien gesandten Stämme um eine retrospektive Betrachtung mit einer kleinen Fallzahl handelte. Das Patientengut war präselektiert, da im Allgemeinen nur Probematerialien von Fällen mit schwieriger oder unklarer Diagnostik sowie hoher Krankheitsaktivität an das NRZ für Borrelien gesandt werden. Da jedoch bisher kaum Informationen über den Zusammenhang von Klinik und Genetik vorliegen, soll die folgende Betrachtung unter anderem als Ansatzpunkt zur Hypothesengenerierung für weitere Studien verstanden werden.

3.1 Diversität und Populationsstruktur von *B. garinii* und *B. bavariensis*

Das MLST hat sich als eine reproduzierbare und skalierbare Technik für eine genaue Charakterisierung von überwiegend Prokaryoten einschließlich der Identifizierung pathogener Varianten erwiesen (Maiden et al. 1988, Aanensen und Spratt 2005). Es basiert auf der Sequenz-Analyse von Housekeeping-Genen (Abschnitt 1.5.3 und 2.1). Die Housekeeping-Gene für *B. burgdorferi* s. l. wurden so gewählt, dass sie sich für epidemiologische, evolutionäre und populationsgenetische Analysen eignen (Margos et al. 2008).

Im Rahmen der folgenden molekulargenetischen Betrachtung wird auf die MLST-Ergebnisse eingegangen und die Alleltypen (AT) und Sequenztypen (ST) im Kontext der absoluten und relativen Häufigkeiten, der Spezies und phylogenetischen Beziehungen betrachtet.

3.1.1 Allel- und Sequenztypen

Insgesamt wurden 81 Proben anhand der Einschlusskriterien ausgewählt (Abschnitt 2.2) und mittels MLST analysiert. Für jede Probe wurden acht Housekeeping-Gene untersucht, die

sich jeweils einem AT und in Zusammenschau des allelischen Profils einem ST zuordnen ließen (Abschnitt 2.10.2; Margos et al. 2011, Margos et al. 2015 a).

Bei den Proben handelte es sich um zwei aus Zecken isolierte Bakterien-Stämme (IP90 – *I. persulcatus*, 20047 – *I. ricinus*), während alle weiteren Proben aus Human-Materialien stammten. Diese teilten sich in 39 Liquorproben, 38 Hautbiopsate und zwei Synovia-Isolate auf (Tabelle 3.1). Den größten Anteil machte die Spezies *B. garinii* mit 43 Isolaten inklusive der aus den Zecken isolierten Borrelien-Stämme aus. Des Weiteren wurden 32 *B. bavariensis*-Stämme untersucht. Zwei Isolate (PBael und PBaell) stammten aus einem Hautbiopsat und einem Liquorpunktat eines Patienten mit dem gleichen Entnahmedatum. Drei *B. afzelii*-Stämme wurden aufgrund einer falschen OspA-Zuordnung analysiert und werden bei der weiteren Ergebnis-Betrachtung nicht aufgegriffen. Zudem ergaben sich drei Mischsequenzen (MS; PFCa, PHaf, PWudII), welche sich keiner Spezies zuordnen ließen (Abschnitt 2.10.1).

Probematerial	<i>B. garinii</i>	<i>B. bavariensis</i>	<i>B. afzelii</i>	MS
Liquor	23	14	1	1
Haut	17	17	2	2
Synovia	1	1	0	0
Zecke	2	0	0	0
gesamt	43	32	3	3

Tabelle 3.1: Probematerialien der 81 isolierten Borrelien-Stämme

Die *B. afzelii*-Isolate wurden aufgrund des Einschlusskriterium IV analysiert und sind für die weiteren Untersuchungen im Rahmen dieser Arbeit nicht relevant. MS Mischsequenz.

64 Isolate sind im Rahmen dieser Doktorarbeit erstmals sequenziert worden. Eine Übersicht über die sequenzierten Stämme und die ermittelten AT und ST findet sich in Tabelle 7.12 im Anhang.

Bei differenzierter Betrachtung der AT zeigte *B. garinii* eine größere Heterogenität als *B. bavariensis*. Je nach Housekeeping-Gen fanden sich bei der erstgenannten Spezies zwischen acht (*nifS*, *recG*) und zwölf (*uvrA*) verschiedene AT, während sich die *B. bavariensis*-Stämme nur im Gen *nifS* mit dem AT 27 für den ST 84 oder dem AT 28 für den ST 85 unterschieden. Im Anhang sind die absoluten Häufigkeiten der AT aller acht Housekeeping-Gene der 43 *B. garinii*-Isolate in Form von Balkendiagrammen dargestellt (Abbildung 7.5 bis 7.12). Insgesamt ergaben sich unter den 648 untersuchten Allelen zwölf neue AT (*clpA*: 185, 186, 187; *clpX*: 147; *nifS*: 134; *pepX*: 159, 160; *recG*: 170; *rpIB*: 144, 145; *uvrA*: 160, 161), welche erstmals in dieser Arbeit beschrieben wurden (Tabelle 7.12). Im Anhang sind die Basensequenzen der neuen AT zu finden, auf welche auch online über die MLST-Datenbank zuge-

griffen werden kann (www.pubmlst.org). In Tabelle 7.13 ist zur Vollständigkeit die Genbasenverteilung der eingeschlossenen Stämme dargestellt.

Die allelische Heterogenität von *B. garinii* im Vergleich zu *B. bavariensis* spiegelte sich auch auf Ebene des ST wider. Insgesamt zeigten die einbezogenen *B. garinii*- und *B. bavariensis*-Stämme 21 verschiedene ST. Die absoluten Häufigkeiten sind in Abbildung 3.1 dargestellt. Der ST 84 war mit 28 Stämmen der häufigste ST und ließ sich der Spezies *B. bavariensis* zuordnen, welche nur einen weiteren ST (ST 85) umfasste. Die 28 Isolate mit ST 84 stammten von nur 27 Patienten, da PBael und PBaell aus unterschiedlichen Probematerialien (respektive Haut und Liquor) eines Patienten isoliert wurden. *B. garinii* wies mit 18 verschiedenen ST eine wesentlich höhere Diversität als *B. bavariensis* auf und der ST 86 war mit neun Stämmen innerhalb dieser Spezies am häufigsten. *B. garinii* umfasste sechs neue ST (573, 574, 575, 576, 577, 578; Tabelle 7.12) aufgrund neuer AT. Zudem lag bei Stamm PRef (*B. garinii*) ein weiterer neuer ST (482) vor, welcher auf einer bisher nicht in der Datenbank hinterlegten Kombination bereits bekannter AT beruhte. Insgesamt war *B. garinii* folglich auch bei der ST-Betrachtung heterogener als *B. bavariensis*.

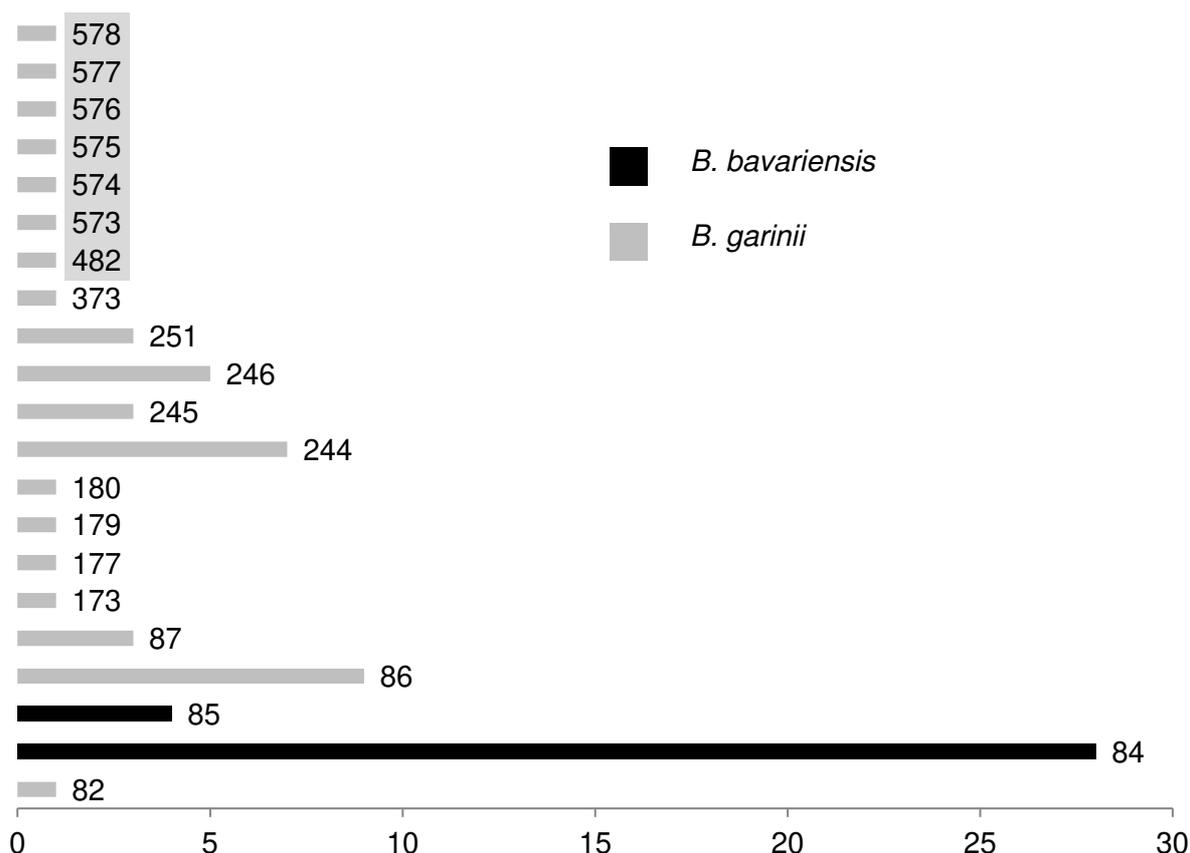


Abbildung 3.1: Absolute Häufigkeiten von *B. garinii*- und *B. bavariensis*-ST

Einschluss von 75 Stämmen (n (*B. garinii*) = 43, n (*B. bavariensis*) = 32). Die Ziffer rechts des Balkens gibt den Sequenztyp (ST) wider. Die im Rahmen dieser Arbeit neu zur MLST-Datenbank hinzugefüg-

ten ST sind grau hinterlegt (482, 573, 574, 575, 576, 577, 578). Die Grafik verdeutlicht anschaulich die Heterogenität von *B. garinii* im Vergleich zu *B. bavariensis*, wenn die Verteilung der grauen und schwarzen Balken betrachtet wird.

Es gab keinen erkennbaren Zusammenhang zwischen dem Jahrgang des Materialeingangs und dem ST. Hierbei wurden die Stämme mit späten LB-Manifestationsformen ausgeschlossen, da in diesen Fällen das Probeneingangsdatum und der Jahrgang der Borrelien-Akquisition nicht miteinander gleichgesetzt werden sollten.

3.1.2 Genetische Variabilität von *B. garinii* und *B. bavariensis*

Das Programm MEGA 7.0 (Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0) eignete sich für die statistische Analyse der genetischen Daten. Die Grundlagen von MEGA 7.0 werden in Abschnitt 2.10.4 erörtert. Es wurde angewandt, um eine genetische Variabilität zwischen den Spezies zu erkennen.

Eine Übersicht des Basengehalts der Stämme findet sich in Tabelle 7.13 im Anhang. Isolate des gleichen ST zeigten die gleiche Basenkomposition.

Die Pairwise Distance gibt die Anzahl der substituierten Basen zwischen zwei Sequenzen wider (Tabelle 7.15, Rahmenparameter: Substitutionsmodell: Nukleotide; Kimura-2-Parameter-Modell). Je größer die Pairwise Distance, desto weiter entfernt ist die Verwandtschaft der betrachteten Stämme. Die Pairwise Distance der *B. garinii*-Stämme ($n = 43$) rangierte zwischen 0 und 0,013. Der Minimalwert der Distanzbetrachtung kam zustande, wenn es sich um Stämme des gleichen ST handelte. Die größte Distanz von 0,013 fand sich zwischen PMag und PNov sowie PMag und IP90. Dies legt eine Sonderstellung des Stammes PMag im Rahmen der europäischen Lyme-Borreliose nahe (für weitere Erläuterungen siehe auch Abbildung 3.3, Abschnitt 3.3 und 4.3). Bei der Betrachtung der aus Zecken isolierten Stämme zeigte IP90 zu den weiteren *B. garinii*-Stämmen eine mittlere Pairwise Distance von 0,012 und der Stamm 20047 von 0,010. Die Pairwise Distance von *B. bavariensis* unterschied sich nur zwischen den Stämmen mit ST 84 und ST 85.

Die Overall Mean Distance (d) ist das arithmetische Mittel aller individuellen Pairwise Distances der eingeschlossenen Taxa, sie betrug für *B. garinii* $d = 0,007$. Für die *B. bavariensis*-Stämme ($n = 31$) ergab sich $d = 0,0000485$. Diese zeigten eine engere Verwandtschaft als die *B. garinii*-Stämme. Die Overall Mean Distance beider Spezies betrug $d = 0,012$.

In Tabelle 7.16 sind die Overall Mean Distances der einzelnen Housekeeping-Gene für *B. garinii* und *B. bavariensis* aufgeführt. Bei *B. garinii* war diese am größten für das Gen *uvrA* und am geringsten für *clpX*. Für die Spezies *B. bavariensis* gab es nur im Gen *nifS* eine zu berechnbare Distanz, da sich die ST 84 und 85 nur in diesem einzelnen AT unterschieden.

In Tabelle 3.2 ist das Ergebnis des Tajima Neutrality Test (Rahmenparameter: Substitutionsmodell: Nukleotide, Tajima`s Test of Neutrality) dargestellt. Die Variable π gibt die Nukleotid-Diversität an. Je geringer die Nukleotid-Diversität ist, desto näher verwandt ist die betrachtete Taxa. Wie zu erwarten, zeigte *B. garinii* eine größere Nukleotid-Diversität als *B. bavariensis*.

Spezies	n	S	P _s	π
<i>B. garinii</i> (n = 43)	43	2979	0,623613	0,034965
<i>B. bavariensis</i> (n = 31)	31	1	0,000209	0,000049

Tabelle 3.2: Tajima Neutrality Test

S: Anzahl der Segregating Sites; $P_s = S/m$, wenn m: totale Anzahl an Sites; π : Nukleotid-Diversität pro Site.

3.1.3 Populationsstruktur von *B. garinii* und *B. bavariensis*

Im Folgenden sollen die ST auf Basis des allelischen Profils bezüglich ihres Verwandtschaftsgrades miteinander in Verbindung gesetzt werden. Die Verwendung des goeBURST-Algorithmus erlaubt eine Darstellung der Verwandtschaft bakterieller Isolate anhand des allelischen Profils. Diese Methode wurde speziell zur Analyse von MLST-Daten entwickelt (Feil et al. 2004) und später von Francisco et al. (2009) ausgearbeitet. Die zugrundeliegenden Theorien und eine Erläuterung des Programms finden sich in Abschnitt 2.10.3. Abbildung 3.2 zeigt das Ergebnis der PHYLOViZ-Bearbeitung der eingeschlossenen *B. garinii*- und *B. bavariensis*-Stämme. Die zugrundeliegenden Daten für die Erstellung von Abbildung 3.2 sind in Tabelle 7.14 hinterlegt.

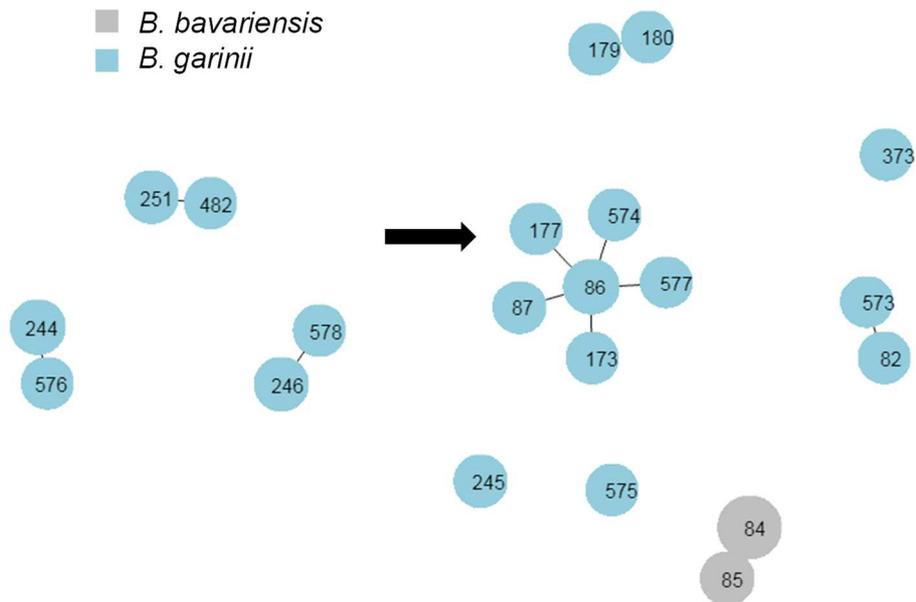


Abbildung 3.2: Phylogenetische Übersicht von *B. garinii* und *B. bavariensis*

Eingeschlossen waren 43 *B. garinii* (blaue Markierung) - und 31 *B. bavariensis* (graue Markierung) - Isolate. In der Abbildung wurde ein nLV von 6 verwendet. Das heißt, dass die verbundenen ST in mindestens sechs AT übereinstimmen. Die Größe des Kreissymbols ist proportional zu der Anzahl der Stämme des jeweiligen ST, jedoch nicht linear. ST 86 ist Gruppenfounder eines klonalen Komplexes (CC 86, markiert mit einem Pfeil). Weitere Nodes sind vom Gruppenfounder abgespalten und formieren sich meist zu Pärchen, die sich in einem einzelnen AT differenzieren: ST 573 und 82 unterscheiden sich in *pyrG* (respektive AT 159, 36). Ebenso im Gen *pyrG* variiert der ST 179 mit AT 82 vom ST 180 mit AT 87. ST 576 und 244 weichen im Gen *clpA* (AT 186 und 48) voneinander ab. Darüber hinaus unterscheiden sich ST 482 und 251 im Gen *uvrA* (AT 154 und 85). ST 246 und 578 unterscheiden sich in zwei AT. Die ST 245, 373 und 575 stellen sich als singuläre Nodes dar, da sie sich von den anderen Sequenzen in mehr als zwei AT unterscheiden.

Abbildung 3.3 zeigt die *B. garinii*-Stämme in einem Maximum Likelihood Tree, der mit dem Programm MEGA 7.0 berechnet wurde (Rahmenparameter: Substitutions-Modell: Nukleotide; Tamura-Nei-Modell; ML Heuristic Method: Nearest-Neighbor-Interchange (NNI)). Ähnlich wie in Abbildung 3.2 sind einige Stämme einzeln oder in Pärchen abgetrennt.

Es lässt sich zusammenfassen, dass bei dem Vergleich von Abbildung 3.2 und 3.3 keine Aussage über Rekombination möglich war, da die Stämme mit Ausnahme eines klonalen Komplexes nur Minor-Komplexe bildeten.

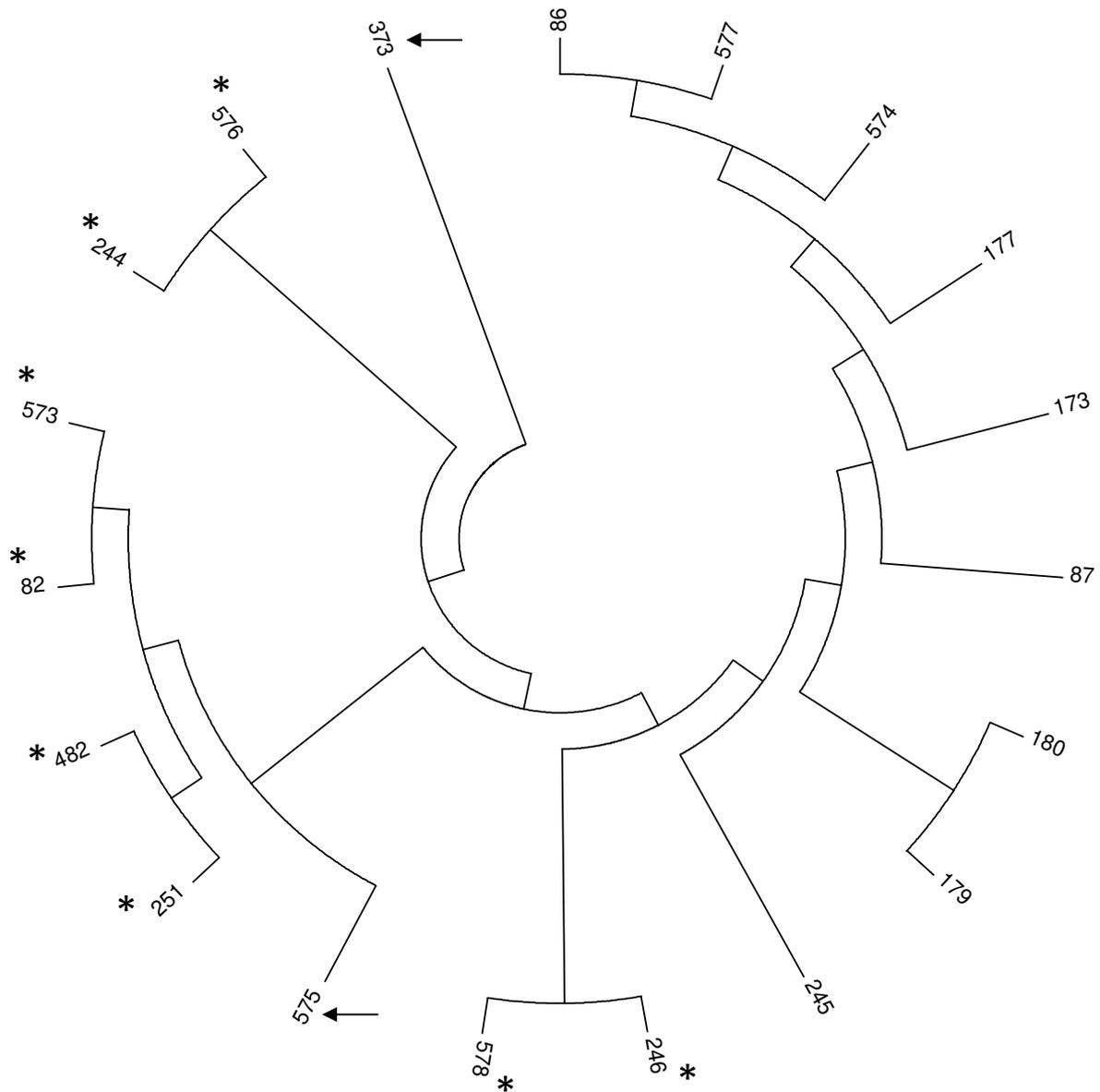


Abbildung 3.3: Maximum Likelihood Tree von *B. garinii* (n = 43)

In Analogie zu Abbildung 3.2 sind die dort in Pärchen abgetrennten Stämme hier ebenso nebeneinander in einer Gabelung gruppiert (markiert mit einem Stern; 576 und 244; 573 und 82; 482 und 251; 578 und 246). Diese unterscheiden sich in einem Housekeeping Gen (ST 576 und 244 respektive AT *clpA* 186 und 48; ST 573 und 82 respektive AT *pepX* 159 und 36; ST 482 und 251 respektive AT *uvrA* 154 und 85). Das Pärchen 578 und 246 differenziert sich in *pepX* (AT 96 und 99), *rplB* (AT 145 und 79) und *uvrA* (AT 33 und 87). Die Pfeile markieren ST 373 und 575, welche in Abb. 3.2 einzelne Singletons darstellen. Die im rechten oberen Quadranten abgebildeten ST (ST 577, 574, 177, 173 und 87) unterscheiden sich vom ST 86 in einem einzelnen Housekeeping-Gen. Sie bilden den klonalen Komplex CC 86 (s. a. Abbildung 3.2). Die Stellung von ST 373 ist zu beachten, welcher aus einer *I. persulcatus*-Zecke in Russland isoliert wurde, während alle weiteren Isolate aus Europastämmen, wo der Vektor gewöhnlicherweise *I. ricinus* ist (Abschnitt 1.3.2).

3.1.4 Zusammenhang zwischen dem OspA- und MLST-Sequenztyp

Der Outer surface protein A (OspA)-Typ ist für die meisten Stämme bereits im Vorfeld dieser Arbeit ermittelt worden (Abschnitt 2.3) und wird in diesem Kapitel mit dem MLST-ST verglichen.

Borrelia garinii und Borrelia bavariensis

Insgesamt flossen die 41 *B. garinii*-Isolate aus humanen Probematerialien und die 32 *B. bavariensis* in diese Auswertung mit ein. *B. garinii* umfasst die OspA-Typen 3, 5, 6, 7 und 8, während *B. bavariensis* durch den OspA-Typ 4 repräsentiert wird (Wilske et al. 1993, NRZ für Borrelien 2008, Margos et al. 2009; siehe auch Abschnitt 1.2.2 und 2.3). Die OspA-Typen 9 und 10, welche auf einer im NRZ für Borrelien internen, nicht validierten Klassifizierung beruhen, wurden nur bei Zeckenisolaten (IP90 und 20047) festgestellt und nicht in den Patientenisolaten gefunden.

Die Bestimmung des OspA-Typs erfolgte mittels OspA-Sequenz und/ oder Restriktionsfragment-Längenpolymorphismus (RFLP). Die OspA-Sequenz (n = 72) und der RFLP-Typ (n = 73) stimmten in 72 Fällen überein (Tabelle 7.17), die OspA-Sequenz von PMag konnte wiederholt nicht bestimmt werden. Bei dem Stamm PSma konnte nicht zwischen OspA 3 und 7 sowie bei PBe nicht zwischen OspA 5 und 6 auch nach der Wiederholung des RFLP differenziert werden. Eine Aufteilung der OspA-Typen bezüglich der Probematerialien gibt Tabelle 3.3 wider. Auffällig war eine Dominanz des OspA-Typs 6 isoliert aus Liquorpunktaten. Der OspA-Typ 4 wurde durch 14 Liquor-, 17 Haut- und einer Synovia-Probe repräsentiert und zeigte somit keine Präferenzen zwischen den Probematerialien Liquor und Haut.

OspA-Sequenz/ RFLP	Liquor	Haut	Synovia	gesamt
3	4	3	0	7
5	2	6	0	8
6	12	5	1	18
7	2	1	0	3
8	2	1	0	3
4	14	17	1	32
gesamt	36	33	2	71

Tabelle 3.3: Verteilung der OspA-Typen in den unterschiedlichen Probematerialien

OspA-Typen 3 – 5: *B. garinii*; OspA-Typ 4: *B. bavariensis*; Zuordnung siehe Text. Eingeschlossen sind *B. garinii*- (n = 39; ohne PBe und PSma) und *B. bavariensis* (n = 32) –Isolate. 56,4 % der *B. garinii*-Stämme wurden aus Liquorpunktaten isoliert. RFLP Restriktionsfragmentlängenpolymorphismus.

In Tabelle 3.4 ist der Zusammenhang zwischen den OspA-Typen und den MLST-ST dargestellt (siehe auch Abbildung 3.4). Der OspA-Typ 6 zeigte eine Häufung des ST 86 mit neun Isolaten, daneben fanden sich der ST 87 mit drei Proben und weiteren sechs ST, die jeweils nur einmal in dieser Arbeit vorlagen. Keiner dieser ST war in einer anderen OspA-Typ-Gruppe vertreten. Von sieben Stämmen, welche in der MLST-Untersuchung den ST 244 ergaben, wurden sechs als OspA-Typ 3 bestimmt. Zudem zählte das Isolat PSma hinzu, für welches nicht zwischen OspA-Typ 3 und 7 differenziert werden konnte und der Stamm folglich nicht in Tabelle 3.4 eingeschlossen wurde. Der ST 245 fand sich zweimal bei OspA-Typ 8 und einmal bei Typ 5 beziehungsweise 6, da das OspA-Ergebnis für den Stamm PBe nicht eindeutig zu interpretieren war. Letzterer ist deshalb nicht in Tabelle 3.4 inkludiert. In der Gruppe des OspA-Typs 8 fand sich neben dem ST 245 noch ein Vertreter des ST 251 (Stamm PRas). Eine Wiederholung des OspA-RFLP der Probe PRas ergab konsistent den OspA-Typ 8. Zwei weitere Stämme wiesen ST 251 auf, wurden aber OspA-Typ 7 zugeordnet. Mit Ausnahme der genannten Stämme ließen sich alle ST nur einem OspA-Typ zuordnen, wobei viele ST mit einer nur geringen absoluten Häufigkeit auftraten und somit eine repräsentative Beurteilung nicht zuließen.

OspA-Sequenz/ RFLP	Probenanzahl	MLST-ST-Häufigkeiten (Anzahl)
3	7	244 (6) 576 (1)
5	8	246 (5) 173 (1) 573 (1) 575 (1)
6	18	86 (9) 87 (3) 177 (1) 179 (1) 180 (1) 574 (1) 577 (1) 578 (1)
7	3	251 (2) 482 (1)
8	3	245 (2) 251 (1)

Tabelle 3.4: Vergleich zwischen dem OspA- und MLST-Sequenztyp

Eingeschlossen sind *B. garinii*- (n = 39, ohne PBe und PSma) -Isolate. Mit Ausnahme von ST 251 ließen sich alle ST nur einem OspA-Typen zuordnen. Jedoch sind die geringen absoluten Häufigkeiten der meisten ST zu beachten. Die *B. bavariensis* (n = 32; ST 84 und 85) -Isolate wurden ausgeklammert, da diese konform den OspA-Typ 4 zeigten. Diese ST ließen sich bei keinem anderen OspA-Typen finden. RFLP Restriktionsfragmentlängenpolymorphismus.

In Abbildung 3.4 sind die Ergebnisse des OspA-/MLST-ST-Vergleichs in einem PHYLOViZ-Diagramm dargestellt. Die „Profile Data“ sind Tabelle 7.24 und die „Isolate Data“ Tabelle 7.17 zu entnehmen. Diese Grafik verdeutlicht, dass die einbezogenen *B. garinii*- und *B. bavariensis*-Stämme gut mittels OspA-Typisierung unterscheidbar waren.

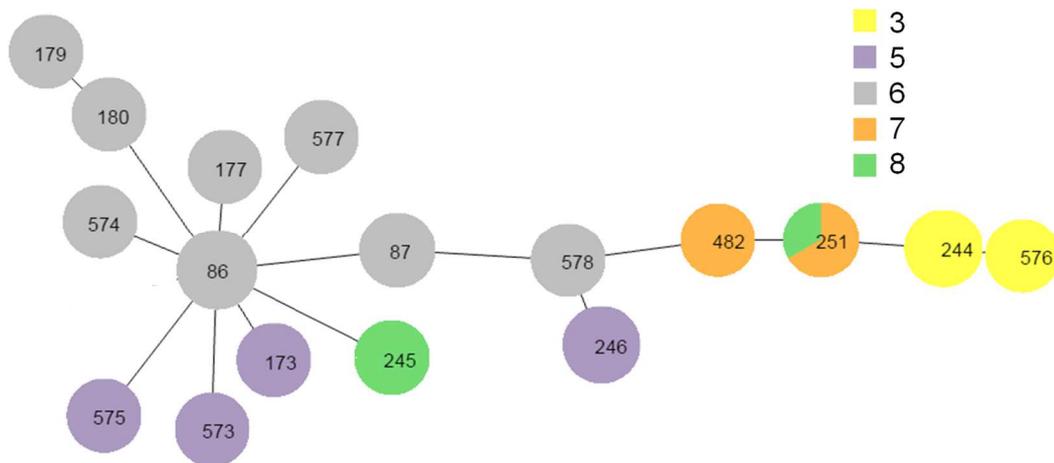


Abbildung 3.4: OspA- und MLST-ST von *B. garinii*

Eingeschlossen sind *B. garinii*- (n = 39; gelb, lila, grau, orange, grün; ohne PSma und PBe) -Isolate. Insgesamt zeigte sich eine gute Übereinstimmung von OspA- und MLST-Typ mit Ausnahme des Stammes PRas (ST 251, OspA-Typ 8), welcher zu einem zweifarbigen Kreissymbol 251 (2/3 der Fläche OspA-Typ 7, 1/3 der Fläche OspA-Typ 8) führte.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass OspA-Typen und MLST-ST bis auf einige Ausnahmen (ST 251; PBe und PSma) übereinstimmten. MLST wies eine höhere Diskriminierung auf (siehe auch Abbildung 3.4).

Borrelia burgdorferi sensu lato

Um die Ergebnisse in einem weiteren Kontext zu betrachten, wurden zusätzliche Stämme akquiriert, von welchen sowohl der OspA-Typ im Rahmen von Untersuchungen am NRZ für Borrelien als auch der MLST-ST bekannt waren. Auf letzteren wurde über die MLST-Datenbank zugegriffen. In diese Auswertung konnten 39 *B. garinii*, 32 *B. bavariensis*, 75 *B. afzelii* und 31 *B. burgdorferi* s. s. eingeschlossen werden, was eine Gesamtzahl von 177 Isolaten ergab (Tabelle 7.18). In 176 von 177 Fällen stimmte der OspA-Sequenztyp mit dem OspA-RFLP überein. Für den Stamm PMag (*B. garinii*) war der OspA-Sequenztyp insuffizient hinterlegt, sodass in diesem Fall allein der OspA-RFLP entscheidend war (siehe oben). Für die in Tabelle 7.18 aufgeführten Stämme war in 79 Fällen eine OspA-Serologie durchgeführt worden, welche für sechs Stämme nicht auswertbar und für weitere neun Stämme vom OspA-Sequenztyp divergent war. Alle Isolate sind aus Europa eingesandt und aus humanen Probenmaterialien isoliert worden. Die Ergebnisse dieser erweiterten Auswertung sind in Abbildung 3.5 dargestellt.

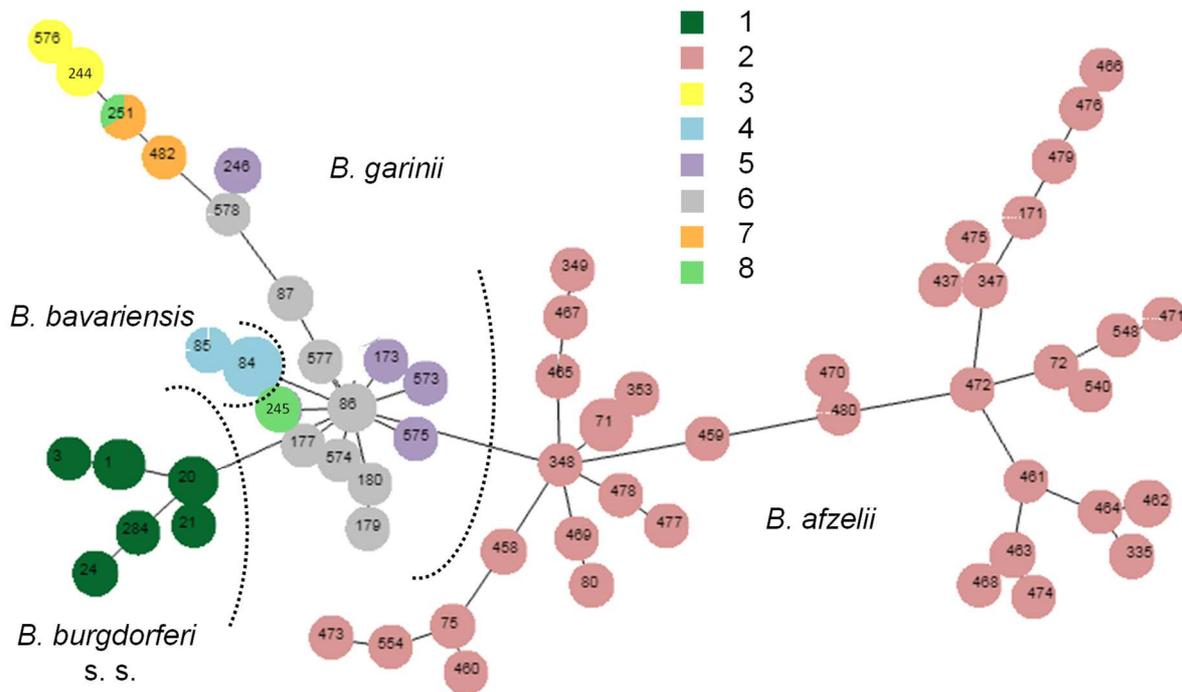


Abbildung 3.5: OspA- und MLST-ST von *B. burgdorferi* s. l.

Eingeschlossen sind 177 Isolate (39 *B. garinii*, 32 *B. bavariensis*, 75 *B. afzelii*, 31 *B. burgdorferi* s. s.). „Profile Data“ sind in Tabelle 7.14 und „Isolate Data“ in Tabelle 7.18 hinterlegt. Der Anteil im linken unteren Drittel der Grafik zeigt die OspA-Typ 1-Kreissymbole in dunklem Grün (ST 1, 3, 20, 21, 24, 284), es handelt sich um *B. burgdorferi* s. s.. Auffällig ist die Homogenität der *B. afzelii*, welche in der OspA-Typisierung korrekterweise Typ 2 (rote Kreissymbole) zugeordnet sind. OspA-Typ 4 (blau) entspricht *B. bavariensis*. OspA-Typen 3, 5 – 8 entsprechen der Abbildung 3.4. Dunkelgrün = *B. burgdorferi* s. s.; Rot = *B. afzelii*; Hellblau = *B. bavariensis*; Gelb, Lila, Orange und Hellgrün = *B. garinii*.

3.2 Zusammenhang zwischen Sequenztyp und klinischer Manifestation

Im Folgenden werden die 73 Borrelien-Stämme (41 *B. garinii*, 32 *B. bavariensis*) bezüglich der festgestellten klinischen Manifestationen genauer betrachtet. Die Isolationsmaterialien der *B. garinii*-Stämme gliederten sich in 23 Liquorpunktate, 17 Hautbiopsate und ein Synovial-Punktat auf. 14 *B. bavariensis* stammten aus Liquor, 17 aus Hautbiopsaten und ein Stamm wurde aus einer Synovia-Probe isoliert. In den folgenden Abschnitten werden die Stämme IP90 und 20047 ausgeklammert, da die Borrelien direkt aus der Zecke isoliert wurden und klinische Angaben somit entfallen.

Die folgende, retrospektive Betrachtung war auf Informationen limitiert, welche der behandelnde Arzt im Rahmen eines Fragebogens bei der Einsendung des Probematerials zur Verfügung stellte. Dieser Fragebogen beinhaltete unter anderem Alter und Geschlecht des Patienten, Angaben zu dem Zeckenstich und der Epidemiologie, der klinischen Symptomatik und

der durchgeführten Therapie. Ein beispielhafter Fragebogen findet sich im Anhang. Bei der Auswertung wurde davon ausgegangen, dass der behandelnde Arzt nach bestem Wissen die Anamnese, die körperliche Untersuchung und den Fragebogen unter Einverständnis des Patienten beziehungsweise dessen Vormund komplettiert hatte.

3.2.1 Wahrnehmung und geografische Lokalisation des Zeckenstich-Ortes

Mithilfe des Fragebogens wurde die Wahrnehmung der Patienten bezüglich eines Zeckenstichs (ZS) erfasst. Hierbei ist anzumerken, dass eine Person von mehreren Zecken gestochen werden kann und Stiche unbemerkt bleiben können. Zwischen dem eigentlichen Stich und dem Symptombeginn der LB liegen häufig Tage bis Wochen und sogar Jahre, sodass es möglich ist, dass der Patient sich nicht an einen Stich erinnern kann beziehungsweise vor allem bei multiplen Stichen die Symptome nicht der verursachenden Zecke zugeordnet werden können. Wenn die Zecke sich bereits wieder abgelöst hat, kann die Stichstelle auch mit einem Insektenstich verwechselt werden.

Wahrnehmung eines Zeckenstichs

Abbildung 3.6 gibt die relativen Häufigkeiten der Wahrnehmungsformen eines ZS wider, wobei die linke Spalte auch das Kollektiv ohne Angaben über einen ZS einbezieht („unbekannt“) und die Zeilen sich zwischen den Spezies beziehungsweise deren Kombination unterscheiden. Betrachtet man die Daten für *B. garinii* und *B. bavariensis* ($n = 72$; Abbildung 3.6a), lagen für 30,6 % der Patienten keine Angaben über einen ZS vor. 48,6 % erinnerten sich an einen Stich, wobei mindestens vier Patienten multiple Stiche angaben. 6,9 % der Patienten waren sich unsicher, ob sie von einer Zecke gestochen worden waren und 13,9 % verneinten einen ZS. Werden nur die Daten der Patienten ($n = 50$) einbezogen, welche eine Angabe über die Wahrnehmung eines ZS machten, konnten sich respektive 70,0 % an einen Stich erinnern, 10,0 % waren sich unsicher und 20,0 % verneinten einen ZS.

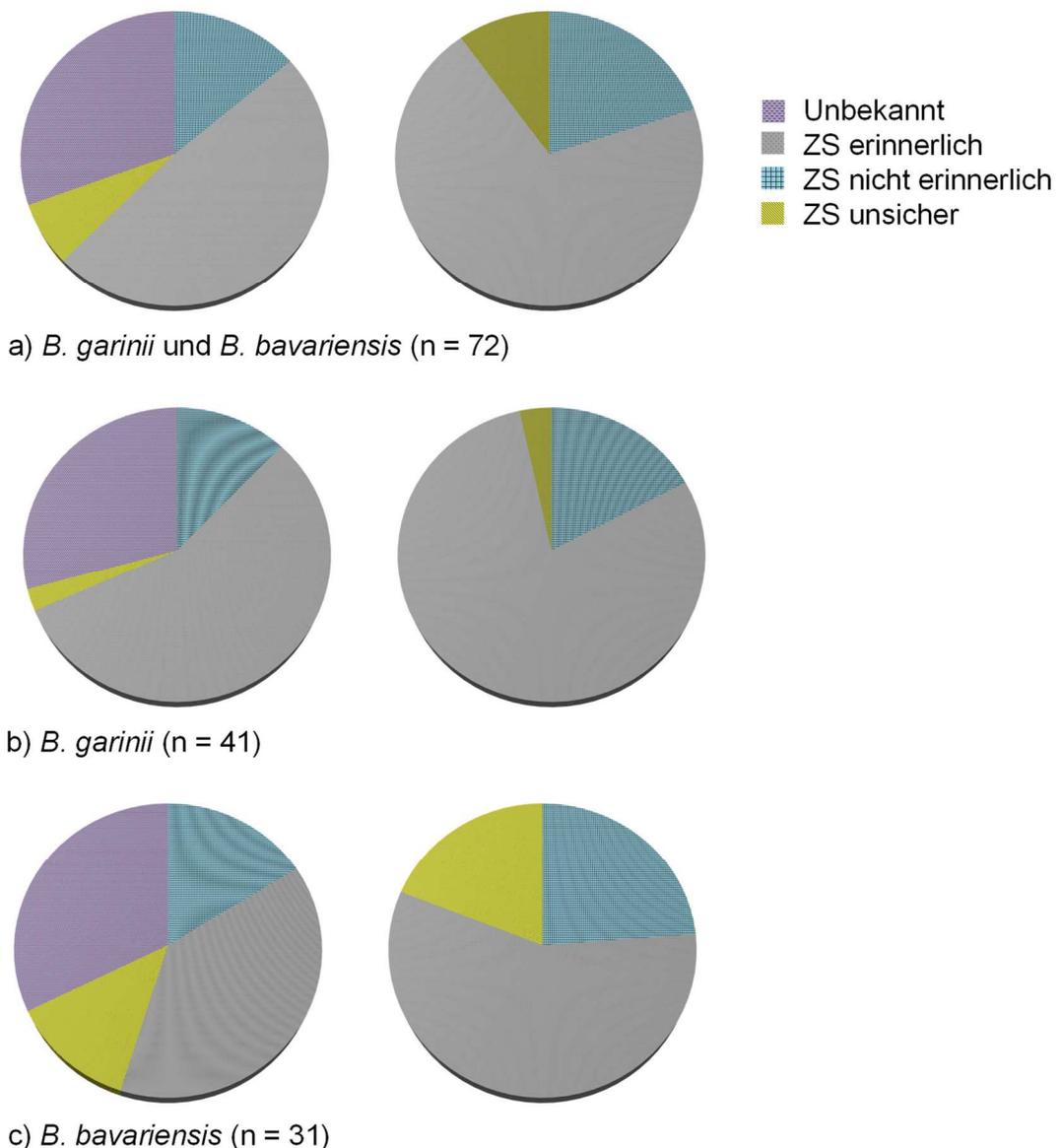


Abbildung 3.6: Wahrnehmung des Zeckenstichs

Linke Spalte: Einschluss der Patienten ohne Angaben über einen ZS; rechte Spalte: Ausschluss der Patienten ohne Angaben über einen Zeckenstich. Genaue Prozentangaben zu den relativen Häufigkeiten finden sich im Text. ZS Zeckenstich.

Im Rahmen dieser Studie wurden die Stiche von den mit *B. garinii* infizierten Zecken (n = 41) in 79,3 % der Fälle wahrgenommen, während sich bei den *B. bavariensis*-Fällen (n = 31) nur 57,1 % an das Ereignis erinnern konnten. Patienten mit einer *B. garinii*-Infektion meldeten den ZS häufiger als Patienten mit *B. burgdorferi* s. s. (Strle et al. 2011 b). Es sind weitere Studien mit größeren Fallzahlen nötig, um diesen Trend zu bestätigen und gegebenenfalls Differenzen in Saugdauer oder Schmerzhaftigkeit des Stiches aufzudecken. Vermutlich fehlinterpretierten vier Patienten (Infektion mit dem Stämmen PBr, PCoo, PHoe, PStH) die Stich-

stelle nach Abfall der Zecke als Insektenstich, da ein lokales Erythema migrans dokumentiert wurde. Für die drei Patienten, in deren Probematerialien sich MS nachweisen ließen, liegen Angaben von zwei Patienten vor: Beide haben eine positive ZS-Anamnese mit mindestens einem erinnerten Stich. Da es sich um eine Beantwortung des Fragebogens zum Zeitpunkt der LB-Manifestation handelte, ist eine Erinnerungsverzerrung möglich.

Weder bei den *B. garinii*- noch den *B. bavariensis*-Stämmen gab es bezüglich der Wahrnehmung des ZS Unterschiede zwischen den verschiedenen MLST-ST.

Zeitspanne zwischen Zeckenstich und Lyme-Borreliose-Manifestation

Um die Zeitspanne zwischen einem bekannten ZS und dem ersten Symptom der LB zu bestimmen, wurden alle Patienten mit vollständiger Dokumentation eines einzelnen ZS und dem Auftreten einer frühen LB-Manifestation eingeschlossen.

Im Durchschnitt betrug die Zeitspanne zwischen dem ZS und dem ersten Symptom für alle in Tabelle 3.5 (Seite 72) genannten Patienten (n = 23) 36,6 Tage. In dieser Untersuchung war die Zeitspanne für die mit *B. garinii* infizierten Patienten mit 52,1 Tagen länger als bei Infektion mit *B. bavariensis* und betrug auch unter Ausschluss des statistischen Ausreißers (Patient infiziert mit PFu) 26,1 Tage, während sich die durchschnittliche Zeitspanne der *B. bavariensis*-Fälle mit 16,5 Tagen bestimmen ließ. Eine mögliche Begründung ist das häufigere Auftreten einer NB der Patienten infiziert mit *B. garinii*, da die Latenz größer ist (siehe auch Abschnitt 1.4).

Die Zeitdauer zwischen der Entnahme des Probematerials und einem positiven Borrelien-Nachweis in Kultur betrug durchschnittlich 26,7 [6 - 82] Tage (*B. garinii* (n = 41): 26,4 [6 - 82] Tage; *B. bavariensis* (n = 31): 27,0 [11 - 56] Tage). Die Kalkulation beruhte auf dem Entnahmedatum und nicht auf dem Eingangsdatum im Labor, da dies ein besserer Prädiktor für die praktische Anwendung ist. Entnahmedatum und Eingangsdatum unterschieden sich um 1,9 [0 - 6] Tage (Daten vorhanden für 37 Patienten). Für 18 Patienten war nur das Eingangsdatum vermerkt und wurde ersatzweise in der oben genannten Rechnung verwendet.

<i>B. garinii</i> (n = 13)	Zeitspanne (d)	Manifestation	<i>B. bavariensis</i> (n = 10)	Zeitspanne (d)	Manifestation
PBe	10	EM + NB	PBar	77,5	EM + NB
PBes	3	EM + NB	PBi	14	NB
PBr	45,5	EM + NB	PHoe	2,5	EM + NB
PBu	10	EM + NB	PLep	21	EM
PFu	364	NB	PMch	1	EM
PHC	42	NB	PMüe	14	EM + NB + LA
PHei	28	NB	PMun	10	EM
PLa	84	NB	PSh	14	NB
PLi	28	LZ + NB	PSigl	10	EM + ACA
POhm	21	NB	PWin	1	EM
PSeS	7	EM + NB			
PShm	21	EM + NB			
PSoR	14	EM + NB			

Tabelle 3.5: Zeitspanne zwischen dem ZS und der ersten LB-Manifestation

Die Zeitspanne zwischen dem ZS und der ersten LB-Manifestation ist für mit *B. garinii*-infizierte Patienten länger als für mit *B. bavariensis*-infizierte Patienten. Für *B. garinii* waren mehr Daten für NB-Patienten vorhanden, sodass dies ggf. zu einer Verzerrung der Zeitspannen führt, da NB im Allgemeinen eine längere Latenzzeit als ein EM hat. Die klinische Manifestation von dem Patienten infiziert mit PSigl ist zum Zeitpunkt des Auftretens des EM angegeben, die ACA wird nur zur Vollständigkeit aufgeführt. ACA Acrodermatitis chronica atrophicans; d Tage; EM Erythema migrans; LB Lyme-Borreliose; LZ Lymphozytom; NB Neuroborreliose; ZS Zeckenstich.

Geografische Ort des Zeckenstichs

In Abbildung 3.7 ist der geografische Ort des Zeckenstichs auf einem Kartenausschnitt dargestellt, der entweder auf einer genauen Angabe im Fragebogen oder dem Standort des behandelnden Krankenhauses beziehungsweise der Arztpraxis beruht. Letztere Annahme gründete auf der Vorstellung, dass der Patient sich wohnortsnah behandeln ließ. Aufgrund dessen sind häufig die geografischen Koordinaten von Städten genannt, doch meist erfolgte der Stich wahrscheinlich in ländlicher Umgebung. Darüber hinaus bieten urbane Regionen mit Krankenhäusern der Maximalversorgung auch die Möglichkeit zur Behandlung von komplexen oder unklaren Fällen. Bei Betrachtung der Abbildung sind die Aspekte der fehlenden Wahrnehmung des ZS und die Möglichkeit multipler ZS zu beachten. Darüber hinaus ist es möglich, dass der Stich nicht wohnortsnah stattgefunden hat. Die Spezies *B. garinii* (n = 40) und *B. bavariensis* (n = 31) zeigen in der Abbildung eine Konzentration auf Süddeutschland,

was am ehesten Einsender-bedingt mit einem bayerischen Standort des NRZ für Borrelien zu erklären ist. In Tabelle 7.19 sind die zugehörigen geografischen Daten hinterlegt.



Abbildung 3.7: Verteilung der *B. garinii*- und *B. bavariensis*-Isolate in Europa

Eingeschlossen sind 40 *B. garinii*- und 31 *B. bavariensis*-Isolate. *B. garinii*: weiße Markierung; *B. bavariensis*: orange Markierung, erstellt mit Spatialepidemiology, zugrundeliegende Daten finden sich in Tabelle 7.19. Es zeigt sich eine homogene Verteilung für beide Spezies mit einer Konzentration in Süddeutschland, was am ehesten Einsender-bedingt zu erklären ist. Siehe hierzu auch Abschnitt 4.2.

Zum Zeitpunkt der Borrelien-Akquise im Rahmen dieser Arbeit gab es keine einheitliche Meldepflicht. Gegebenenfalls werden die oben beschriebenen Inzidenzen für Bayern aufgrund der erst 2013 eingeführten Meldepflicht unterschätzt, während diese Melde-Richtlinie in anderen Bundesländern bereits seit einigen Jahren etabliert ist und somit die regionale Ärzteschaft besser informiert sein könnte. In einigen Bundesländern besteht weiterhin keine Meldepflicht.

Für den Stamm PMüe ist die französische Atlantikküste als Stichort vermerkt. Dies stellt aus den oben genannten Gründen nicht zwangsweise den definitiven Ort der Borrelien-Akquisition dar. Aufgrund des Fehlens genauerer Angaben wurde in Abbildung 3.7 der Mittelpunkt der französischen Westküste verwendet.

3.2.2 Früh- und Spätmanifestationen von *B. garinii* und *B. bavariensis*

Anhand der klinischen Information können frühe und späte Krankheitsmanifestationen unterschieden werden. Wie die einzelnen klinischen Krankheitsbilder einzuordnen sind, lässt sich in Abschnitt 1.4 nachlesen. Eine Übersicht über die Manifestationsstadien und der eingeschlossenen Patienten ist in Tabelle 7.20 im Anhang dargestellt.

Wie in Tabelle 3.6 und in Abbildung 3.8 zu erkennen ist, waren sowohl bei *B. garinii* als auch bei *B. bavariensis* Frühmanifestationen häufiger als späte Verlaufsformen. Zwischen den betrachteten Spezies zeigte sich bezüglich der Manifestationsformen mit einem Ergebnis des Exakt Fisher-Tests von 0,418 ($\alpha < 0,05$) kein signifikanter Unterschied. Drei mit *B. bavariensis*-infizierte Patienten zeigten eine Kombination aus Früh- und Spätmanifestation (siehe auch Abschnitt 3.2.3). In die Kategorie „unbekannt“ fielen alle Isolate (n (*B. garinii*) = 6; n (*B. bavariensis*) = 5) ohne, mit unklaren klinischen Angaben oder nicht abschließend geklärten Manifestationen, für welche die genaue klinische Einordnung nicht möglich war.

Ein Zusammenhang zwischen den Manifestationsstadien und den MLST-ST konnte nicht festgestellt werden.

Manifestationsstadium	<i>B. garinii</i> n (%)	<i>B. bavariensis</i> n (%)
Frühmanifestation	32 (78,0)	19 (61,3)
Spätmanifestation	3 (7,3)	4 (12,9)
Früh- und Spätmanifestation	0 (0)	3 (9,7)
unbekannt	6 (14,6)	5 (16,1)

Tabelle 3.6: Absolute und relative Häufigkeiten der Manifestationsstadien

Eingeschlossen sind *B. garinii*- ($n = 41$) und *B. bavariensis* ($n = 31$) -Isolate. Frühmanifestationen waren bei den betrachteten Spezies jeweils häufiger als Spätmanifestationen. Eine Kombination aus Früh- und Spätmanifestation trat nur bei den mit *B. bavariensis*-infizierten Patienten auf, jedoch sind die geringen absoluten Fallzahlen zu betrachten.

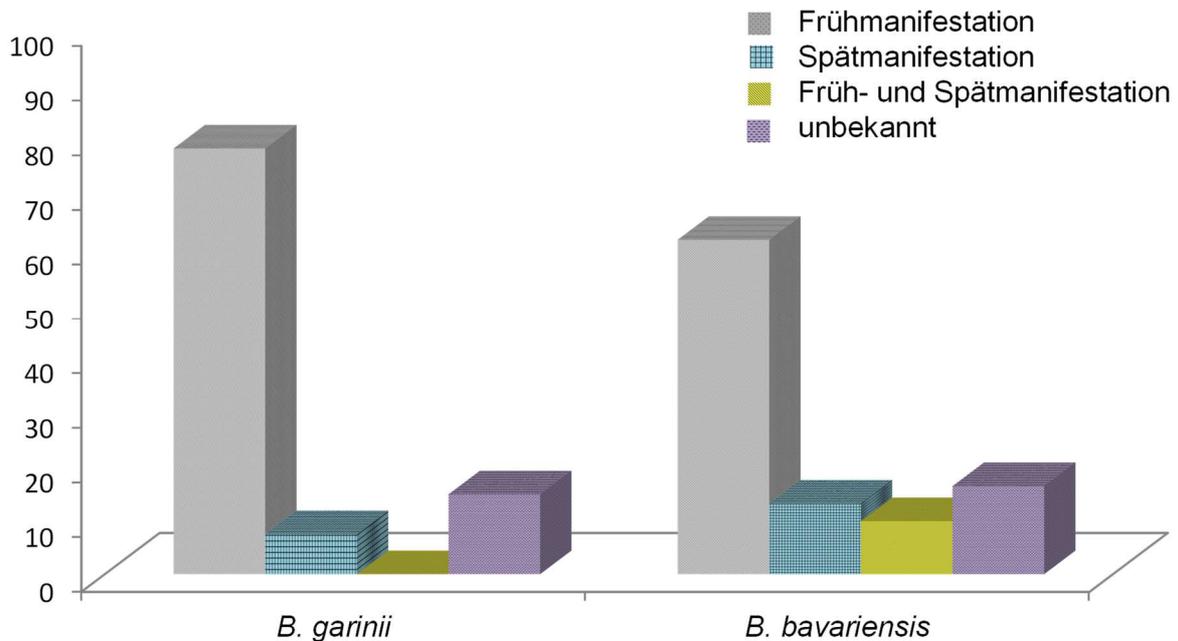


Abbildung 3.8: Relative Häufigkeiten der Manifestationsstadien

Eingeschlossen sind *B. garinii*- (n = 41) und *B. bavariensis* (n = 31) -Isolate. Für weitere Erläuterungen siehe auch Tabelle 3.6 und Abschnitt 4.2.

In drei Fällen (4,2 %; nur *B. bavariensis*) traten sowohl eine Früh- als auch Spätmanifestation auf. Die Erkrankungsformen stellten sich zeitlich versetzt ein. Eine mögliche Ursache der zweifachen LB-Manifestation war keine oder eine nur inadäquate Therapie der frühen Manifestationsform. Nicht auszuschließen waren die Möglichkeiten, dass zwei oder mehr verschiedene Borrelien-Stämme die unterschiedlichen klinischen Symptome verursachten oder ein erneuter ZS auftraten war. Dies ließ sich retrospektiv ohne Materialgewinn aus beiden Manifestationen nicht abschließend klären.

Die Patienten, welche mit einer reinen LB-Frühmanifestation (n = 51) diagnostiziert worden waren, waren durchschnittlich 41,6 [2 - 87] Jahre und die Patienten mit einer Spätmanifestation (n = 7) durchschnittlich 38,3 [18 - 76] Jahre alt. Für die kombinierte Früh- und Spätmanifestation betrug das Alter der Patienten durchschnittlich 50,3 [26 - 71] Jahre zum Zeitpunkt der Spätmanifestation. Die Altersstruktur bezüglich der infizierenden Borrelien-Spezies, einer MLST-ST-Abhängigkeit und der Symptomatik werden in Abschnitt 3.2.4 thematisiert.

3.2.3 Lokalisierte und disseminierte Manifestationen

Die Differenzierung zwischen lokalisierten und disseminierten Manifestationsformen der LB wird im Folgenden betrachtet. Das singuläre EM ebenso wie das LZ sind lokalisierte Manifestationen (Hofmann et al. 2016), während die anderen beschriebenen Krankheitsentitäten

wie ACA, NB und LA (Abschnitt 1.4) ebenso wie multiple EM als disseminierte Formen klassifiziert werden.

Unter den *B. garinii*-Stämmen (n = 41) verursachten elf (26,8 %) eine solitär lokalisierte und 24 (58,5 %) eine disseminierte Infektion. Über die klinischen Manifestationen von sechs Patienten (14,6 %) waren keine Informationen vorhanden, sodass diese nicht einbezogen wurden. *B. bavariensis* (n = 31) verursachte sieben (22,6 %) rein lokalisierte und 19 (61,2 %) disseminierte Erkrankungsformen, auch hier konnten die Datensätze von fünf (16,1 %) Patienten aufgrund von fehlenden Informationen nicht verwertet werden. Mit einem Chi-Quadrat-Test konnte kein signifikanter Unterschied zwischen dem Auftreten von lokalisierten und disseminierten Manifestationsformen detektiert werden ($\chi^2 = 0,1456$; p-Wert 0,702791 bei $\alpha < 0,05$). In elf Fällen ging bei den mit *B. garinii*-infizierten und in acht bei den *B. bavariensis*-infizierten Patienten der disseminierten Verlaufsformen eine lokalisierte Beschwerdesymptomatik voraus oder trat zeitgleich mit dieser auf.

3.2.4 Klinische Symptomatik verursacht durch *B. garinii* und *B. bavariensis*

Bei der LB-Erkrankung können verschiedene Symptome und Manifestationskomplexe unterschieden werden. Neben einer Vielfalt von Allgemeinsymptomen sind die Krankheitsmanifestationen, welche in Abschnitt 1.4 näher beleuchtet wurden, richtungsweisend und in einigen Fällen spezifisch für eine LB und werden im Folgenden am eingeschlossenen Datenkollektiv ausgewertet. Die Analyse soll unter anderem Aufschluss der ST in Bezug auf die klinischen Manifestationen geben.

Einige der mit Borrelien-infizierten Patienten wiesen eine Beteiligung von zwei oder mehr Organsystemen auf, aber mit Ausnahme des Patienten, welcher mit PBael-/ PBaell infiziert war, lagen isolierte Borrelien jeweils nur aus einem der betroffenen Organsysteme vor. In diesen Fällen wurde in der retrospektiven Auswertung die klinische Dokumentation berücksichtigt, die den Befall der weiteren Organsysteme erläuterte. Darüber hinaus war im Falle von anamnestisch erinnerten Früh- in Kombination mit einer kulturell nachgewiesenen Spätmanifestation die Möglichkeit gegeben, dass diese Manifestationen aufgrund von Borrelien-Infektionen im Rahmen unterschiedlicher ZS entstanden waren.

Symptomatik der mit *B. garinii*-infizierten Patienten

Die Patienten mit einer *B. garinii*-Infektion zeigten verschiedene Manifestationsformen (Abbildung 3.9). Für sechs Patienten (Infektion mit den Stämmen PBoI, PHez, PMit, PNov, PSma, PUI) lagen keine oder nicht ausreichende klinische Daten vor, sodass die Stämme aus der folgenden Ausführung ausgeschlossen wurden. Vier dieser Isolate stammten aus Liquorpunktat und zwei aus Hautbiopsaten, sodass entsprechend NB und kutane Manifestationsformen vermutet werden konnten.

Für 35 Patienten wurde die klinische LB-Manifestation betrachtet (Abbildung 3.9; Tabelle 7.20). 21 Patienten (60,0 %) litten unter NB, wobei zehn nur neurologische Symptome zeigten (Infektion mit den Stämmen PBet, PFe, PFr, PFu, PHC, PHei, PLa, PMek, POhm, PRef) und elf zusätzliche kutane Manifestationen aufwiesen. In letzterer Gruppe handelte es sich in zehn Fällen um ein EM (PBe, PBes, PBr, PBu, PHe, PKi, PSae, PSeS, PShm, PSoR) und bei einem Patienten um ein LZ (PLi). Hierbei wird nochmals deutlich, dass zwei frühe Manifestationsformen in unterschiedlichen Organsystemen (hier: Haut und Nervensystem) bei einem Patienten auftreten können. Insgesamt können bei den NB-Fällen verschiedene Krankheitsentitäten unterschieden werden: I) Meningoradikulitis Garin-Bujadoux-Bannwarth (n = 8 – PBe, PBet, PBu, PFe, PLi, PRef, PSae, PShm), II) Facialisparese (n = 10 – PBu, PFr, PFu, PHC, PLa, PLi, PMek, PRef, PSeS, PSoR), III) lymphozytäre Meningitis (n = 5 – PBes, PHei, PKi, PMek, POhm) und IV) unbestimmte neurologische Symptomatik (n = 2 – PBr, PHe). Die Klassifikation für letztere wurde im Rahmen dieser Arbeit bei einer neurologischen Symptomatik mit zeitlich akutem Auftreten und definitiven Borrelien-Nachweis im Liquor vergeben, welche den oben genannten Kategorien I bis III aufgrund ungenügender Information nicht zugeordnet werden konnte. Drei Patienten (PBu, PLi, PRef) zeigten ein Bannwarth-Syndrom mit Facialisparese und ein Fall (PMek) eine Kombination aus Meningoradikulitis und Meningitis.

PBu und PShm wurden aus Hautproben isoliert und zeitgleich wurde Liquor entnommen, welcher zwar weiteren Untersuchungen zugeführt, aber der kulturelle Borrelien-Nachweis nicht berücksichtigt wurde. Diese Ergebnisse ließen trotzdem die Diagnosestellung „wahrscheinliche Neuroborreliose“ zu (Mygland et al. 2010, Rauer et al. 2012).

Die am häufigsten bei *B. garinii*-infizierten Patienten auftretende Manifestation war mit insgesamt 24 Fällen (68,6 %) von kutaner Natur, wobei das EM (n = 18) vorherrschend war. Dieses trat bei acht Patienten (Infektion mit den Stämmen PCoo, PFiM, PMa, PMe, PNeI, PRa, PRas, PStH) als einzige LB-Manifestation auf und in zehn Fällen gemeinsam mit neurologischen Symptomen (PBe, PBes, PBr, PBu, PHe, PKi, PSae, PSeS, PShm, PSoR). Somit kam das EM in dieser Untersuchung häufiger in Kombination mit anderen Manifestationsformen als ein singuläres Symptom vor. Eine interessante Kombination verschiedener Frühmanifestationen (EM, NB, Karditis) zeigte der Patient infiziert mit PHe und wies in diesem Patientenkollektiv die einzige Herzbeteiligung auf.

Als weitere kutane Manifestationen trat ein LZ bei vier Patienten auf (PLi, PMag, PMoel, PUh), wobei der mit PLi-infizierte Patient zudem eine NB zeigte. Eine ACA als kutane Spätmanifestation wiesen zwei Patienten (PScp, PWest) auf, in keinem Fall war eine vorausgegangene Frühmanifestation dokumentiert. Die ACA trat im Rahmen dieser Untersuchung bei weiblichen Patientinnen im Alter von 60 beziehungsweise 51 Jahren zum Diagnosezeitpunkt auf.

Der mit PStg-infizierte Patient erkrankte an der klassischen Spätmanifestation Lyme-Arthritis und eine zuvor stattgefundene Frühmanifestation war nicht dokumentiert. Dieser Fall zeigte ebenso wie die oben beschriebenen ACA-Manifestationen, dass eine Spätmanifestation auch ohne vorausgegangene Frühmanifestation auftreten kann. Diese Aussage ist in jedem Fall immer kritisch zu überprüfen, da Frühmanifestationen wie beispielsweise ein EM nicht wahrgenommen oder fehlinterpretiert werden können oder aufgrund der Zeitspanne zwischen den Manifestationsformen möglicherweise in Vergessenheit geraten sind.

Zusammenfassend hat *B. garinii* in diesem Patientenkollektiv am häufigsten eine NB oder ein EM ausgelöst. Ein Organotropismus zum Nervensystem ist für *B. garinii* beschrieben (Wilske et al. 1993, Pfister et al. 1994, Ornstein et al. 2001, Fingerle et al. 2008, Stanek und Strle 2009, Margos et al. 2011; s. a. Abschnitt 1.2.2 und 4.2).

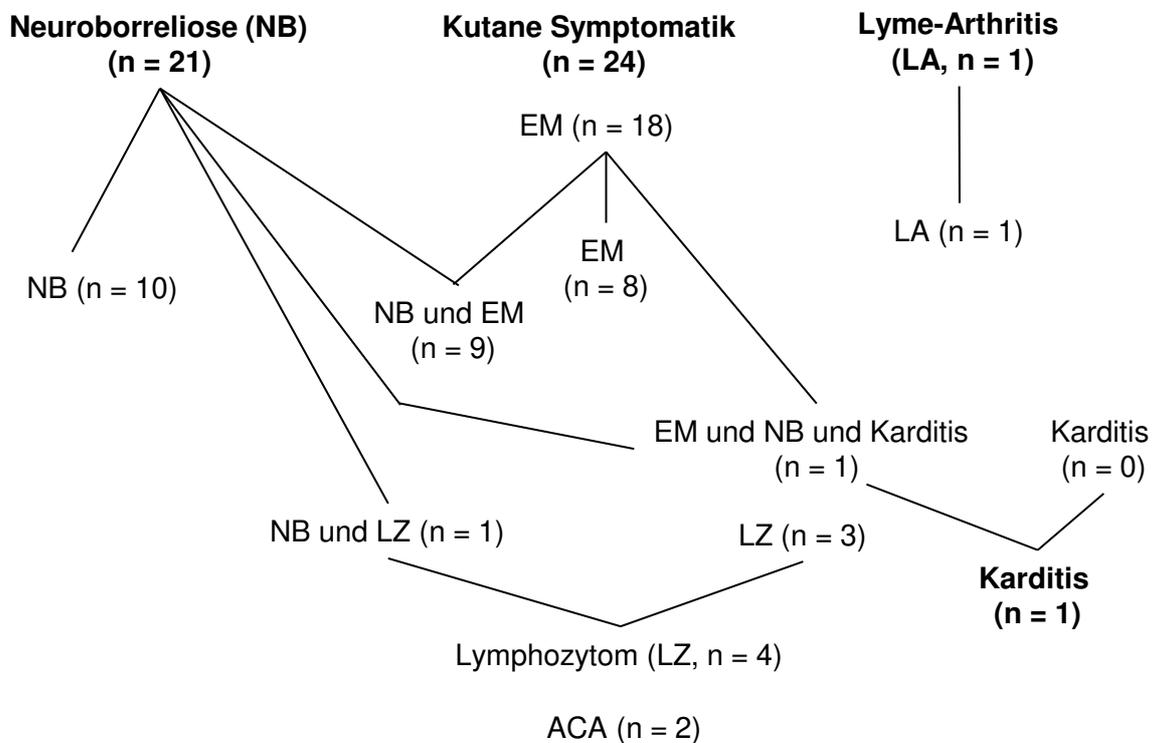


Abbildung 3.9: Symptomatik der mit *B. garinii*-infizierten Patienten

B. garinii (n = 35) verursachte Symptome in vier Organsystemen (neurologische, Haut-, Gelenk- und Herzbeteiligung, fett markiert). Die kutanen Manifestationen (EM, LZ, ACA) sind einzeln aufgeführt, für die verschiedenen Unterformen der NB s. Text. Bei mehr als einer Manifestationsform (innerhalb eines Organsystems bzw. ≥ 2 Organsystemen) wurden diese miteinander verbunden. Beispielsweise wiesen neun Patienten ein EM und ein neurologisches Beschwerdebild auf. ACA Acrodermatitis chronica atrophicans; EM Erythema migrans; LA Lyme-Arthritis; LZ Lymphozytom; NB Neuroborreliose.

Symptomatik der mit *B. bavariensis*-infizierten Patienten

Unter den insgesamt 31 Patienten, welche mit *B. bavariensis* infiziert waren, war die genaue Diagnose für fünf Personen (Patienten infiziert mit PBN, PEi, PFo, PNi, PTrob) nicht dokumentiert. In Analogie zum vorherigen Abschnitt wurde aufgrund des Ursprungs des Probenmaterials (zwei Mal Liquorpunktat, drei Mal Hautbiopsat) in zwei Fällen eine neurologische Symptomatik und für drei Patienten eine kutane Manifestation vermutet.

Von den mit *B. bavariensis*-infizierten und an LB erkrankten Patienten zeigten 14 eine NB (45,2 %), wobei sechs zudem ein EM (PBael/PBaell, PBar, PFin, PFlk, PHoe, PScf) und in einem Fall eine ACA (PNeb) aufwiesen. Ein Patient (Infektion mit dem Stamm PMüe) zeigte eine Kombination aus NB, EM und LA. Die NB konnte für *B. bavariensis* ebenso in die oben genannten Krankheitsentitäten klassifiziert werden, wobei die Meningoradikulitis Garin-Bujadoux-Bannwarth (n = 13 – PBael/PBaell, PBar, PBi, PFei, PFin, PFlk, PHoe, PMüe, PNeb, PScf, PVo, PWa, PWat) deutlich häufiger dokumentiert wurde als eine Facialisparesie (n = 4 – PFin, PNeb, PVo, Wa), Meningitis (n = 1 – PBi) oder die unbestimmte neurologische Symptomatik (n = 1 – PSh). Weder die Facialisparesie noch die Meningitis kamen eigenständig ohne das Auftreten der Meningoradikulitis vor. Für die Patienten, welche mit PBar und PNeb infiziert waren, lag jeweils ein kultureller Borrelien-Nachweis aus einer Hautprobe vor, doch war in beiden Fällen eine NB aufgrund der Befunde von Klinik und Liquorpunktat anhand der Leitlinien zur Diagnostik von NB „wahrscheinlich“ (Mygland et al. 2010, Rauer et al. 2012).

Das EM trat am häufigsten auf (n = 15, 48,4 %), wobei es sich in sieben Fällen (PHerl, PLeh, PLep, PMch, PMun, POb, PWin) singulär zeigte, in sechs Fällen in Kombination mit NB (siehe oben), einmal in Kombination mit NB und LA (PMüe) und bei einem Patienten (PSigl) folgte eine ACA.

Insgesamt litten fünf mit *B. bavariensis*-infizierten Patienten (PLad, PNeb, PProf, PSigl, PZwi) an der Spätmanifestation ACA. Die LA trat in zwei Fällen auf (PMüe, PRab).

Im Rahmen dieser Untersuchung konnte für *B. bavariensis* weder das Krankheitsbild des LZ noch der Lyme-Karditis dokumentiert werden. Im Kollektiv der *B. bavariensis*-infizierten Patienten war das EM (48,4 %) die häufigste Diagnose. Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen kutaner und neurologischer Symptomatik ($\chi^2 = 0,1385$; $p = 0,709757$ bei $\alpha < 0,05$) bei *B. garinii* und *B. bavariensis*.

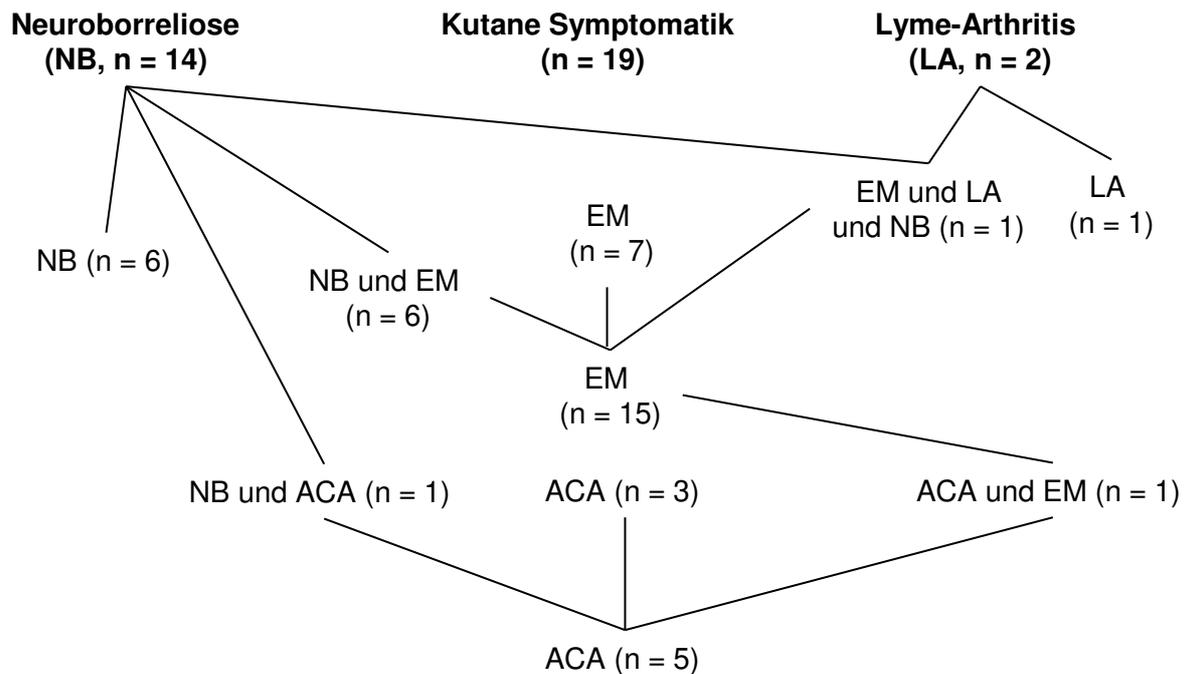


Abbildung 3.10: Symptomatik der mit *B. bavariensis*-infizierten Patienten

B. bavariensis (n = 26) manifestierte sich im Rahmen dieser Untersuchung in drei Organsystemen (neurologische, kutane und Gelenkbeteiligung). Für weitere Erklärungen siehe auch Abbildung 3.9. Unterformen der NB sind im Text aufgeführt. ACA Acrodermatitis chronica atrophicans; EM Erythema migrans; LA Lyme-Arthritis; NB Neuroborreliose.

Altersstruktur der mit *B. garinii*- und *B. bavariensis*-infizierten Patienten

Im Folgenden soll die Altersstruktur der Patienten bezüglich verschiedener Gesichtspunkte beleuchtet werden (Abbildung 3.11). Das Durchschnittsalter aller Patienten (n = 71, keine Daten zu PTrob) betrug 39,9 [2 - 87] Jahre zum Zeitpunkt der Probeentnahme. Die Patienten, aus deren Proben *B. garinii* (n = 41) isoliert werden konnte, wiesen ein durchschnittliches Alter von 32,0 [2 - 73] Jahren auf. Die Patienten mit einer *B. bavariensis*-Infektion (n = 30, keine Daten zu PTrob) waren mit durchschnittlich 50,7 [4 - 87] Jahren älter als die mit *B. garinii*-infizierten Patienten. In der ersten Gruppe waren 14 Patienten zum Zeitpunkt der Probeentnahme minderjährig (Patienten infiziert mit PBes, PBol, PFu, PHC, PHe, PHei, PKi, PLa, PLi, PMit, POhm, PSeS, PStg, PUh), in der zweiten Gruppierung nur drei Patienten (Patienten infiziert mit PBi, PBN, PNi). Es ist zu beachten, dass zum Zeitpunkt der Probeentnahme im Rahmen von Spätmanifestationen ein ZS und eine mögliche Frühmanifestation bereits Jahre vorausgegangen sein können und einige Patienten einen langen Krankheitsverlauf in der Anamnese angaben. Die Altersstruktur bezüglich der Manifestationsstadien ist unter Abschnitt 3.2.2 beschrieben.

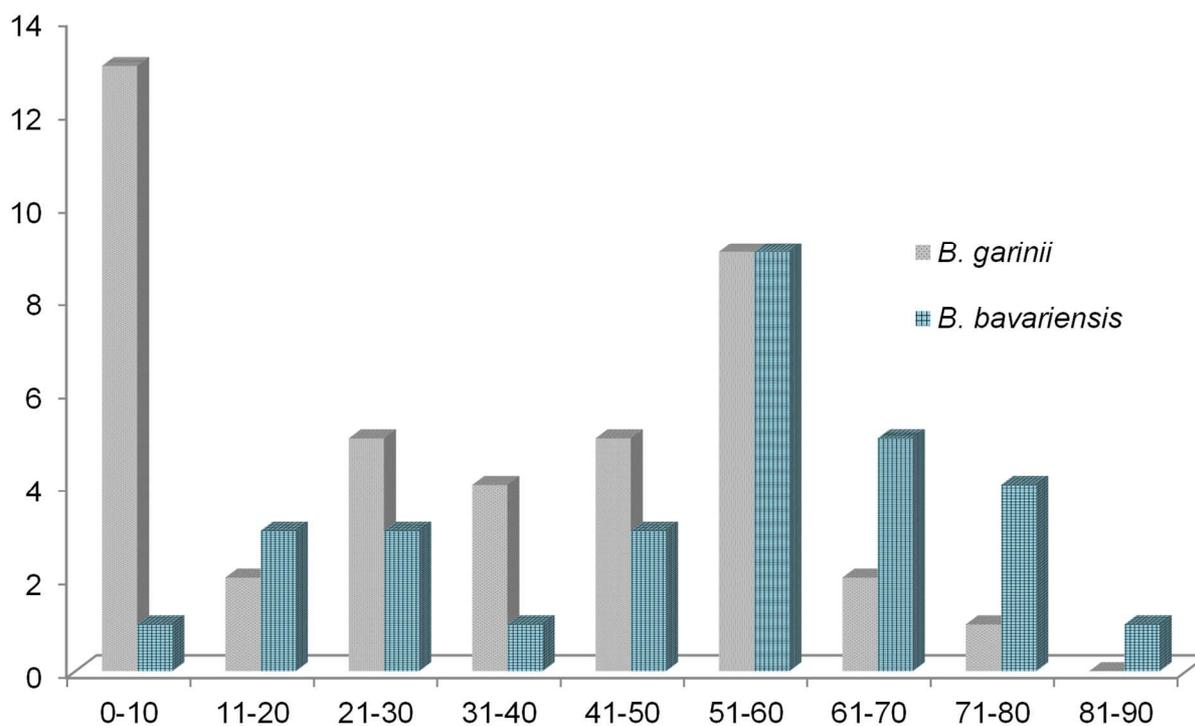


Abbildung 3.11: Altersstruktur der Patienten zum Zeitpunkt der Probeentnahme

Eingeschlossen sind *B. garinii*- (n = 41) und *B. bavariensis* (n = 30) -Isolate. Zur Referenz wird auf Abbildung 3.12 verwiesen. *B. garinii* fand sich häufiger bei den jüngeren Patienten, während *B. bavariensis* gehäuft im höheren Erwachsenenalter auftrat.

Relevant ist die Betrachtung der Altersstruktur in Bezug zum Bevölkerungsalter zum Zeitpunkt der Probenakquise, weshalb in Abbildung 3.13 die Alterspyramide von 1992 (durchschnittliches Jahr der Probeneinsendung, siehe auch Abschnitt 2.2) dargestellt ist (Statistisches Bundesamt). Auffällig waren Häufungen der *B. garinii*-Infektionen im Kindesalter und der *B. bavariensis*-Infektionen im höheren Erwachsenenalter (> 50 Jahre) im Vergleich zur Altersstruktur der Bevölkerung.

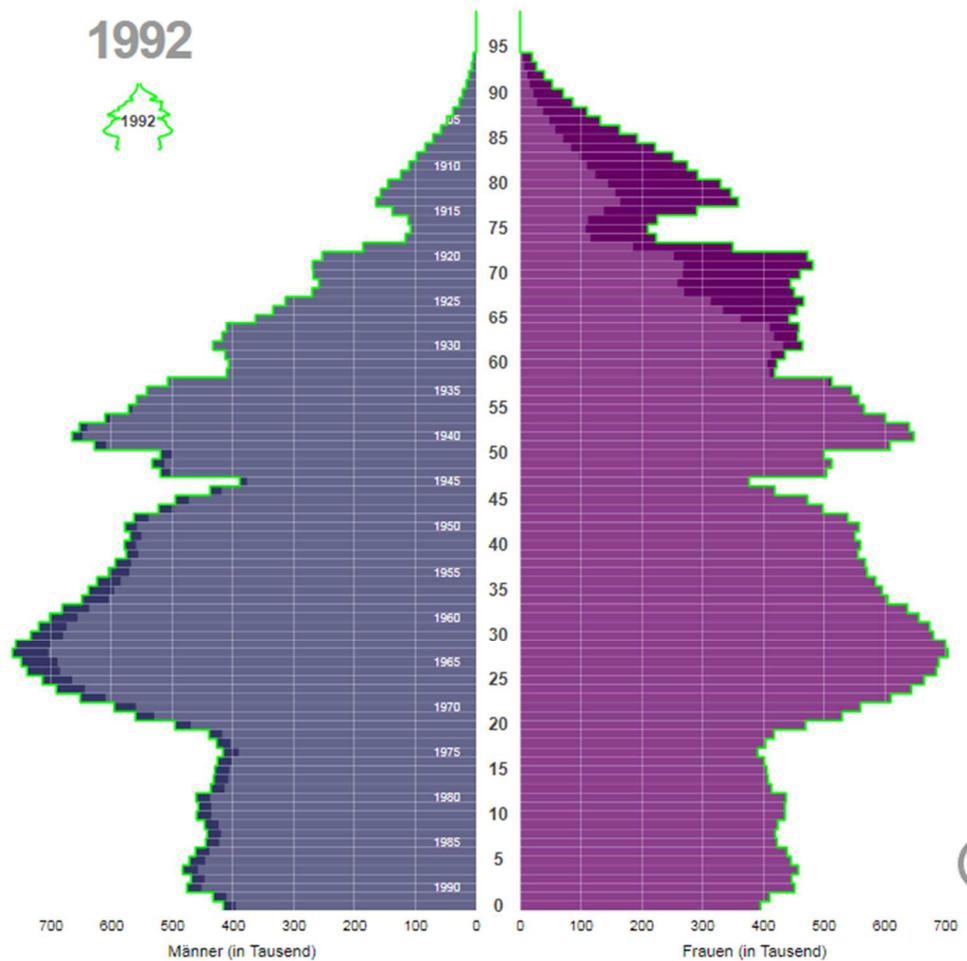


Abbildung 3.12: Alterspyramide 1992

Medianalter 37,3 Jahre; ≥ 65 Jahre 12,2 Millionen, 15 %; 20 – 64 Jahre 51,4 Millionen, 63 %; < 20 Jahre 17,4 Millionen, 21 %. Quelle: Statistisches Bundesamt.

In Abbildung 3.13 ist ein Vergleich der Krankheitssymptomatik zwischen Erwachsenen ($n = 55$) und Kindern ($n = 17$) dargestellt. Eine singuläre kutane Symptomatik war in dieser Untersuchung nur in der Gruppe der Erwachsenen zu finden. Jedoch ist zu beachten, dass das EM als häufigste LB-Manifestation als Blickdiagnose klassifiziert wird. Gegebenenfalls wurden bei Kindern restriktiver Hautbiopsien durchgeführt als bei Erwachsenen oder sie zeigten häufiger ein eindeutiges EM; was eine Biopsie nicht notwendig machte. In dieser Arbeit zeigten Kinder am häufigsten eine alleinige neurologische Symptomatik ($n = 6$), während die Erwachsenen häufiger eine NB in Kombination mit einer kutanen Symptomatik aufwiesen. Die einzige Manifestation einer Lyme-Karditis zeigte ein Kind (Infektion mit dem Stamm PHe). Die Lyme-Arthritis trat in beiden Gruppen selten auf (≥ 18 Jahre: $n = 2$; < 18 Jahre: $n = 1$).

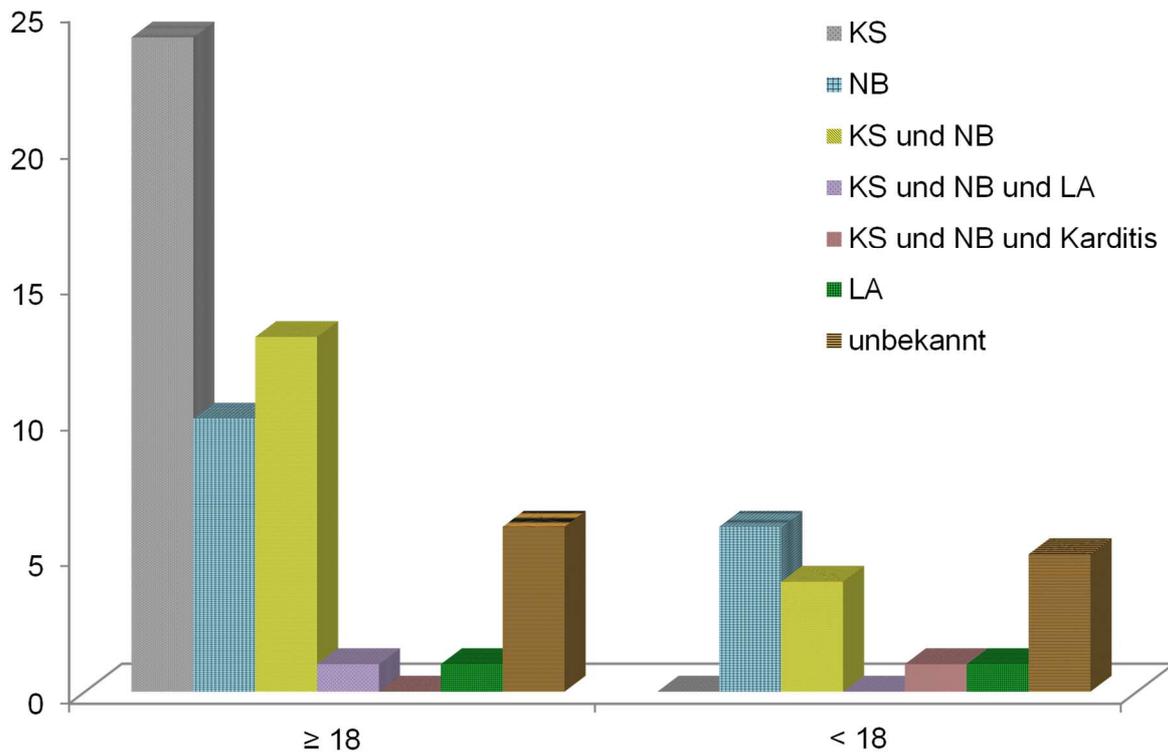


Abbildung 3.13: Vergleich der LB zwischen Erwachsenen und Kindern

Eingeschlossen waren 55 Erwachsene (≥ 18 Jahre) und 17 Kinder (< 18 Jahre), die eine LB-Infektion mit *B. garinii* und *B. bavariensis* zeigten. Die kutane Symptomatik umfasste das EM, das LZ und die ACA. Eine alleinige kutane Symptomatik fand sich nur in der Gruppe der Erwachsenen. Ein Kind zeigte eine Karditis, diese war wie die LA selten. KS Kutane Symptomatik; LA Lyme-Arthritis; NB Neuroborreliose.

Im Folgenden wird auf die Altersstruktur der einzelnen klinischen Diagnosen eingegangen: Die mit einem EM diagnostizierten Patienten ($n = 33$) zeigten zum Diagnosezeitpunkt ein Durchschnittsalter von 45,3 [2 - 77] Jahren (*B. garinii*: durchschnittlich (\bar{x}) 36,8 Jahre ($n = 18$); *B. bavariensis*: \bar{x} 55,5 Jahre ($n = 15$)). Die EM-Patienten sind somit circa fünf Jahre älter als der Patienten-Durchschnitt (29,9 Jahre, s.o.). Im Rahmen dieser Arbeit zeigten die LZ-Patienten, welche mit den *B. garinii*-Stämmen PLi, PMag, PMoel und PUh infiziert waren, ein durchschnittliches Alter von 26,8 [2 - 43] Jahren und sind somit nur geringfügig jünger als die allgemein mit *B. garinii*-infizierten Patienten (Durchschnittsalter 32,0 Jahre). *B. bavariensis* verursachte im Rahmen dieser Untersuchung kein LZ. Eine ACA als kutane Spätmanifestation zeigten sieben Patienten (*B. garinii*: PScp, PWest; *B. bavariensis*: PLad, PNeb, PProf, PSigl, PZwi). PSigl wird aus der folgenden Berechnung ausgeschlossen, da das Alter des Patienten zum Zeitpunkt eines EM dokumentiert war, aber nicht für die zeitlich versetzt folgende ACA. Die Patienten waren im Durchschnitt 50,8 [18 - 76] Jahre alt, mit zehn Jahren lag dies über dem oben genannten Durchschnittsalter. Die Patienten mit der Diagnose NB

waren durchschnittlich 38,1 [2 - 87] Jahre alt (*B. garinii*: ø 24,8 Jahre (n = 21); *B. bavariensis*: ø 57,9 Jahre (n = 14)). Drei Patienten zeigten eine LA, wobei nur von zwei Patienten (infiziert mit PStg, PRab) das Alter zum Diagnosezeitpunkt der genannten Spätmanifestation bekannt war und dieses durchschnittlich 17 [6, 28] Jahre betrug.

Ein Vergleich zwischen dem Alter der Patienten (n = 71, keine Daten PTröb) und den Borrelien-MLST-ST zeigte, dass der ST 84 (*B. bavariensis*) gehäuft in der Altersspanne 51 - 80 Jahre auftrat. Der ST 84 findet sich seltener bei den Patienten jünger als 50 beziehungsweise älter als 81 Jahre. Da *B. garinii* viele ST mit geringen absoluten Häufigkeiten umfasste, waren Häufungen schwer zu erfassen. Allgemein ließ sich ein Häufigkeitsgipfel in der Altersstufe 0 - 10 (n = 13) und 51 - 60 Jahre (n = 10) finden. Der ST 86 fand sich vier Mal in der Altersstufe 0 - 10 und zwei Mal in der Altersspanne 51 - 60 Jahre. Jeweils zwei Mal fanden sich der ST 245 und ST 246 in der Altersspanne 0 - 10 Jahre. Der ST 244 trat jeweils zwei Mal in die Altersstufe 31 - 40 und 51 - 60 Jahre auf. Eine Übersicht ist in Tabelle 3.7 dargestellt, in welcher die im Text angesprochenen Häufungen von *B. garinii* farblich markiert sind. Zur Einschätzung des *B. garinii*- und *B. bavariensis*-Infektionsalters ist die Gegenüberstellung mit dem Bevölkerungsalter zum Zeitpunkt der Probenakquise notwendig, weshalb in Abbildung 3.12 die Alterspyramide von 1992 dargestellt ist. Auffällig waren Häufungen der *B. garinii*-Infektionen im Kindesalter und der *B. bavariensis*-Infektionen im höheren Erwachsenenalter (> 50 Jahre) im Vergleich zur Altersstruktur der Bevölkerung.

Alter (in Jahren)	0-10	11-20	21-30	31-40	41-50	51-60	61-70	71-80	81-90
<i>B. bavariensis</i> (n = 30)	84	84, 84, 84	84, 84, 84	84	84, 84, 84	84, 84, 84, 84, 85, 85	84, 84, 84, 84, 84	84, 84, 84, 84	84
<i>B. garinii</i> (n = 41)	86, 86, 86, 86, 87, 177, 179, 245, 245, 246, 246, 251, 578	86, 246	87, 244, 574, 576	86, 87, 244, 244	86, 244, 251, 482, 575	86, 86, 173, 180, 244, 244, 245, 246, 573, 577	246, 251	244	-

Tabelle 3.7: Altersstruktur zum Zeitpunkt der Probeentnahme

Die farblichen Markierungen entsprechen den ST, welche im Text hervorgehoben wurden. Auffällig war die Häufung von *B. bavariensis* im höheren Erwachsenenalter. ST 86 (*B. garinii*, gelbe Markierung) fand sich bei Kindern und im mittleren Erwachsenenalter. Zur Referenz siehe Abbildung 3.12.

Geschlechtsstruktur der mit *B. garinii*- und *B. bavariensis*-infizierten Patienten

Das Geschlechterverhältnis der eingeschlossenen Patienten (n = 72), ist mit einem männlichen Anteil von 51,2 % (n = 21) bei den *B. garinii*-infizierten Patienten und 54,8 % (n = 17) bei den *B. bavariensis*-infizierten Patienten ausgeglichen. Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen den Spezies ($\chi^2 = 0,0928$; p = 0,760676 bei $\alpha < 0,05$). In Tabelle 3.8 ist die Symptomatik dem Geschlecht gegenübergestellt. Das Geschlechterverhältnis war bei den kutanen Manifestationsformen (KS) und NB ähnlich. Die Kombination von KS und NB trat häufiger bei Männern (n = 10) als bei Frauen (n = 7) auf. Die LA fand sich in dieser Untersuchung nur bei Frauen (n = 2). Die Fallzahlen waren zu gering für eine allgemeine Aussage.

Symptomatik	männlich	weiblich
KS	11	13
NB	8	8
KS und NB	10	7
KS und NB und LA	1	0
KS und NB und Karditis	1	0
LA	0	2
unbekannt	7	4
	n = 38	n = 34

Tabelle 3.8: Gegenüberstellung von Geschlecht und Symptomatik

Das Geschlechterverhältnis war bei den verschiedenen Manifestationen jeweils ausgeglichen. Die geringen absoluten Fallzahlen sind zu beachten. KS Kutane Symptomatik; LA Lyme-Arthritis; NB Neuroborreliose.

Vergleich der klinischen Symptomatik beider Spezies

Ein Vergleich der Manifestationen von *B. garinii* (n = 41) und *B. bavariensis* (n = 31) wurde durchgeführt (s. a. Abbildung 3.14). Bezüglich der klinischen Heterogenität ergab sich kein Unterschied zwischen *B. garinii* und *B. bavariensis*. Im Einzelnen ließ sich *B. garinii* ähnlich häufig aus Liquorproben (n = 23 (56,1 %)) und Hautbiopsaten (n = 17 (41,5 %), siehe auch Tabelle 3.1)) wie *B. bavariensis* isolieren (respektive aus Liquorproben n = 13 (54,8 %) und Hautbiopsaten n = 16 (45,2 %)). Eine alleinige NB ohne weitere Symptomatik in anderen Organsystemen mit einem positiven *B. garinii*-Nachweis zeigten zehn Patienten, weitere elf Patienten litten unter neurologischen und kutanen Symptomen und insgesamt dreizehn Patienten unter einer rein kutanen Manifestation (EM: sieben Fälle, LZ: drei Fälle, ACA: zwei Fälle) der LB. Bei den mit *B. bavariensis*-infizierten Patienten war die Anzahl der alleinigen NB-Fälle mit sechs geringer als bei den mit *B. garinii*-infizierten Patienten, acht Patienten zeigten neurologische und kutane Symptome und elf Patienten eine isoliert kutane Manifes-

tation (zur besseren Vergleichbarkeit siehe Abbildung 3.14 mit relativen Zahlenangaben). Beide Spezies zeigten ein gehäuftes Auftreten von NB, führten aber häufiger zu einer kutanen Symptomatik, welche sich meist als lokalisierte Frühmanifestation in Form eines EM äußerte. Hier ist die Frage zu stellen, ob sich der Organotropismus primär auf disseminierte Manifestationsformen bezieht oder die lokalisierten Erkrankungen einschließt. Die These ist, dass alle humanpathogenen Borrelien-Spezies eine lokalisierte Manifestation im Zeckenstich-Bereich auslösen können, bezüglich der disseminierten Erkrankungen jedoch einen Organotropismus zeigen. Es ist ein Organotropismus von *B. garinii* und *B. bavariensis* zum neurologischen System beschrieben (Barbour und Hayes 1986, Canica et al. 1993, Wilske et al. 1993, Pfister et al. 1994, Ornstein et al. 2001, Richter et al. 2006, Fingerle et al. 2008, NRZ für Borrelien 2008, Stanek und Strle 2009, Margos et al. 2011). Wurden nur die disseminierten Manifestationsformen betrachtet, zeigte *B. garinii* in 21 Fällen eine NB und in drei Fällen eine andere disseminierte Manifestationsform. Für die mit *B. bavariensis*-infizierten Patienten ergaben sich respektive 14 NB-Fälle und drei Patienten mit anderen disseminierten Manifestationen. Sind zwei oder mehr disseminierte Manifestationen bei einer Person aufgetreten und eine war als NB diagnostiziert, wurde diese der NB-Kohorte zugerechnet. Im Exact Fisher Test ergab sich jedoch kein signifikanter Unterschied ($p = 0,6786$ bei $p < 0,05$) zwischen NB und weiteren disseminierten Manifestationsformen. Häufig ging der NB ein EM oder ein LZ voraus oder die Manifestationen traten zeitgleich auf. Es muss somit die Möglichkeit berücksichtigt werden, dass in einigen Fällen die NB der kutanen Frühmanifestation gefolgt wäre, aber durch eine adäquate Therapie verhindert worden ist. Darüber hinaus erkrankten insgesamt sieben Patienten (*B. garinii*: PScp, PWest; *B. bavariensis*: PLad, PNeb, Prof, PSigl, PZwi) aus dem betrachteten Kollektiv ($n = 72$) an einer ACA. Letztere Diagnose wird bezüglich des Organotropismus mit *B. afzelii* in Verbindung gebracht. *B. afzelii* als titulierter Hauptverursacher dieser Manifestation kann im Rahmen dieser Arbeit nicht beurteilt werden, doch dürfen auch *B. garinii* und *B. bavariensis* mit insgesamt 9,9 % ACA-Manifestationen nicht als Auslöser nicht unterschätzt werden.

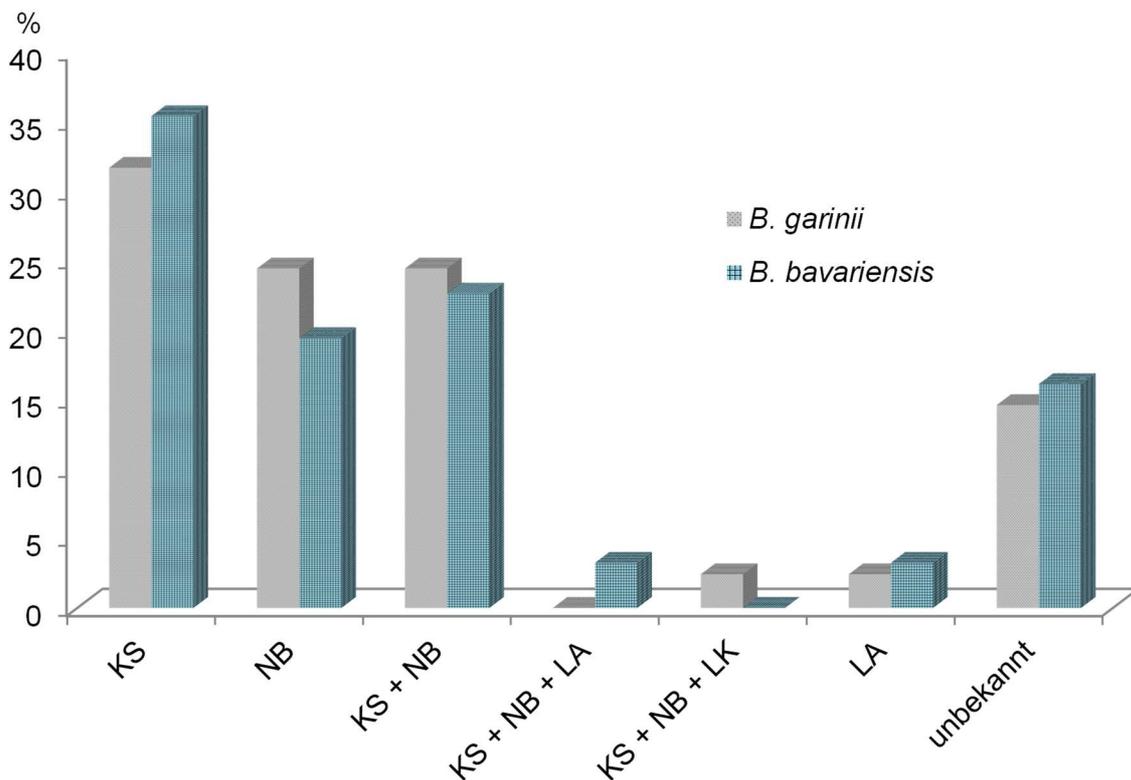


Abbildung 3.14: Symptomatik von *B. garinii* und *B. bavariensis* im Vergleich

Eingeschlossen wurden 41 *B. garinii*- und 31 *B. bavariensis*-Isolate. Es handelt sich um eine prozentuale Darstellung. LA Lyme-Arthritis; LK Lyme-Karditis; KS Kutane Symptomatik; NB Neuroborreliose.

Im Menschen ist meist nur ein Organsystem im Rahmen einer Borrelien-Infektion betroffen (Krause und Fingerle 2014). In dieser Arbeit trat eine Beteiligung mehrerer Organsysteme unter Ausschluss der Diagnose EM bei *B. garinii* in 4,9 % und respektive bei 6,5 % der *B. bavariensis*-Patienten auf.

Geografische Verteilung der klinischen Manifestationen beider Spezies

Im Folgenden werden die klinischen Manifestationen bezüglich ihrer geografischen Verteilung betrachtet. Zur Veranschaulichung wurden in dem Ausschnitt der Europakarte (Abbildung 3.15 sowie Tabellen 7.19 und 7.20) die verschiedenen Diagnosen farblich kodiert. Es ließ sich eine Konzentration der eingesandten Stämme auf den süddeutschen Raum entnehmen (siehe Abschnitt 3.2.1). Es ist eine homogene Farbverteilung der Markierungen auf der Karte zu erkennen und somit eine gleichmäßige geografische Verbreitung der Manifestationen anzunehmen. Die abweichende Markierung in beige an der französischen Atlantikküste wird in Abschnitt 3.2.1 erläutert. Insgesamt wurden vier Stämme (PLep, PMa, PNov, PTrob) aus Bosnien-Herzegowina an das NRZ für Borrelien gesandt, welche die Einschlusskriterien (Abschnitt 2.2) erfüllten. Alle vier Isolate stammen aus Hautbiopsaten. Interessanterweise wiesen zwei Stämme (PLep und PTrob) den ST 85 auf, welcher insgesamt in dieser

Arbeit vier Mal ermittelt wurde. Die anderen zwei Proben mit ST 85 (POb, PWest) wurden aus München zur Isolation in das NRZ für Borrelien gesandt. Jedoch war die Fallzahl zu gering für eine allgemeine Aussage, sodass regionale Häufungen von ST 85 in weiteren Analysen zu überprüfen sind. Es war kein Zusammenhang zwischen den MLST-ST und der geografischen Lokalisation des ZS in Anbetracht dessen, dass die meisten Isolate aus Süddeutschland stammen, zu erkennen. Dies spricht für eine ausgeglichene Verteilung der ST unter Berücksichtigung einer großen ST-Vielfalt mit zum Teil geringen absoluten Häufigkeiten und einer somit relativ homogenen Verbreitung von *B. garinii* und *B. bavariensis* in Deutschland.



Abbildung 3.15: Geografische Verteilung der Symptomatik

Eingeschlossen sind 60 *B. garinii*- und *B. bavariensis*-Stämme. Farbliche Kodierung: Weiße Markierung: kutane Manifestation, Früh- und Spätmanifestationen; Gelbe Markierung: Kombination aus kutaner und neurologischer Symptomatik; Orange Markierung: alleinige neurologische Manifestation; Beige Markierung: seltene Diagnosen wie Lyme-Karditis oder Lyme-Arthritis (PHe, PMüe, PRab, PStg), auch wenn weitere Manifestationsformen bei den Patienten auftraten. Ausgeschlossen wurden Patienten mit „unbekannten“ Manifestationen und der Patient infiziert mit PStH aufgrund nicht ausreichender Daten (Tabelle 7.19 und 7.20). Wenn die ZS von ≥ 2 Stämmen in der gleichen Region bzw. Stadt wahrgenommen oder erfasst wurden, wurden diesen folglich die gleichen geografischen Koordinaten zugeordnet und somit waren anteilige und völlige Überlappung der Markierungen möglich. Dies ist beispielsweise bei der weißen Markierung in Bosnien-Herzegowina der Fall (PLep und PMA). Zu betonen ist, dass diese Abbildung eine Möglichkeit der Verteilung darstellt. Unsicherheiten bestehen bzgl. der geografischen Lokalisation des Zeckenstichs sowie die Möglichkeit multipler Zeckenstiche. Eine Ableitung einer allgemeinen Aussage ist bei kleiner Fallzahl schwierig.

Zusammenhang zwischen MLST-ST und klinischer Symptomatik von *B. garinii* und *B. bavariensis*

Ein möglicher Zusammenhang zwischen den MLST-ST und der LB-Symptomatik wird im Folgenden betrachtet. In Abbildung 3.16 und 3.17 ist sowohl die Symptomatik der mit *B. garinii* (n = 41) als auch der mit *B. bavariensis* (n = 31) -infizierten Patienten aufgeführt. Alle Isolate mit ST 85 wurden aus Hautbiopsaten isoliert, klinisch wurden ausschließlich kutane Manifestationsformen festgestellt (keine Information über PTrob). Zwei der vier Proben stammten aus dem ehemaligen Jugoslawien (s. o.). Darüber hinaus wurden alle neun Stämme des ST 86 (*B. garinii*) aus Liquorpunktaten isoliert. In allen bekannten Fällen (keine Informationen für PBol und PHez) trat eine NB auf, jedoch waren begleitende lokalisierte Manifestationsformen möglich. Ebenso verursachten alle Isolate mit ST 245 (n = 3) NB, auch hier war ein vorausgehendes oder synchron auftretendes EM möglich. Borrelien mit den neuen ST 573 bis 575 und 577, komplexiert um den Gruppenfounder ST 86, lösten eine kutane Manifestation aus. ST 179 lag nur einmal vor, die Borrelien wurden aus Synovia kultiviert.

Es lässt sich zusammenfassen, dass ein Zusammenhang zwischen MLST-ST und Klinik möglich ist, jedoch sind für alle angesprochenen Häufungen weitere Isolate zur Bestätigung der Trends notwendig.

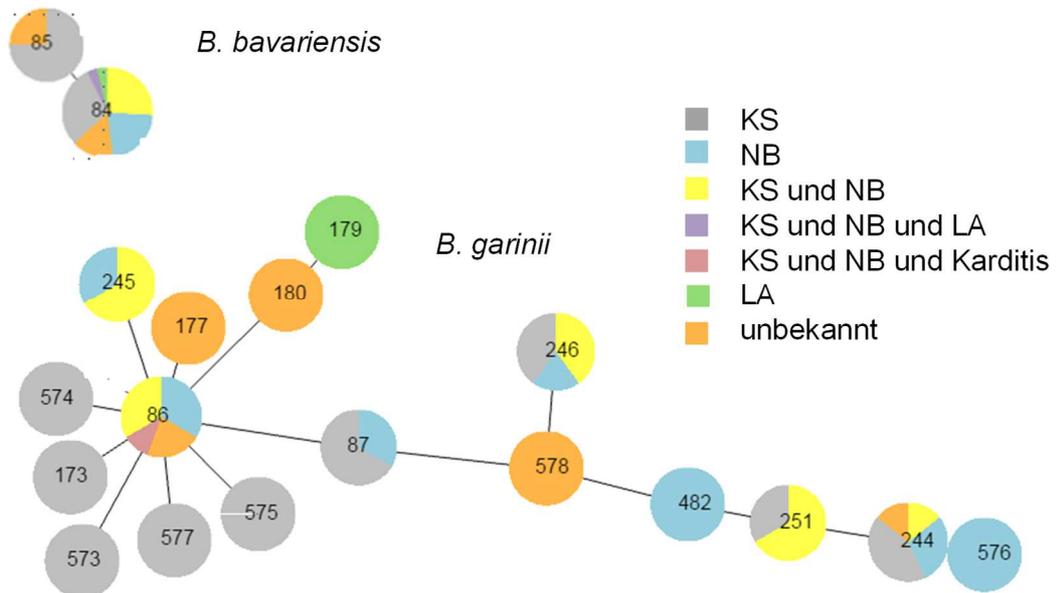
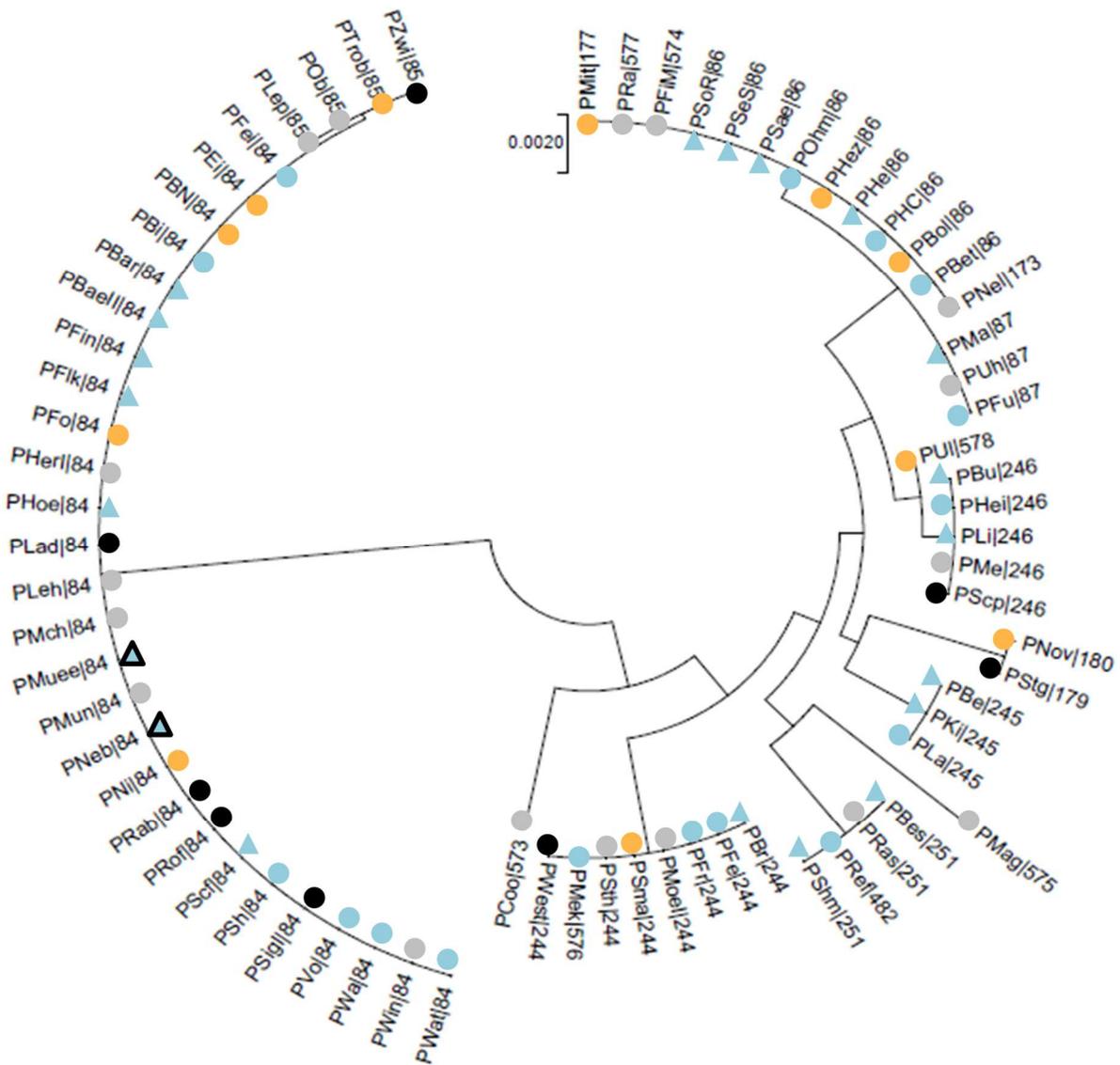


Abbildung 3.16: Zusammenschau von Manifestation und MLST-Sequenztyp

Ausführungen siehe Text und Abbildung 3.17. LA Lyme-Arthritis; KS Kutane Symptomatik; NB Neuroborreliose.



- Unbekannte Manifestationsform
- NB
- ▲ NB mit vorausgegangener oder synchron auftretender lokalisierter Manifestationsform
- ▲ NB und weitere disseminierte Manifestationsform (ACA, LA)
- Lokalisierte Manifestationsform
- Disseminierte Manifestationsform außer NB

Abbildung 3.17: Maximum Likelihood Tree mit assoziierter klinischer Manifestation

Maximum Likelihood Tree erstellt mit MEGA 7.0. Der Tree lässt sich in zwei Hälften gliedern: linke Hälfte: *B. bavariensis*-Stämme (n = 31; ST 84 und 85), rechte Hälfte: *B. garinii*-Isolate (n = 41; alle weiteren ST). Farblich markiert ist die klinische Manifestation. Die Markierungen einiger Stämme sind zur besseren Orientierung eingerückt, da sie einen differenten MLST-ST bezeichnen (*B. garinii*: PFiM, PMek, PMit, PNeI, PRa, PRef; *B. bavariensis*: PLep, POb, PTrob, PZwi). Zu beachten ist der lange Ast von PMag (ST 575), siehe hierzu auch Abschnitt 4.2 und 4.3. ACA Acrodermatitis chronica atrophicans; LA Lyme-Arthritis; NB Neuroborreliose.

Betrachtung klinischer Lyme-Borreliose-Sonderfälle

Folgende Fälle fordern eine separate Erwähnung:

- (I) Bei dem Patienten infiziert mit PBar ließen sich Borrelien im Aortengewebe nachweisen. Neben verschiedenen Erregern wird *B. burgdorferi* s. I. in Zusammenhang mit Aortenaneurysmata gebracht, entweder primär über die Schwächung der Aortenwand oder sekundär über die Besiedlung von Aortenaneurysmata und Thromben, sodass die These eines molekularen Mimikry formuliert wurde (Hinterseher et al. 2012; s. a. Abschnitt 4.2).
- (II) PFo zeigte Borrelien im Hautbiopsat im Rahmen einer Eosinophilen Fasziitis. Einige Fälle stehen in Bezug mit Borrelien, jedoch ist die Ätiologie noch nicht vollständig geklärt (Houtman et al. 2009; s. a. Abschnitt 4.2).
- (III) Bei PNi fanden sich Borrelien im Biopsat eines T-Zell-Lymphoms. Die Assoziation von *B. burgdorferi* s. I. und kutanen Marginalzonen-Lymphomen ist Bestandteil der aktuellen Forschung (s. a. Abschnitt 4.2). Ein Zusammenhang zwischen *B. burgdorferi* s. I. und T-Zell-Lymphomen ist unsicher.
- (IV) Ein Patient, welcher mit dem kulturell nachgewiesenen *B. bavariensis*-Stamm PWa infiziert war, zeigte zeitgleich einen serologischen IgM-Antikörper-Nachweis für FSME. Eine FSME-Impfung hatte im Vorfeld nicht stattgefunden. Anamnestisch war kein Zeckenstich erinnerlich und keine Zecke zur Untersuchung auf eine Doppel-Trägerschaft von Borrelien und FSME-Viren eingesandt worden.

Die oben genannten Fälle (I - III) geben Hinweise auf eine Borrelien-Persistenz an immunologisch privilegierten Stellen im Körper.

3.2.5 Therapie im Rahmen der betrachteten Kohorte

Im Folgenden werden die durchgeführten Therapien retrospektiv bei der Diagnose LB zusammengefasst. Bei 31 Patienten war die Therapie nicht bekannt, 41 Patienten wurden primär antibiotisch behandelt. 18 Fälle wurden mit Ceftriaxon i. v. beziehungsweise i. m., drei Fälle mit Cefotaxim i. v., acht Personen mit Penicillin i. v. und zwei Patienten mit Doxycyclin p. o. behandelt. Jeweils ein Patient wurde p. o. mit Erythromycin beziehungsweise Amoxicillin in Kombination mit Clavulansäure behandelt. In acht Fällen wurden verschiedene Antibiotika in Folge eingesetzt, meist um die Applikation zu oralisieren. Die antibiotischen Therapien erfolgten mit teils unterschiedlicher Dosierung und Therapiedauer. Insgesamt waren Informa-

tionen für zwei Patienten (infiziert mit PBU, PProf) über unerwünschte Nebenwirkungen des primär eingesetzten Cephalosporin-Antibiotikums in Form eines Arzneimittelexanthems und Diarrhö vorhanden, welche zum Wechsel der Antibiotika-Klasse führten. Es wurde nach Therapieabschluss keine erneute Probeentnahme durchgeführt, sodass nicht beurteilt werden konnte, ob nach der antibiotischen Chemotherapie noch Borrelien vorlagen. Darüber hinaus lagen keine Daten über Compliance bezüglich der Medikamenteneinnahme beziehungsweise eines klinischen Follow-ups der Patienten vor.

3.3 Populationsstruktur und klinische Manifestationen von *B. garinii* und *B. bavariensis* unter Einbezug der MLST-Datenbank

Um die weltweite Populationsstruktur von *B. garinii* und *B. bavariensis* näher zu erfassen, wurde auf die MLST-Datenbank zugegriffen. Es wurden von den genannten Spezies alle Stämme, deren allelisches Profil einschließlich des ST vollständig hinterlegt waren und zudem die im Rahmen dieser Arbeit sequenzierten, aber noch nicht vollständig in der MLST-Datenbank hinterlegten Isolate, eingeschlossen (Stand MLST-Datenbank 19.08.2017). Dies führte zur Analyse von 300 *B. garinii*- und 181 *B. bavariensis*-Isolaten. *B. garinii* umfasste 135 differente ST, demgegenüber zählte *B. bavariensis* 56 unterschiedliche ST. Insgesamt wurden 363 Stämme aus Zecken isoliert (*B. garinii* n = 253 und *B. bavariensis* n = 110), 93 Isolate stammten aus humanen Proben (*B. garinii* n = 47 und *B. bavariensis* n = 46) und 25 Stämme wurden in tierischen Wirten (*B. bavariensis* n = 25) gefunden. Bei den Vektoren waren in der Datenbank für die eingeschlossenen Stämme *Ixodes* sp., *I. pavlovskyi*, *I. persulcatus*, *I. ricinus* und *I. uriae* hinterlegt. Die Stämme wurden auf den Kontinenten Asien, Europa und Nordamerika isoliert.

Tabelle 3.9 gibt eine Zusammenfassung der Informationen aus der MLST-Datenbank wieder, welche das Verständnis der folgenden Abhandlung über *B. garinii*- und *B. bavariensis*-Isolate auf den Kontinenten Asien, Europa und Nordamerika erleichtern soll.

Kontinent	Isolat	<i>B. garinii</i>	<i>B. bavariensis</i>
Europa	n (gesamt)	197	35
	Anzahl ST	79	2
	humane Isolate	44	31
	Zecken-Isolate	153	4
	tierische Isolate	0	0
Asien	n (gesamt)	84	145
	Anzahl ST	44	53
	humane Isolate	3	15
	Zecken-Isolate	81	105
	tierische Isolate	0	25
Nordamerika	n (gesamt)	19	1
	Anzahl ST	12	1
	humane Isolate	0	0
	Zecken-Isolate	19	1
	tierische Isolate	0	0

Tabelle 3.9: Übersicht über die Isolationsquellen und die Fundkontinente

Die Isolate aus Nordamerika wurden nur aus kanadischen Seevögeln isoliert. Auffällig ist das Verhältnis von *B. bavariensis* von humanen zu Zecken-Isolaten in Europa. Die europäischen *B. bavariensis* ließen sich in Analogie zu Fingerle et al. 2008 vor allem aus humanen Proben isolieren und konnten nur selten in Zecken nachgewiesen werden.

Für Europa waren der Spezies *B. garinii* 197 Isolate mit 79 verschiedenen ST zuzuordnen. *B. bavariensis* war in Europa im Gegensatz zu den asiatischen Stämmen (siehe unten) deutlich homogener und wies nur zwei ST (ST 84 und ST 85) mit insgesamt 35 Stämmen auf. Bei den humanen Isolaten handelte es sich ausschließlich um am NRZ für Borrelien akquirierte und sequenzierte Stämme. Herauszuheben ist das Verhältnis, mit welchem *B. bavariensis*-Isolate aus Zecken und aus humanen Proben isoliert worden sind. In Analogie zu Fingerle et al. 2008 überwogen die humanen Isolate deutlich. Dies lässt unterschiedliche Mutmaßungen zu, welche in Abschnitt 4.3 thematisiert werden. 41 *B. garinii* und 31 *B. bavariensis* wurden bereits in den Abschnitten 3.1 bis 3.2 ausführlich erarbeitet. Bei den europäischen Stämmen manifestierte sich die LB in 51 Fällen mit einer disseminierten und nur in 19 Fällen mit einer alleinig lokalisierten Symptomatik. Fünf weitere Isolate stammten aus Hautbiopsaten, es fehlten jedoch Angaben zur klinischen Symptomatik. Aus tierischen Wirten isolierte Borrelien waren in Europa für *B. garinii* und *B. bavariensis* nicht in der MLST-Datenbank hinterlegt. Die europäischen *B. garinii*- und *B. bavariensis*-Stämme stammten aus Deutschland (n = 83), Großbritannien (n = 70), Lettland (n = 30), Frankreich (n = 18), Norwegen (n = 16), Serbien (n = 5), Italien (n = 4), dem ehemaligen Jugoslawien (n = 3) und jeweils ein Isolat

aus Österreich, den Niederlanden und Slowenien. Die Zuordnung von *B. garinii* und *B. bavariensis* zu den Fundländern findet sich in Tabelle 7.19 im Anhang.

Der folgende Einschub zeigt mögliche Fehlerquellen bei der Arbeit mit der MLST-Datenbank auf. Für die in den Abschnitten 3.1 und 3.2 behandelten Stämme wurde die Anamnese und klinische Präsentation der LB ausführlich recherchiert, sodass sich folgende Punkte und Diskrepanzen bei der Auswertung der MLST-Datenbank ergaben:

- (I) Da nur die Borrelien-Isolationsquelle (ACA, CSF, EM, skin, etc.) in der Datenbank angegeben wurde, entfielen essenzielle Informationen wie die Beteiligung zweier Organsysteme im Rahmen der LB-Infektion. Eine separate Erwähnung unter „comments“ war möglich. Die Informationen sind stark von den Angaben des Einsenders abhängig. Beispielsweise lag für die Stämme PBar (*B. bavariensis*, ST 84) und P Bu (*B. garinii*, ST 246) ein EM als Isolationsort der Borrelien vor, jedoch hatte sich eine eindeutige neurologische Beteiligung im Sinne einer NB in der oben genannten Recherche ergeben. Somit sollten die Infektionen mit den genannten Stämmen zu der Kategorie „disseminierte Manifestationen“ zählen (s. a. Abschnitt 1.4), was sich aber weder mit der Angabe „EM“ noch „skin“ in der Datenbank verdeutlichen ließ. Im Umkehrschluss wurden einige Stämme aus Liquor isoliert, eine vorher jedoch lokalisierte Manifestation im Rahmen eines EM wurde nicht in der Datenbank erfasst (für Beispiele siehe Abschnitt 3.2.3). Somit ergab sich ein Informationsverlust bei der klinischen Präsentation.
- (II) Darüber hinaus beruft sich die Datenbank auf die vom Einsender bereit gestellten Informationen, welche durch den Kurator teils nicht überprüfbar sind. Beispielsweise fehlte in der MLST-Datenbank die Quelle des Stammes PRab (*B. bavariensis*, ST 84), welche sich aber nach einer ausführlichen Recherche der Einsendedaten als Synovia erwies.

Dies lässt erkennen, dass die MLST-Datenbank zwar eine wertvolle Informationsquelle mit einem großen Datenumfang darstellt, der Nutzer aber die Informationen zu hinterfragen und zu bewerten hat, um sie in einem sinnvollen Interpretationskontext zu verwenden. Darüber hinaus sind korrekte Angaben von Seiten des Einsenders unabdingbar.

In Asien wurden 84 Stämme der Spezies *B. garinii* zugerechnet und machten 44 verschiedene ST aus, respektive fanden sich 145 *B. bavariensis*-Isolate mit 53 differenten ST (s. a. Tabelle 3.9). Die asiatischen *B. bavariensis* zeigten somit eine größere Diversität als die euro-

päischen *B. bavariensis*. 186 Borrelien-Stämme wurden aus Zecken isoliert, 25 *B. bavariensis* aus tierischen Wirten und 18 *B. garinii* bzw. *B. bavariensis* aus menschlichen Hautbiopsaten. Letztere verursachten alle ein EM als lokalisierte Manifestation und wurden ausschließlich in Japan isoliert. Eingeschlossen waren Stämme aus China (n = 37), Russland (n = 110), Japan (n = 73) und der Mongolei (n = 9). Es lässt sich zusammenfassen, dass die Divergenz bezüglich der Heterogenität der *B. bavariensis* in Europa und Asien auffallend war (siehe Abschnitt 4.3).

Für Nordamerika waren für die Spezies *B. garinii* und *B. bavariensis* insgesamt 20 Stämme in der MLST-Datenbank hinterlegt, welche alle aus kanadischen Seevogel-assoziierten Zecken isoliert wurden. Es zeigten sich 13 verschiedene ST, wobei nur der ST 685 *B. bavariensis* zugeordnet wurde. Bisher konnte *B. garinii* und *B. bavariensis* in Nordamerika nicht in humanen Isolaten nachgewiesen werden.

Veranschaulicht werden die Daten in einem Maximum Likelihood Tree in Abbildung 3.18. Nur wenige ST von *B. garinii* oder *B. bavariensis* wurden auf mehr als einem Kontinent nachgewiesen (markiert mit einem Pfeil; siehe unten). Graue Markierungen zeigen den Nachweis eines ST aus mindestens zwei verschiedenen Isolationsquellen an. Die europäischen *B. bavariensis*-Stämme ST 84 und ST 85 finden sich entfernt von den europäischen *B. garinii*-Isolaten im rechten Teil der Grafik eingebettet zwischen asiatischen Stämmen. Die nordamerikanischen Isolate zeigen sich mit Ausnahme einer Häufung im unteren Teil der Grafik (ST 687, 688, 689, 693) in enger Verbindung mit europäischen und asiatischen Stämmen.

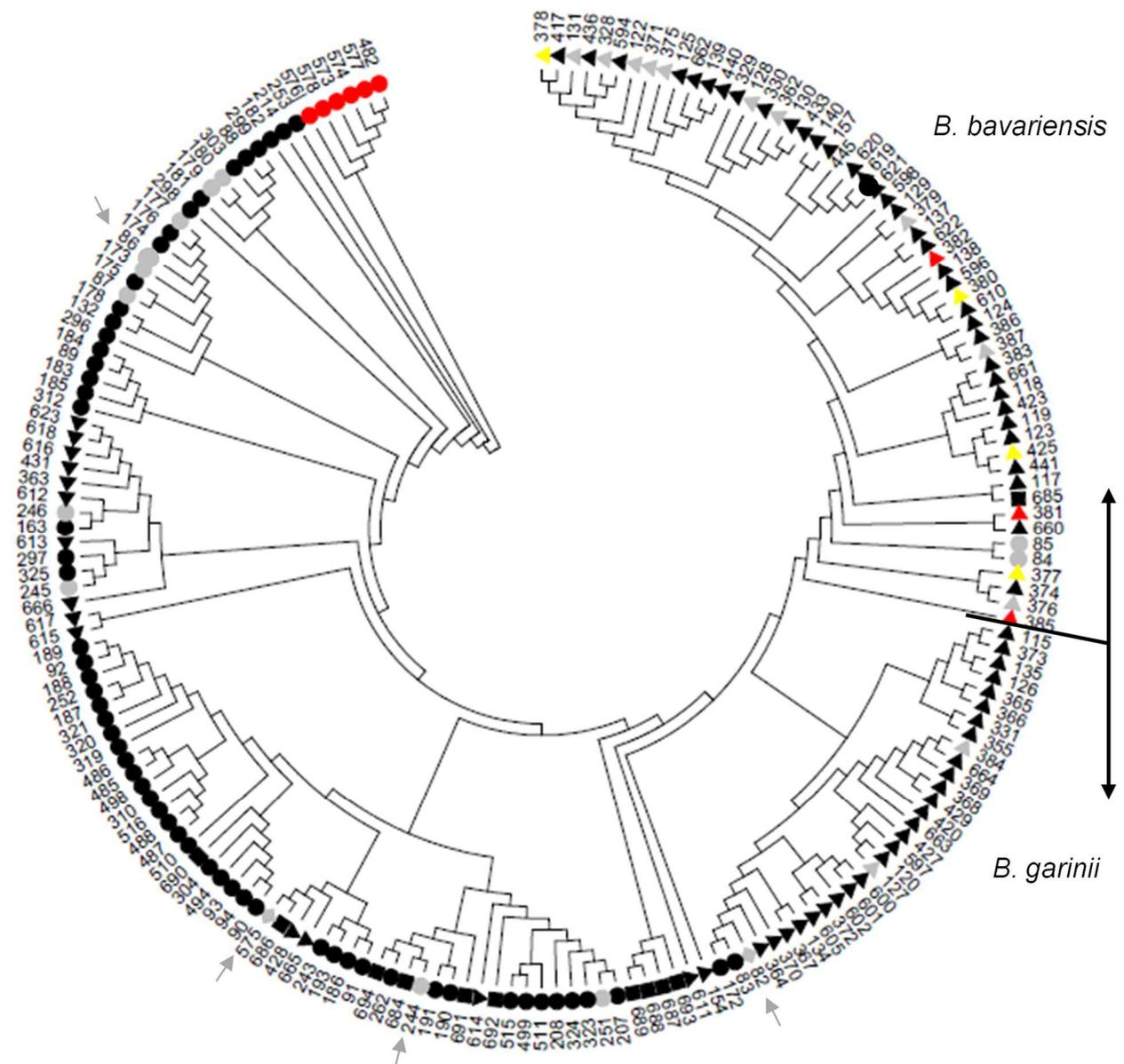


Abbildung 3.18: Maximum Likelihood Tree basierend auf der MLST-Datenbank

Kodierung: Isolationsquelle: Schwarz: Zecke; Rot: Mensch; Gelb: tierischer Wirt; Grau: Mehr als eine Isolationsquelle. Fundkontinent: Kreis: Europa; Dreieck: Asien; Quadrat: Nordamerika; Raute: mehr als ein Fundkontinent, zur besseren Übersicht zudem mit einem Pfeil markiert. n = 481. Tabelle 7.21 enthält die zugrundeliegenden Daten.

Abbildung 7.13 im Anhang stellt die ST von *B. garinii* und *B. bavariensis* in Verbindung mit dem farblich markierten Fundkontinent dar. Asiatische Stämme finden sich rechts betont in der Abbildung und links dominieren die europäischen Stämme. Zwei Gruppenfounder sind hervorzuheben: ST 86 und ST 244. Dies ist interessant, da ST 244 bei ausschließlicher Betrachtung der europäischen Isolate keinen Gruppenfounder darstellte. Diese bilden jeweils eine Schnittstelle zwischen asiatischen und europäischen Stämmen. Mit (°) ist der ST 575 gekennzeichnet, auf welchen unter (III, siehe unten) und in Abschnitt 4.3 genauer eingegangen wird. Interessanterweise findet sich der ST 355 (*B. garinii*), welcher aus einer Zecke in Italien isoliert wurde, als gelbes Kreissymbol (Fundort Europa) zwischen grauen Nodes (Fundort Asien) (siehe rechte Vergrößerung in Abbildung 7.13). Da keine weiteren Informationen für diesen Stamm hinterlegt waren, war eine Interpretation nicht möglich. Bei der Betrachtung von *B. garinii* ist beim Wirtstier Vogel zwischen terrestrischen und Seevögeln zu unterscheiden (siehe Abschnitt 4.3).

Drei ST ließen sich bei den betrachteten Spezies auf mehr als einem Kontinent nachweisen. Eine differenzierte Diskussion hierzu findet sich in Abschnitt 4.3:

- (I) Der ST 86 (*B. garinii*) fand sich in Europa (n = 26). Er konnte weitverbreitet in verschiedenen Ländern nachgewiesen werden. Als Fundort der Zecke, welche mit dem Stamm IP90 infiziert war, war Moskau, Russland angegeben.
- (II) In Kanada (n = 1), Russland (n = 1) und Europa (n = 11) konnte der ST 244 (*B. garinii*) nachgewiesen werden. Während in Europa die Stämme sowohl aus humanen Proben als auch aus Zecken isoliert wurden, stammen die Isolate aus Kanada und Russland nur aus Zecken (respektive *I. uriae* und *I. persulcatus*). Das kanadische Isolat stammte aus der Region Neufundland und Labrador. Dieser Stamm wurde bisher nicht in Nordamerika beschrieben.
- (III) ST 575 ließ sich in Kanada (n = 4) und Europa (n = 1) isolieren. Bei der europäischen Probe handelte es sich um den aus einem Hautbiopsat isolierten Stamm PMag. Dessen allelisches Profil war bis auf den AT von *pyrG* bisher in Europa nicht bekannt. Seitdem sind zusätzlich die kanadischen Stämme mit dem ST 575 in die MLST-Datenbank hinzugefügt worden. Da der Stamm PMag stark divergent von den europäischen allelischen Profilen ist, führt dies zu Spekulationen über den Infektionsort des Patienten (s. a. Abschnitt 4.3).

26 ST ließen sich in mehr als einer Isolationsquelle nachweisen, das heißt, dass sie aus Zecken, humanen Isolaten und/ oder tierischen Wirten isoliert werden konnten. Diese sind einschließlich der Fundländer in Tabelle 7.22 im Anhang hinterlegt. Europäische *B. bavariensis*

werden in humanen Probematerialien häufiger als in Zecken gefunden (Fingerle et al. 2008). Derzeit liegen keine ausreichenden Daten vor, ob alle ST von *B. garinii* und *B. bavariensis* mit der gleichen Wahrscheinlichkeit Menschen infizieren. Darüber hinaus bleibt abzuwarten, welche ST gehäuft in welchen menschlichen Probematerialien gefunden werden und ob sich hier regionale Unterschiede zeigen werden, da derzeit die Mehrheit der sequenzierten Stämme aus humaner Quelle für die Spezies *B. garinii* und *B. bavariensis* aus Deutschland stammt.

3.4 Ergebnisse des CXCL13-Nachweises nach Langzeitaufbewahrung in akuter und später Neuroborreliose

Die Liquorpunktate für die CXCL13-Analyse wurden von 1992 bis 2000 am NRZ für Borrelien gesammelt (Abschnitt 2.11). Obwohl die das Material einsendenden Institutionen um einen unverzüglichen Transport und einen reibungslosen Einfrierprozess der Proben gebeten wurden, sind diese zwei Variablen retrospektiv nicht beeinflussbar und schwer zu bewerten. Es konnten 20 Liquorproben von insgesamt zwölf Patienten – elf Patienten mit gesicherter NB und ein Patient mit Neurosyphilis (Patient 2) – unter Berücksichtigung der Einschlusskriterien (Abschnitt 2.11) für die Untersuchung akquiriert werden (Tabelle 3.10). Zehn Patienten (Patienten 3 - 12) wurden mit früher und ein Patient (Patient 1) mit später NB gemäß den Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Neurologie und der European Federation of Neurological Societies (Mygland et al. 2010, Rauer et al. 2012) diagnostiziert. Bei drei der NB-Patienten (Patienten 1, 4, 6) und für den Fall der Neurosyphilis (Patient 2) wurden im klinischen Verlauf und nach der Therapie weitere Lumbalpunktionen durchgeführt und die Proben konnten zur Beobachtung des Verlaufs der CXCL13-Konzentrationen und der Entzündungsmarker verwendet werden.

Patient	Wert	CXCL13 (pg/ml)	Zeitspanne zwischen NB-Manifestation und LP (d)	Zellzahl Liquor (μ l)	Protein Liquor (mg/l)	IgG-Antikörperindex (korr.)	Blut-Liquor-Schrankenstörung ($\times 10^{-3}$)
1	1	1.334	249	69	3.240	17,9	38,4
	2	30,1	285	normwertig	normwertig	3,1	11,8
	3	< 7,8	445			10,6	9,9
2 *	1	5.880	-	-	-	8,1	13,5
	2	34,6	-	-	-	3,4	11,8
	3	< 7,8	-	-	-	3,7	7,4
	4	< 7,8	-	-	-	8,8	6,0
3	1	318,5	7	x	-	2,1	13,9
4	1	3.508	16	670	1.500	29,2	15,3
	2	367,1	27	-	-	> 36,5	6,7
	3	177,5	236	-	-	30,7	-
5	1	13.220	14	140	1.620	15,9	21,4
6	1	20.420	16	233	870	11,4	14,0
	2	164,3	36	-	-	5,8	3,2
7	1	8.770	21	63	750	26,2	20,2
8	1	5.270	24	219	420	2,4	7,3
9	1	438,7	2	267	4.400	> 4,2	6,6
10	1	4.380	17	158	1.060	3,4	20,6
11	1	1.977	28	149	1.150	17,3	16,8
12	1	9.370	-	x		3,9	21,4

Tabelle 3.10: Übersicht der Patienten für den CXCL13-Nachweis

Patient 1: Späte NB, Patient 2 (*): Neurosyphilis, Patient 3 - 12: Akute NB. X: Pleozytose ohne genaue Wertangabe.

Alle NB-Patienten zeigten erhöhte CXCL13-Konzentrationen zwischen 318,5 und 20.420 [\bar{x} 6.273,3] pg/ml im Liquor nach einer Langzeitlagerung bei -20 °C, welcher vor oder innerhalb der ersten drei Tage nach Therapiebeginn entnommen wurde. Das mittlere Alter der NB-Patienten zum Zeitpunkt der ersten Liquor-Entnahme betrug 43,6 [8 - 74] Jahre. Für zehn Patienten konnte der exakte Zeitpunkt der neurologischen Manifestation eruiert werden. Dies ermöglichte die Ermittlung der Zeitspanne zwischen dem ersten neurologischen Symptom und der Lumbalpunktion, welche zwischen zwei und 249 Tagen zählte. Die mittlere Dauer zwischen der NB-Manifestation und der Liquorpunktion betrug für die akute NB 16,1 [2 - 28] Tage (Abbildung 3.17), während für den Patienten mit der späten NB eine Zeitspanne von 249 Tagen errechnet wurde. Es zeichnete sich eine Korrelation zwischen der Dauer der frühen NB und der CXCL13-Konzentration ab. Durchschnittlich geringer waren die CXCL13-Konzentrationen (318,5 und 438,7 pg/ml) der Patienten 3 und 9 (in Abbildung 3.19 markiert

mit *), deren NB respektive sieben und zwei Tagen andauerte. In dieser Untersuchung waren die CXCL13-Werte nach drei Wochen anhaltender neurologischer Symptomatik stark erhöht. Es sind weitere Untersuchungen zur Bestätigung dieses Trends notwendig. Der Patient mit später NB (Patient 1) zeigte in seiner Lumbalpunktion 249 Tage nach der NB-Manifestation eine CXCL13-Konzentration von 1,334 pg/ml.

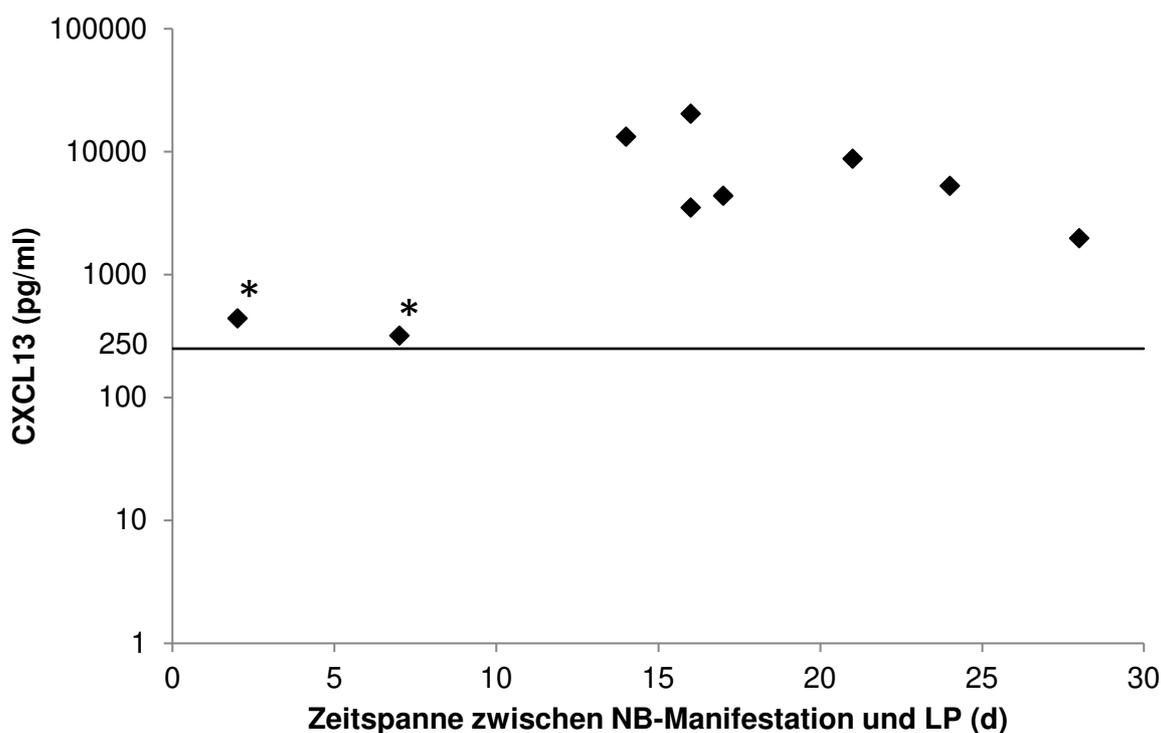


Abbildung 3.19: CXCL13 und die Zeitspanne zwischen Beginn der NB und der LP

Eine CXCL13-Konzentration von 250 pg/ml (waagrechte Orientierungslinie) gilt als Cut-off-Wert, so dass alle dargestellten Patienten 3 - 11 als CXCL13-positiv klassifiziert wurden. (*) Patient 3 und 9 – diese zeigten eine geringere CXCL13-Konzentration bei kürzerer Dauer der Neuroborreliose. LP Liquorpunktion.

Die folgenden Parameter wurden vor der Langzeitlagerung der Liquorproben bestimmt: Die Mehrzahl der NB-Patienten (keine Daten für die Patienten 3, 6, 12) zeigten eine erhöhte mittlere Zellzahl von 218,7 [63 - 670] / μ l (Pleozytose > 5/ μ l bei Erwachsenen (Lothar 2005)) in der Lumbalpunktion vor oder innerhalb der ersten drei Tage nach Therapiebeginn. Obwohl die Zellen nicht differenziert wurden, ist eine lymphozytäre Pleozytose anzunehmen (Lothar 2005). Der durchschnittliche Proteingehalt im Liquor war mit 1.667,7 [420 - 4.400] mg/l (Referenzbereich 200 - 500 mg/l (Lothar 2005)) für die meisten Patienten (keine Daten für die

Patienten 3, 6, 12) erhöht. Der IgG Antikörper-Index (AI) war für alle NB-Patienten zwischen 2,1 und 29,2 positiv (\bar{x} 13,2; keine exakten Daten für Patient 9; positiv bei einem Wert $> 2,0$ (Mygland et al. 2010, Rauer et al. 2012)). Die durchschnittliche Blut-Liquor-Schrankenstörung (Q_{Alb}) betrug $17,8 [6,6 - 38,4] \times 10^{-3}$ (Referenzwert altersabhängig (Lothar 2005)). Die massivste Störung der Blut-Liquor-Schranke zeigte der Patient mit später NB (Patient 1), welche sich im Laufe der Therapie besserte, aber nach 445 Tagen nicht in den Referenzbereich zurückkehrte war.

Der Verlauf der CXCL13-Konzentrationen und der Blut-Liquor-Schrankenstörungen für die oben genannten Fallserien findet sich in Abbildung 7.14 im Anhang.

In der Liquorprobe des Patienten mit Neurosyphilis (Patient 2) zeigte sich eine CXCL13-Konzentration von 5.880 pg/ml und es konnte eine gestörte Blut-Liquor-Schranke ($Q_{Alb} 13,5 \times 10^{-3}$) nachgewiesen werden. Der Patient wurde mit Penicillin behandelt. 223 Tage später wurde erneut Liquor punktiert und die CXCL13-Konzentration war unter den Cut-off-Wert gesunken (34,6 pg/ml). Darüber hinaus zeigte sich eine Verbesserung der Blut-Liquor-Schranke auf $Q_{Alb} 11,8 \times 10^{-3}$. Möglicherweise eignen sich CXCL13-Verläufe zur Therapiekontrolle von Neurosyphilis. Dieser Fall ist eine interessante Differenzialdiagnose zur NB, da Syphilis in einem solch fortgeschrittenen Stadium selten ist in Zeiten von früher Diagnose und Therapie.

In dieser Untersuchung zeigten sich verschiedene NB-Manifestationen (siehe auch Abschnitt 1.4), es gab jedoch keine Verbindung zwischen einem spezifischen neurologischen Symptom und der CXCL13-Konzentration. Es reflektierten sich darüber hinaus keine Veränderungen in der CXCL13-Konzentration in Abhängigkeit der Schwere der klinischen Symptomatik oder des Geschlechts. Des Weiteren waren in dieser Untersuchung zwei Kinder (Patient 6: neun Jahre, Patient 9: acht Jahre) eingeschlossen, deren CXCL13-Konzentrationen unterschieden sich nicht von der Erwachsenen-Kohorte. Eine Verallgemeinerung der Aussagen ist jedoch nur durch die Untersuchung und den Einschluss weiterer Daten möglich.

4 Diskussion

Lyme-Borreliose ist die häufigste Vektor-übertragene humane Erkrankung in Europa und den USA (Lindgren und Jaenson 2006, Fingerle et al. 2008). Bei einer manifesten Infektion können sich die Symptome unter anderem an der Haut, den Gelenken und dem Nervensystem äußern (Stanek et al. 2011, Herzer et al. 2014, Krause und Fingerle 2014). Es handelt sich zum Teil um schwere und diagnostisch vieldeutige Manifestationen. Erreger sind Bakterien des *Borrelia burgdorferi* sensu lato-Komplexes (Burgdorfer et al. 1982). Diese Arbeit konzentriert sich auf die Spezies *B. garinii* und *B. bavariensis*. Diese werden erst seit 2009 als differente Spezies betrachtet, da sie sich nicht nur genetisch, sondern auch unter ökologischen Gesichtspunkten deutlich unterscheiden (Margos et al. 2009). Ursprünglich war *B. bavariensis* - klassifiziert als OspA-Typ 4 - ein Teil der Spezies *B. garinii* (Wilske et al. 1993). Dieser war bereits als hyperinvasiver Phänotyp beschrieben (Kurtenbach et al. 2006). Das Vorkommen von *B. garinii* und *B. bavariensis* konzentriert sich auf Eurasien (Kurtenbach et al. 2006, Margos et al. 2011) und ein Organotropismus zum neurologischen System wurde beschrieben (Barbour und Heyes 1986, Canica et al. 1993, Wilske et al. 1993, Pfister et al. 1994, Ornstein et al. 2001, Richter et al. 2006, Fingerle et al. 2008, Stanek und Strle 2009, Margos et al. 2011). *B. garinii* bevorzugt als Reservoirwirtstier Vögel, während *B. bavariensis* Nagetiere vorzieht (Kurtenbach et al. 2006, Gern 2008, Taragelova et al. 2008, Dubska et al. 2009, Margos et al. 2011, Vollmer et al. 2011). *B. garinii* ist sowohl in Asien als auch in Europa sehr heterogen. *B. bavariensis* lässt sich in eine europäische und eine asiatische Population unterteilen. Die europäische Population nutzt ausschließlich *I. ricinus* als Vektor, ist im Kerngenom homogen und zeigt eine hohe Virulenz, während die asiatische Population in *I. persulcatus* zu finden ist und sich genetisch heterogen mit einer geringen Virulenz präsentiert (Marconi et al. 1999, Takano et al. 2011, Margos et al. 2013, Mukhacheva und Kovalev 2013, Scholz et al. 2013, Gatzmann et al. 2015). Interessanterweise ließen sich die europäischen *B. bavariensis* deutlich häufiger aus humanen Probematerialien als aus Zecken isolieren, während die asiatische Stämme häufiger aus Zecken stammten. Es ist davon auszugehen, dass die Wirtsspezialisierung ebenso wie die Vektorkompatibilität der Spezies die geografische Verteilung beeinflussen (Margos et al. 2011). Daraus wurde im Folgenden die Hypothese abgeleitet, dass ein Stamm aus der asiatischen *B. bavariensis*-Population sich im Überschneidungsgebiet der beiden Vektoren an den neuen Vektor *I. ricinus* angepasst, in Folge eine hohe Virulenz entwickelt und sich in Europa ausgebreitet hat. Dieser Kontext machte die nähere Betrachtung der Spezies *B. garinii* und *B. bavariensis* unter Einbeziehung der europäischen sowie asiatischen Populationen und einen differenzierten Vergleich der Genetik und klinischen Präsentation besonders interessant.

Die genannten Spezies wurden im Rahmen dieser Arbeit auf ihre Populationsstruktur und der klinisch verursachten Symptomatik im Menschen analysiert. Es wurde detailliert auf ihre genetische Heterogenität und die geografische Verteilung der mittels MLST-bestimmten ST eingegangen. Das MLST wurde verwendet, da sich die ökonomische, einfach durchzuführende Methode zur Analyse von Proben verschiedener Quellen wie zum Beispiel von Isolaten aus humanen Proben, Zecken oder tierischen Wirten eignet und sich neben einer akkuraten Diskrimination durch eine gute Skalierbarkeit auszeichnet (Maiden et al. 1998, Urwin und Maiden 2003, Margos et al. 2009, Margos et al. 2011).

Die im Rahmen dieser Arbeit erstmalig durchgeführte systematische Analyse humaner *B. garinii*- und *B. bavariensis*-Isolate im medizinischen Kontext soll unter anderem das regionale Vorkommen der Spezies ebenso wie die Symptomatik und die damit verbundene Risikoabschätzung beleuchten. Anschließend wurden die Ergebnisse im internationalen Kontext gemeinsam mit Daten aus der MLST-Datenbank betrachtet. Im Folgenden werden die Ergebnisse in den derzeitigen wissenschaftlichen Kontext eingeordnet und bewertet. Diese Arbeit soll einen ersten Überblick über humane *B. garinii*- und *B. bavariensis*-Isolate geben. In Zukunft ist die Erarbeitung der weiteren genetischen Ausstattung einschließlich der Identifizierung von Pathogenitätsfaktoren notwendig, um in weiteren Untersuchungen ein Zusammenhang zwischen Genetik und klinischer Manifestation herzustellen. Dies soll zu einer gezielteren und optimierten Diagnostik sowie einem verfeinerten und effektiveren Therapiesystem führen.

4.1 Genetische Heterogenität von *B. garinii* im Vergleich zu *B. bavariensis*

Der Fokus dieser Arbeit lag, wie oben ausführlich begründet, auf *B. garinii* und *B. bavariensis*. Die Auswahl von 81 Proben (n (humane Isolate) = 79; n (Zecken-Isolate) = 2) anhand des OspA-Typs erfolgte dabei unter Berücksichtigung der zuvor definierten Einschlusskriterien (Abschnitt 2.2). Die MLST-Untersuchung von Borrelien verwendet Housekeeping-Gene, welche so gewählt wurden, dass sie sich für epidemiologische, evolutionäre und populationsgenetische Analysen eignen (Maiden et al. 1998, Margos et al. 2009, Margos et al. 2011). Eine Analyse der geografischen Verteilung, der evolutionären Entwicklung und der Invasivität von Lyme-Spirochäten war möglich (Margos et al. 2008, Hanincova et al. 2013). Ebenso wurde die Ausbreitung neuer Varianten untersucht. Im Rahmen dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass das MLST eine höhere Diskriminationsrate als die OspA-Typisierung erlaubt. Darüber hinaus konnte eine Überlegenheit des MLST gegenüber der OspA-Typisierung bei der Detektion von Mischsequenzen erhoben werden. Die klinischen und pa-

tientenbezogenen Daten beruhten auf gemeinsam mit der Probe eingesandten, anonymisierten Fragebögen.

43 Stämme mit 19 verschiedenen ST ließen sich der Spezies *B. garinii* und 32 Isolate mit zwei ST (ST 84 und 85) *B. bavariensis* zuordnen, wobei letztere aus 31 Patienten isoliert worden waren. Damit erwies sich *B. garinii* als deutlich heterogener als die europäischen *B. bavariensis*. Ein weiterer Hinweis auf die größere Heterogenität von *B. garinii* im Vergleich zu *B. bavariensis* zeigte die Definition neuer AT und ST: Für *B. garinii* wurden sieben neue ST definiert. Der neue ST 482 entstand aus einer neuen Kombination bereits bekannter AT. Für *B. bavariensis* ließen sich weder neue AT noch ST ermitteln. Die Pairwise Distance betrug für die *B. bavariensis*-ST 84 und 85 der betrachteten Isolate 0, was eine nahe Verwandtschaft bestätigte. Die Tajima Nukleotiddiversität zeigte eine deutlich geringere Diversität für die europäischen *B. bavariensis* ($n = 31$) als für die heterogenen *B. garinii*-Stämme ($n = 43$). Mit Daten aus der Arbeit von Vollmer (2010) reihten sich *B. afzelii* (n (ST) = 40) und *B. burgdorferi* s. s. (n (ST) = 8) bezüglich des Diversitätsgrades zwischen *B. garinii* und *B. bavariensis* ein. Jedoch ergab sich in der Untersuchung von Vollmer für *B. garinii* (n (ST) = 46) eine Diversität von $\pi = 0,0079$, welches geringer als die Nukleotiddiversität $\pi = 0,034965$ dieser Arbeit war. Ein möglicher Grund ist die Konzentration der Untersuchung von Vollmer auf aus Zecken-isolierte Borrelien, wohingegen diese Dissertation sowohl humane als auch aus Vektoren isolierte LB-Spirochäten einschloss.

In der Studie von Hanincova et al. (2013) wurde postuliert, dass klonale Komplexe von *B. burgdorferi* s. s. eine differente Fähigkeit aufweisen, disseminierte Infektionen im Menschen auszulösen. *B. garinii* ($n = 41$) verursachte 58,5 % disseminierte und 26,8 % lokalisierte Infektionen. *B. bavariensis* ($n = 31$) -Isolate wiesen ein ähnliches Verhältnis von 61,2 % zu 22,6 % auf. Dies zeigt bereits eine hohe Invasivität der Spezies. Im Folgenden wird die These von Hanincova et al. 2013 für die Spezies *B. garinii* und *B. bavariensis* evaluiert: *B. garinii*-Stämme mit dem ST 86 ($n = 9$) und dem ST 244 ($n = 4$) wurden nur aus Liquorpunktaten isoliert, jedoch war in einigen Fällen eine synchrone oder zeitlich versetzte lokalisierte kutane Manifestation der LB beschrieben. Es sind weitere Stämme dieser ST aus humanen Proben nötig, um die Hypothese zu bestätigen, dass Borrelien-Isolate dieser ST signifikant häufiger disseminierte Infektionen auslösen. Ein ähnlicher Trend konnte für die weiteren *B. garinii*-ST nicht geklärt werden, da häufig nur geringe absolute Häufigkeiten an Isolaten mit gleichen ST vorlagen. Nach einer weiteren Datensammlung im Rahmen von ST und verursachender Klinik könnte zukünftig unter Einbezug des MLST in die Routinediagnostik die Möglichkeit einer gezielteren Therapie bestehen, um Nebenwirkungen zu reduzieren und Antibiotika-Resistenzen zu vermeiden. Ebenso wissenschaftlich interessant ist die Ursache, warum be-

stimmte ST einen ausgeprägten Organotropismus zeigen, bei welchem es sich um eine bisher nicht ausreichend geklärte Prävalenz von Borrelien-Spezies bei der Infektion unterschiedlicher Organsysteme handelt. Darüber hinaus ist die damit verbundenen Invasivität der Borrelien in weiteren Studien zu beleuchten.

Bei der Betrachtung des OspA-Typs der einbezogenen Stämme stimmte in allen Fällen die OspA-Sequenz mit dem RFLP überein. Ein Vergleich zwischen OspA-Typ und MLST-ST zeigte, dass sich in den meisten Fällen die MLST-ST jeweils nur einem OspA-Typ zuordnen ließen, jedoch ist diese Aussagekraft durch die zum Teil geringen absoluten ST-Häufigkeiten limitiert. OspA 4 umfasste nur ST 84 und ST 85, welche *B. bavariensis* zugeordnet werden, während ST 86 und ST 87 (beide *B. garinii*) nur bei OspA-Typ 6 zu finden waren. Mehrere ST zeigten den gleichen OspA-Typ, woraus gefolgert werden konnte, dass MLST eine höhere Diskrimination ermöglichte als die OspA-Typisierung. Drei Isolate wurden ST 251 (PBes, PRas, PShm) zugeordnet, jedoch zeigten sie zwei verschiedene OspA-Typen.

4.2 Betrachtung der Spezies im medizinischen Kontext

Die folgende Ausführung ist unter dem Gesichtspunkt zu betrachten, dass es sich um eine retrospektive Analyse mit einer kleinen Fallzahl handelt. Aufgrund dessen kann ein Bias zum Beispiel bei der Erinnerungswahrnehmung des Zeckenstichs nicht ausgeschlossen werden. Es handelte sich unter anderem um ein präselektiertes und nicht repräsentatives Patientengut, da Probematerialien für gewöhnlich nur zur Analyse bei diagnostisch oder klinisch schweren Fällen an das NRZ für Borrelien gesandt werden. Da bisher jedoch kaum Informationen zur klinischen Einordnung der Spezies vorhanden sind, sollte die Betrachtung der Spezies und vor allem der ST im epidemiologischen und medizinischen Kontext als Ansatzpunkt zur Hypothesengenerierung für weitere Studien dienen.

Für 50 Patienten lagen Angaben über einen Zeckenstich vor: 70 % davon erinnerten sich an einen Stich, 10 % waren sich unsicher und 20 % verneinten die Frage. Der Anteil der sich erinnernden Personen lag somit höher als in der Literatur, laut der sich 50 % der an Lyme-Borreliose erkrankten Patienten nicht an einen ZS erinnerten (Pfister et al. 1994, Brade und Hunfeld 2009). Patienten mit einer *B. garinii*-Infektion erinnerten sich häufiger (79,3 %) an einen ZS als *B. bavariensis*-Patienten (57,1 %). Ähnliche Ergebnisse wurden für andere Borrelien-Spezies in der Literatur beschrieben: Patienten mit einer *B. garinii*-Infektion meldeten den ZS häufiger als Patienten mit *B. burgdorferi* s. s. (Strle et al. 2011 b). Weitere Isolate sind zur Bestätigung dieses Trends nötig. Eine mögliche – allerdings spekulative – Erklärung wäre, dass verschiedene Borrelien-Spezies die Zusammensetzung des Zeckenspeichels

oder die Saugdauer verändern. Zum Teil wiesen die Patienten auch multiple ZS auf oder missinterpretierten einen Stich zum Beispiel als Schnakenstich, um dessen Stichstelle sich lokal ein EM bildete. Da es sich um eine retrospektive Befragung bei symptomatischer Manifestation der LB handelte, muss außerdem eine Erinnerungsverzerrung berücksichtigt werden. Für 24 Isolate konnte aufgrund der genauen Begleitangaben im Fragebogen die Zeitspanne zwischen dem ZS und der ersten Manifestation bestimmt werden, welche durchschnittlich 28,3 Tage betrug, wenn beide Borrelien-Spezies einbezogen wurden. Die Zeitspanne war für die mit *B. garinii*-infizierten Patienten unter Ausschluss eines statistischen Ausreißers 9,6 Tage nicht signifikant länger als für die mit *B. bavariensis*-infizierten Patienten. Die unterschiedlichen Manifestationsformen müssen jedoch einbezogen werden, da diese unterschiedliche Latenzzeiten aufweisen (siehe auch Abschnitt 1.4).

Bei der geografischen Auswertung des ZS-Ortes ließen sich weder für *B. garinii* noch für *B. bavariensis* Häufungen finden. Die Beurteilung ist jedoch schwierig, da die Zecken häufig erst nach einem Intervall von einigen Tagen vom Patienten bemerkt oder multiple ZS berichtet wurden. Es wird angenommen, dass sich die Patienten wohnortsnah behandeln ließen und sich den Zeckenstich in der Nähe des Wohn- und Arbeitsortes zuzogen. Dabei ist jedoch zu berücksichtigen, dass Menschen hochmobil sind. Es ist anzunehmen, dass die ZS mit Ausnahme von Parks nicht primär im urbanen Raum stattgefunden haben. Bezüglich der LB-Meldezahlen lag Bayern zwischen 2013 und 2014 im Vergleich der Bundesländer im mittleren Oberfeld, während für Brandenburg, Mecklenburg-Vorpommern und Rheinland-Pfalz höhere Inzidenzen vermerkt waren. Eine Vielzahl von Faktoren wie beispielsweise das Vorhandensein von ausreichenden Wirtstieren für Zecken, aber auch die Exposition der Bevölkerung in Zecken-besiedelten Habitaten wie Waldarbeiter oder durch bestimmte Freizeitaktivitäten beeinflussen die regionale Prävalenz der LB (Binder et al. 2015). Wöchentlich werden die aktuellen und kumulativen Fälle von LB in den bayerischen Regierungsbezirken vom NRZ für Borrelien veröffentlicht (https://www.lgl.bayern.de/gesundheits/infektionsschutz/-infektionsepidemiologie/aktuelle_meldezahlen/index.htm).

B. garinii und *B. bavariensis* verursachten signifikant häufiger Früh- als Spätmanifestationen. Diese Verteilung ist unter dem Vorbehalt zu betrachten, dass eine Borrelien-Anzucht vor allem bei Spätmanifestationen zur Klärung unklarer Erkrankungen erfolgt und dass das NRZ für Borrelien, welches die oben genannten Stämme bereits stellte, vor allem bei der Diagnostik schwieriger Fälle hinzugezogen wird. Die LB kann sich erstmals sowohl mit einer Früh- als auch einer Spätmanifestation äußern und entgegen einer langjährigen Annahme müssen im Krankheitsverlauf nicht alle klinischen Erscheinungsformen auftreten (Pfister et al. 1994, Herzer et al. 2014). Die Häufung der Frühmanifestationen könnte unter anderem durch ein

hohes Bewusstsein der Bevölkerung und einer gezielten Ausbildung des medizinischen Personals begründet sein, sodass früh und effektiv therapiert wurde. Zu beachten ist jedoch, dass die Daten in einem Zeitraum akquiriert wurden, in welchem keine Meldepflicht bestand und weniger über die Erkrankung LB bekannt war. Drei mit *B. bavariensis*-infizierte Patienten zeigten sowohl eine Früh- als auch eine Spätmanifestation, welche zeitlich versetzt auftraten. Eine nicht durchgeführte oder nicht ausreichende antibiotische Therapie der Frühmanifestation aber auch eine zweite Borrelien-Infektion nach einem erneuten, nicht erinnerten ZS kommen als mögliche Ursachen in Frage. Es ließ sich kein Zusammenhang zwischen dem Manifestationsstadium und den MLST-ST ermitteln.

In früheren Studien wurde eine Tendenz von *B. burgdorferi* s. s. gegenüber *B. garinii* zu disseminierten Infektionen beschrieben (Strle et al. 2011 a, Strle et al. 2011 b). Im Rahmen dieser Arbeit zeigten *B. garinii* und *B. bavariensis* in gleichem Maße lokalisierte und disseminierte Manifestationsformen. In dieser Untersuchung fand sich kein signifikanter Unterschied zwischen dem Auftreten einer alleinigen kutanen Frühmanifestation oder neurologischen Symptomatik. Das EM zeigt sich mit einer Latenzzeit von zwei Tagen bis vier Wochen nach einer Infektion mit *B. burgdorferi* s. l. (Stanek et al. 2009, Herzer et al. 2014, Krause und Fingerle 2014, Hofmann et al. 2016), bei NB beträgt diese drei bis sechs Wochen (Mygland et al. 2010, Stanek et al. 2011, Rauer et al. 2012, Herzer et al. 2014, Krause und Fingerle 2014). Die klinische Diagnose kann trotz Organotropismus von *B. garinii* und *B. bavariensis* zum Nervengewebe dadurch beeinflusst werden, dass ein EM als lokale Frühmanifestation eine kürzere Latenzzeit und somit eine frühere Diagnose und Therapie zur Folge hat als die NB mit längerer Latenzzeit. Letztere kann sich gegebenenfalls aufgrund einer bereits eingeleiteten Therapie nicht entwickeln. Ein potenzieller Einfluss besteht durch den Aspekt, dass durch die klinischen Beschwerden stärker beeinträchtigte Personen, also vor allem mit disseminierten Borrelien-Infektionen, eher medizinische Versorgung in Anspruch nehmen. Hierbei ist aber kein Unterschied zwischen den betrachteten Spezies anzunehmen.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden 23 *B. garinii* aus Liquorpunktat (56,1 %), 17 aus Hautbiopsaten (41,5 %) und ein Isolat aus Synovia (2,4 %) isoliert, während respektive 14 *B. bavariensis* aus Liquorpunktat (43,8 %), 17 aus Haut (53,1 %) und ebenso ein Isolat aus Synovia (3,1 %) stammten (Abschnitt 2.4 und 3.1.1). Bezüglich der Probematerialien Liquor vs. weitere Isolationsmaterialien ergab sich kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen *B. garinii* und *B. bavariensis* ($\chi^2 = 1,096$; $p < 0,05$). *B. garinii* wurde häufiger aus Liquor als aus anderen humanen Probematerialien isoliert, jedoch war der Unterschied nicht signifikant. Dem Isolationsmaterial ist die Symptomatik gegenüberzustellen: Die Kombination einer kutanen Frühmanifestation und NB war häufig (*B. garinii* 31,4 %, *B. bavariensis* 26,9 %). Als mögliche Ursachen kommen das primäre Nichtwahrnehmen des EM beziehungsweise LZ

oder eine verzögerte oder nicht ausreichende Therapie in Frage. Das EM ist mit über 90 % in Deutschland die häufigste Manifestationsform (Fingerle et al. 2008, Krause und Fingerle 2014), im Rahmen dieser Arbeit bei der Spezies *B. garinii* aber mit 18 Fällen seltener als NB bei 21 Patienten. Jedoch ist das EM als Blickdiagnose klassifiziert, was gegebenenfalls der Grund für die geringe Anzahl vorliegender Hautbiopsate darstellt. Um den Organotropismus genauer zu betrachten, ist eine exakte Definition unabdingbar. Bei den bisherigen Beschreibungen in der Literatur (unter anderem Barbour und Hayes 1986, Canica et al. 1993, Wilske et al. 1993, Pfister et al. 1994, Ornstein et al. 2001, Richter et al. 2006, Fingerle et al. 2008, Stanek und Strle 2009, Margos et al. 2011) wurde ein Bezug zu den Organsystemen hergestellt, jedoch meist nicht zwischen lokalisierter und disseminierter Infektion unterschieden. Erstere findet sich häufig im Bereich der Zeckenstichlokalisation, sodass im Folgenden der Organotropismus bezüglich disseminierter Manifestationen betrachtet wird. Ausgangspunkt der Betrachtung war die Spezies-Verteilung in der Zecke. Hierfür liefert Fingerle et al. (2017) eine Übersicht. Unter der Annahme, dass alle Spezies eine gleich gute Übertragbarkeit aufweisen und es keine Unterschiede in der Kultivierung gibt, ist der maßgebliche Unterschied zwischen Zecken- und Humanisolaten zu sehen. *B. bavariensis* ließ sich im Vergleich zu den anderen Spezies deutlich häufiger in Liquorpunktaten (22 %) als in Zecken (8 %) nachweisen (Fingerle et al. 2008, Fingerle et al. 2017). Dies spricht für einen ausgeprägten Organotropismus zum neurologischen System. Im Rahmen dieser Arbeit verursachte *B. garinii* 24 disseminierte Infektionen, wobei mit 87,5 % NB-Manifestationen häufiger waren als weitere disseminierte Manifestationen (12,5 %). Analog hierzu fand sich NB durch *B. bavariensis* (n = 17) in 82,4 % und weitere disseminierte Manifestationen in 17,6 %. Jedoch war NB nicht signifikant häufiger als die weiteren disseminierten Manifestationen (Exact Fisher Test = 0,6786; $\alpha < 0,05$). Es ist in Erwägung zu ziehen, dass eine Borrelieninfektion mehr als ein Organsystem betreffen kann und die Angabe des Probematerials mehrere Organmanifestationen nicht ausschließt. Die Beobachtungen dieser Arbeit unterstützen die These des Organotropismus, jedoch ist die Infektion anderer Organsysteme durch *B. garinii* und *B. bavariensis* ebenso möglich.

Während in der Literatur für das Lymphozytom meist das Kindesalter als Manifestationszeitpunkt genannt wird (Herzer et al. 2014), trat hier das Lymphozytom (n = 4) in 75 % der Fälle bei Erwachsenen auf. Die ACA betrifft häufiger Erwachsene als Kinder und Frauen häufiger als Männer (Stanek et al. 2011, Herzer et al. 2014, Krause und Fingerle 2014). Das Durchschnittsalter der ACA (n = 7) betrug in dieser Arbeit 51,3 [18 - 76] Jahre und in 42,9 % waren Frauen betroffen. Dabei sind jedoch die geringen absoluten Häufigkeiten zu beachten.

Einige Sonderfälle der Borrelien-Infektion werden im Folgenden betrachtet:

- (I) Bei dem Patienten infiziert mit PBar (*B. bavariensis*) ließen sich Borrelien im Aortengewebe nach operativer Versorgung eines Aortenaneurysmas nachweisen. Neben verschiedenen Erregern werden *B. burgdorferi* s. I. im Zusammenhang mit Aortenaneurysmata diskutiert, entweder primär über die Schwächung der Aortenwand oder sekundär über die Besiedlung von Aortenaneurysmata oder Thromben. Hinterseher et al. (2012) formulierte die These eines molekularen Mimikry durch ähnliche Epitope auf der Borrelien-Oberfläche und der Aortenwand. Er wies zudem eine positive Lyme-Serologie bei 34 % der Patienten mit Aortenaneurysma nach, während in der allgemeinen deutschen Bevölkerung 3 - 17 % seropositiv sind. Analog sind bei den verwandten Spirochäten *Treponema pallidum* Aneurysmata im Krankheitsverlauf bekannt.
- (II) PFo zeigte Borrelien im Hautbiopsat im Rahmen einer Eosinophilen Faszitiis. Die Eosinophile Faszitiis wurde erstmals von Shulman 1974 beschrieben (Hintner et al. 1981). In Europa, den USA und Japan stehen einige Fälle in Bezug mit Borrelien, die Ätiologie ist jedoch noch nicht vollständig geklärt (Houtman et al. 2009). Stanek et al. (1987) schlug die Eosinophile Faszitiis als Manifestationsform der LB vor.
- (III) Bei dem mit PNi infizierten Patienten fanden sich Borrelien in einem Hautbiopsat zur Diagnose eines T-Zell-Lymphoms. Die Assoziation von *B. burgdorferi* s. I. und kutanen Marginalzonen-Lymphomen ist Bestandteil der aktuellen Forschung und es existieren dazu unterschiedliche Studien, welche von der regionalen Borrelien-Prävalenz abhängig zu sein scheinen (Ponzoni et al. 2011, Perrone et al. 2016). Es wurde eine kontinuierliche und eine mehrstufige Progression eines Lymphozytoms zu einem kutanen B-Zell-Lymphom vorgeschlagen (Suarez et al. 2006), sodass eine antibiotische Therapie in fortgeschrittenen Krankheitsstadien in *B. burgdorferi* s. I.-Endemiegebieten in Erwägung gezogen werden kann (Ponzoni et al. 2011, Perrone et al. 2016). Aberer et al. (2011) wies darauf hin, dass sich der Hautbefund unter antibiotischer Therapie nur langsam regredient zeigt und nicht als fehlende Effektivität interpretiert werden darf. Darüber hinaus wurde bisher nur *B. afzelii* mit kutanen Lymphomen in Verbindung gebracht (Aberer et al. 2011). Hier zeigte sich ein erster Hinweis, dass sich auch andere Spezies finden lassen. Ein Zusammenhang zwischen *B. burgdorferi* s. I. und T-Zell-Lymphomen ist unsicher.

Es lässt sich zusammenfassen, dass Borrelien an immunologisch privilegierten Stellen im Körper persistieren können, in welchen entweder die körperliche Abwehr beispielweise aufgrund von molekularem Mimikry gemindert ist oder das Antibiotikum nicht im vollen Maß wirken kann.

Derzeit wird eine Analyse einer vom Menschen entfernten Zecke außer zu wissenschaftlichen Zwecken nicht empfohlen. Nur ein geringer Prozentsatz von Stichen durch Zecken, welche mit Borrelien infiziert sind, führt zur LB-Manifestation (Wilske et al. 2007 a). Mit zunehmendem Wissen über die Spezies und vor allem der ausgelösten Klinik könnte zukünftig eine Risikoabschätzung für einen möglichen Krankheitsverlauf angegeben werden. Mehr Informationen über die regionale Speziesverteilung sollen zur Impfstoffentwicklung für Europa beitragen (Wilske et al. 1996 b, Wressnigg et al. 2013). *B. garinii* und *B. bavariensis* zeigten im Rahmen dieser Arbeit keine signifikanten regionalen Häufungen, jedoch ist die Aussage bei primär aus humanen Probematerialien isolierten Borrelien nur eingeschränkt möglich.

Es zeigte sich bei den *B. garinii*- und *B. bavariensis*-Infektionen kein signifikanter Unterschied zwischen den Geschlechtern. *B. garinii* infizierte häufiger Kinder als *B. bavariensis*, letztere ließen sich häufiger im späten Erwachsenenalter nachweisen.

4.3 Vergleich der Heterogenität und Ermittlung regionaler Häufungen der MLST-Sequenztypen unter Einschluss der MLST-Datenbank

Die ST-Analyse von *B. garinii* und *B. bavariensis* und die akquirierten Informationen wurden mit Daten der MLST-Datenbank erweitert und interpretiert. Es konnten 300 *B. garinii* und 181 *B. bavariensis* aus Europa, Asien und Nordamerika miteinbezogen werden (<https://pubmlst.org>; Abrufdatum 30.07.2017, ergänzt durch die in dieser Arbeit analysierten Stämme). Diese Datenbank bietet viele Vorteile, da basierend auf den MLST-ST ein vergleichbares System zugrunde liegt und die Einsendungen von einem Kurator überprüft werden. Es ist jedoch zu beachten, dass, da die LB eine komplexe Erkrankung ist, verschiedene Manifestationen im Krankheitsverlauf auftreten können und Informationen über die Symptomatik, Therapie und das Outcome nicht in der Datenbank hinterlegt sind. *B. garinii* wies 130 verschiedene ST auf, während *B. bavariensis* 56 differente ST zeigte, sodass sich auch im internationalen Vergleich *B. garinii* als heterogener als *B. bavariensis* erwies. Die Isolate stammten aus Zecken, humanen Probematerialien und tierischen Wirten.

Für Europa waren Daten von 179 *B. garinii*-Isolaten (79 ST) und 35 *B. bavariensis*-Isolaten (nur ST 84 und 85) hinterlegt. 75 Stämme stammten aus humanen Proben, wobei es sich in 72 Fällen um die im Rahmen dieser Arbeit eingeschlossenen Isolate handelte. *B. garinii* war heterogener als die europäischen *B. bavariensis*, siehe hierfür auch Abschnitt 4.2.

Aus Asien stammten 229 Isolate, welche sich aus 84 *B. garinii*-Stämmen mit 44 differenten ST und 145 *B. bavariensis*-Stämmen mit 53 verschiedenen ST zusammensetzten. *B. bavariensis* war im Gegensatz zu den europäischen Stämmen in Asien deutlich heterogener und im Verhältnis zu den *B. garinii*-Isolaten häufiger als in Europa. Nur 18 Stämme wurden aus einem humanen EM isoliert, welche alle in Japan akquiriert wurden. Über die verschiedenen Manifestationsformen der LB in Asien lagen nur eingeschränkt Daten vor. Nach der Betrachtung von Isolaten aus humanen Proben, Zecken und Wirtstieren postulierte Takano et al. (2011), dass japanische *B. garinii*-Stämme Nagetiere als Reservoirwirte nutzen und sich am ehesten aufgrund der differenten Vektoren von europäischen *B. garinii* unterscheiden. Die japanischen *B. bavariensis* clustern eng mit den europäischen *B. bavariensis* (ST 84 und 85) und werden ebenso häufiger in humanen Isolaten als in Zecken gefunden (Fingerle et al. 2008, Takano et al. 2011). Gegenüber den typischen europäischen Manifestationen mit Meningoradikulitis Garin-Boujadoux-Bannwarth und Hirnnervenparesen (Mygland et al. 2010, Stanek et al. 2011, Rauer et al. 2012, Herzer et al. 2014, Krause und Fingerle 2014) äußerte sich die NB in Taiwan mit motorischen Paresen und Meningitis (Chang et al. 2010). NB als Manifestation war nicht in der MLST-Datenbank für asiatische *B. garinii*- oder *B. bavariensis*-Stämme hinterlegt. Weitere Informationen zur asiatischen NB waren vor allem in Veröffentlichungen älteren Publikationsdatums zu finden, welche zum Teil nur Fallberichte umfassten und nicht in Englisch verfasst waren (Carlsberg und Naito 1991, Il'ina et al. 1991, Yukitake et al. 1996, Baranova et al. 1997, Lesnyak et al. 1998, Nafeevv et al. 2010). Die Kontinentdivergente Heterogenität von *B. bavariensis* stützte die These von Margos et al. (2013), dass die Spezies *B. bavariensis* in zwei Populationen zu unterteilen ist: eine homogene europäische und eine genetisch heterogene asiatische Population (Marconi et al. 1999, Takano et al. 2011, Margos et al. 2013, Mukhacheva und Kovalev 2013, Scholz et al. 2013, Gatzmann et al. 2015). *B. bavariensis* ist in Eurasien weit verbreitet und nutzt die Vektoren *I. persulcatus* und *I. ricinus* (Kurtenbach et al. 2006, Margos et al. 2011). Europäische *B. bavariensis* (OspA-Typ 4) waren nur in *I. ricinus* zu finden (Skuballa et al. 2007, Fingerle et al. 2008, Geller et al. 2013), während NT29-like Stämme (*B. bavariensis* im östlichen Europa und Asien) nur aus *I. persulcatus* isoliert wurden (Geller et al. 2013). Es ist von einer klonalen Expansion der europäischen *B. bavariensis* auszugehen (Margos et al. 2013, Gatzmann et al. 2015). Zu eruieren bleibt, ob die genetischen Differenzen zwischen Asien und Europa ausschlaggebend für die unterschiedliche klinische Präsentation sind, welche sich in Fallbe-

richten und Chang et al. 2010 andeutet. Darüber hinaus sind auf Seite des Erregers noch Faktoren wie beispielsweise der Plasmidgehalt zu berücksichtigen, der sehr variabel sein kann (Labandeira-Rey und Skare 2001, Terekhova et al. 2006). Es ist unbekannt, inwiefern die differente Symptomatik durch die humane Bevölkerung unter anderem durch das Einwirken des Immunsystems beeinflusst wird (siehe ebenso Jungnick et al. 2015, Zhou und Brisson 2017). Es bedarf weiterer Studien zur Klärung dieses Sachverhalts. Dies könnte die Entwicklung eines regional optimierten Diagnostik- und Therapiesystems zur Folge haben.

Aus Nordamerika stammende *B. garinii* und *B. bavariensis* sind in der Datenbank nur für Kanada mit 20 Stämmen (13 ST; n (ST *B. garinii*) = 12; n (ST *B. bavariensis*) = 1) hinterlegt, welche alle aus Seevogel-assoziierten Zecken isoliert worden sind. In Kanada wurde eine steigende Zahl an endemischen LB-Fällen (144 Fälle im Jahr 2009 bis 338 Fälle im Jahr 2012) veröffentlicht, die alle *B. burgdorferi* s. s. als Ursache hatten (Odgen et al. 2015). Die ST der MLST-Datenbank differenzierten sich von den asiatischen und europäischen ST. Einzig der ST 575 ließ sich in einem humanen europäischen Isolat (PMag) finden, das am NRZ für Borrelien erfasst wurde. Alle weiteren Isolate mit ST 575 (n = 4) stammten aus Kanada, bisher wurde der ST 575 nicht aus europäischen *I. ricinus*-Zecken isoliert. Es ist jedoch analog zu Hanincova et al. 2013 und Jungnick et al. 2015 möglich, dass nicht alle ST, welche sich in humanen Proben nachweisen lassen, ebenso in Zecken zu finden sind. Da es aufgrund von Verjährung nicht möglich war, weitere Informationen über den Patienten infiziert mit PMag zu erhalten, kann eine Reise nach Nordamerika und die dortige Infektion mit *B. garinii* nicht ausgeschlossen werden. ST 575 differenzierte sich stark genetisch von den europäischen *B. garinii*, welche mit terrestrischen Vögeln als Wirtstier assoziiert sind. Seevogel-Isolate sind bisher nicht mit dem oben beschriebenen MLST analysiert worden, jedoch berichtete Gomez-Diaz et al. (2011) unter Verwendung eines anderen MLST von eigenen Clustern der Seevogel-assoziierten Borrelien und beschrieb eine gewisse Überlappung der terrestrischen und Seevogel-assoziierten *B. garinii* in Europa. PMag zeichnete sich durch die größte Pairwise Distance von 0,008 zu den anderen *B. garinii*- und *B. bavariensis*-Stämmen am NRZ für Borrelien (n = 72, bestimmt mit MEGA 7.0) aus, was eine genetische Sonderstellung dieses Stammes im Vergleich zu den weiteren europäischen Isolaten bestätigte. Um eine populationsgenetische und geografische Zuordnung des ST 575 durchführen zu können, sind weitere Stämme notwendig. Dieser Fall zeigt, dass die MLST-Datenbank eine nicht zu unterschätzende Informationsquelle und Austauschbasis für internationale Daten ist, um Populationsstrukturen und die Verbreitung infektiöser Erkrankungen zu dokumentieren, zu erkennen und die gewonnenen Informationen zukünftig klinisch vermehrt einsetzen zu können.

Eine geografische Überlappung der ST konnte nur in wenigen Fällen bei *B. garinii* beobachtet werden. Alle bekannten Isolate mit dem ST 86 wurden in Europa isoliert. Der ST 244 stammte aus Patienten in Deutschland und aus Zecken in Großbritannien, ebenso wie jeweils aus einer russischen und einer kanadischen Zecke. Die russischen Stämme von ST 86 und 244 wurden aus *I. persulcatus*-Zecken isoliert. Als Fundort für die mit dem ST 86 infizierte Zecke war in der Datenbank Moskau, Russland hinterlegt, welches asiennah liegt, sodass eine Ausbreitung des ST 86 von Europa nach Asien zukünftig möglich erscheint. Die Betrachtung des kanadischen Isolats aus einer *I. uriae* aus der Region Neufundland und Labrador ist interessant, da dieser Stamm bisher nicht in Nordamerika beschrieben wurde. Eine mögliche Erklärung ist die Nutzung von Seevögeln als Wirtstiere. Für *B. garinii* wurde eine im Gegensatz zu *B. valaisiana* freiere Bewegung der Spezies beschrieben (Vollmer et al. 2011), denn für terrestrische Vögel ist der Austausch auf der Ost-West-Achse limitiert, da die Zugaktivität vor allem auf der Nord-Süd-Achse stattfindet (Margos et al. 2011).

In der Datenbank sind nur wenige Isolate aus humanen Probenmaterialien außerhalb von Deutschland hinterlegt, sodass nicht final eruiert werden kann, ob die gleichen ST in Zecken und in humanen Proben zu ähnlichen Prozentsätzen zu finden sind. Hierfür sind weitere Analysen mittels MLST im wissenschaftlichen Kontext notwendig. Ebenso ist es möglich, dass einige ST eine größere Wahrscheinlichkeit haben, eine Infektion im Menschen auszulösen und somit virulenter sind. Dies wurde bereits in den USA für den RST1-Typ-Stamm beschrieben (Strle et al. 2011 a). Hanincova et al. (2013) postulierte, dass klonale Komplexe eine unterschiedliche Fähigkeit aufweisen, disseminierte Infektionen im Menschen auszulösen und der Grad der Pathogenität von Stämmen eines klonalen Komplexes stabil zu sein scheint. ST 86 und ST 244 aus humanen Isolaten lösten im Rahmen dieser Arbeit in allen Fällen NB aus (siehe auch Abschnitt 4.2).

Das MLST wurde im Rahmen dieser Arbeit als reproduzierbare und skalierbare Technik für eine akkurate Charakterisierung von Borrelien bestätigt (Maiden et al. 1988, Aanensen und Spratt 2005). Hiermit ließ sich eine größere genetische Diversität innerhalb der Spezies für *B. garinii* im Vergleich zu den europäischen *B. bavariensis* feststellen. Darüber hinaus ließen sich für die untersuchten europäischen *B. bavariensis*-Stämme zwei ST (ST84 und 85) finden, welche sich in den untersuchten Housekeeping-Genen in einer Mutation unterscheiden. Das stärkt die Hypothese einer aktuell stattfindenden klonalen Expansion von *B. bavariensis* über Europa. Während die europäischen *B. bavariensis*-Population homogen erschien, fand sich jedoch in der asiatischen *B. bavariensis*-Population eine deutlich größere Heterogenität (Margos et al. 2011, Mukhacheva und Kovalev 2013, Gatzmann et al. 2015, Becker et al. 2016). Die letzte Beobachtung ist ein erneuter Hinweis auf eine klonale Expansion der euro-

päischen *B. bavariensis* (Margos et al. 2011, Gatzmann et al. 2015), welche zuletzt von Gatzmann et al. (2015) mit einer Next-Generation Sequenzierung bestätigt wurde. *B. bavariensis* stammt vermutlich aus Asien. Die europäischen Stämme nutzen nur *I. ricinus* als Vektor, während die asiatischen ST bisher nur in *I. persulcatus*-Zecken nachgewiesen wurden. Die Möglichkeit, den Borrelien-ST zu erfassen, erlaubte Rückschlüsse auf einen genetischen und klinischen Zusammenhang. In Zukunft könnte die ST-Sequenzierung in Kombination mit einer Plasmid-Analyse Auskunft über Infektiosität, Virulenz und evidenz-basierte Therapieempfehlungen für den jeweiligen ST geben.

4.4 Nachweisbarkeit von CXCL13 nach Langzeitaufbewahrung und Einordnung der Relevanz bezüglich Krankheitsaktivität und Therapieansprechen

Im Rahmen dieser Dissertation wurde das Chemokin CXCL13 bezüglich der Nachweisbarkeit nach einer Langzeitaufbewahrung untersucht. 20 Proben von insgesamt zwölf Patienten, welche in der retrospektiven Untersuchung eingeschlossen waren, wurden mindestens 15 Jahre bei - 20 °C aufbewahrt. Wiederholte Einfrier- und Auftauvorgänge zum Zeitpunkt der laboratorischen Diagnostik im Anschluss an die Liquorgewinnung konnten nicht ausgeschlossen werden, wurden aber im Rahmen der CXCL13-Untersuchung minimiert. Es konnte für alle Liquorproben von Patienten mit gesicherter NB, welche vor oder innerhalb der ersten drei Tage nach Therapiebeginn entnommen worden waren, ein positiver CXCL13-Nachweis nach der Langzeit-Einlagerung erbracht werden. CXCL13-Konzentrationen aus den Proben vor Beginn der Aufbewahrung lagen nicht vor, da zu diesem Zeitpunkt die Relevanz des Chemokins im Rahmen der NB noch nicht bekannt war. Die durchschnittliche CXCL13-Konzentration in dieser Untersuchung betrug 6.273,3 [319 - 20.420] pg/ml. Die Rahmenwerte waren ähnlich zu den Werten einer vorausgegangenen Studie von Rupprecht et al. (2014), doch erwies sich die durchschnittliche CXCL13-Konzentration im Rahmen dieser Arbeit als höher. Diese Ergebnisse zeigten, dass die Langzeit-Aufbewahrung von Liquorproben, welche CXCL13 enthalten, unter den oben definierten Kriterien möglich ist. Eine potentielle Verbesserung der langjährigen Aufbewahrung könnte die Lagerung bei - 80 °C darstellen.

In dieser Untersuchung zeichnete sich eine Korrelation zwischen der Dauer der NB und der CXCL13-Konzentration ab: CXCL13-Konzentrationen in den ersten zwei Wochen nach Beginn der Erkrankung waren niedriger als die durchschnittliche Konzentration, wohingegen ab der dritten Erkrankungswoche die CXCL13-Konzentration höher als der oben berechnete Durchschnitt war. Unter antibiotischer Therapie sank die CXCL13-Konzentration. Weitere

Untersuchungen sind zur Bestätigung dieses Musters notwendig, da nur eine geringe Fallzahl eingeschlossen war. Es konnte kein Zusammenhang zwischen der Höhe der CXCL13-Konzentration und dem Schweregrad der neurologischen Symptome, dem Geschlecht oder dem Alter gefunden werden.

Die CXCL13-Konzentration des einzigen Patienten mit später NB (Patient 1) rangierte im unteren Bereich der ermittelten CXCL13-Werte. Da Fälle später NB aufgrund von früher Diagnose und Therapie selten sind und die Fallzahl in dieser Arbeit gering war, war es nicht sinnvoll, eine allgemein gültige Aussage abzuleiten.

Ein Patient mit gesicherter Neurosyphilis zeigte eine erhöhte CXCL13-Konzentration (5.880 pg/ml) im Liquor. Die Neurosyphilis als Differenzialdiagnose zur NB kann deswegen nicht anhand der CXCL13-Konzentration unterschieden werden, sodass weitere diagnostische Untersuchungen nötig sind.

Die Ergebnisse dieser Untersuchung sprechen für die Stabilität von CXCL13 im Rahmen einer langjährigen Aufbewahrung bei -20 °C und bestätigen die Relevanz von CXCL13 als diagnostischen Marker der NB. Die Ergebnisse dieser Arbeit geben Anlass zur Annahme, dass die CXCL13-Konzentration bei NB in Zusammenhang mit der Krankheitsdauer steht und einen Anhaltspunkt für Krankheitsaktivität sowie Ansprechen auf eine antibiotische Therapie bietet.

5 Zusammenfassung und Ausblick

Lyme-Borreliose ist die häufigste Vektor-übertragene Erkrankung in Europa und in den USA, welche durch Bakterien des *Borrelia burgdorferi* sensu lato-Komplexes verursacht wird. Bei einer manifesten Infektion können sich die Symptome unter anderem an der Haut, den Gelenken und dem Nervensystem äußern. Neben einem beschriebenen Organotropismus der verschiedenen Spezies unterscheiden sich diese auch in ihrer regionalen Verteilung und den verwendeten Wirtstieren. *B. garinii* und *B. bavariensis* werden erst seit 2009 als differente Spezies betrachtet (Margos et al. 2009), sie unterscheiden sich in genetischen und ökologischen Gesichtspunkten. Für die Analyse im Rahmen dieser Arbeit wurden Borrelien aus humanen Probematerialien, klassifiziert mit den OspA-Typen 3 – 10, ausgewählt und kultiviert. Es wurde eine PCR an acht Housekeeping-Genen (*clpA*, *clpX*, *nifS*, *pepX*, *pyrG*, *recG*, *rplB*, *uvrA*) durchgeführt und eine Sanger-Sequenzierung angeschlossen. Das Multilocus Sequence Typing (MLST) wurde verwendet, da sich die ökonomische, einfach durchzuführende Methode zur Analyse von Proben verschiedener Quellen wie zum Beispiel von Isolaten aus humanen Proben, Zecken oder tierischen Wirten eignet. Darüber hinaus zeichnet es sich durch eine akkurate Diskrimination aus und ist skalierbar. So konnten die Ergebnisse anschließend mit Daten der MLST-Datenbank unter anderem bezüglich der geografischen Verteilung und der Sequenztypen (ST) -Diversität verglichen werden. *B. garinii* zeigte sich in dieser Arbeit als deutlich heterogener als europäische *B. bavariensis*, zudem konnten zwölf neue *B. garinii*-AT und sieben *B. garinii*-ST ermittelt werden, welche bisher nicht in der MLST-Datenbank hinterlegt waren. Isolate mit dem ST 86 und dem ST 244 (beide *B. garinii*) stammten alle aus Liquorpunktaten und unterstützten die These des Organotropismus von *B. garinii* zum neurologischen System. *B. bavariensis* wurde bereits vor der Klassifikation als eigene Spezies als hyperinvasiver OspA-Typ deklariert. Im Rahmen dieser Arbeit zeigten sich die *B. bavariensis*-Stämme als homogener klonaler Komplex, welcher die ST 84 und 85 umfasste. Diese unterscheiden sich in einer einzigen Mutation, sodass eine klonale Expansion in Europa wahrscheinlich erscheint. Interessanterweise wurde *B. bavariensis* deutlich häufiger aus humanen Probematerialien als aus Zecken isoliert. Sowohl *B. garinii* als auch die europäischen *B. bavariensis* verursachten häufiger Früh- als Spätmanifestationen und häufiger eine disseminierte Symptomatik als eine alleinig lokalisierte Manifestation. All diese Ergebnisse weisen auf eine Invasivität von *B. garinii* und *B. bavariensis* und die Notwendigkeit einer frühen Diagnostik und Therapie hin.

Ein Vergleich mit den Isolaten der genannten Spezies aus der MLST-Datenbank wurde durchgeführt: *B. garinii* und *B. bavariensis* ließen sich in Eurasien sowie vereinzelt in Kanada finden, wobei die genetische Diversität zwischen den verschiedenen Kontinenten hoch war.

Während sich *B. garinii* sowohl in Asien als auch in Europa heterogen zeigte, galt dies nur für *B. bavariensis* in Asien, sodass zwei *B. bavariensis*-Populationen mit einer klonalen Expansion der europäischen *B. bavariensis*-Population anzunehmen sind. Während die europäische *B. bavariensis*-Population ausschließlich *I. ricinus* als Vektor nutzt und eine hohe Virulenz aufweist, präsentieren sich die asiatischen *B. bavariensis*, welche als Vektor *I. persulcatus* verwenden, heterogen mit nur geringer Virulenz. Eine daraus ableitbare Hypothese ist, dass sich im Überschneidungsgebiet der Vektoren ein asiatischer Stamm an *I. ricinus* angepasst hat und sich mit einer hohen Virulenz in Europa ausbreitet. Veröffentlicht sind nur wenige Daten zur LB-Manifestation in Asien, doch scheinen Unterschiede im Vergleich zu Europa zu bestehen. Mit diesen Ansatzpunkten lassen sich in zukünftigen Untersuchungen die genetische Ausstattung weiter analysieren und Pathogenitätsfaktoren identifizieren. Hierzu sind folgende, unter anderem außereuropäische Studien nötig, um die oben genannten Hypothesen und Trends zu bestätigen.

Basierend auf den Ergebnissen stellen wir die Hypothese, dass die LB-Erkrankung unter anderem vom Borrelien-ST, dem Vektor und Faktoren des Menschen, wie beispielsweise die Immunantwort, beeinflusst wird. Weitere Studien sind zur Risikostratifizierung und der Optimierung des Diagnostik- und Therapiesystems nötig. Ebenso sollte das Wissen über die genetische Heterogenität zum Beispiel im Bereich der Impfstoffentwicklung beachtet werden. Darüber hinaus konnte im Rahmen dieser Arbeit gezeigt werden, dass die Bestimmung des MLST-ST dem OspA-Typ bei der Spezies-Zuordnung als auch bei der Reproduzierbarkeit der Ergebnisse überlegen war. Vor allem im Hinblick auf den für *B. garinii* und *B. bavariensis* beschriebenen Organotropismus zum neurologischen System ist das Chemokin CXCL13 interessant. Dieses ist unter anderem bei Neuroborreliose im Liquor erhöht und ließ sich nach einer Langzeitaufbewahrung bei – 20 °Celsius weiterhin in Liquorproben nachweisen. Es fanden sich Hinweise, dass CXCL13 in der Diagnostik Auskunft über die Krankheitsaktivität und das Ansprechen auf eine antibiotische Therapie liefern könnte.

6 Literaturverzeichnis

Aanensen DM, Spratt BG (2005) The multilocus sequence typing network: mlst.net. *Nucleic Acids Res* 33:W728-W733 (Web Server issue).

Aberer E, Fingerle V, Wutte N, Fink-Puches R, Cerroni L (2011) Within European margins. *Lancet* 377(9760):178.

Afzelius A (1910) Verhandlungen der dermatologischen Gesellschaft zu Stockholm. Sitzung vom 28. Oktober 1909. *Arch Derm Syph* (Berlin) 101:404.

Aguero-Rosenfeld ME, Wang G, Schwartz I, Wormser GP (2005) Diagnosis of Lyme borreliosis. *Clin Microbiol Rev* 18(3):484-509.

Alekseev AN, Dubinina HV (2000) Abiotic parameters and diel and seasonal activity of *Borrelia*-infected and uninfected *Ixodes persulcatus* (Acarina: Ixodidae). *J Med Entomol* 37(1):9-15.

Aloisi F, Columba-Cabezas S, Franciotta D, Rosicarelli B, Magliozzi R, Reynolds R, Ambrosini E, Coccia E, Salvetti M, Serafini B (2008) Lymphoid chemokines in chronic neuroinflammation. *J Neuroimmunol* 198(1-2):106-112.

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* 44(2):303-307.

Anderson JF (1991) Epizootiology of Lyme borreliosis. *Scand J Infect Dis Suppl* 77:23-24.

Ansel KM, Ngo VN, Hyman PL, Luther SA, Förster R, Sedgwick JD, Browning JL, Lipp M, Cyster JG (2000) A chemokine-driven positive feedback loop organizes lymphoid follicles. *Nature* 406(6793):309-314.

Aristowsky W, Hoeltzer RR (1924) Bemerkungen zur Morphologie der *Spirochaeta obermeieri*. *Zentralbl Bakteriol* 91:175-178.

Bärfverstedt B (1943) Über Lymphadenosis benigna cutis. In: *Acta Derm. Venereol. Suppl* (Stockholm) 11,1-202.

Bannwarth A (1941) Chronische lymphocytäre Meningitis, entzündliche Polyneuritis und „Rheumatismus“. *Arch Psychiatr Nervenkr* 133:284-376.

Baranton G, Postic D, Saint Girons I, Boerlin P, Piffaretti JC, Assous M, Grimont PA (1992) Delineation of *Borrelia burgdorferi* sensu stricto, *Borrelia garinii* sp. nov., and group VS461 associated with Lyme borreliosis. *Int J Syst Bacteriol* 42(3):378-383.

Baranova NS, Lesniak OM; Obratsova RG, Mel'nikov VG, Andreeca EA, Bejkinla B, Laikovskaia EE, Kufko IT, Baranov AA (1997) The characteristics of peripheral nervous system involvement on Lyme borreliosis in an endemic region of Russia. *Ter Arkh* 69(5):20-25.

Barbour AG, Hayes SF (1986) Biology of *Borrelia* species. *Microbiol Rev* 50(4):381-400.

Barbour AG, Garon CF (1987) Linear plasmids of the bacterium *Borrelia burgdorferi* have covalently closed ends. *Science* 237(4813):409-411.

Barbour AG (1988) Plasmid analysis of *Borrelia burgdorferi*, the Lyme disease agent. *J Clin Microbiol* 26(3):475-478.

Barbour AG (1989) The molecular biology of *Borrelia*. *Rev Infect Dis* 11(Suppl 6):1470-1474.

Barbour AG, Carter CJ, Bundoc V, Hinnebusch J (1996) The nucleotide sequence of a linear plasmid of *Borrelia burgdorferi* reveals similarities to those of circular plasmids of the other prokaryotes. *J Bacteriol* 178(22):2287-2298.

Baril C, Richaud C, Baranton G, Saint Girons IS (1989) Linear chromosome of *Borrelia burgdorferi*. *Res Microbiol* 140(8):507-516.

Barker SC, Murrell A (2004) Systematics and evolution of ticks with a list of valid genus and species names. *Parasitology* 129 (Suppl):15-36.

Becker NS, Margos G; Blum H, Krebs S, Graf A, Lane RS, Castillo-Ramirez S, Sing A, Fingerle V (2016) *BMC Genomics* 17(1):734.

Belongia EA (2002) Epidemiology and impact of coinfections acquired from *Ixodes* ticks. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2(4):265-273.

Berg HC, Turner L (1979) Movement of microorganisms in viscous environments. *Nature* 278(5702):349-351.

Berglund J, Eitrem R, Ornstein K, Tykesson-Joelsson K, Walter H (1992) An epidemiologic study of Lyme disease in southern Sweden. *N Engl J Med* 333(20):1319-1324.

Binder K, Reich A, Sing A, Heinzinger S, Wildner M, Liebl B, Fingerle V, Hautmann W (2015) Meldepflicht für Lyme-Borreliose in Bayern - eine erste Bilanz. *Bayerisches Ärzteblatt* 1-2:40-42 und *Epidemiologisches Bulletin des Robert-Koch-Institutes* Nr. 8/2015.

Bonnet S, Jouglin M, L'Hostis M, Chauvin A (2007) *Babesia* sp. EU1 from roe deer and transmission with *Ixodes ricinus*. *Emerg Infect Dis* 13(8):1208-1210.

Brade V, Hunfeld KP (2009) Borrelien. In: *Hahn H, Kaufmann SHE, Schulz TF, Suerbaum S (eds) Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie*. Springer-Lehrbuch. Springer, Berlin, Heidelberg.

Brandes M, Legler DF, Spoerri B, Schaerli P, Moser B (2000) Activation-dependent modulation of B lymphocyte migration to chemokines. *Int Immunol* 12(9):1285-1292.

Bremell D, Mattsson N, Edsbagge M, Blennow K, Andreasson U, Wikkelso C, Zetterberg H, Hagberg L. (2013) Cerebrospinal fluid CXCL13 in Lyme neuroborreliosis and asymptomatic HIV infection. *BMC Neurol* 13:2-13.

Buchwald A (1883) Ein Fall von diffuser idiopathischer Haut-Atrophie. *Archives of Dermatological Research* Bd. 10, 553-556.

Burckhardt JL (1911) Zur Frage der Follikel- und Keimzentrenbildung in der Haut. *Frankfurter Zeitschrift für Pathologie* 6:352-359.

Burgdorfer W, Barbour A, Benach JL, Grunwaldt E, Davis JP (1982) Lyme disease - A tick-borne spirochetosis? *Science* 216:1317-1319.

Burgdorfer W, Anderson JF, Gern L, Lane RS, Piesman J, Spielman A (1991) Relationship of *Borrelia burgdorferi* to its arthropod vectors. *Scand J Infect Dis Suppl* 77:35-40.

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(4):441-448.

Carlsberg H, Naito S (1991) Lyme borreliosis – a review and present situation in Japan. *18(3):125-142.*

Carroll JA, Garon CF, Schwan TG (1999) Effects of environmental pH on membrane proteins in *Borrelia burgdorferi*. *Infect Immun* 67(7):3181-3187.

Carroll JA, Cordova RM, Garon CF (2000) Identification of 11 pH-regulated genes in *Borrelia burgdorferi* localizing to linear plasmid. *Infect Immun* 68(11):6677-6684.

Casjens S, Huang WM (1993) Linear chromosomal physical and genetic map of *Borrelia burgdorferi*, the Lyme disease agent. *Mol Microbiol* 8(5):967-980.

Casjens S, Murphy M, DeLange M, Sampson L, van Vugt R, Huang WM (1997 a) Telomeres of the linear chromosomes of Lyme disease spirochaetes: Nucleotide sequence and possible exchange with linear plasmid telomeres. *Mol Microbiol* 26(3):581-596.

Casjens S, van Vugt R, Tilly K, Rosa PA, Stevenson B (1997 b) Homology throughout the multiple 32-kilobase circular plasmids present in Lyme disease spirochetes. *J Bacteriol* 179(1):217-227.

Casjens SR, Palmer N, van Vugt R, Huang WM, Stevenson B, Rosa P, Lathigra R, Sutton G, Peterson J, Dodson RJ, Haft D; Hickey E, Gwinn M, White O, Fraser CM (2000) A bacterial genome in flux: The twelve linear and nine circular extrachromosomal DNAs in an infectious isolate of the Lyme disease spirochete *Borrelia burgdorferi*. *Mol Microbiol* 35(3):490-516.

Casjens SR, Mongodin EF, Qiu WG, Luft BJ, Schutzer SE, Gilcrease EB, Huang WM, Vujadinovic M, Aron JK, Vargas LC, Freeman S, Radune D, Weidman JF, Dimitrov GI, Khouri HM, Sosa JE, Halpin RA, Dunn JJ, Fraser CM (2012) Genome stability of Lyme disease spirochetes: Comparative genomics of *Borrelia burgdorferi* plasmids. *PLoS One* 7(3):e33280.

Casjens SR, Gilcrease EB, Vujadinovic M, Mongodin EF, Luft BJ, Schutzer SE, Fraser CM, Qiu WG (2017) Plasmid diversity and phylogenetic consistency in the Lyme disease agent *Borrelia burgdorferi*. *MBC Genomics* 18:165.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC) (1999) Recommendations for the use of Lyme disease vaccine. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 48:RR-7.

Cerar T, Ogrinc K, Lotric-Furlan S, Kobal J, Levicnik-Stežinar S, Strle F, Ruzić-Sabljić E (2013) Diagnostic value of cytokines and chemokines in Lyme neuroborreliosis. *Clin Vaccine Immunol* 20(10):1578-1584.

Chang BL, Shih CM, Ro LS, Huang CC, Lyu RK, Chen RS, Lee JD, Chao LL, Kuo HC (2010) Acute neuroborreliosis with involvement of the central nervous system. *J Neurol Sci* 295(1-2):10-15.

Chang YF, Appel MJ, Jacobson RH, Shin SJ, Harpending P, Straubinger R, Patrican LA, Mohammed H, Summers BA. (1995) Recombinant OspA protects dogs against infection and disease caused by *Borrelia burgdorferi*. *Infect Immun* 63(9):3543-3549.

Christen HJ, Hanefeld F, Eiffert H, Thomssen R (1993) Epidemiology and clinical manifestations of Lyme borreliosis in childhood. A prospective multicentre study with special regard to neuroborreliosis. *Acta Paediatr Suppl* 386:1-75.

Christen HJ (1996) Lyme neuroborreliosis in children. *Ann Med* 28:235-240.

Chu CY, Jiang BG, Liu W, Zhao QM, Wu XM, Zhang PH, Zhan L, Yang H, Cao WC (2008) Novel genospecies of *Borrelia burgdorferi* sensu lato from rodents and ticks in Southwestern China. *J Clin Microbiol* 46(9):3130-3133.

Coen MD (2006) The Polymerase Chain Reaction. *Curr Protoc Mol Biol* Suppl.73:15.0.1-15.0.3.

Collares-Pereira M, Couceiro S, Franca I, Kurtenbach K, Schäfer SM, Vitorino L, Gonçalves L, Baptista S, Vieira ML, Cunha C (2004) First isolation of *Borrelia lusitaniae* from a human patient. *J Clin Microbiol* 42(3):1316-1318.

Cox DL, Akins DR, Bourell KW, Lahdenne P, Norgard MV, Radolf JD (1996) Limited surface exposure of *Borrelia burgdorferi* outer surface lipoproteins. *Proc Natl Acad Sci USA* 93(15):7973-7978.

Crippa M, Rais O, Gern L (2002) Investigations on the mode and dynamics of transmission and infectivity of *Borrelia burgdorferi* sensu stricto and *Borrelia afzelii* in *Ixodes ricinus* ticks. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2(1):3-9.

Curran KL, Fish D, Piesman J (1993) Reduction of nymphal *Ixodes dammini* (Acari: Ixodidae) in a residential suburban landscape by area application of insecticides. *J Med Entomol* 30:107-113.

De Silva AM, Telford SR 3rd, Brunet LR, Barthold SW, Fikrig E (1996) *Borrelia burgdorferi* OspA is an arthropod-specific transmission-blocking Lyme disease vaccine. *J Exp Med* 183(1):271-275.

De Silva AM, Zeidner NS, Zhang Y, Dolan MC, Piesman J, Fikrig E (1999) Influence of outer surface protein A antibody of *Borrelia burgdorferi* within feeding ticks. *Infect Immun* 67(1):30-35.

Des Vignes F, Piesman J, Heffernan R, Schulze TL, Stafford KC 3rd, Fish D (2001) Effect of tick removal on transmission of *Borrelia burgdorferi* and *Ehrlichia phagocytophila* by *Ixodes scapularis* nymphs. *J Infect Dis* 183(5):773-778.

Diza E, Papa A, Vezyri E, Tsounis S, Milonas I, Antoniadis A (2004) *Borrelia valaisiana* in cerebrospinal fluid. *Emerg Infect Dis* 10(9):1692-1693.

Dobler G, Gniel D, Petermann R, Pfeffer M (2012) Epidemiology and distribution of tick-borne encephalitis. *Wien Med Wochenschr* 162(11-12):230-238.

Dörner K (2009) Taschenbuch: Klinische Chemie und Hämatologie. *Georg Thieme Verlag KG (Stuttgart)*, 7. Auflage, 481-488.

Dsouli N, Younsi-Kabachii H, Postic D, Nouira S, Gern L, Bouattour A (2006) Reservoir role of lizard *Psammotromus algirus* in transmission cycle of *Borrelia burgdorferi* sensu lato (*Spirochaetaceae*) in Tunisia. *J Med Entomol* 43(4):737-742.

Dubska L, Literak I, Kocianova E, Taragelova V, Sychra O (2009) Differential role of passerine birds in distribution of *Borrelia* spirochetes, based on data from ticks collected from birds during the postbreeding migration period in Central Europe. *Appl Environ Microbiol* 75(3):596-602.

Elliott P, Wartenburg D (2004) Spatial epidemiology: Current approaches and future challenges. *Environ Health Perspect* 112(9):998-1006.

Fahrer H, van der Linden SM, Sauvain MJ, Gern L, Zhioua E, Aeschlimann A (1991) The prevalence and incidence of clinical and asymptomatic Lyme borreliosis in a population at risk. *J Infect Dis* 163(2):305-310.

Feil E, Li B, Aanensen D, Hanage WP, Spratt BG (2004) eBURST: Inferring patterns of evolutionary descent among clusters of related bacterial genotypes from multilocus sequence typing data. *J Bacteriol* 186(5):1518-1530.

Ferdows MS, Barbour AG (1989) Megabase-sized linear DNA in the bacterium *Borrelia burgdorferi*, the Lyme disease agent. *Proc Natl Acad Sci USA* 86(15):5969-5973.

Fikrig E, Pal U, Chen M, Anderson JF, Flavell RA (2004) OspB antibody prevents *Borrelia burgdorferi* colonization of *Ixodes scapularis*. *Infect Immun* 72(3):1755-1759.

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* 33(7):1867-1869.

Fingerle V, Munderloh UG, Liegl G, Wilske B (1999) Coexistence of ehrlichiae of the phagocytophilia group with *Borrelia burgdorferi* in *Ixodes ricinus* from Southern Germany. *Med Microbiol Immunol* 188(3):145-149.

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* 40(4):1456-1463.

Fingerle V, Wilske B (2006) Stage-oriented treatment of Lyme borreliosis. *MMW Fortschr Med* 148(25):39-41.

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(3-4):279-290.

Fingerle V, Eiffert H, Gessner A, Göbel UB, Hofmann H, Hunfeld KP, Krause A, Pfister HW, Reischl U, Sing A, Stanek G, Wilske B, Zöller L (2017) MiQ Lyme-Borreliose. Qualitätsstandards in der mikrobiologisch-infektiologischen Diagnostik im Auftrag der Deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie (DGHM). Elsevier, 2. Auflage.

Fischer L, Korfel A, Pfeiffer S, Kiewe P, Volk HD, Cakiroglu H, Widmann T, Thiel E (2009) CXCL13 and CXCL12 in central nervous system lymphoma patients. *Clin Cancer Res* 15(19):5968-5973.

Földvári G, Farkas R, Lakos A (2005) *Borrelia spielmanii* erythema migrans, Hungary. *Emerg Infect Dis* 11(11):1794-1795.

Francisco A, Bugalho M, Ramirez M, Carriço JA (2009) Global optimal eBURST analysis of multilocus typing data using a graphic matroid approach. *BMC Bioinformatics* 10:152.

Francisco A, Vaz C, Monteiro P, Melo-Cristino J, Ramirez M, Carriço JA (2012) PHYLOViZ: Phylogenetic inference and data visualization for sequence based typing methods. *BMC Bioinformatics* 13:87.

Fraser CM, Casjens S, Huang WM, Sutton GG, Clayton R, Lathigra R, White O, Ketchum KA, Dodson R, Hickey EK, Gwinn M, Dougherty B, Tomb JF, Fleischmann RD, Richardson D, Peterson J, Kerlavage AR, Quackenbush J, Salzberg S, Hanson M, van Vugt R, Palmer N, Adams MD, Gocayne J, Weidman J, Utterback T, Wattney L, McDonald L, Artiach P, Bowman C, Garland S, Fuji C, Cotton MD, Horst K, Roberts K, Hatch B, Smith HO, Venter

JC (1997) Genomic sequence of a Lyme disease spirochaete, *Borrelia burgdorferi*. *Nature* 390(6660):580-586.

Fukunaga M, Hamase A, Okada K, Nakao M (1996) *Borrelia tanukii* sp. nov. and *Borrelia turdae* sp. nov. found from ixodid ticks in Japan: Rapid species identification by 16S rRNA gene-targeted PCR analysis. *Microbiol Immunol* 40(11):877-881.

G RPM Calculator (2017) *Endmemo* (<http://www.endmemo.com/bio/grpm.php>, aufgerufen am 20.07.2017).

Garin C, Boujadoux A (1922) Paralysie par les tiques. *J Med Lyon* Bd. 71, 765-767.

Gatzmann F, Metzler D, Krebs S, Blum H, Sing A, Takano A, Kawabata H, Fingerle V, Margos G, Becker NS (2015) NGS population genetics analyses reveal divergent evolution of a Lyme borreliosis agent in Europe and Asia. *Ticks Tick Borne Dis* 6(3):344-351.

Geller J, Nazarova L, Katargina O, Golovljova I (2013) *Borrelia burgdorferi* sensu lato prevalence in tick populations in Estonia. *Parasit Vectors* 6:202.

Gern L (2008) *Borrelia burgdorferi* sensu lato, the agent of Lyme borreliosis: Life in the wilds. *Parasite* 15(3):244-247.

Gern L (2009) Life cycle of *Borrelia burgdorferi* sensu lato and transmission to humans. *Curr Probl Dermatol* 37:18-30.

Gomez-Diaz E, Boulinier T, Sertour N, Cornet M, Ferquel E, McCoy KD (2011) Genetic structure of marine *Borrelia garinii* and population admixture with the terrestrial cycle of Lyme borreliosis. *Environ Microbiol* 13(9):2453-2467.

Gupta RS, Mahmood S, Adeolu M (2013) Erratum: A phylogenomic and molecular signature based approach for characterization of the Phylum Spirochaetes and its major clades: proposal for a taxonomic revision of the phylum. *Front Microbiol* 4:322.

Gray J, Stanek G (2009) Epidemiology. *European concerted action on Lyme borreliosis* (www.eucalb.com, aufgerufen am 07.02.2017).

Gray JS, Dautel H, Estrada-Peña A, Kahl O, Lindgren E (2009) Effects of climate change on ticks and tick-borne diseases in Europe. *Interdiscip Perspect Infect Dis* 2009:593232.

Grego E, Bertolotti L, Peletto S, Amore G, Tomassone L, Manelli A (2007) *Borrelia lusitaniae* OspA gene heterogeneity in Mediterranean basin area. *J Mol Evol* 65(5):512-518.

Halperin JJ, Shapiro ED, Logigian E, Belman AL, Dotevall L, Wormser GP, Krupp L, Gronseth G, Bever CT Jr, Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology (2007) Practice parameter: Treatment of nervous system Lyme disease (an evidence based review). Report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology* 69(1):91-102.

Hanincova K, Mukherjee P, Ogden NH, Margos G, Wormser GP, Reed KD, Meece JK, Vandermause MF, Schwartz I (2013) Multilocus sequence typing of *Borrelia burgdorferi* suggests existence of lineages with differential pathogenic properties in humans. *PLOS ONE* 8(9), e73066.

Hansen K, Lebech AM (1992) The clinical and epidemiological profile of Lyme neuroborreliosis in Denmark 1985-1990. A prospective study of 187 patients with *Borrelia burgdorferi* specific intrathecal antibody production. *Brain* 115(Pt2):399-423.

Hanson MS, Edelman R (2003) Progress and controversy surrounding vaccines against Lyme disease. *Expert Rev Vaccines* 2(5):683-703.

Hayes EB, Piesman J (2003) How can we prevent Lyme disease? *N Engl J Med* 348(24):2424-2430.

Hayes EB, Maupin GO, Mount GA, Piesman J (1999) Assessing the prevention effectiveness of local Lyme disease control. *J Public Health Manag Prac* 5(3):84-92.

Hecker KH, Roux KH (1996) High and low annealing temperatures increase both specificity and yield in touchdown and stepdown PCR. *BioTechniques* 20(3):478-485.

Hellerström S (1930) Erythema chronicum migrans Afzelii. *Acta Derm Venereol (Stockh.)* 11:315-321.

Herxheimer K, Hartmann K (1902) Über Akrodermatitis chronica atrophicans. *Arch Derm Syph (Wien und Leipzig)*, Bd. 61, 57-76.

Herzer P, Fingerle V, Pfister HW, Krause A (2014) Lyme-Borreliose. *Internist (Berlin)* 55(7):789-802.

Heylen D, Matthysen E, Fonville M, Sprong H (2014) Songbirds as a general transmitter but selective amplifiers of *Borrelia burgdorferi* sensu lato genotypes in *Ixodes ricinus* ticks. *Environ Microbiol* 16(9):2859-2868.

Heylen D, Fonville M, van Leeuwen AD; Sprong H (2016) Co-infections and transmission dynamics in a tick-borne bacterium community exposed to songbirds. *Environ Microbiol* 18(3):988-996.

Hillyard PD (1996) Ticks of north-west Europe. In: *Barns RSK, Crothers JH (eds)* Shrewsbury, UK: Field Studies Council, Linnean Society of London.

Hinnebusch J, Bergström S, Barbour AG (1990) Cloning and sequence analysis of linear plasmid telomeres of the bacterium *Borrelia burgdorferi*. *Mol Microbiol* 4(5):811-820.

Hinterseher I, Gäbel G, Corvinus F, Lück C, Saeger HD, Bergert H, Tromp G, Kuivaniemi H (2012) Presence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato antibodies in the serum of patients with abdominal aortic aneurysms. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 31(5):781-789.

Hintner H, Trappeiner G, Egg D, Wolff K (1981) Faszitis mit Eosinophilie – das Shulman-Syndrom. *Hautarzt* 32:75-59.

Hof H, Dörries R (2009) Duale Reihe Medizinische Mikrobiologie. *Georg Thieme Verlag KG (Stuttgart)*, 4. Auflage, S. 38, 151, 426-437.

Hofmann H, Rauer S, Fingerle V, Huppertz HI, Hunfeld KP, Krause A, Ruf B (2016) Leitlinie Kutane Lyme Borreliose (S2k). *Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften e. V., Deutsche Gesellschaft für Dermatologie* (<http://www.awmf.org/leitlinien/detail/II/013-044.html>, gültig bis 31.10.2020).

Holland PM, Abramson RD, Watson R, Gelfand DH (1991) Detection of specific polymerase chain reaction product by utilizing the 5' → 3' exonuclease activity of *Thermus aquaticus* DNA polymerase. *Proc Natl Acad Sci USA* 88(16):7276-7280.

Holt SC (1978) Anatomy and chemistry of spirochetes. *Microbiol Rev* 42(1):114-160.

Houtman PM, Jansen T, Weel J, Grond J (2009) Borrelial fasciitis: As yet insufficient proof for a distinct entity. *Rheumatol Int* 29(11):1385-1388.

Hovind-Hougen K (1984) Ultrastructure of spirochetes isolated from *Ixodes ricinus* and *Ixodes dammini*. *Yale J Biol Med* 57(4):543-548.

Hubalek Z, Halouzka J, Juricova Z (2004) *Borreliae* in *Ixodes ricinus* ticks feeding on humans. *Med Vet Entomol* 18(3):228-281.

Huppertz HI, Bohme M, Standaert SM, Karch H, Plotkin SA (1999) Incidence of Lyme borreliosis in the Wurzburg region of Germany. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 18(10):697-703.

Hyde FW, Johnson RC (1984) Genetic relationship of Lyme disease spirochetes to *Borrelia*, *Treponema*, and *Leptospira* spp.. *J Clin Microbiol* 20(2):151-154.

Il'ina NS, Lesniak OM, Volkova LI, Turova EL, Sokoloca ZI, Laikovskaia EE (1991) Frequency of Lyme borreliosis and diagnostic titers of antibodies to *borrelia* [sic *Borrelia*] *burgdorferi* in patients with neurological diseases in endemic region of Russia. 74(4):39-42.

Ivacic L, Reed K, Mitchell P, Ghebranious N (2007) A LightCycler TaqMan assay for detection of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in clinical samples. *Diagn Microbiol Infect Dis* 57(2):137-143.

Ivanova LB, Tomova A, González-Acuña D, Murúa R, Moreno CX, Hernández C, Cabello J, Cabello C, Daniels TJ, Godfrey HP, Cabello FC (2014) *Borrelia chilensis*, a new member of the *Borrelia burgdorferi* sensu lato complex that extends the range of this genospecies in the Southern Hemisphere. *Environ Microbiol* 16(4):1069-1080.

Jaulhac B, Chary-Valckenaere I, Sibilía J, Javier RM, Piémont Y, Kuntz JL, Monteil H, Pourel J (1996) Detection of *Borrelia burgdorferi* by DNA amplification in synovial tissue samples from patients with Lyme arthritis. *Arthritis Rheum* 39(5):736-745.

Jauris-Heipke S, Ligl G, Preac-Mursic V, Rössler D, Schwab E, Soutschek E, Will G, Wilske B (1995) Molecular analysis of genes encoding outer surface protein C (OspC) of *Borrelia burgdorferi* sensu lato: Relationship to OspA genotype and evidence of lateral gene exchange of OspC. *J Clin Microbiol* 33(7):1860-1866.

Johnson RC, Hyde FW, Rumpel CM (1984 a) Taxonomy of the Lyme disease spirochetes. *Yale J Biol Med* 57(4):529-537.

Johnson RC, Schmidt GP, Hyde FW, Steigerwalt AG, Brenner DJ (1984 b) *Borrelia burgdorferi* sp. nov.: Etiologic agent of Lyme disease. *Int J Syst Bacteriol* 34(4):496-697.

Johnson BJ, Robbins KE, Bailey RE, Cao BL, Sviat SL, Craven RB, Mayer LW, Dennis DT (1996) Serodiagnosis of Lyme disease: Accuracy of a two-step approach using a flagella-based ELISA and immunoblotting. *J Infect Dis* 174(2):346-353.

Jungnick S, Margos G, Rieger M, Dzaferovic E, Bent SJ, Overzier E, Silaghi C, Walder G, Wex F, Koloczek J, Sing A, Fingerle V (2015) *Borrelia burgdorferi* sensu stricto and *Borrelia afzelii*: Population structure and differential pathogenicity. *Int J Med Microbiol* 305(7):673-681.

Kahl O, Janetzki-Mittmann C, Gray JS, 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. *Zentralbl Bakteriol* 287(1-2):41-52.

Kalish RA, Leong JM, Steere AC (1995) Early and late antibody responses to full-length and truncated constructs of outer surface protein A of *Borrelia burgdorferi* in Lyme disease. *Infect Immun* 63(6):2228-2235.

Kawabata H, Masuzawa T, Yanagihara Y (1993) Genomic analysis of *Borrelia japonica* sp. nov. isolated from *Ixodes ovatus* in Japan. *Microbiol Immunol* 37(11):843-848.

Korbie DJ, Mattick JS (2008) Touchdown PCR for increased specificity and sensitivity in PCR amplification. *Nat Protoc* 3(9):1452-1456.

Kowarik MC, Cepok S, Sellner J, Grummel V, Weber MS, Korn T, Berthele A, Hemmer B (2012) CXCL13 is the major determinant for B cell recruitment to the CSF during neuroinflammation. *J Neuroinflammation* 9:93-99.

Krause A, Fingerle V (2014) Diagnostik und Therapie der Lyme-Borreliose. *Z Rheumatol* 68(3):239-252.

Kumar S, Stecher G, Tamura K (2016): MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for bigger datasets. *Mol Biol Evol* 33(7):1870-1874.

Kurtenbach K, De Michelis S, Etti S, Schäfer SM, Sewell HS, Brade V, Kraiczy P (2002) Host association of *Borrelia burgdorferi* sensu lato – the key role of host complement. *Trends Microbiol* 10(2):74-79.

Kurtenbach K, Hanincová K, Tsao JI, Margos G, Fish D, Ogden NH (2006) Fundamental processes in the evolutionary ecology of Lyme borreliosis. *Nat Rev Microbiol* 4(9):660-669.

Labandeira-Rey M und Skare JT (2001) Decreased infectivity in *Borrelia burgdorferi* strain B31 is associated with loss of linear plasmid 25 or 28-1. *Infect Immun* 69(1):446-455.

Lauterbach R, Wells K, O'Hara RB, Kalko EK, Renner SC (2013) Variable strength of forest stand and weather conditions on the questing activity of *Ixodes ricinus* over years on managed forests. *PLoS One* 8(1):e55365.

Le Fleche A, Postic D, Girardet K, Peter O, Baranton G (1997) Characterization of *Borrelia lusitaniae* sp. nov. by 16S ribosomal DNA sequence analysis. *Int J Syst Bacteriol* 47(4):921-925.

Legler DF, Loetscher M, Roos RS, Clark-Lewis I, Baggiolini M, Moser B (1998) B cell-attracting chemokine 1, a human CXC chemokine expressed in lymphoid tissues, selectively attracts B lymphocytes via BLR1/CXCR5. *J Exp Med* 187(4):655-660.

Lesnyak O, Laikowskaya E, Kufko I, Bruinink H, Baranova N, Rijpkema S (1998) Clinical features of Lyme borreliosis in the middle Urals and distribution of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in local *Ixodes persulcatus* ticks. *Zentralbl Bakteriol* 288(1):111-119.

Lin T, Gao L, Seyfang A, Oliver JH Jr. (2005) 'Candidatus *Borrelia texasensis*', from the American dog tick *Dermacentor variabilis*. *Int J Syst Evol Microbiol* 55(Pt 2):685-693.

Lindgren E und Jaenson T (2006) Lyme borreliosis in Europe: Influences of climate and climate change, epidemiology, ecology and adaptation measures. *World Health Organization*, Kopenhagen, Dänemark.

Lipschütz B (1913) Über eine seltene Erythemform (Erythema chronicum migrans). *Archives of dermatological research*, Bd. 118, 349-356.

Ljøstad U, Mygland A (2008) CSF B-lymphocyte chemoattractant (CXCL13) in the early diagnosis of acute Lyme neuroborreliosis. *J Neurol* 255(5):732-737.

Lothar T (2005) Labor und Diagnose: Indikation und Bewertung von Laborbefunden für die medizinische Diagnostik. 6. Auflage. TH Books Verlag-Ges., Frankfurt.

Lovrich SD, Callister SM, DuChateau BK, Lim LC, Winfrey J, Day SP, Schell RF (1995) Abilities of OspA proteins from different seroprotective groups of *Borrelia burgdorferi* to protect hamsters from infection. *Infect Immun* 63(6):2113-2119.

Loye JE, Lane RS (1998) Questing behavior of *Ixodes pacificus* (Acari: Ixodidae) in relation to meteorological and seasonal factors. *J Med Entomol* 25(5):391-398.

Magliozzi R, Columba-Cabezas S, Serafini B, Aloisi F (2004) Intracerebral expression of CXCL13 and BAFF is accompanied by formation of lymphoid follicle-like structures in the meninges of mice with relapsing experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Neuroimmunol* 148(1-2):11-23.

Maiwald M, Oehme R, March O, Petney TN, Kimmig P, Naser K, Zappe HA, Hassler D, von Knebel Doeberitz M (1998) Transmission risk of *Borrelia burgdorferi* sensu lato from *Ixodes ricinus* ticks to humans in southwest Germany. *Epidemiol Infect* 121(1):103-108.

Maraspin V, Ruzic-Sabljić E, Strle F (2006) Lyme borreliosis and *Borrelia spielmanii*. *Emerg Infect Dis* 12(7):1177.

Marconi RT, Liveris D, Schwartz I (1995) Identification of novel insertion elements, restriction fragment length polymorphism patterns, and discontinuous 23S rRNA in Lyme disease spirochetes: Phylogenetic analyses of rRNA genes and their intergenic spacers in *Borrelia japoni-*

ca sp. nov. and genomic group 21038 (*Borrelia andersonii* sp. nov.) isolates. *J Clin Microbiol* 33(9):2427-2434.

Marconi RT, Hohenberger S, Jauris-Heipke S, Schulte-Spechtel U, LaVoie CP, Rössler D, Wilske B (1999) Genetic analysis of *Borrelia garinii* OspA Serotype 4 strains associated with neuroborreliosis: Evidence for extensive genetic homogeneity. *J Clin Microbiol* 37(12):3965-3970.

Margos G, Gatewood AG, Aanensen DM, Hanincová K, Terekhova D, Vollmer SA, Cornet M, Piesman J, Donaghy M, Bormane A, Hurn MA, Feil EJ, Fish D, Casjens S, Wormser GP, Schwartz I, Kurtenbach K (2008) MLST of housekeeping genes captures geographic population structure and suggests a European origin of *Borrelia burgdorferi*. *Proc Natl Acad Sci USA* 105(25):8730-8735.

Margos G, Vollmer S, Cornet M, Garnier M, Fingerle V, Wilske B, Bormane A, Vitorino L, Collares-Pereira M, Drancourt M, Kurtenbach K (2009) A new *Borrelia* species defined by multilocus sequence analysis of housekeeping genes. *Appl Environ Microbiol* 75(16):5410-5416.

Margos G, Hojgaard A, Lane RS, Cornet M, Fingerle V, Rudenko N, Ogden N, Aanensen DM, Fish D, Piesman J (2010) Multilocus sequence analysis of *Borrelia bissettii* strains from North America reveals a new *Borrelia* species, *Borrelia kurtenbachii*. *Ticks Tick Borne Dis* 1(4):151-158.

Margos G, Vollmer SA, Ogden NH, Fish D (2011) Population genetics, taxonomy, phylogeny and evolution of *Borrelia burgdorferi* sensu lato. *Infect Genet Evol* 11(7):1545-1563.

Margos G, Binder K, Dzaferovic D, Hizo-Teufel C, Sing A, Wildner M, Fingerle V, Jolley KA (2015 a) PubMLST.org – The new home for the *Borrelia* MLSA database. *Ticks Tick Borne Dis* 6(6):869-871.

Margos G, Chu CY, Takano A, Jiang BG, Liu W, Kurtenbach K, Masuzawa T, Fingerle V, Cao WC, Kawabata H (2015 b) *Borrelia yangtzensis* sp. nov. a rodent associated species in Asia is related to *B. valaisiana*. *Int J Syst Evol Microbiol*. 65(11):3836-3840.

Margos G, Lane RS, Fedorova N, Koloczec J, Piesman J, Hojgaard A, Sing A, Fingerle V (2016) *Borrelia bissettae* sp. nov. and *Borrelia californiensis* sp. nov. prevail in diverse enzootic transmission cycles. *Int J Syst Evol Microbiol* 67(10):3872-3876.

Margos G, Fedorova N, Kleinjan JE, Hartberger C, Schwan TG, Sing A, Fingerle V (2017 a) *Borrelia lanei* sp. nov. extends the diversity of *Borrelia* species in California. *Int J Syst Evol Microbiol* 67(10):3872-3876.

Margos G, Sing A, Fingerle V (2017 b) Published data do not support the notion that *Borrelia valaisiana* is human pathogenic. *Infection* 45(4):567-569.

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(Pt 5):1817-1824.

Meltzer MI, Dennis DT, Orloski KA (1999) The cost effectiveness of vaccinating against Lyme disease. *Emerg Infect Dis* 5(3):321-328.

Moser B, Schaerli P, Loetscher P (2002) CXCR5(+) T cells: Follicular homing takes center stage in T-helper-cell responses. *Trends Immunol* 23(5):250-254.

Mülhardt C (2008) Die Polymerase-Kettenreaktion (PCR). In: *Der Experimentator: Molekularbiologie/ Genomics*. Spektrum Akademischer Verlag, 6. Auflage, 81-112.

Mukhacheva TA, Kovalev SY (2013) Multilocus sequence analysis of *Borrelia burgdorferi* s. l. in Russia. *Ticks Tick Borne Dis* 4(4):275-279.

Müller I, Freitag MH, Poggensee G, Scharnetzky E, Straube E, Schoerner Ch, Hlobil H, Hagedorn HJ, Stanek G, Schubert-Unkmeir A, Norris DE, Gensichen J, Hunfeld KP (2012) Evaluating frequency, diagnostic quality, and cost of Lyme borreliosis testing in Germany: A retrospective model analysis. *Clin Dev Immunol* 2012:595427.

Müller M, Kollaritsch H, Paulke-Korinek M, Esen M, Kremsner PG, Ehrlich HJ, Barrett PN (2013) Safety and immunogenicity of a novel multivalent OspA vaccine against Lyme borreliosis in healthy adults: a double-blind, randomised, dose-escalation phase 1/2 trial. *Lancet Infect Dis* 13(8):680-689.

Müller-Doblies UU, Maxwell SS, Boppana VD, Mihalyo MA, McSorley SJ, Vella AT, Adler AJ, Wikel SK (2007) Feeding by the tick, *Ixodes scapularis*, causes CD4(+) T cells responding to cognate antigen to develop the capacity to express IL-4. *Parasite Immunol* 29(10):485-499.

Mullis K, Faloona F, Scharf S, Saiki R, Horn G, Erlich H (1986) Specific enzymatic amplification of DNA *in vitro*: The polymerase chain reaction. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 51(Pt 1):263-273.

Mukhacheva TA, Kovalev SY (2013) Multilocus sequence analysis of *Borrelia burgdorferi* s. l. in Russia. *Ticks Tick Borne Dis* 4(4):275-279.

Munderloh UK, Kurtti TJ (2005) The ABCs of Lyme disease spirochaetes in ticks. *Lancet* 366(9490):962-964.

Mygland Å, Ljøstad U, Fingerle V, Rupprecht T, Schmutzhard E, Steiner I, European Federation of Neurological Societies (2010) EFNS guidelines on the diagnosis and management of European Lyme neuroborreliosis. *Eur J Neurol* 17(1):8-16.

Nadelman RB, Nowakowski J, Fish D, Falco RC, Freeman K, McKenna D, Welch P, Marcus R, Agüero-Rosenfeld ME, Dennis DT, Wormser GP, Tick Bite Study Group (2001) Prophylaxis with single-dose doxycycline for the prevention of Lyme disease after an *Ixodes scapularis* tick bite. *N Engl J Med* 345(2):79-84.

Nafeev AA, Klimova LV (2010) Clinical manifestation of neuroborreliosis in the Volga region. *Ter Arkh* 82(11):68-70.

Nationales Genomforschungsnetz (NGFN) (2014) Technologien der Genomforschung. (http://www.ngfn.de/index.php/die_entschl__sselung_des_gesamten_meschlichen_genoms.html, aufgerufen am 20.08.2017).

Nationales Referenzzentrum (NRZ) für Borrelien (2008) Erreger der Lyme-Borreliose. Bayerisches Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit (https://www.lgl.bayern.de/gesundheitschutz/infektionsschutz/infektionskrankheiten_a_z/borreliose/lyme_erreger.htm, aufgerufen am 11.03.2017).

Nationales Referenzzentrum (NRZ) für Borrelien (2013) Die Lyme-Borreliose. Bayerisches Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit (www.lgl.bayern.de/gesundheitschutz/infektionsschutz/infektionskrankheiten_a_z/borreliose/lyme.htm, aufgerufen am 14.02.2016).

Nava S, Guglielmo AA, Mangold AJ (2009) An overview of systematics and evolution of ticks. *Front Biosci (Landmark Ed)* 14:2857-2877.

Nocton JJ, Dressler F, Rutledge BJ, Rys PN, Persing DH, Steere AC (1994) Detection of *Borrelia burgdorferi* DNA by polymerase chain reaction in synovial fluid from patients with Lyme arthritis. *N Engl J Med* 330(4):229-234.

Norris SJ, Howell JK, Garza SA, Ferdows MS, Barbour AG (1995) High- and low-infectivity phenotypes of clonal populations of *in vitro*-cultured *Borrelia burgdorferi*. *Infect Immun* 63(6):2206-2212.

Obonyo M, Munderloh UG, Fingerle V, Wilske B, Kurtti TJ (1999) *Borrelia burgdorferi* in tick cell culture modulates expression of outer surface proteins A and C in response to temperature. *J Clin Microbiol* 37(7):2137-2141.

Ogden NH, Koffi JK, Lindsay LR, Fleming S, Mombourquette DC, Sanford C, Badcock J, Gad RR, Jain-Sheehan N, Moore S, Russell C, Hobbs L, Baydack R, Graham-Derham S, Lachance L, Simmonds K, Scott AN (2015) Surveillance for Lyme disease in Canada, 2009 to 2012. *Canadian Communicable Disease Report* 41-06 (<https://www.canada.ca/en/public-health/services/reports-publications/canada-communicable-disease-report-ccdr/monthly-issue/2015-41/ccdr-volume-41-06-june-4-2015/ccdr-volume-41-06-june-4-2015-2.html>; aufgerufen am 13.08.2017).

Ohnishi J, Piesman J, de Silva AM (2001) Antigenic and genetic heterogeneity of *Borrelia burgdorferi* populations transmitted by ticks. *Proc Natl Acad Sci USA* 98(2):670-675.

Oren A, Garrity GM (2014) Validation List no. 156 – List of new names and new combinations previously effectively, but not validly, published. *Int J Syst Evol Microbiol* 64:693-696.

Ornstein K, Berglund J, Nilsson I, Norrby R, Bergström S (2001) Characterization of Lyme borreliosis isolates from patients with erythema migrans and neuroborreliosis in southern Sweden. *J Clin Microbiol* 39(4):1294-1298.

Pal U, Yang X, Chen M, Bockenstedt LK, Anderson JF, Flavell RA, Norgard MV, Fikrig E (2004) OspC facilitates *Borrelia burgdorferi* invasion of *Ixodes scapularis* salivary glands. *J Clin Invest* 113(2):220-230.

Panjkevich A, Melo F (2004) Comparison of different melting temperature calculation methods for short DNA sequences. *Bioinformatics* 21(6):711-722.

Parola P, Raoult D (2001) Ticks and tickborne bacterial diseases in humans: an emerging infectious threat. *Clin Infect Dis* 32(6):897-928.

Pashenkov M, Soderstrom M, Link H (2003) Secondary lymphoid organ chemokines are elevated in the cerebrospinal fluid during central nervous system inflammation. *J Neuroimmunol* 135(1-2):154-160.

Perrone S, D'Elia GM, Annechini G, Pulsoni A (2016) Infectious aetiology of marginal zone lymphoma and role of anti-infective therapy. *Mediterr J Hematol Infect Dis* 8(1):e2016006.

Pfister HW, Einhäupl KM, Wilske B, Preac-Mursic V (1986) Bannwarth's syndrome and the enlarged neurological spectrum of arthropod-borne borreliosis. *Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg A* 263(3):354-362.

Pfister HW, Wilske B, Weber K (1994) Lyme borreliosis: Basic science and clinical aspects. *Lancet* 343(8904): 1013-1016.

Philipp MT, Lobet Y, Bohm RP Jr, Roberts ED, Dennis VA, Gu Y, Lowrie RC Jr, Desmons P, Duray PH, England JD, Hauser P, Piesman J, Xu K (1996) Safety and immunogenicity of recombinant outer surface protein (OspA) vaccine formulations in the rhesus monkey. *Vaccine* 15(17-18):1872-1887.

PHYLOViZ (2017) PHYLOViZ Tutorial. (<https://online.phyloviz.net/index/tutorial/>, aufgerufen am 01.11.2017).

Piesman J, Mather TN, Sinsky RJ, Spielman A (1987) Duration of tick attachment and *Borrelia burgdorferi* transmission. *J Clin Microbiol* 25(3):557-558.

Piesman J (1993) Dynamics of *Borrelia burgdorferi* transmission by nymphal *Ixodes dammini* ticks. *J Infect Dis* 167(5):1082-1085.

Plasterk RHA, Simon MI, Barbour AG (1985) Transposition of structural genes to an expression sequence on a linear plasmid causes antigenic variation in the bacterium *Borrelia hermsii*. *Nature* 318:257-263.

Ponzoni M, Ferreri A, Mappa S, Pasini E, Govi S, Facchetti F, Fanoni D, Tucci A, Vino A, Doglioni C, Berti E, Dolcetti R (2011) Prevalence of *Borrelia burgdorferi* infection in a series of 98 primary cutaneous lymphomas. *Oncologist* 16(11):1582-1588.

Postic D, Belfaiza J, Isogai E, Saint Girons I, Grimont PA, Baranton G (1993) A new genomic species in *Borrelia burgdorferi* sensu lato isolated from Japanese ticks. *Res Microbiol* 144(6):467-473.

Postic D, Garnier M, Baranton G (2007) Multilocus sequence analysis of atypical *Borrelia burgdorferi* sensu lato isolates – Description of *Borrelia californiensis* sp. nov., and genomospecies 1 and 2. *Int J Med Microbiol* 297(4):263-271.

Preac-Mursic V, Schierz G, Pfister HW, Einhäupl K, Wilske B, Weber K (1984) Isolierung einer Spirochäte aus Liquor cerebrospinalis bei Meningoradiculitis-Bannwarth. *Munch Med Wochenschr* 126:275-276.

Preac-Mursic V, Wilske B, Schierz G (1986) European *Borrelia burgdorferi* isolated from humans and ticks culture conditions and antibiotic susceptibility. *Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg A* 263(1-2):112-118.

Preac-Mursic V, Wilske B, Reinhardt S (1991) Culture of *Borrelia burgdorferi* on six solid media. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 10(2):2076-2079.

Pritt BS, Mead PS, Johnson DK, Neitzel DF, Respicio-Kingry LB, Davis JP, Schiffman E, Sloan LM, Schriefer ME, Replogle AJ, Paskewitz SM, Ray JA, Bjork J, Steward CR, Deedon A, Lee X, Kingry LC, Miller TK, Feist MA, Theel ES, Patel R, Irish CL, Petersen JM (2016) Identification of a novel pathogenic *Borrelia* species causing Lyme borreliosis with unusually high spirochaetaemia: a descriptive study. *Lancet Infect Dis* 16(5):556-564.

Randolph SE, Storey K (1999) Impact of microclimate on immature tick-rodent host interactions (Acari: Ixodidae): Implications for parasite transmission. *J Med Entomol* 36(6):741-748.

Rauer S, Kaiser R, Kölmel HW, Pfister HW, Schmutzhard E, Sturzenegger M, Wilske B (2012) Leitlinie Neuroborreliose (S1). *Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften (AWMF), Deutsche Gesellschaft für Neurologie* (<http://www.awmf.org/leitlinien/detail/II/030-071.html>, gültig bis 29.07.2017).

Rauter C, Hartung T (2005) Prevalence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato genospecies in *Ixodes ricinus* ticks in Europe: A metaanalysis. *Appl Environ Microbiol* 71(11):7203-7216.

Richter D, Matuschka FR (2006) Modulatory effect of cattle on risk for Lyme disease. *Emerg Infect Dis* 2(12):1919-1923.

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 confirmation of the delineation of *Borrelia spielmanii* sp. nov.. *Int J Syst Evol Microbiol* 56(Pt 4):873-881.

Rijpkema SGD, Tazelaar DJ, Molkenboer MJ, Noordhoek GT, Plantinga G, Schouls LM, Schellekens JF (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(1):109-116.

Robert-Koch-Institut (RKI) (2013a) Lyme-Borreliose: RKI-Ratgeber für Ärzte. (http://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber_LymeBorreliose.html#doc2398672bodyText10, aufgerufen am 08.03.2017).

Robert-Koch-Institut (RKI) (2013b) Antworten auf häufig gestellte Fragen zu Zecken, Zeckenstich, Infektion. (<http://www.rki.de/SharedDocs/FAQ/FSME/Zecken/Zecken.html>, aufgerufen am 13.02.2016).

Robert-Koch-Institut (RKI) (2015) Empfehlungen der Ständigen Impfkommission. (http://www.rki.de/DE/Content/Kommissionen/STIKO/Empfehlungen/Impfempfehlungen_node.html, aufgerufen am 15.02.2016).

Rudenko N, Golovchenko M, Grubhoffer L, Oliver JH Jr (2009 a) *Borrelia caroliensis* sp. nov. – A new (14th) member of *Borrelia burgdorferi* sensu lato complex from southeastern United States. *J Clin Microbiol* 47(1):134-141.

Rudenko N, Golovchenko M, Lin T, Gao L, Grubhoffer L, Oliver JH Jr. (2009 b) Delineation of a new species of the *Borrelia burgdorferi* sensu lato complex, *Borrelia americana* sp. nov.. *J Clin Microbiol* 47(12):3875-3880.

Rupprecht TA, Koedel U, Angele B, Fingerle V, Pfister HW (2006) Cytokine CXCL13 – A possible early CSF marker for neuroborreliosis. *Nervenarzt* 77(4):470-473.

Rupprecht TA, Kirschning CJ, Popp B, Popp B, Kastenbauer S, Fingerle V, Pfister HW, Koedel U (2007) *Borrelia garinii* induces CXCL13 production in human monocytes through Toll-Like Receptor 2. *Infect Immun* 75(9):4351-4356.

Rupprecht TA, Plate A, Adam M, Wick M, Kastenbauer S, Schmidt C, Klein M, Pfister HW, Koedel U (2009) The chemokine CXCL13 is a key regulator of B cell recruitment to the cerebrospinal fluid in acute Lyme neuroborreliosis. *J Neuroinflammation* 6:42.

Rupprecht TA, Lechner C, Tumani H, Fingerle V (2014) CXCL13: A biomarker for acute Lyme neuroborreliosis: Investigation of the predictive value in the clinical routine. *Nervenarzt* 85(4):459-464.

Saiki RK, Gelfand DH, Stoffel S, Scharf SJ, Higuchi R, Horn GT, Mullis KB, Erlich HA (1988) Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable *DNA polymerase*. *Science* 239(4829):487-491.

Sanger F, Nicklens S, Coulson AR (1977) DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc Natl Acad Sci USA* 74(12):5463-5467.

Samish M (2000) Biocontrol of Ticks. *Ann N Y Acad Sci* 916:172-178.

Scheffold N, Bergler-Klein J, Sucker C, Cyran J (2003) Kardiovaskuläre Manifestationsformen der Lyme-Borreliose – Therapeutische Situation im chronischen Stadium problematisch. *Deutsches Ärzteblatt* 100(14):A912-A920.

Schmid GP, Steigerwalt AG, Johnson SE, Barbour AG, Steere AC, Robinson IM, Brenner DJ (1984) DNA characterization of the spirochete that causes Lyme disease. *J Clin Microbiol* 20(2):155-158.

Schmidt C, Plate A, Angele B, Pfister HW, Wick M, Koedel U, Rupprecht TA (2011) A prospective study on the role of CXCL13 in Lyme neuroborreliosis. *Neurology* 76(12):1051-1058.

Scholz HC, Margos G, Derschum H, Speck S, Tserennorov D, Erdenebat N, Undraa B, Enkhtuja M, Battsetseg J, Otgonchimeg C, Otgonsuren G, Nymadulam B, Römer A, Thomas A, Essbauer S, Wölfel R, Kiefer D, Zöllner L, Otgonbaatar D, Fingerle V (2013) High prevalence of genetically diverse *Borrelia bavariensis*-like strains in *Ixodes persulcatus* from Selenge Aimag, Mongolia. *Ticks Tick Borne Dis* 4(1-2):89-92.

Schwan TG, Piesman J, Golde WT, Dolan MC, Rosa PA (1995) Induction of an outer surface protein on *Borrelia burgdorferi* during tick feeding. *Proc Natl Acad Sci USA* 92(7):2909-2913.

Schwan TG, 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* 38(1):382-388.

Schwan TG, Piesman J (2002) Vector interactions and molecular adaptations of Lyme disease and relapsing fever spirochetes associated with transmission by ticks. *Emerg Infect Dis* 8(2):115-121.

Seidel MF, Domene AB, Vetter H (2007) Differential diagnoses of suspected Lyme borreliosis or post-Lyme-disease syndrome. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 26(9):611-617.

Senel M, Rupprecht TA, Tunami H, Pfister HW, Ludolph AC, Brettschneider J (2010) The chemokine CXCL13 in acute neuroborreliosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 81(8):929-933.

Serafini B, Rosicarelli B, Magliozzi R, Stigliano E, Aloisi F (2004) Detection of ectopic B-cell follicles with germinal centers in the meninges of patients with secondary progressive multiple sclerosis. *Brain Pathol* 14(2):164-174.

Shapiro ED, Gerber MA, Holabird NB, Berg AT, Feder HM Jr, Bell GL, Rys PN, Persing DH (1992) A controlled trial of antimicrobial prophylaxis for Lyme disease after deer-tick bites. *N Engl J Med* 327(25):1769-1773.

Skuballa J, Oehme R, Hartelt K, Petney T, Bücher T, Kimmig P, Taraschewski H (2007) European Hedgehogs as Hosts for *Borrelia* spp., Germany. *Emerg Infect Dis* 13(6):952-953.

Sonenshine DE, Roe RM (1991) Biology of ticks. Vol 1. Oxford University Press (New York).

Sonenshine DE, Roe RM (1993) Biology of ticks. Vol 2. Oxford University Press (New York).

Stafford III KC (1991) Effectiveness of host-targeted permethrin in the control of *Ixodes dammini* (Acari: Ixodidae). *J Med Entomol* 28(5):611-617.

Stafford III KC, Ward JS, Magnarelli LA (1998) Impact of controlled burns on the abundance of *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae). *J Med Entomol* 35(4):510-513.

Stanek G, Reiter M (2011) The expanding Lyme *Borrelia* complex – Clinical significance of genomic species? *Clin Microbiol Infect* 17(4):487-493.

Stanek G, Fingerle V, Humfeld KP, Hunfeld KP, Jaulhac B, Kaiser R, Krause A, Kristoferitsch W, O'Connell S, Ornstein K, Strle F, Gray J (2011) Lyme borreliosis: Clinical case definitions for diagnosis and management in Europe. *Clin Microbiol Infect* 17(1):69-79.

Stanek G, Konrad K, Jung M, Ehringer H (1987) Shulman syndrome, a scleroderma subtype caused by *Borrelia burgdorferi*? *Lancet* 1(8548):1490.

Stanek G, Strle F (2009) Lyme borreliosis: a European perspective on diagnosis and clinical management. *Curr Opin Infect Dis* 22(5):450-454.

Stanek G, Strle F, Gray J, Wormser GP (2002) History and characteristics of Lyme borreliosis. In: *Gray J, Kahl O, Lane RS et al. (eds) Lyme Borreliose: Biology, Epidemiology, and Control*. CAB International 2002, 1-28.

Statistisches Bundesamt (2018) 13. Koordinierte Bevölkerungsvorausberechnung für Deutschland. (<https://service.destatis.de/bevoelkerungspyramide/>, aufgerufen am 29.01.2018).

Steere AC, Malawista SE (1979) Cases of Lyme disease in the United States: Locations correlated with distribution of *Ixodes dammini*. *Ann Intern Med* 91(5):730-733.

Steere AC, Malawista SE, Hardin JA, Ruddy S, Askenase W, Andiman WA (1977) Erythema chronicum migrans and Lyme arthritis: The enlarging clinical spectrum. *Ann Intern Med* 86(6):685-698.

Steere AC; Grodzicki RL, Kornblatt AN, Craft JE, Barbour AG, Burgdorfer W, Schmid GP, Johnson E, Malawista SE (1983) The spirochetal etiology of Lyme disease. *N Engl J Med* 308(13):733-740.

Steere AC, Schoen RT, Taylor E (1987) The clinical evolution of Lyme arthritis. *Ann Intern Med* 107(5):725-731.

Steere AC, Sikand VK, Meurice F, Parenti DL, Fikrig E, Schoen RT, Nowakowski J, Schmid CH, Laukamp S, Buscarino C, Krause DS (1998) Vaccination against Lyme disease with recombinant *Borrelia burgdorferi* outer-surface lipoprotein A with adjuvant. *N Engl J Med* 339(4):209-215.

Stewart PE, Byram R, Grimm D, Tilly K, Rosa PA (2005) The plasmids of *Borrelia burgdorferi*: Essential genetic elements of a pathogen. *Plasmid* 53(1):1-13.

Strle K, Jones KL; Drouin EE, Steere AC (2011 a) *Borrelia burgdorferi* RST1 (OspC type A) genotype is associated with greater inflammation and more severe Lyme disease. *Am J Pathol* 178(6):2726-2739.

Strle F, Ružić-Sabljić E, Logar M, Maraspin V, Lotrič-Furlan S, Cimperman J, Ogrinc K, Stupica D, Nadelman RB, Nowakowski J, Wormser GP (2011 b) Comparison of erythema migrans caused by *Borrelia burgdorferi* and *Borrelia garinii*. *Vector Borne Zoonotic Dis* 11(9):1253-1258.

Suarez F, Lortholary O, Hermine O, Lecuit M (2006) Infection-associated lymphomas derived from marginal zone B cells: A model of antigen-driven lymphoproliferation. *Blood* 107(8): 3034-3044.

Tajima F (1989) Statistical method for testing neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics* 123(3):585-595.

Takano A, Nakao M, Masuzawa T, Takada N, Yano Y, Ishiguro F, Fujita H, Ito T, Ma X, Oikawa Y, Kawamori F, Kumagai K, Mikami T, Hanaoka N, Ando S, Honda N, Taylor K, Tsubo-

ta T, Konnai S, Watanabe H, Ohnishi M, Kawabata H (2011) Multilocus sequence typing implicates rodents as the main reservoir host of human-pathogenic *Borrelia garinii* in Japan. *J Clin Microbiol* 49(5): 2035-2039.

Tarageřová VR, Mahříková L , Selyemová D , Václav R, Derdáková M (2008) Natural foci of *Borrelia lusitaniae* in a mountain region of Central Europe. *Ticks Tick Borne Dis* 7(2):350-356.

Terekhova D, Iyer R, Wormser GP, Schwartz I (2006) Comparative genome hybridization reveals substantial variation among clinical isolates of *Borrelia burgdorferi* sensu stricto with different pathogenic properties. *J Bacteriol* 188(17):6124-6134.

Tjernberg I, Henningsson AJ, Eliasson I, Forsberg P, Ernerudh J (2011) Diagnostic performance of cerebrospinal fluid chemokine CXCL13 and antibodies to the C6-peptide in Lyme neuroborreliosis. *J Infect* 62(2):149-158.

Tokarz R, Anderton JM, Katona LI, Benach JL (2004) Combined effects of blood and temperature shift on *Borrelia burgdorferi* gene expression as determined by whole genome DNA array. *Infect Immun* 72(9):5419-5432.

Urwin R, Maiden M (2003) Multi-locus sequence typing: A tool for global epidemiology. *Trends Microbiol* 11(10):479-487.

Van Burgel ND, Bakels F, Kroes AC, van Dam AP (2011) Discriminating Lyme neuroborreliosis from other neuroinflammatory diseases by levels of CXCL13 in cerebrospinal fluid. *J Clin Microbiol* 49(5):2027-2030.

Vollmer S (2010) Towards the origin of Lyme Borreliosis. *Thesis (Doctor of Philosophy (PhD))*. University of Bath.

Vollmer SA, Bormane A, Dinnis RE, Seelig F, Dobson AD, Aanensen DM, James MC, Donaghy M, Randolph SE, Feil EJ, Kurtenbach K, Margos G (2011) Host migration impacts on the phylogeography of Lyme Borreliosis spirochaete species in Europe. *Environ Microbiol* 13(1):184-192.

Voytas D (2001) Agarose gel electrophoresis. *Curr Protoc Mol Biol* 2:2.5A.1-2.5A.9.

Wang G, Liceris D, Mukherjee P, Jungnick S, Margos G, Schwartz I (2014) Molecular typing of *Borrelia burgdorferi*. *Curr Protoc Microbiol* 34: I2C.5.1-I2C.5.31.

Wang G, van Dam AP, Le Fleche A, Postic D, Peter O, Baranton G, de Boer R, Spanjaard L, Dankert J (1997) Genetic and phenotypic analysis of *Borrelia valaisiana* sp. nov. (*Borrelia* genomic groups VS116 and M19). *Int J Syst Bacteriol* 47(4):926-932.

Wilske B, Preac-Mursic V, Göbel UB, Graf B, Jauris S, Soutschek E, Schwab E, Zumstein G (1993) An *OspA* serotyping system for *Borrelia burgdorferi* based on reactivity with monoclonal antibodies and *OspA* sequence analysis. *J Clin Microbiol* 31(2):340-350.

Wilske B, Busch U, Eiffert H, Fingerle V, Pfister HW, Rössler D, Preac-Mursic V (1996 a) Diversity of *OspA* and *OspC* among cerebrospinal fluid isolates of *Borrelia burgdorferi* sensu lato from patients with neuroborreliosis in Germany. *Med Microbiol Immunol* 184(4):195-201.

Wilske B, Busch U, Fingerle V, Jauris-Heipke, Preac-Mursic V, Rössler D, Will G (1996 b) Immunological and molecular variability of *OspA* and *OspC*. Implications for *Borrelia* vaccine development. *Infection* 24(2):208-212.

Wilske B, Fingerle V, Schulte-Spechtel U (2007) Microbiological and serological diagnosis of Lyme borreliosis. *FEMS Immunol Med Microbiol* 49(1):13-21.

Wilske B, Johnson BJB, Schriefer ME (2007) Borrelia. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen HJ, Landry ML, Pfaller MA (eds) *Annual of clinical microbiology*, Washington, D.C.: ASM Press 971-986.

Wilson ML, Deblinger RD (1993) Vector management to reduce the risk of Lyme disease. In: Ginsberg HS ed., *Ecology and environmental management of Lyme disease*. Rutgers University Press, New Brunswick, N.J. 126-156.

Wormser GP, Horowitz HW, Nowakowski J, McKenna D, Dumler JS, Varde S, Schwartz I, Carbonaro C, Aguero-Rosenfeld M (1997) Positive Lyme disease serology in patients with clinical and laboratory evidence of human granulocytic ehrlichiosis. *Am J Clin Pathol* 107(2):142-147.

Wormser GP, Nadelman RB, Dattwyler RJ, Dennis DT, Shapiro ED, Steere AC, Rush TJ, Rahn DW, Coyle PK, Persing DH, Fish D, Luft BJ (2000) Practice guidelines for the treatment of Lyme disease. *Clin Infect Dis* 31(Suppl)1:1-14.

Wormser GP, Dattwyler RJ, Shapiro ED, Halperin JJ, Steere AC, Klempner MS, Krause PJ, Bakken JS, Strle F, Stanek G, Bockenstedt L, Fish D, Dumler JS, Nadelman RB (2006) The clinical assessment, treatment, and prevention of Lyme disease, Human Granulocytic Anaplasmosis, and Babesiosis: Clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 43(9):1089-1134.

Wressnigg N, Pöllabauer EM, Aichinger G, Portsmouth D, Löw-Baselli A, Fritsch S, Livey I, Crowe BA, Schwendinger M, Brühl P, Pilz A, Dvorak T, Singer J, Firth C, Luft B, Schmitt B, Zeitlinger M, Müller M, Kollaritsch H, Paulke-Korinek M, Esen M, Kremsner PG, Ehrlich HJ, Barrett PN (2013) Safety and immunogenicity of a novel multivalent OspA vaccine against Lyme borreliosis in healthy adults: a double-blind, randomised, dose-escalation phase 1/2 trial. *Lancet Infect Dis* 13(8): 680–689.

Ku G, Fang QQ, Keirans JE, Durden LA (2003) Molecular phylogenetic analyses indicate that the *Ixodes ricinus* complex is a paraphyletic group. *J Parasitol* 89(3):452-457.

Xu Y, Kodner C, Coleman L, Johnson RC (1996) Correlation of plasmids with infectivity of *Borrelia burgdorferi* sensu stricto type strain B31. *Infect Immun* 64(9):3870-3876.

Yukitake M, Kuroda K, Matsui M, Yasuda A, Matsui Y, Oono S, Kimura K, Isogai E (1996) Occurrence of *Borrelia garinii* oculo-neuroborreliosis in Japan. *J Neurol Sci* 142(1-2):160-161.

Zeidner NS, Schneider BS, Rutherford JS, Dolan MC (2008) Suppression of Th2 cytokines reduces tick-transmitted *Borrelia burgdorferi* load in mice. *J Parasitol* 94(3):767-769.

Zhou W, Brisson D (2017) Interactions between host immune response and antigenic variation that control *Borrelia burgdorferi* population dynamics. *Microbiology* doi: 10.1099/mic.0.000513. [Epub ahead of print].

Zlotnik A, Morlaes J, Hedrick JA (1999) Recent advances in chemokines and chemokine receptors. *Crit Rev Immunol* 19(1):1-47.

7 Anhang

Patienten-Fragebogen: Datum

(Erythema migrans, Acrodermatitis chronica atrophicans, Lymphozytäre Meningoradikulitis Bannwarth, Lyme-Arthritis)

Name, Vorname des Patienten:

.....

Geboren, Beruf:

.....

Wohnsitz (bitte unbedingt ausfüllen):

.....

O Klinik/Krankenhaus (Adresse):

.....

Stationäre Aufnahme/ Behandlungsbeginn:

.....

Behandelnder Arzt:

.....

O Praxis (Adresse):

.....

Erkrankungs-/ Behandlungsbeginn:

.....

Epidemiologie:

Hatte der Patient/ die Patientin innerhalb der letzten 4, 8, ≥ 12 * Wochen vor Auftreten der Erkrankung einen Zeckenstich?

Ja / nein / unsicher*

Wenn ja, in welchem Wald ist der Zeckenbefall erfolgt (Ort so genau wie möglich mit nächstgelegener größerer Ortschaft angeben):

.....

Wenn nein, ist der Zeckenstich evtl. nicht bemerkt worden. War in den letzten 4 Wochen überhaupt ein Wald besucht worden?

Ja / nein*

Wenn ja, bitte Ortsangabe:

.....

Klinik:

1 Erythema migrans

2 Acrodermatitis chronica atrophicans

3 Lymphozytom

4 Arthritis

5a Lymphozytäre Meningoradikulitis Bannwarth

5b Meningoencephalitis

6 Sonstiges.....

1 O Erythema migrans:

O Zeckenstich Tage*/Wochen* vor Auftreten des Erythema migrans. Lokalisation des Zeckenstichs:.....

O Erythem(e): Beginn (Datum): Dauer

Lokalisation:.....

O Andere Symptome:.....

O Therapie (Antibiotikum):

Dosierung:

Dauer (von ... bis):

(*) nicht zutreffendes streichen

2 O Acrodermatitis chronica atrophicans:

O Zeckenstich Monate/ Jahre* vor Auftreten der Hautsymptomatik.

O Hautsymptomatik: Beginn, Dauer

Lokalisation:

O Erythema migrans: wann

wo.

O Andere Symptome:

O Therapie (Antibiotikum):

Dosierung:

Dauer (von ... bis):

3 O Lymphozytom (Lymphadenitis cutis benigna Bäfverstaedt):

O Zeckenstich Tage/ Wochen* vor Auftreten der Hautsymptomatik.

O Hautsymptomatik: Beginn, Dauer

Lokalisation:

O Andere Symptome:

O Therapie (Antibiotikum):

Dosierung:

Dauer (von ... bis):

4 O Arthritis (Lyme-Arthritis):

O Zeckenstich Tage/Wochen* vor Auftreten der Gelenk-symptomatik.

O Erythema migrans: wann
wo.

O Betroffene(s) Gelenk(e):

Gelenksymptomatik: Beginn, Dauer

O Andere Symptome:

O Therapie (Antibiotikum):

Dosierung:

Dauer (von ... bis):

5a O Lymphozytäre Meningoradiculitis Bannwarth oder

5b O Meningoencephalitis:

O Zeckenstich Tage/ Wochen* vor Auftreten der neurologi-schen Symptomatik. Lokalisation:

O Erythema migrans Tage/ Wochen* vor Auftreten der neu-
rologischen Symptomatik.

O Schmerzsyndrom, Lokalisation:

O Facialisparese: links rechts

O Weitere Symptome:

O Liquorbefund: Zellen Eiweiß

Autochtone Immunglobuline: IgG IgM oligoklonale Banden

O Therapie (Antibiotikum):

Dosierung:

Dauer (von ... bis):

.....

Unterschrift/ Telefonnummer

Reagenzien für die Kultivierung	
Reagenz	Bezugsquelle
Phosphatgepufferte Salzlösung (PBS)	Firma Roth, Artikelnummer 1058.1
0,9% NaCl	Firma Fresenius Kabi GmbH
Aqua dest.	PZN 6178414, Firma Fresenius Kabi GmbH
Abs. Ethanol	Firma Roth, Artikelnummer 5054.3
Antibiotika-Plättchen	Firma Thermo Fisher, Oxoid™, Artikelnummer:
Sulfamethoxazol (RL 25)	CT0051B
Fosfomycin (FF 200)	CT0107B
Amikacin (Ak 30)	CT0183B

Tabelle 7.1: Reagenzien für die Kultivierung

Arbeitsgeräte zur Kultivierung
Sterilwerkbank
Zentrifuge mindestens 12.000 UpM (4 g)
Dunkelfeldmikroskop
Kulturröhrchen mit Schraubkappen
Objektträger 76 x 26 mm
Deckgläser 24 x 60 mm
Gläserne Pasteurpipetten
Transferpipette 3,5 ml
Scheren
Pinzetten
Petrischalen
Steril-Filter 0,22 µm
Steril-Filterspitzen 0,45 µm
10-Milliliter-Spritze
Brutschrank 33 °C +/- 2 °C
Einmalhandschuhe, puderfrei
Kühlschrank 4 °C +/- 2 °C

Tabelle 7.2: Arbeitsgeräte für die Kultivierung

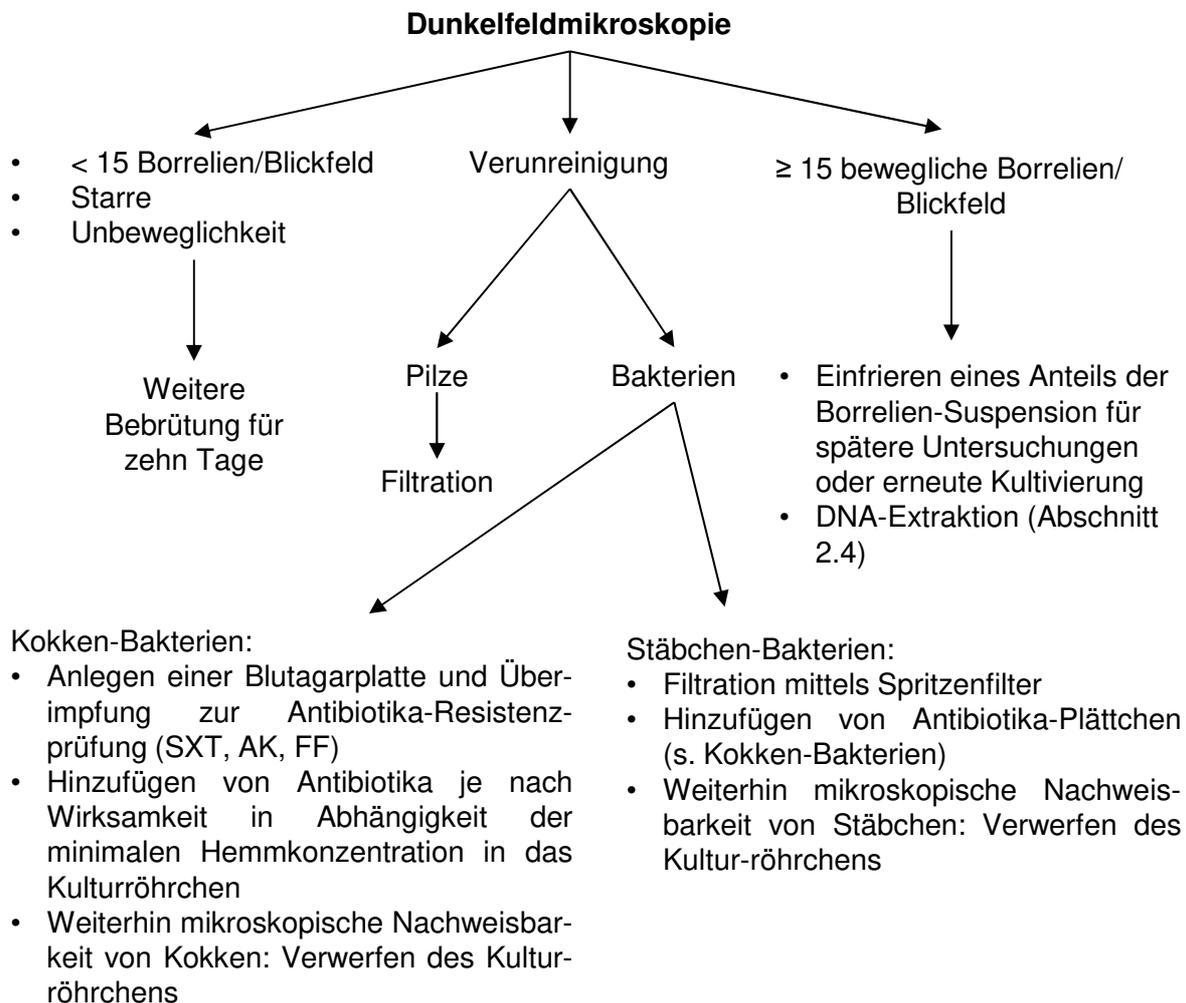


Abbildung 7.1: Algorithmus nach Ergebnis der Dunkelfeld-Mikroskopie

Arbeits-schritt	Reagenz-volumen (µl)	Reagenz	Methodik
1a	200	Borrelien-Suspension	Zentrifugation (3.000 x g, 5 min)
1b	200	PBS	Vermischung

Tabelle 7.3: DNA-Extraktion Schritt 1 – Bakterien-Extraktion

Arbeits-schritt	Reagenz-volumen (µl)	Reagenz	Methodik
2a	5	Lysozym (10 mg/ml in 10 mM TrisHCl)	Vermischung, Inkubation (37 °C, 15 min)
2b	200 40	Binding Puffer Proteinase K	Vermischung, Inkubation (70 °C, 10 min)
2c	100	Isopropanol	Vermischung
2d	-	-	Umpipettierung in eine kombinierte High Filter Tube und Collection Tube, Zentrifugation (8.000 x g, 1 min)
2e	500	Inhibitor Removal Buffer	Vermischung, Zentrifugation (8.000 x g, 1 min)
2f	500	Wash Buffer	Vermischung, Zentrifugation (8.000 x g, 1 min)
2g	Wiederholung von Schritt 2f		
2h	-		Zentrifugation (14.000 UpM, 10 sec)

Tabelle 7.4: DNA-Extraktion Schritt 2 – DNA-Extraktion

Die Einheit des Zentrifugationsvorgangs ließ sich mit Hilfe des G-force Rotations Per Minute (GRPM)-Rechners von EndMemo.com© auch in Umdrehungen pro Minute angeben (endmemo 2016). Die Radiusangabe bezog sich auf den 1,5-Milliliter-Tubes-Rotor und wurde bei der Firma Eppendorf erfragt.

Arbeits-schritt	Reagenz-volumen (µl)	Reagenz	Methodik
3a	200	Elution Buffer (72 °C)	Mikrozentrifugen-Röhrchen: Befestigung der Filter Tube aus 2h und Vermischung
3b	-	-	Vermischung und Zentrifugation (8.000 x g, 1 min)

Tabelle 7.5: DNA-Extraktion Schritt 3 – DNA-Elution



Abbildung 7.2: High Filter und Collection Tube

Links ist eine High Filter- und recht eine Collection Tube zu sehen. Quelle: Eigene Fotografie.

Stamm	Verdünnung	DNA [ng/μl]	Anmerkung	Stamm	Verdünnung	DNA [ng/μl]	Anmerkung
PBael	-	-	sequenziert	PMel		*	
PBaell	1:9	57,73	-	PMit	1:2	13,26	-
PBar	-	-	sequenziert	PMoel	-	2,24	-
PBe	1:10	64,43	-	PMüe	1:7	36,04	-
PBes	-	2,96	-	PMun	-	4,49	-
PBet	1:2	11,73	-	PNeb	-	-	sequenziert
PBi	-	-	sequenziert	PNel	-	22:04	-
PBN	-	-	sequenziert	PNi	-	-	sequenziert
PBol	1:12	74,06	-	PNov	-	2,02	-
PBr	1:2	11,45	-	POb	-	-	sequenziert
PBu	1:2	11,14	-	POhm	1:19	98,81	-
PCoo	1:3	17,67	-	PRa	1:3	15,46	-
PEi	1:11	69,51	-	PRab			sequenziert
PFCa	1:5	24,62	-	PRas	1:17	78,33	-
PFe	1:9	48,21	-	PRef	1:8	40,15	-
PFei	-	-	sequenziert	PRef	-	-	sequenziert
PFiM	-	5,26	-	PSae	-	5,61	-
PFin	-	-	sequenziert	PScf	-	-	sequenziert
PFlk	-	-	sequenziert	PScp	-	8,87	-

PFo	-	-	sequenziert	PSeS	1:3	17,84	-
PFr	1:4	20,35	-	PSh	-	-	sequenziert
PFu	1:8	41,72	-	PShb	1:4	22,44	-
PHaf	1:10	61,84	-	PShm	-	5,62	-
PHC	1:8	39,45	-	PSigl	-	6,16	-
PHe	1:8	40,82	-	PSma	1:4	21,27	-
PHei	-	2,54	-	PSoR	1:8	44,34	-
PHerl	-	8,22	-	PStg	-	6,11	-
PHez	-	3,92	-	PSth	1:2	10,76	-
PHoe	-	-	sequenziert	PTrob	-	-	sequenziert
PKi	1:7	34,78	-	PUh	-	9,2	-
PKru	1:3	14,47	-	PUI	1:4	23,71	-
PLa	-	5,41	-	PVo	1:9	49,55	-
PLad	1:2	10,27	-	PWa	1:2	12,39	-
PLeh	-	6,89	-	PWat	1:2	9,77	-
PLep	-	2,05	-	PWest	1:3	14,33	-
PLi	1:2	12,70	-	PWin	-	-	sequenziert
PMa	1:6	34,52	-	PWudII	1:2	12,27	-
PMag	1:12	63,38	-	PZwi	-	-	sequenziert
PMch	-	-	sequenziert	IP90	1:6	30,18	
PMe	-	6,59	-	20047	3:4	*	
PMek	-	4,15	-	(*) bereits in Voruntersuchungen verdünnt			

Tabelle 7.6: NanoDrop-Verdünnung

Anmerkung „sequenziert“ bedeutet, dass die Stämme bereits in einer früheren Untersuchung von Dr. rer. nat G. Margos sequenziert worden sind, sodass diese im Rahmen dieser Arbeit nicht erneut sequenziert und dem entsprechend auch nicht die DNA-Konzentration gemessen wurde. Eine DNA-Zielkonzentration von 5 ng/µl wurden mit der Verdünnung angestrebt (Abschnitt 2.6).

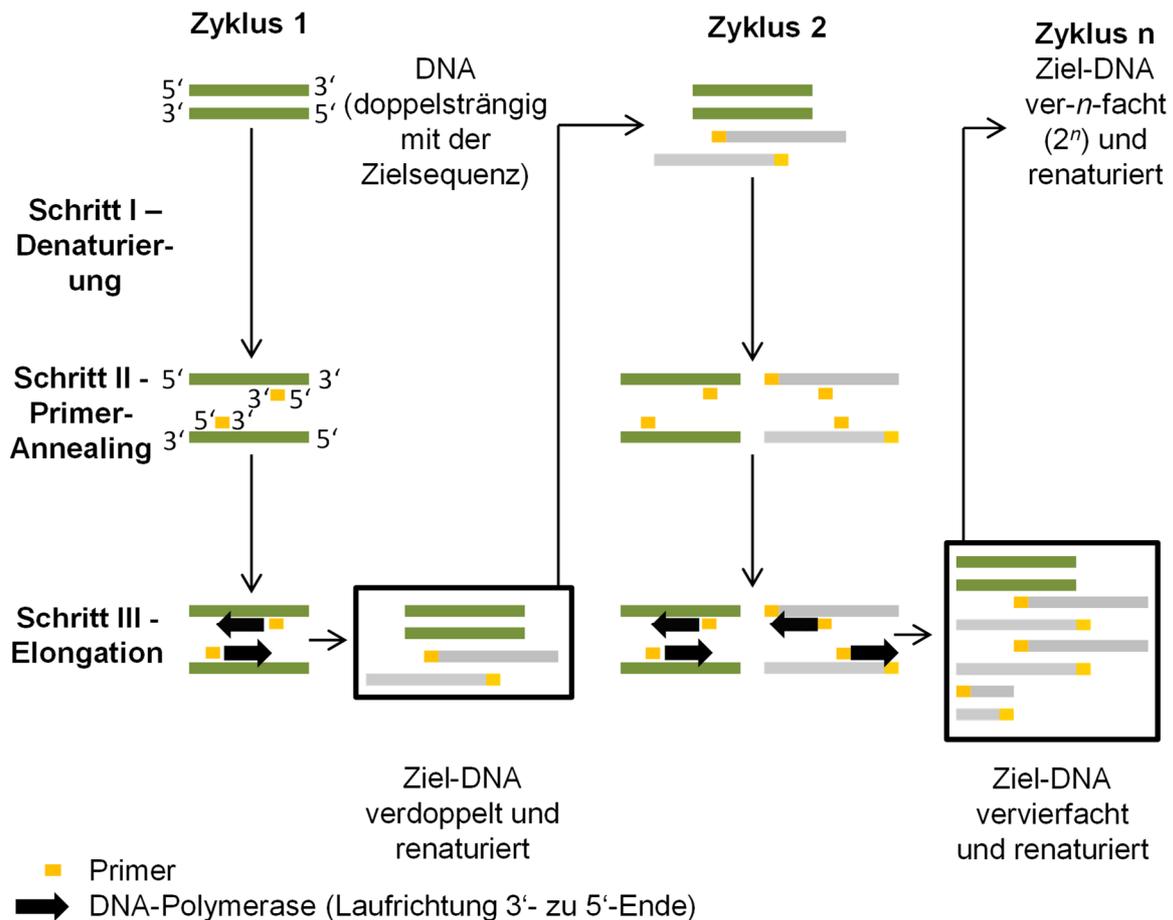


Abbildung 7.3: Polymerase-Kettenreaktion

In Anlehnung an Hof und Dörries 2009. Ein PCR-Zyklus besteht aus drei sich wiederholenden Schritten: (I) Denaturierung: Die Wasserstoffbrückenbindungen der doppelsträngigen DNA werden durch Erhitzen gespalten. Die DNA liegt folglich in Form von zwei gegenläufigen Einzelsträngen vor. Durch eine rasche Abkühlung wird eine erneute Doppelhelix-Bildung vermieden. (II) Primer-Annealing („Primer-Anlagerung“): Durch die Temperatursenkung wird das Primer-Annealing initiiert. Die Annealing-Temperatur bezeichnet die Temperatur, bei welcher die Primer sich an die komplementären Stellen der DNA anlagern. Bei den Primern handelt es sich um DNA-Oligonukleotide, welche komplementär zu dem flankierenden Bereich der gewünschten Sequenz sind. (III) Elongation: Mithilfe einer Polymerase und der im vorherigen Schritt angelagerten Primer wird jeweils ein komplementärer Basenstrang ergänzt. Die Laufrichtung der DNA-Polymerase ist vom 3'- zum 5'-Ende. Anmerkung: Die Länge der amplifizierten PCR-Produkte stimmt nicht genau mit der Länge der Ziel-DNA-Sequenz überein: Durch die Primer und die Laufrichtung des Enzyms ist eine Seite des neuen DNA-Strangs begrenzt, doch befindet sich auf der Template-DNA meist kein Stopp-Codon, sodass die DNA-Polymerase den komplementären Strang solange verlängert, bis die Temperatur sich für den nächsten Zyklus ändert oder keine Nukleobasen mehr im Reaktionsansatz vorhanden sind.

Reagenzien der PCR

PCR HotStarTaq Master Mix (Firma Qiagen, Artnr. 203445)

Forward-Outer-Primer (Firma Metabion)

Reverse-Outer-Primer (Firma Metabion)

Wasser, DNase-frei und destilliert

Tabelle 7.7: Reagenzien der PCR

Arbeitsgeräte der PCR

Sterilwerkbank

Vortex-Labormischer

Variable Kolbenhubpipetten und passende sterile Filterspitzen

Multipipette

Einmalhandschuhe, puderfrei

Eppendorf-Röhrchen, Volumen je nach Ansatz z.B. 1,5 ml

Alufolie

PCR-Cycler

Zentrifuge

96-Well-Platte oder Einzeltubes

Tabelle 7.8: Arbeitsgeräte der PCR

Gen	Genprodukt	Primer	Primer- Bezeichnung	Primer (5' -> 3')	Primer- länge	Amplifikat- länge (bp)	Fragmentlänge MLST (bp)
clpA	Clp Protease SU A	Outer Forward	clpAF1237	AAAGATAGATTTCTTCCAGAC	21	981	579
		Outer Reverse	clpAR2218	GAATTCATCTATTAAGCTTTC	24		
clpX	Clp Protease SU C	Outer Forward	clpXF391	GCTGCAGAGATGAATGTGCC	20	859	624
		Outer Reverse	clpXR1273	GATTGATTCATATAACTCTTTTG	24		
nifS	Aminotransferase	Forward	nifF1	ATGGATTTCAAACAAATAAAAAG	23	1027	564
		Outer Reverse	nifSR1049	GATATTATTGAATTTCTTTTAAG	23		
pepX	Dipeptidylaminopeptidase	Outer Forward	pepXF362	ACAGAGACTTAAGCTTAGCAG	21	791	570
		Outer Reverse	pepXR1172	GTTCCAATGTCAATAGTTTC	20		
pyrG	CTP-Synthase	Outer Forward	pyrF391	GATTGCAAGTTCTGAGAATA	20	799	603
		Outer Reverse	pyrR1190	CAAACATTACGAGCAAATTC	20		
recG	DNA-Rekombinase	Outer Forward	recF917	CCCTTGTTGCCTTGCTTTC	19	804	651
		Outer Reverse	recR1694	GAAAGTCCAAAACGCTCAG	19		
rplB	50S ribosomales Protein L2	Outer Forward	rplF2	TGGGTATTAAGACTTATAAGC	21	741	624
		Reverse	rplR760	GCTGTCCCCAAGGAGACA	18		
uvrA	Exonuklease ABC, SU A	Outer Forward	uvrF1408	GAAATTTTAAAGGAAATTAAGTAG	26	891	570
		Outer Reverse	uvrR2318	CAAGGAACAAAACATCTGG	20		

Tabelle 7.9: Übersicht der verwendeten MLST-PCR-Primer der acht Housekeeping-Gene

Arbeitsgeräte der PCR
Sterilwerkbank
Vortex-Labormischer
Variable Kolbenhubpipetten und passende sterile Filterspitzen
Multipipette
Einmalhandschuhe, puderfrei
Eppendorf-Röhrchen, Volumen je nach Ansatz z.B. 1,5 ml
Alufolie
PCR-Cycler
Zentrifuge
96-Well-Platte oder Einzeltubes

Tabelle 7.10: Arbeitsgeräte für die Herstellung des Agarose-Elektrophoresegels

Reagenzien für die Herstellung des Agarose-Elektrophoresegels
TBE (TRIS-Borat-EDTA)-Puffer, verdünnt mit destilliertem und autoklaviertem Wasser im Verhältnis 1:9 (Firma Carl Roth GmbH und Co. KG, Artikelnummer 3061-1)
Agarose Gel LE Agarose (Firma Biozym Scientific GmbH, Artikelnummer 840004)
Gel Red Nucleic Acid Stain (Firma Biotium, Artikelnummer 41003)
DNA Orange Loading Dye (Firma Thermo Fischer, Artikelnummer R0631)
OGeneRuler 50 bp DNA Ladder (Firma Thermo Fischer, Artikelnummer SM0372)

Tabelle 7.11: Reagenzien für die Herstellung des Agarose-Elektrophoresegels

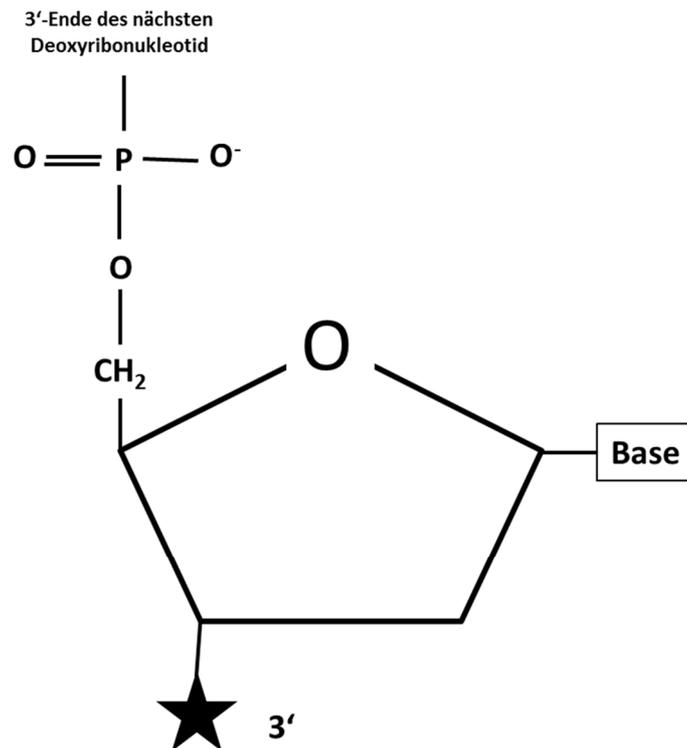


Abbildung 7.4: Dideoxynucleosidtriphosphat

Stammname	<i>clpA</i>	<i>clpX</i>	<i>nifS</i>	<i>pepX</i>	<i>pyrG</i>	<i>recG</i>	<i>rplB</i>	<i>uvrA</i>	ST
PBe	99	77	81	91	88	84	82	33	245
PBes	95	74	34	96	89	78	77	85	251
PBet	42	27	29	38	29	36	27	33	86
PBol	42	27	29	38	29	36	27	33	86
PBr	48	34	34	44	37	42	33	39	244
PBu	112	80	78	99	81	39	79	87	246
PCoo	40	25	26	159	27	34	25	31	573
PFe	48	34	34	44	37	42	33	39	244
PFiM	42	27	29	38	29	36	27	160	574
PFr	48	34	34	44	37	42	33	39	244

PFu	42	27	29	38	29	39	27	33	87
PHC	42	27	29	38	29	36	27	33	86
PHe	42	27	29	38	29	36	27	33	86
PHei	112	80	78	99	81	39	79	87	246
PHez	42	27	29	38	29	36	27	33	86
PKi	99	77	81	91	88	84	82	33	245
PLa	99	77	81	91	88	84	82	33	245
PLi	112	80	78	99	81	39	79	87	246
PMa	42	27	29	38	29	39	27	33	87
PMag	185	147	134	160	34	170	144	161	575
PMe	112	80	78	99	81	39	79	87	246
PMek	186	34	34	44	37	42	33	39	576
PMit	42	27	29	92	29	36	27	33	177
PMoel	48	34	34	44	37	42	33	39	244
PNel	42	27	29	38	29	36	27	82	173
PNov	43	28	30	90	87	36	28	34	180
POhm	42	27	29	38	29	36	27	33	86
PRa	187	27	29	38	29	36	27	33	577
PRas	95	74	34	96	89	78	77	85	251
PRef	95	74	34	96	89	78	77	154	482
PSae	42	27	29	38	29	36	27	33	86
PScp	112	80	78	99	81	39	79	87	246
PSeS	42	27	29	38	29	36	27	33	86
PShm	95	74	34	96	89	78	77	85	251
PSma	48	34	34	44	37	42	33	39	244
PSoR	42	27	29	38	29	36	27	33	86
PStg	43	28	30	90	82	36	28	34	179
PSth	48	34	34	44	37	42	33	39	244
PUh	42	27	29	38	29	39	27	33	87
PUI	112	80	78	96	81	39	145	33	578
PWest	48	34	34	44	37	42	33	39	244
20047	40	25	26	36	27	34	25	31	82
IP90	143	49	104	129	27	126	45	110	373

a) *B. garinii* (n = 43)

Stammname	<i>clpA</i>	<i>clpX</i>	<i>nifS</i>	<i>pepX</i>	<i>pyrG</i>	<i>recG</i>	<i>rplB</i>	<i>uvrA</i>	ST
PBael	41	26	27	37	28	35	26	32	84
PBaell	41	26	27	37	28	35	26	32	84
PBar	41	26	27	37	28	35	26	32	84
PBi	41	26	27	37	28	35	26	32	84
PBN	41	26	27	37	28	35	26	32	84
PEi	41	26	27	37	28	35	26	32	84
PFei	41	26	27	37	28	35	26	32	84
PFin	41	26	27	37	28	35	26	32	84
PFlk	41	26	27	37	28	35	26	32	84
PFo	41	26	27	37	28	35	26	32	84
PHerl	41	26	27	37	28	35	26	32	84
PHoe	41	26	27	37	28	35	26	32	84
PLad	41	26	27	37	28	35	26	32	84
PLeh	41	26	27	37	28	35	26	32	84
PLep	41	26	28	37	28	35	26	32	85
PMch	41	26	27	37	28	35	26	32	84
PMüe	41	26	27	37	28	35	26	32	84
PMun	41	26	27	37	28	35	26	32	84
PNeb	41	26	27	37	28	35	26	32	84
PNi	41	26	27	37	28	35	26	32	84
POb	41	26	28	37	28	35	26	32	85
PRab	41	26	27	37	28	35	26	32	84
PRof	41	26	27	37	28	35	26	32	84
PScf	41	26	27	37	28	35	26	32	84
PSh	41	26	27	37	28	35	26	32	84
PSigl	41	26	27	37	28	35	26	32	84
PTrob	41	26	28	37	28	35	26	32	85
PVo	41	26	27	37	28	35	26	32	84
PWa	41	26	27	37	28	35	26	32	84
PWat	41	26	27	37	28	35	26	32	84
PWin	41	26	27	37	28	35	26	32	84
PZwi	41	26	28	37	28	35	26	32	85

b) *B. bavariensis* (n = 32)

Stammname	<i>clpA</i>	<i>clpX</i>	<i>nifS</i>	<i>pepX</i>	<i>pyrG</i>	<i>recG</i>	<i>rplB</i>	<i>uvrA</i>	ST
PKru	36	24	23	89	96	27	23	28	561
PMel	36	24	23	29	20	28	23	29	71
PShb	109	24	24	86	117	96	23	29	579

c) *B. afzelii* (n = 3)

Stammname	<i>clpA</i>	<i>clpX</i>	<i>nifS</i>	<i>pepX</i>	<i>pyrG</i>	<i>recG</i>	<i>rplB</i>	<i>uvrA</i>	ST
PFCa	MS	-							
PHaf	40	25	MS	36	27	34	25	31	-
PWudII	MS	27	29	38	29	39	27	33	-

d) Mischsequenzen (n = 3)

Tabelle 7.12: Übersicht der sequenzierten Stämme

Die Tabellen 7.12 a - c zeigen die AT und ST der sequenzierten Proben der Spezies *B. garinii*, *B. bavariensis* und *B. afzelii*. Die Stämme 20047 und IP90 sind in Tabelle 7.10 a abgetrennt, da es sich bei diesen um die aus Zecken isolierten Proben handelt. Eingerahmt sind die neuen AT (n = 12) und ST (n = 7). In 7.12 d sind drei Mischsequenzen abgebildet (Abschnitt 2.10.2).

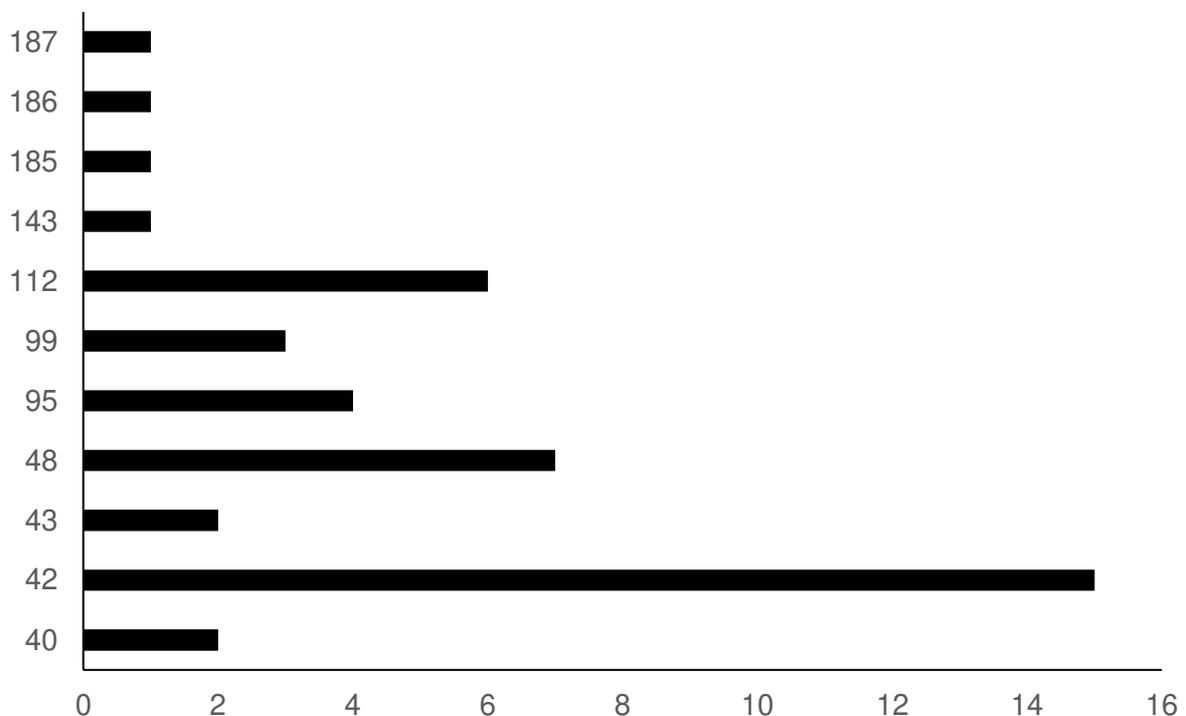


Abbildung 7.5: Absolute Häufigkeiten der Alleltypen von Gen *clpA*

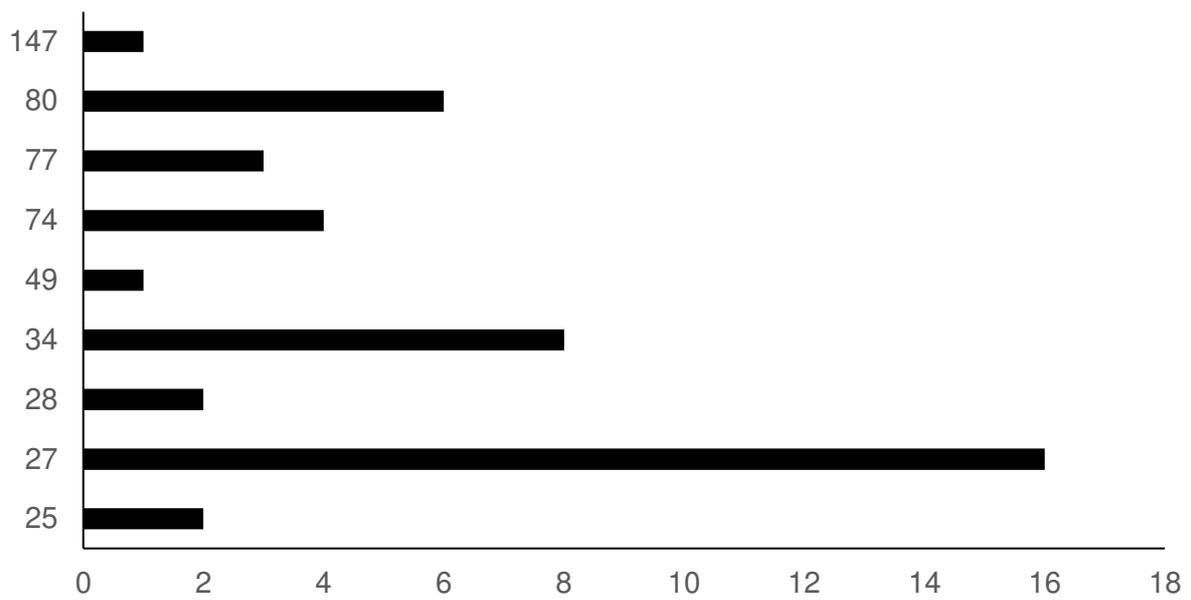


Abbildung 7.6: Absolute Häufigkeiten der Alleltypen von Gen *clpX*

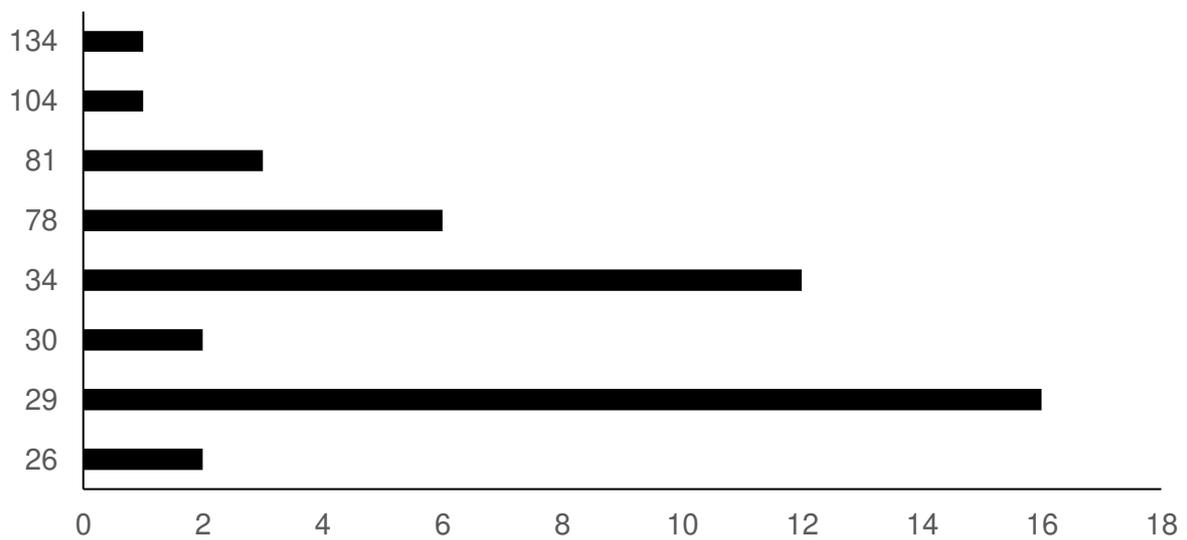


Abbildung 7.7: Absolute Häufigkeiten der Alleltypen von Gen *nifS*

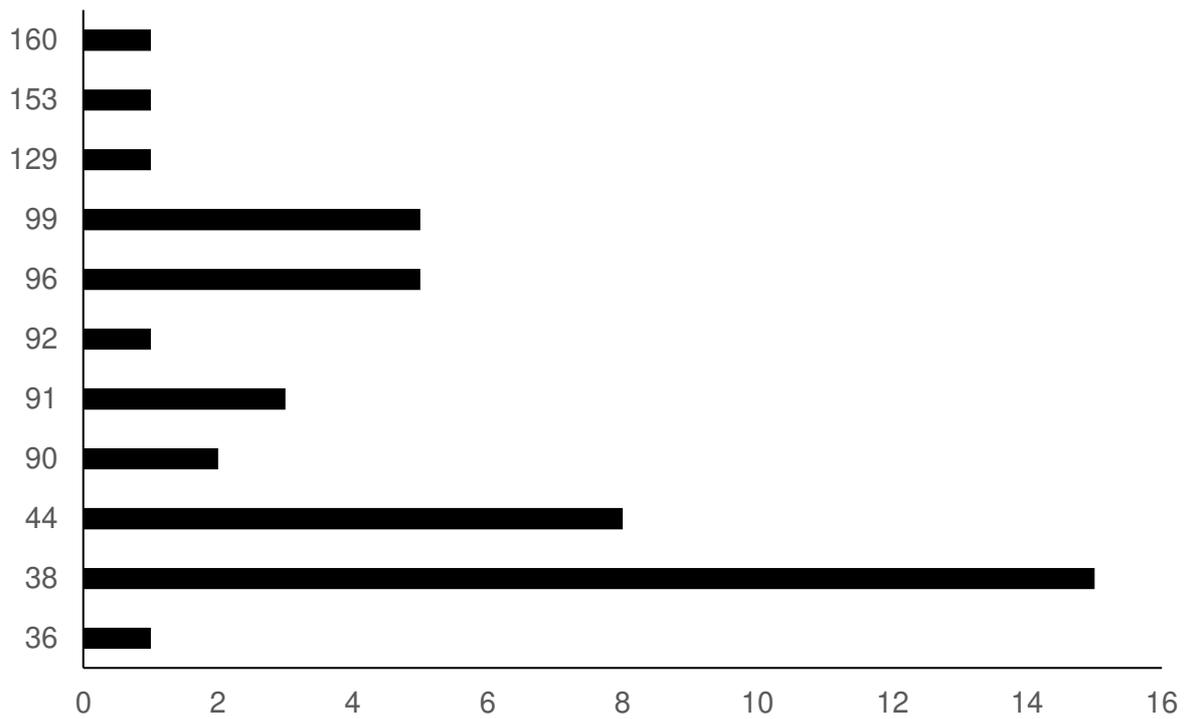


Abbildung 7.8: Absolute Häufigkeiten der Alleltypen von Gen *pepX*

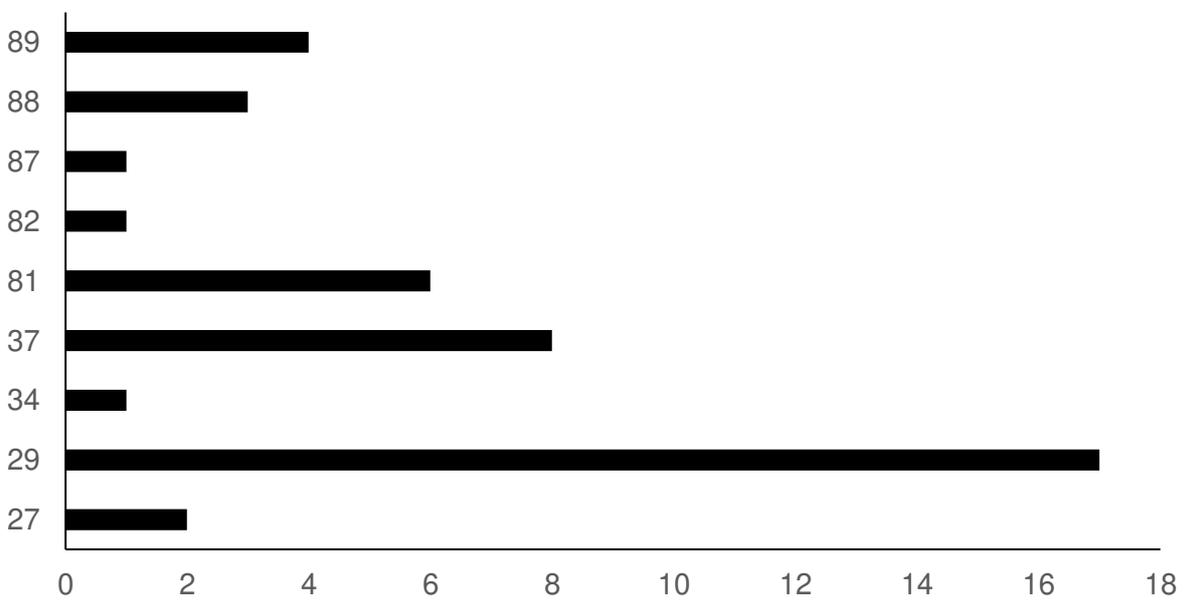


Abbildung 7.9: Absolute Häufigkeiten der Alleltypen von Gen *pyrG*

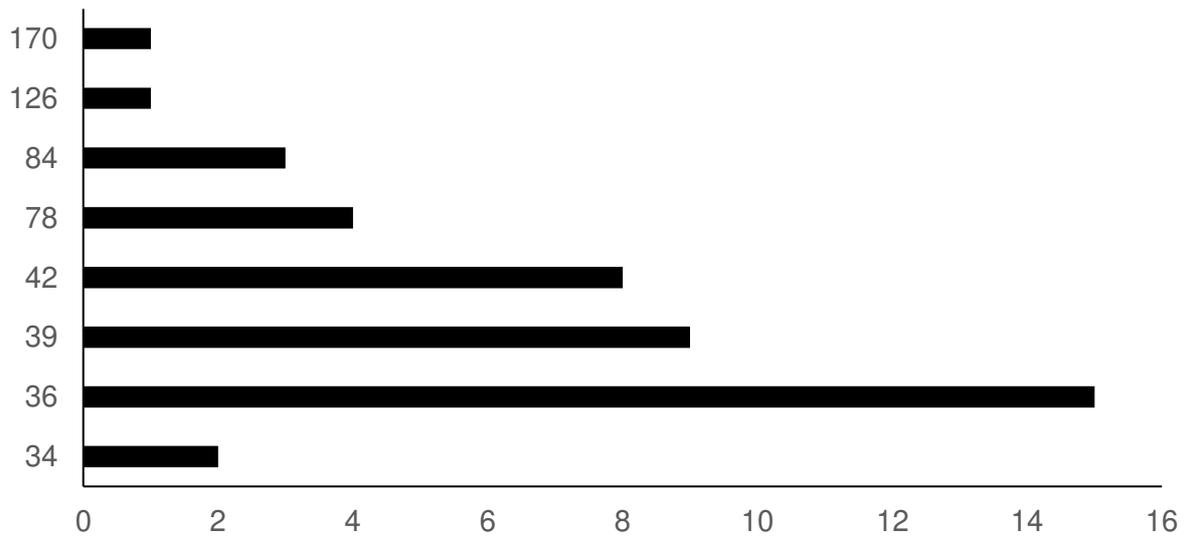


Abbildung 7.10: Absolute Häufigkeiten der Alleltypen von Gen *recG*

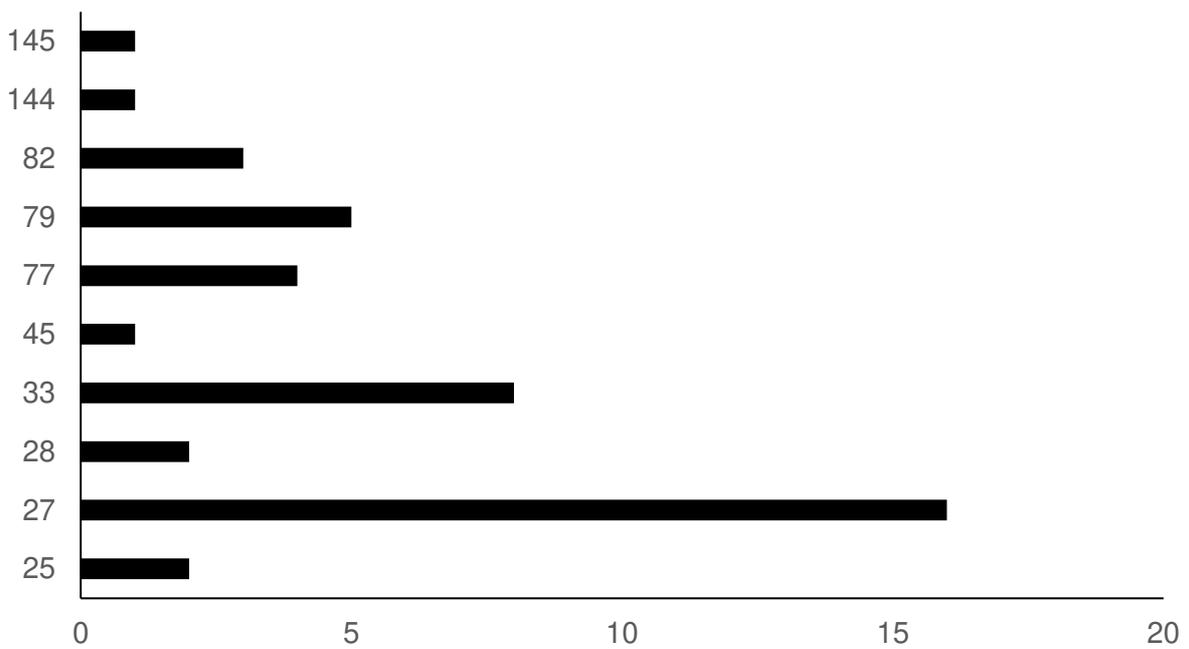


Abbildung 7.11: Absolute Häufigkeiten der Alleltypen von Gen *rplB*

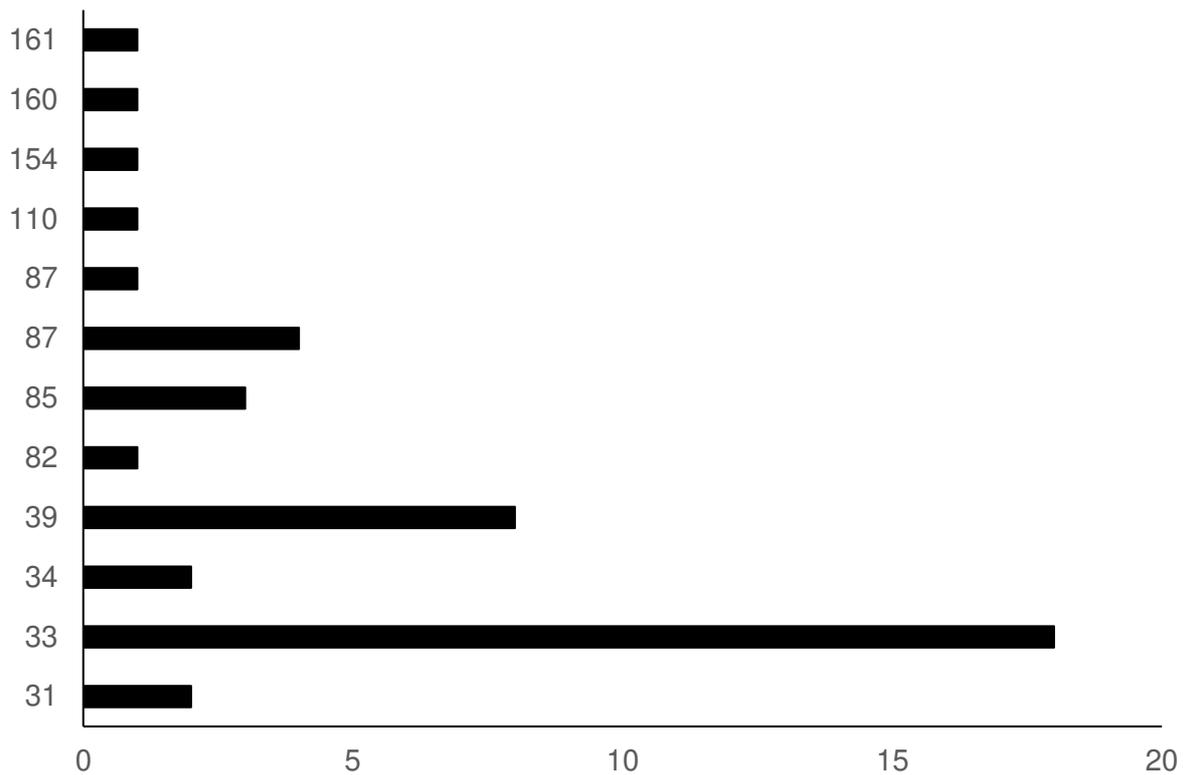


Abbildung 7.12: Absolute Häufigkeiten der Alleltypen von Gen *uvrA*

Neue Alleltypen:

***clpA*, Allel 185 (PMag):** AAAAAAGAACTTATTATACATGATAGTTTAATATTTGATTT-
 GATACTAAATATAAACTATTAATAATTTACTTGCCAATAGAAGTACTATTGGCATA-
 TTTGCCTTTATTGGTCCTTCTGGAGCGGGAAAATGCAAATTGACGGATATTTTATCA-
 GAAGAGCTTGGAATTCAAAATTTAGTCTTAATATGGGCGAGTATAGCGATTTTAATT-
 CTCTTGATAGATTGATTGGGCCTGTTTTAAGTAATGAAGGGTATTATGAATCTACTAG-
 ATTTTTTAATTTTTTAAACAAATCTTCTAATTCTATTATTTTTCTATCAGATTTTGATAAAT-
 GTAACAAAAGGGTTTTAGATTTTTTTTTGGGAAGGATTTAAAACAGGTAAGCTTTTTGAT-
 GGTCTTGGGAAAAGGTAAGTTTATCAGAAAGTTTAATAGTAATAAGTATTAATGCT-
 GAGGGCAATGAACTTAATAGTATTGGCTTTAAAACAAAATGACAGGGGAAAATGATTT-
 TGATCTTatattagagaagagattcctaataatgatttttagagtaataagattatgttcttttatt

***clpA*, Allel 186 (PMek):**

AAAAAAGAACTTATTATACATGATAGTTTAATATTTGATTTGATACTAAATA-
TAAAGCTATTAAAATTTAATTTACTTGCCAACAGAAGTACTATTGGCATATTTGCCTT-
TATTGGTCCTTCTAGAGCGGGAAAATGCAAATTGACGGATATTTTATCAGAAGAGCTTG-
GAATTCAAAATTTAGTCTTAATATGGGCGAGTATAGTGATTTTAATTCTCTTGATAG-
ATTGATTGGACCTGTTTTAAGTAATGAAGGGTATTATGAATCTACTAGATTTTTTAATTT-
CTTAAACAAATCTTCTAATTCTATTATTTTTCTATCAGATTTTGATAAATG-
TAACAAAAGGGTTTTAGATTTTTTTTTGGAAGGATTTAAAACAGGCAAACCTTTTTGAT-
GGTCTTGGGAAAAGGCAAGTTTATCAGAAAGTTTAATAGTAATAAGTGTTAATGCT-
GAGAGCAACGAGCTTAATAGTATTGGCTTTAAAACAAAATGACAGGGGAAAATGATTT-
TAATCTTATATTAGAGAAGAGATTTCTAATGAATTTTTAGAGTTAATAGATTATGTTCTT-
TTATTT

***clpA*, Allel 187 (PRa):**

AAAAAAGAACTTATTATACATGATAGTTTAATATTTGATTTGATACTAAATA-
TAAAGCTATTAAAATTTAATTTACTTGCCAACAGAAGTACTATTGGCATATTTGCCTT-
TATTGGTCCTTCTGGAGCGGGAAAATGCAAATTGACGGATATCTTATCAGAAGAGCTT-
GGAATTCAAAATTTAGTCTTAATATGGGCGAGTATAGTGATTTTAATTCTCTTGATAG-
ATTGATTGGACCTGTTTTAAGTAATGAAGGGTATTATGAATCTACTAGATTTTTTAATTTT-
TTAAACAAATCTTCTAATTCTATTATTTTTCTATCAGATTTTGATAAATG-
TAACAAAAGGGTTTTAGATTTTTTTTTGGAAGGATTTAAAACAGGCAAGCTTTTTGAT-
GGTCTTGGGAAAAGGTAAGTTTATCAGAAAGTTTAATAGTAATAAGTATTAATGCT-
GAGGGCAATGAGCTTAATAGTATTGGCTTTAAAATAAAAATGACAGGGGAAAATGATTT-
TAATCTTATATTAGAGAAGAGATTTCTAATGAATTTTTAGAGTTAATAGATTAGGTTCTT-
TTATTT

***clpX*, Allel 147 (PMag):**

GCTGGATATGTTGGTGAAGATGTAGAAAATATTTTGCTTAAATTAATACATGCTGCTCA-
TGGGGATGTTAGTCTAGCTGAGAAAGGGATTATTTATATAGACGAAATAGATAAAATT-
GCTAAAAAAAATGAAAACGTTTCAATAACAAGAGATGTTTCTGGAGAAGGGGTTCA-
GCAGGCTTTGTTAAAGATCATTGAGGGTACTATTGCTAATGTTCTCCAAGAGGTGG-
TAGAAAGCATCCTTATGAGGATACTATTGAAATTAATACTCAAATATACTCTTTATAT-
GTGGTGGTGCTTTTGTTGGGCTTGAAAATATTGTTAAGAATCGAATAAACAAAAGTT-
CTATTGGGTTTTGAGCAATTGAAAAAAGAATATAAGAGAGGACACTTCATTAAAGTATT-
TAGAAATGGAAGATTTGATTAATTTGGCTTGATACCAGAGTTTGTTGGTAGATT-
GCCTGTACATTCGTATCTTGAAAAGTTAAATAAAGAAGATTTGATGAAAATATTAGTT-
GATCCTCAAATTCATTATTAAGCAGTATTATCATATGTTTAAAATGGATAATGTT-
GAATTGGTATTTGAAAAGATGCTTTGGAATCAATTGTAGATGAAGCT

***nifS*, Allel 134 (PMag):**

TTTGATAATAAGCATATAATTTATTTTGACAATGCAGCAACCTCTCA-
AAAGCCTAAAAAAGTAATTTATTCTAGCATTGAATATTATGAAAATTACAACGCAAATG-
TACATAGAAGCGGCCACAAATTTGCAATTCAATCTAGCATAAAAATT-
GAAAAACAAGAGAACTTGTA AAAAATTTT CATT AATGCAGAATCTTTAAAAAATATAATA-
TTTACCTCTGGA ACTACAGATGGAATTAACACCATCGCAAGCTCATT TTT TTTACTCA-
AAATACTTTAAAAAAAAGATGAAATTATTCTTACA ACTCTTGAACATAATAGTAATTT-
GCTGCCATGGGCAAAGCTTGCAA AATTAGCTAATCTAACAATTAAGTTTGCTAAATTCA-
ATGAAATGGGAATTATTACCCCGAAGAAATTGAAAGACTTATTA-
CAGAAAAACAAAGCTTATAAGCATTTCAGGAATAATAATACCTTGGGAACAATGAAT-
GATTTAGAATCTATTGGGAAAATCGCAAAAAAATATAATATAAGTCTTTTTGTAGAT-
GCTGCACAAATGGCG

***pepX*, Allel 160 (PMag):**

TACAATACTCACGACAATTTAACAGTAATAAATAGCACTAAAAACAATAAAAGATAA-
TATCTTAGAACAACTTGAATAGAATATGAAAATTTTCTATCTTGTGATCTAATATTCA-
CAGAATCACAACCTTCTAAAATAATAGGAACTGAAGGAGAATTTT-
TAGCCTCTAAAAATCTTGATAACAAATCGGGATGCCATGCAATCATGAACTCTTATA-
TCCACACAAACAATAATAAAAATAAAATAGCTGTATTTTTTGATAACGAAGAAGTAG-
GATCTTTAACCTCAAGAGGAGCTGATTCCAATTTTTTATCAGAAGTTTTAG-
AAAGAATCGATCTTGCTCTTA ACTTAACCAGAGAAGAGCATT-
TAATAAAAACAAACAAATCATTTAATATATCTATTGATAGCGTTCACGGCATTTCATCCAG-
GATATGCATCTAACATGATCCAACTATCAAGCGACTCTAAGTAAAGGTGTAGTTG-
TAAAAAATAGCGCaaatttcagatacgcAACAACTTCAACAGGATTT-
GCAAAATTA AAAAATTTGGCTATTTAAaataatatt

***recG*, Allel 170 (PMag):**

GCTCGTCAACATTATGATAATCTATCCAACATATTGTCTTCTTTAACATTTTCAGT-
GACTCTTTTGACAGGTAGTTTGAAAAGAAGGATAAAGAACAAGCATTAGAAAG-
TATTA AAAATGGAGTTTCTGGTTAATAGTTGGAACACATTCTATTTTTTACGAAAG-
TACAGAATTTAAAAGATTAGCATATGTTATTATTGACGAACAGCATAAATTTG-
GAGTGGTTCAAAGAGAAAAGTTTAAAAACAAAGGAGAAGGGGTAGACATACTTTTAAT-
GTCTGCAACACCTATTCCTAGAAGCTTTGCGCTAACACTTTTTGGTGATCTTGAAGTCT-
CACTTATTA AACCTTACCCAAGGGCCGTTTACCTATTACTACTTATTTAGCAAAACAT-
GGCAATGAAGATAAAGTTTATGATTTTTTAAGAAAAGAGCTCTTAAAGGGTCATCA-
GGTTTATTTTGT TATCCATTAATTTTCATCTTCAGAAAAATT-
CGAATTA AAAAGACGTTAATAATATGTATTTAAAATTGAAGGAAGTGT TTAGCGAATAT-

GTTGTAGACATGCTTCATTCTAAGTTGCCATCTGATTTAAAAGAAGAAATTAT-
GAAGAATTTTTATTCTAAAAAGGTAGATATTTTGGTGGCTACtagt

***rplB*, Allel 144 (PMag):**

ggtaatgatcctttgaAATCTTTAACAAAAGGTAAAAAGTTGAAATCGGGCAGAGATTCTT-
CTGGTAGGATTAGTATTAGAAGAAGAGGTGGTGGGCATAAGAGAAAATATAGGTT-
GATTGATTTTAATCGAAGAGATAAATTTAGCATTCTGCTCGAGTTGCTTCTATTGAATA-
TGATCCTAATAGAAGTGCTAATATAGCTTTGCTTGTATAAAGATGGAGAAAAAAGG-
TATATTATTTCTCCTAAAGGGATTAAGGTTGGAGATGTTTTGGAAAGTGGTCCGAAT-
GCCCCAATTAATAATTGGCAATGCCTTACCCCTTGAAAACATTCTATTGGAAG-
GACTATTCATAATATTGAGCTTAATGTAGGAAGGGGTGGACAGCTTG-
TAAGAAGTGCTGGGGGATATGCCATGATACTTGCTTCTGATGGGAATTATGTCACTG-
TAAAATTGTCATCTGGTGAGATGAGGTTAATTTTCAAAAAATGTATTGCAACAATTGGT-
GAAATTGGGAATGAAGATTATGCCAATGTTTCTATAGGGAAGGCCGGTAAAAGTAGAT-
GGCTTGGTAGAAGACCTAAAGTTAGAGGTGTTGCTATGAATCCTGTTGACCATCCGCAT

***rplB*, Allel 145 (PUI):**

ggtaatgatcctttaaaatctttaACAAAAGGTAAAAAGTTGAAATCGGGCAGAGATTCTT-
CTGGTAGGATTAGTATTAGAAGAAGAGGTGGTGGGCATAAGAGAAAATATAGGTT-
GATTGATTTTAATCGAAGAGATAAATTTAGCATTCTGCTCGAGTTGCTTCTATTGAATA-
TGATCCTAATAGAAGTGCTAATATAGCTTTGCTTGTATAAAGATGGAGAAAAAAGG-
TATATTATTTCTCCTAAAGGGATTAAGGTTGGAGATGTTTTGGAAAGTGGTCCGAAT-
GCCCCAATTAATAATTGGCAATGCCTTACCCCTTGAAAACATTCTATTGGAAG-
GACTATTCACAATATCGAGCTTAATGTAGGAAGGGGCGGACAGCTTG-
TAAGAAGTGCTGGGGGATATGCCATGATACTTGCTTCTGATGGGAATTATGTCACTG-
TAAAATTGTCATCTGGTGAAATGAGGTTAATTTTCAAAAAATGTATTGCAACAATTGGT-
GAAATTGGGAATGAAGATTATGCCAATGTTTCTATAGGGAAGGCCGGTAAAAG-
TAGGTGGCTTGGTAGAAGACCTAAAGTTAGAGGTGTTGCTATGAATCCTGTTGACCA-
TCCGCAT

***uvrA*, Allel 160 (PFiM):** TCGGGCAGTCTATCTGGAGGCGAGGCTCAGCGTATTAGGCTT-
GCTACTCAAATAGGATCAGCACTTTCAGGCGTTATTTATGTTCTTGATGAGCCAAG-
TATTGGTCTTCATCAAAGAGATAACGAAAAATTAATCTCTACTCTT-
GTAAATCTTAAAAATCTTGGCAATACTGTAATTGTTGTTGAGCACGATGAGCAAACCTTT-
GCGTACTGCAGACTATATTATTGATATGGGTCCTGGTGCTGGAATTCTTGGGG-
GAGAAATAGTCGCAAAGGGAGCCTTAATTGATATTTTAAATAGCAAAAATAGTT-
TAACTGGTCAATATTTGAGCGGCAAGTTTAAATAGATGTTCCAAGCTCTAG-
AAGAAAAACAGATAAGGGAGAAATTTTGCTTT-

TAGGCTCCAATAAAAACAATCTTAAAAATATAGATGTAAGTATCCCTTTGGGAGTTTTTA-
 CTGTAATAACAGGTGTTTCTGGTAGTGGAAAAAGTACTTTGCTTAACGAAGTGTATA-
 TCCAGCTCTTGATAGCAGATTAAGCTTAATGAAAAGTATTGTGATGGGTTTAAAGAC

***uvrA*, Allel 160 (PMag):**

TCGGGCAGTCTGTCTGGGGGCGAGGCTCAGCGTATTAGGCTTGCTACTCAAATAG-
 GATCAGCACTTTCAGGCGTTATTTATGTTCTTGATGAGCCAAGTATTGGTCTTCATCA-
 AAGAGATAACGAAAAATTAATCTCTACTCTTGTTAATCTTAAAAATCTTGGAATACTG-
 TAATTGTTGTTGAGCACGATGAGCAAACCTTTGCGTACTGCAGACTATATTATTGATAT-
 GGGTCCTGGTGCTGGAATTCTTGGGGGAGAAATAGTCGCAAAGGGAGCCTTAATTGA-
 TATTTTAAATAGCAAAAATAGTTTAACTGGTCAATATTTGAGCGGCAAGTTTAAATAG-
 ATGTTCCAAGCTCTAGAAGAAAAACAGATAAGGGAGAAATTTTGCTTT-
 TAGGCTCCAATAAAAACAATCTTAAAAATATAGATGTAAGTATCCCTTTAGGAGTTTTTA-
 CTGTAATAACAGGTGTTTCTGGCAGTGGAAAAAGTACTTTGCTTAACGAAGTGTATA-
 TCCAGCTCTTGATAGCAGATTAAGCTTAATGAAAAGTATTGTGATGGGTTTaaagac

Stamm	ST	Basenanteil (%)			
		T	C	A	G
PBaell	84	32,9	12,5	35,9	18,6
PBar	84	32,9	12,5	35,9	18,6
PBe	245	32,8	12,6	36,1	18,5
PBes	251	32,7	12,7	36	18,6
PBet	86	32,7	12,7	36	18,6
PBi	84	32,9	12,5	35,9	18,6
PBN	84	32,9	12,5	35,9	18,6
PBoI	86	32,7	12,7	36	18,6
PBr	244	32,7	12,7	35,9	18,6
PBu	246	32,7	12,7	35,9	18,7
PCoo	573	32,7	12,7	36,1	18,5
PEi	84	32,9	12,5	35,9	18,6
PFe	244	32,7	12,7	35,9	18,6
PFei	84	32,9	12,5	35,9	18,6
PFiM	574	32,7	12,7	36	18,6

PFin	84	32,9	12,5	35,9	18,6
PFlk	84	32,9	12,5	35,9	18,6
PFo	84	32,9	12,5	35,9	18,6
PFr	244	32,7	12,7	35,9	18,6
PFu	87	32,7	12,7	35,9	18,7
PHC	86	32,7	12,7	36	18,6
PHe	86	32,7	12,7	36	18,6
PHei	246	32,7	12,7	35,9	18,7
PHerl	84	32,9	12,5	35,9	18,6
PHez	86	32,7	12,7	36	18,6
PHoe	84	32,9	12,5	35,9	18,6
PKi	245	32,8	12,6	36,1	18,5
PLa	245	32,8	12,6	36,1	18,5
PLad	84	32,9	12,5	35,9	18,6
PLeh	84	32,9	12,5	35,9	18,6
PLep	85	32,9	12,5	35,9	18,6
PLi	246	32,7	12,7	35,9	18,7
PMa	87	32,7	12,7	35,9	18,7
PMag	575	32,7	12,6	36,1	18,6
PMch	84	32,9	12,5	35,9	18,6
PMe	246	32,7	12,7	35,9	18,7
PMek	576	32,7	12,7	36	18,6
PMit	177	32,7	12,7	36	18,6
PMoel	244	32,7	12,7	35,9	18,6
PMüe	84	32,9	12,5	35,9	18,6
PMun	84	32,9	12,5	35,9	18,6
PNeb	84	32,9	12,5	35,9	18,6
PNel	173	32,7	12,7	36	18,6
PNi	84	32,9	12,5	35,9	18,6
PNov	180	32,7	12,7	35,9	18,7
POhm	86	32,7	12,7	36	18,6
POb	85	32,9	12,5	35,9	18,6
PRa	577	32,7	12,7	36	18,6
PRab	84	32,9	12,5	35,9	18,6
PRas	251	32,7	12,7	36	18,6
PRef	482	32,6	12,7	36	18,6
PRof	84	32,9	12,5	35,9	18,6

PSae	86	32,7	12,7	36	18,6
PScf	84	32,9	12,5	35,9	18,6
PScp	246	32,7	12,7	35,9	18,7
PSeS	86	32,7	12,7	36	18,6
PSh	84	32,9	12,5	35,9	18,6
PShm	251	32,7	12,7	36	18,6
PSigl	84	32,9	12,5	35,9	18,6
PSma	244	32,7	12,7	35,9	18,6
PSoR	86	32,7	12,7	36	18,6
PStg	179	32,7	12,7	36	18,7
PSth	244	32,7	12,7	35,9	18,6
PTrob	85	32,9	12,5	35,9	18,6
PUh	87	32,7	12,7	35,9	18,7
PUI	578	32,7	12,7	35,9	18,7
PVo	84	32,9	12,5	35,9	18,6
PWa	84	32,9	12,5	35,9	18,6
PWat	84	32,9	12,5	35,9	18,6
PWest	244	32,7	12,7	35,9	18,6
PWin	84	32,9	12,5	35,9	18,6
PZwi	85	32,9	12,5	35,9	18,6
Durchschnitt	-	32,8	12,6	35,9	18,6

Tabelle 7.13: Nukleotidegehalt

ST	Profile Data								Isolate Data
	clpA	clpX	nifS	pepX	pyrG	recG	rplB	uvrA	Spezies
82	40	25	26	36	27	34	25	31	<i>B. garinii</i>
84	41	26	27	37	28	35	26	32	<i>B. bavariensis</i>
84	41	26	27	37	28	35	26	32	<i>B. bavariensis</i>
84	41	26	27	37	28	35	26	32	<i>B. bavariensis</i>
84	41	26	27	37	28	35	26	32	<i>B. bavariensis</i>
84	41	26	27	37	28	35	26	32	<i>B. bavariensis</i>
84	41	26	27	37	28	35	26	32	<i>B. bavariensis</i>
84	41	26	27	37	28	35	26	32	<i>B. bavariensis</i>
84	41	26	27	37	28	35	26	32	<i>B. bavariensis</i>
84	41	26	27	37	28	35	26	32	<i>B. bavariensis</i>
84	41	26	27	37	28	35	26	32	<i>B. bavariensis</i>

244	48	34	34	44	37	42	33	39	<i>B. garinii</i>
244	48	34	34	44	37	42	33	39	<i>B. garinii</i>
244	48	34	34	44	37	42	33	39	<i>B. garinii</i>
244	48	34	34	44	37	42	33	39	<i>B. garinii</i>
244	48	34	34	44	37	42	33	39	<i>B. garinii</i>
244	48	34	34	44	37	42	33	39	<i>B. garinii</i>
244	48	34	34	44	37	42	33	39	<i>B. garinii</i>
245	99	77	81	91	88	84	82	33	<i>B. garinii</i>
245	99	77	81	91	88	84	82	33	<i>B. garinii</i>
245	99	77	81	91	88	84	82	33	<i>B. garinii</i>
246	112	80	78	99	81	39	79	87	<i>B. garinii</i>
246	112	80	78	99	81	39	79	87	<i>B. garinii</i>
246	112	80	78	99	81	39	79	87	<i>B. garinii</i>
246	112	80	78	99	81	39	79	87	<i>B. garinii</i>
246	112	80	78	99	81	39	79	87	<i>B. garinii</i>
251	95	74	34	96	89	78	77	85	<i>B. garinii</i>
251	95	74	34	96	89	78	77	85	<i>B. garinii</i>
251	95	74	34	96	89	78	77	85	<i>B. garinii</i>
373	143	49	104	129	27	126	45	110	<i>B. garinii</i>
482	95	74	34	96	89	78	77	154	<i>B. garinii</i>
573	40	25	26	159	27	34	25	31	<i>B. garinii</i>
574	42	27	29	38	29	36	27	160	<i>B. garinii</i>
575	185	147	134	160	34	170	144	161	<i>B. garinii</i>
576	186	34	34	44	37	42	33	39	<i>B. garinii</i>
577	187	27	29	38	29	36	27	33	<i>B. garinii</i>
578	112	80	78	96	81	39	145	33	<i>B. garinii</i>

Tabelle 7.14: Profile und Isolate Data

Zugrundeliegende Profile- and Isolate-Daten für Abbildung 3.2 unter Verwendung von PHYLOViZ.

Tabelle 7.6: Pairwise Distance

Tabelle 7.15.1 *B. garinii*, Tabelle 7.15.2 *B. bavariensis*, Tabelle 7.15.3 *B. garinii* und *B. bavariensis*; diese Tabellen finden sich aufgrund der Dateigröße nur im elektronischen Anhang.

Spezies	<i>clpA</i>	<i>clpX</i>	<i>nifS</i>	<i>pepX</i>	<i>pyrG</i>	<i>rplB</i>	<i>recG</i>	<i>uvrA</i>
<i>B. garinii</i> (n = 43)	0,0062056332	0,0042283559	0,0064543614	0,0063811467	0,0060450556	0,0060450556	0,0060450556	0,0065945372
<i>B. bavariensis</i> (n = 31)	0,0000000000	0,0000000000	0,0004010776	0,0000000000	0,0000000000	0,0000000000	0,0000000000	0,0000000000

Tabelle 7.16: Overall Mean Distance der Housekeeping-Gene

Stamm	Spezies	OspA- Sequenz	OspA- RFLP	OspA- Serotyp	MLST- Sequenztyp
PBael	<i>B. bavariensis</i>	4	4	-	84
PBaell	<i>B. bavariensis</i>	4	4	4	84
PBar	<i>B. bavariensis</i>	4	4	-	84
PBe	<i>B. garinii</i>	5/6	5/6	6	245
PBes	<i>B. garinii</i>	7	7	7	251
PBet	<i>B. garinii</i>	6	6	6	86
PBi	<i>B. bavariensis</i>	4	4	4	84
PBN	<i>B. bavariensis</i>	4	4	-	84
PBol	<i>B. garinii</i>	6	6	6	86
PBr	<i>B. garinii</i>	3	3	3	244
PBu	<i>B. garinii</i>	5	5	-	246
PCoo	<i>B. garinii</i>	5	5	-	573
PEi	<i>B. bavariensis</i>	4	4	4	84
PFe	<i>B. garinii</i>	3	3	-	244
PFei	<i>B. bavariensis</i>	4	4	-	84
PFiM	<i>B. garinii</i>	6	6	6	574
PFin	<i>B. bavariensis</i>	4	4	4	84
PFlk	<i>B. bavariensis</i>	4	4	4	84
PFo	<i>B. bavariensis</i>	4	4	-	84
PFr	<i>B. garinii</i>	3	3	4	244
PFu	<i>B. garinii</i>	6	6	6	87
PHC	<i>B. garinii</i>	6	6	6	86
PHe	<i>B. garinii</i>	6	6	6	86
PHei	<i>B. garinii</i>	5	5	5	246
PHerl	<i>B. bavariensis</i>	4	4	-	84
PHez	<i>B. garinii</i>	6	6	6	86
PHoe	<i>B. bavariensis</i>	4	4	4	84
PKi	<i>B. garinii</i>	8	8	8	245
PLa	<i>B. garinii</i>	8	8	8	245
PLad	<i>B. bavariensis</i>	4	4	-	84
PLeh	<i>B. bavariensis</i>	4	4	-	84
PLep	<i>B. bavariensis</i>	4	4	-	85
PLi	<i>B. garinii</i>	5	5	5	246

PMa	<i>B. garinii</i>	6	6	-	87
PMag	<i>B. garinii</i>	X	5	-	575
PMch	<i>B. bavariensis</i>	4	4	-	84
PMe	<i>B. garinii</i>	5	5	-	246
PMek	<i>B. garinii</i>	3	3	3	576
PMit	<i>B. garinii</i>	6	6	-	177
PMoel	<i>B. garinii</i>	3	3	3	244
PMüe	<i>B. bavariensis</i>	4	4	4	84
PMun	<i>B. bavariensis</i>	4	4	-	84
PNeb	<i>B. bavariensis</i>	4	4	-	84
PNel	<i>B. garinii</i>	5	5	-	173
PNi	<i>B. bavariensis</i>	4	4	-	84
PNov	<i>B. garinii</i>	6	6	-	180
POb	<i>B. bavariensis</i>	4	4	6	85
POhm	<i>B. garinii</i>	6	6	-	86
PRa	<i>B. garinii</i>	6	6	-	577
PRab	<i>B. bavariensis</i>	4	4	4	84
PRas	<i>B. garinii</i>	8	8	-	251
PRef	<i>B. garinii</i>	7	7	7	482
PRof	<i>B. bavariensis</i>	4	4	-	84
PSae	<i>B. garinii</i>	6	6	-	86
PScf	<i>B. bavariensis</i>	4	4	4	84
PScp	<i>B. garinii</i>	5	5	-	246
PSeS	<i>B. garinii</i>	6	6	-	86
PSh	<i>B. bavariensis</i>	4	4	4	84
PShm	<i>B. garinii</i>	7	7	-	251
PSigl	<i>B. bavariensis</i>	4	4	-	84
PSma	<i>B. garinii</i>	3/7	3/7	-	244
PSoR	<i>B. garinii</i>	6	6	6	86
PStg	<i>B. garinii</i>	6	6	5	179
PSth	<i>B. garinii</i>	3	3	-	244
PTrob	<i>B. bavariensis</i>	4	4	4	85
PUh	<i>B. garinii</i>	6	6	-	87
PUI	<i>B. garinii</i>	6	6	-	578
PVo	<i>B. bavariensis</i>	4	4	4	84
PWa	<i>B. bavariensis</i>	4	4	4	84

PWat	<i>B. bavariensis</i>	4	4	4	84
PWest	<i>B. garinii</i>	3	3	-	244
PWin	<i>B. bavariensis</i>	4	4	-	84
PZwi	<i>B. bavariensis</i>	4	4	-	85
					n = 73

Tabelle 7.77: OspA-Sequenz und -RFLP

Aufgeführt sind 41 *B. garinii*- und 32 *B. bavariensis*-Isolate, die Isolate aus Zecken (IP90 und 20047) wurden ausgenommen). Der OspA-Serotyp wurde nur in wenigen Fällen bestimmt. Der OspA-Typ ließ sich für PBe und PSma nicht eindeutig bestimmen, die OspA-Sequenz von PMag war wiederholt nicht auswertbar.

Stamm	Spezies	OspA-Sequenz	OspA-RFLP	OspA-Serotyp	MLST-Sequenztyp
PAbe	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	1	1	1	1
PAlI	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	1	1	1	1
PAIt	<i>B. afzelii</i>	2	2	2	71
PArl	<i>B. afzelii</i>	2	2	-	554
PBabu	<i>B. afzelii</i>	2	2	-	71
PBael*	<i>B. bavariensis</i>	4	4	-	84
PBaell*	<i>B. bavariensis</i>	4	4	4	84
PBar*	<i>B. bavariensis</i>	4	4	-	84
PBas	<i>B. afzelii</i>	2	2	-	80
PBe	<i>B. garinii</i>	5/6	5/6	6	245
PBec	<i>B. afzelii</i>	2	2	-	540
PBes*	<i>B. garinii</i>	7	7	7	251
PBet*	<i>B. garinii</i>	6	6	6	86
PBi*	<i>B. bavariensis</i>	4	4	4	84
PBiI	<i>B. afzelii</i>	2	2	-	71
PBN*	<i>B. bavariensis</i>	4	4	-	84
PBo	<i>B. afzelii</i>	2	2	X	458
PBoe	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	1	1	-	1
PBoj	<i>B. afzelii</i>	2	2	X	459
PBol*	<i>B. garinii</i>	6	6	6	86

PBr*	<i>B. garinii</i>	3	3	3	244
PBra	<i>B. afzelii</i>	2	2	-	460
PBre	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	1	1	1	20
PBu*	<i>B. garinii</i>	5	5	-	246
PBuh	<i>B. afzelii</i>	2	2	-	71
PCoo*	<i>B. garinii</i>	5	5	-	573
PDe	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	1	1	-	1
PDeg	<i>B. afzelii</i>	2	2	-	461
PDoe	<i>B. afzelii</i>	2	2	2	471
PDri	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	1	1	-	24
PDrp	<i>B. afzelii</i>	2	2	-	463
PEi*	<i>B. bavariensis</i>	4	4	4	84
PFe*	<i>B. garinii</i>	3	3	-	244
PFei*	<i>B. bavariensis</i>	4	4	-	84
PFes	<i>B. afzelii</i>	2	2	-	462
PFi I	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	1	1	2	284
PFic	<i>B. afzelii</i>	2	2	-	477
PFiM*	<i>B. garinii</i>	6	6	6	574
PFin*	<i>B. bavariensis</i>	4	4	4	84
PFlk*	<i>B. bavariensis</i>	4	4	4	84
PFo*	<i>B. bavariensis</i>	4	4	-	84
PFoe	<i>B. afzelii</i>	2	2	-	75
PFr*	<i>B. garinii</i>	3	3	4	244
PFra	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	1	1	1	20
PFri	<i>B. afzelii</i>	2	2	-	335
PFu*	<i>B. garinii</i>	6	6	6	87
PGa	<i>B. afzelii</i>	2	2	-	462
PGeb	<i>B. bissettae</i>	-	6	1	667
PGI	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	1	1	1	21
PHa	<i>B. afzelii</i>	2	2	2	71
PHac	<i>B. afzelii</i>	2	2	-	347
PHak	<i>B. afzelii</i>	2	2	-	347
PHam	<i>B. afzelii</i>	2	2	-	71
PHas	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	1	1	1	1
PHC*	<i>B. garinii</i>	6	6	6	86
PHe*	<i>B. garinii</i>	6	6	6	86

PHei*	<i>B. garinii</i>	5	5	5	246
PHer I*	<i>B. bavariensis</i>	4	4	-	84
PHez*	<i>B. garinii</i>	6	6	6	86
PHo	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	1	1	-	1
PHoe*	<i>B. bavariensis</i>	4	4	4	84
PHub	<i>B. afzelii</i>	2	2	-	463
PJa	<i>B. afzelii</i>	2	2	-	353
PJe	<i>B. afzelii</i>	2	2	-	458
PKa I	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	1	1	1	1
PKa II	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	1	1	1	1
PKau	<i>B. afzelii</i>	2	2	-	464
PKe	<i>B. afzelii</i>	2	2	2	80
PKer	<i>B. afzelii</i>	2	2	-	458
PKi*	<i>B. garinii</i>	8	8	8	245
PKie	<i>B. garinii</i>	2	2	-	86
PKk	<i>B. afzelii</i>	2	2	-	171
PKl	<i>B. afzelii</i>	2	2	2	71
PKla	<i>B. afzelii</i>	2	2	-	465
PKIF I	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	1	1	-	24
PKIF II	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	1	1	-	24
PKli	<i>B. afzelii</i>	2	2	-	72
PKno	<i>B. afzelii</i>	2	2	-	466
PKo	<i>B. afzelii</i>	2	2	2	71
PKr	<i>B. afzelii</i>	2	2	2	437
PKra	<i>B. afzelii</i>	2	2	-	335
PKru	<i>B. afzelii</i>	5	5	-	561
PKu	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	1	1	1	20
PKuf	<i>B. garinii</i>	1	1	7	251
PKuk	<i>B. afzelii</i>	2	2	-	71
PLa*	<i>B. garinii</i>	8	8	8	245
PLad*	<i>B. bavariensis</i>	4	4	-	84
PLam	<i>B. afzelii</i>	2	2	-	465
PLan	<i>B. afzelii</i>	2	2	-	348
PLap	<i>B. afzelii</i>	2	2	X	71
PLeh*	<i>B. bavariensis</i>	4	4	-	84
PLen	<i>B. afzelii</i>	2	2	-	467

PLep*	<i>B. bavariensis</i>	4	4	-	85
PLi*	<i>B. garinii</i>	5	5	5	246
PLud	<i>B. afzelii</i>	2	2	2	463
PLue	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	1	1	-	3
PMa*	<i>B. garinii</i>	6	6	-	87
PMag*	<i>B. garinii</i>	X	5	-	575
PMar	<i>B. afzelii</i>	2	2	2	468
PMay	<i>B. afzelii</i>	2	2	2	472
PMch*	<i>B. bavariensis</i>	4	4	-	84
PMe*	<i>B. garinii</i>	5	5	-	246
PMeh	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	1	1	1	20
PMek*	<i>B. garinii</i>	3	3	3	576
PMel	<i>B. afzelii</i>	4	4	X	71
PMer	<i>B. afzelii</i>	2	2	2	462
PMes	<i>B. afzelii</i>	2	2	-	462
PMey	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	1	1	1	20
PMi	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	1	1	X	20
PMik	<i>B. afzelii</i>	2	2	-	469
PMit*	<i>B. garinii</i>	6	6	-	177
PMo	<i>B. afzelii</i>	2	2	3	71
PMoe I*	<i>B. garinii</i>	3	3	3	244
PMom	<i>B. afzelii</i>	2	2	-	479
PMu	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	1	1	1	1
PMuc I	<i>B. afzelii</i>	2	2	-	75
PMüe*	<i>B. bavariensis</i>	4	4	4	84
PMul	<i>B. afzelii</i>	2	2	-	347
PMun*	<i>B. bavariensis</i>	4	4	-	84
PMup	<i>B. afzelii</i>	2	2	-	71
PNad	<i>B. afzelii</i>	2	2	-	470
PNeb*	<i>B. bavariensis</i>	4	4	-	84
PNel*	<i>B. garinii</i>	5	5	-	173
PNi*	<i>B. bavariensis</i>	4	4	-	84
PNov*	<i>B. garinii</i>	6	6	-	180
POb*	<i>B. bavariensis</i>	4	4	6	85
PObf	<i>B. afzelii</i>	2	2	-	71
POhm*	<i>B. garinii</i>	6	6	-	86

PRa*	<i>B. garinii</i>	6	6	-	577
PRab*	<i>B. bavariensis</i>	4	4	4	84
PRas*	<i>B. garinii</i>	8	8	-	251
Pre	<i>B. afzelii</i>	2	2	-	473
PRec	<i>B. afzelii</i>	2	2	-	335
PRef*	<i>B. garinii</i>	7	7	7	482
PRof*	<i>B. bavariensis</i>	4	4	-	84
PSae*	<i>B. garinii</i>	6	6	-	86
PScf*	<i>B. bavariensis</i>	4	4	4	84
PSch	<i>B. afzelii</i>	2	2	-	477
PScp*	<i>B. garinii</i>	5	5	-	246
PSE	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	1	1	1	20
PSeS*	<i>B. garinii</i>	6	6	-	86
PSH*	<i>B. bavariensis</i>	4	4	4	84
PSHa	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	1	1	-	1
PShb	<i>B. afzelii</i>	4	4	-	579
PSHl	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	1	1	6	1
PShm*	<i>B. garinii</i>	7	7	-	251
PSig I*	<i>B. bavariensis</i>	4	4	-	84
PSma	<i>B. garinii</i>	3/7	3/7	-	244
PSoR*	<i>B. garinii</i>	6	6	6	86
PSp	<i>B. afzelii</i>	2	2	2	462
PSpe	<i>B. afzelii</i>	2	2	2	462
PSpm	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	1	1	1	20
PSst	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	1	1	-	20
PStb	<i>B. afzelii</i>	2	2	X	71
PSte	<i>B. afzelii</i>	2	2	-	478
PStg*	<i>B. garinii</i>	6	6	5	179
PSth*	<i>B. garinii</i>	3	3	-	244
PStm	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	1	1	1	20
PSto	<i>B. afzelii</i>	2	2	2	548
PStw	<i>B. afzelii</i>	2	2	2	71
PTa	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	1	1	1	1
PTHa	<i>B. afzelii</i>	2	2	-	474
PTie	<i>B. afzelii</i>	2	2	-	479
PTrob*	<i>B. bavariensis</i>	4	4	4	85

PUh*	<i>B. garinii</i>	6	6	-	87
PUI*	<i>B. garinii</i>	6	6	-	578
PVo*	<i>B. bavariensis</i>	4	4	4	84
PWa*	<i>B. bavariensis</i>	4	4	4	84
PWag	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	1	1	1	1
PWat*	<i>B. bavariensis</i>	4	4	4	84
PWB	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	1	1	-	1
PWbe	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	1	1	-	20
PWee	<i>B. afzelii</i>	2	2	-	458
PWest*	<i>B. garinii</i>	3	3	-	244
PWi	<i>B. afzelii</i>	2	2	-	475
PWil	<i>B. afzelii</i>	2	2	-	349
PWima	<i>B. afzelii</i>	2	2	-	476
PWin*	<i>B. bavariensis</i>	4	4	-	84
PWmi	<i>B. afzelii</i>	2	2	-	72
PWo	<i>B. afzelii</i>	2	2	-	71
PWoh	<i>B. afzelii</i>	2	2	-	463
PWud I	<i>B. afzelii</i>	2	2	2	459
PZel*	<i>B. garinii</i>	1	1	-	82
PZi	<i>B. afzelii</i>	2	2	-	480
PZwi*	<i>B. bavariensis</i>	4	4	-	85
PWes	<i>B. afzelii</i>	2	2	2	71

n = 186

Tabelle 7.18: Isolate Data einschließlich Informationen der MLST-Datenbank

Die Tabelle umfasst 186 Stämme (44 *B. garinii*, 32 *B. bavariensis*, 78 *B. afzelii*, 31 *B. burgdorferi* s. s., 1 *B. bissettiae*) und dient als „Isolate Data“ für Abbildung 3.5. Ausgeschlossen wurden PBe und PSma (beide *B. garinii*, mit ** markiert) aufgrund der nicht eindeutigen OspA-Zuordnung und die Stämme PKie, PKuf und PZel (jeweils *B. garinii*, mit *** markiert) sowie PKru, PMel und PShb (jeweils *B. afzelii*, mit *** markiert) aufgrund von fehlender oder falscher OspA-Zuordnungen, die Verwechslungen nicht ausschließen ließen. In allen Fällen stimmte die OspA-Sequenz und OspA-RFLP überein, für PGeb und PMag lag keine OspA-Sequenz vor. PGeb wurde in Abbildung 3.5 aufgrund seiner MLST-Zuordnung als *B. bissettiae* nicht eingeschlossen. Für 80 Isolate war der OspA-Serotyp bekannt, dieser wich in neun Fällen vom OspA-Sequenz- beziehungsweise dem –RFLP-Typ ab (eingerahmter OspA-Serotyp) und war sechs Fälle (Markierung X) nicht bestimmbar oder auswertbar.

Stamm	Herkunftsort	Latitude	Longitude	Spezies
PBaell	München, Deutschland	48,13513	11,58198	<i>B. bavariensis</i>
PBaell	München, Deutschland	48,13513	11,58198	<i>B. bavariensis</i>
PBar	München, Deutschland	48,13513	11,58198	<i>B. bavariensis</i>
PBe	München, Deutschland	48,13513	11,58198	<i>B. garinii</i>
PBes	Emmering, Deutschland	48,18410	11,27586	<i>B. garinii</i>
PBet	Regensburg, Deutschland	49,01343	12,10162	<i>B. garinii</i>
PBi	Ingolstadt, Deutschland	48,76654	11,42575	<i>B. bavariensis</i>
PBN	Osnabrück, Deutschland	52,27991	8,04718	<i>B. bavariensis</i>
PBoI	Nürnberg, Deutschland	49,45203	11,07675	<i>B. garinii</i>
PBr	Günzburg, Deutschland	48,45284	10,27751	<i>B. garinii</i>
PBu	München, Deutschland	48,13513	11,58198	<i>B. garinii</i>
PCoo	München, Deutschland	48,13513	11,58198	<i>B. garinii</i>
PEi	München, Deutschland	48,13513	11,58198	<i>B. bavariensis</i>
PFe	München, Deutschland	48,13513	11,58198	<i>B. garinii</i>
PFei	München, Deutschland	48,13513	11,58198	<i>B. bavariensis</i>
PFiM	München, Deutschland	48,13513	11,58198	<i>B. garinii</i>
PFin	München, Deutschland	48,13513	11,58198	<i>B. bavariensis</i>
PFlk	München, Deutschland	48,13513	11,58198	<i>B. bavariensis</i>
PFo	München, Deutschland	48,13513	11,58198	<i>B. bavariensis</i>
PFr	München, Deutschland	48,13513	11,58198	<i>B. garinii</i>
PFu	Nürnberg, Deutschland	49,45203	11,07675	<i>B. garinii</i>
PHC	Augsburg, Deutschland	48,37054	10,89779	<i>B. garinii</i>
PHe	München, Deutschland	48,13513	11,58198	<i>B. garinii</i>
PHei	Duderstadt, Deutschland	51,50966	10,25351	<i>B. garinii</i>
PHerl	Bad Homburg, Deutschland	50,22683	8,61816	<i>B. bavariensis</i>
PHez	München, Deutschland	48,13513	11,58198	<i>B. garinii</i>
PHoe	Pasing, Deutschland	48,14049	11,46159	<i>B. bavariensis</i>
PKi	Tübingen, Deutschland	48,52164	9,05764	<i>B. garinii</i>
PLa	Koblenz, Deutschland	50,35694	7,58810	<i>B. garinii</i>
PLad	Münster, Deutschland	51,96066	7,62613	<i>B. bavariensis</i>
PLeh	Gilching, Deutschland	48,10923	11,28997	<i>B. bavariensis</i>
PLep	Ehemaliges Jugoslawien	44,53746	18,67347	<i>B. bavariensis</i>
PLi	Konstein, Deutschland	48,82559	11,07172	<i>B. garinii</i>
PMa	Ehemaliges Jugoslawien	44,53746	18,67347	<i>B. garinii</i>
PMag	Tübingen, Deutschland	48,52164	9,05764	<i>B. garinii</i>

PMch	Garmisch-Partenkirchen, Deutschland	47,49169	11,09550	<i>B. bavariensis</i>
PMe	Düsseldorf, Deutschland	51,22774	6,77346	<i>B. garinii</i>
PMek	Günzburg, Deutschland	48,45284	10,27751	<i>B. garinii</i>
PMit	Nürnberg, Deutschland	49,45203	11,07675	<i>B. garinii</i>
PMoel	Untere Findelstätt, Deutschland	52,19839	8,02507	<i>B. garinii</i>
PMüe	Atlantikküste, Frankreich	46,19504	-1,14258	<i>B. bavariensis</i>
PMun	München, Deutschland	48,13513	11,58198	<i>B. bavariensis</i>
PNeb	München, Deutschland	48,13513	11,58198	<i>B. bavariensis</i>
PNel	München, Deutschland	48,13513	11,58198	<i>B. garinii</i>
PNi	Halle, Deutschland	51,49698	11,96880	<i>B. bavariensis</i>
PNov	Ehemaliges Jugoslawien	44,53746	18,67347	<i>B. garinii</i>
POb	München, Deutschland	48,13513	11,58198	<i>B. bavariensis</i>
POhm	Sulzau, Deutschland	48,44396	8,83775	<i>B. garinii</i>
PRa	Münster, Deutschland	51,96066	7,62613	<i>B. garinii</i>
PRab	Villach, Österreich	46,60856	13,85062	<i>B. bavariensis</i>
PRas	München, Deutschland	48,13513	11,58198	<i>B. garinii</i>
PRef	Günzburg, Deutschland	48,45284	10,27751	<i>B. garinii</i>
PRof	München, Deutschland	48,13513	11,58198	<i>B. bavariensis</i>
PSae	Gauting, Deutschland	48,06968	11,37841	<i>B. garinii</i>
PScf	München, Deutschland	48,13513	11,58198	<i>B. bavariensis</i>
PScp	München, Deutschland	48,13513	11,58198	<i>B. garinii</i>
PSeS	Deggendorf, Deutschland	48,84085	12,95748	<i>B. garinii</i>
PSh	Regensburg, Deutschland	49,01343	12,10162	<i>B. bavariensis</i>
PShm	Moosach, Deutschland	48,03276	11,87614	<i>B. garinii</i>
PSigl	Trudering, Deutschland	48,12577	11,66232	<i>B. bavariensis</i>
PSma	Regensburg, Deutschland	49,01343	12,10162	<i>B. garinii</i>
PSoR	Ebersdorf, Deutschland	50,22084	11,07139	<i>B. garinii</i>
PStg	Nürnberg, Deutschland	49,45203	11,07675	<i>B. garinii</i>
PTrob	Ehemaliges Jugoslawien	44,53746	18,673469	<i>B. bavariensis</i>
PUh	Münster, Deutschland	51,96066	7,62613	<i>B. garinii</i>
PUI	Osnabrück, Deutschland	52,27991	8,04718	<i>B. garinii</i>
PVo	München, Deutschland	48,13513	11,58198	<i>B. bavariensis</i>
PWa	Allach, Deutschland	48,18942	11,46687	<i>B. bavariensis</i>
PWat	München, Deutschland	48,13513	11,58198	<i>B. bavariensis</i>
PWest	Rosenheim, Deutschland	47,85713	12,11810	<i>B. garinii</i>
PWin	Waldtrudering, Deutschland	48,12577	11,66232	<i>B. bavariensis</i>

Tabelle 7.9: Geografischer Ort des Zeckenstiches

Wenn sich der Patient nicht an den Zeckenstich beziehungsweise den Ort erinnern konnte, wurde der Ort des behandelnden Krankenhauses oder Arztes verwendet. Der Längen- und Breitengrad wurde zur besseren Übersichtlichkeit auf fünf Dezimalstellen gerundet. In Tabelle 7.19 sind die Daten zur Erstellung von Abbildung 3.7 enthalten.

Stamm	Spezies	Manifestationszeit		Kutane Symptomatik				Neurologische Symptomatik			LA	Karditis	unbekannt
		früh	spät	EM	LZ	ACA	FP	unb. N.	MBW	Meningitis			
PBaell	<i>B. bavariensis</i>	X	-	X	-	-	-	-	X	-	-	-	-
PBar	<i>B. bavariensis</i>	X	-	X	-	-	-	-	X	-	-	-	-
PBe	<i>B. garinii</i>	X	-	X	-	-	-	-	X	-	-	-	-
PBes	<i>B. garinii</i>	X	-	X	-	-	-	-	-	X	-	-	-
PBet	<i>B. garinii</i>	X	-	-	-	-	-	-	X	-	-	-	-
PBi	<i>B. bavariensis</i>	X	-	-	-	-	-	-	X	X	-	-	-
PBN	<i>B. bavariensis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	X
PBoI	<i>B. garinii</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	X
PBr	<i>B. garinii</i>	X	-	X	-	-	-	X	-	-	-	-	-
PBu	<i>B. garinii</i>	X	-	X	-	-	X	-	X	-	-	-	-
PCoo	<i>B. garinii</i>	X	X	X	-	-	-	-	-	-	X	-	-
PEi	<i>B. bavariensis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	X
PFe	<i>B. garinii</i>	X	-	-	-	-	-	-	X	-	-	-	-
PFei	<i>B. bavariensis</i>	X	-	-	-	-	-	-	X	-	-	-	-
PFiM	<i>B. garinii</i>	X	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PFin	<i>B. bavariensis</i>	X	-	X	-	-	X	-	X	-	-	-	-
PFlk	<i>B. bavariensis</i>	X	-	X	-	-	-	-	X	-	-	-	-
PFo	<i>B. bavariensis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	X
PFr	<i>B. garinii</i>	X	-	-	-	-	X	-	-	-	-	-	-
PFu	<i>B. garinii</i>	X	-	-	-	-	X	-	-	-	-	-	-
PHC	<i>B. garinii</i>	X	-	-	-	-	X	-	-	-	-	-	-
PHe	<i>B. garinii</i>	X	-	X	-	-	-	-	-	-	-	X	-
PHei	<i>B. garinii</i>	X	-	-	-	-	-	-	-	X	-	-	-
PHerl	<i>B. bavariensis</i>	X	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PHez	<i>B. garinii</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	X
PHoe	<i>B. bavariensis</i>	X	-	X	-	-	-	-	X	-	-	-	-

PKi	<i>B. garinii</i>	X	-	X	-	-	-	-	X	-	-	-
PLa	<i>B. garinii</i>	X	-	-	-	-	X	-	-	-	-	-
PLad	<i>B. bavariensis</i>	-	X	-	-	X	-	-	-	-	-	-
PLeh	<i>B. bavariensis</i>	X	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-
PLep	<i>B. bavariensis</i>	X	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-
PLi	<i>B. garinii</i>	X	-	-	X	-	X	-	X	-	-	-
PMa	<i>B. garinii</i>	X	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-
PMag	<i>B. garinii</i>	X	-	-	X	-	-	-	-	-	-	-
PMch	<i>B. bavariensis</i>	X	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-
PMe	<i>B. garinii</i>	X	X	X	-	-	-	-	-	X	-	-
PMek	<i>B. garinii</i>	X	-	-	-	-	-	-	X	-	-	-
PMit	<i>B. garinii</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	X
PMoel	<i>B. garinii</i>	X	-	-	X	-	-	-	-	-	-	-
PMüe/PMuee	<i>B. bavariensis</i>	X	X	X	-	-	-	-	X	-	X	-
PMun	<i>B. bavariensis</i>	X	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-
PNeb	<i>B. bavariensis</i>	X	X	-	-	X	X	-	X	-	-	-
PNel	<i>B. garinii</i>	X	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-
PNi	<i>B. bavariensis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	X
PNov	<i>B. garinii</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	X
POb	<i>B. bavariensis</i>	X	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-
POhm	<i>B. garinii</i>	X	-	-	-	-	-	-	X	-	-	-
PRa	<i>B. garinii</i>	X	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-
PRab	<i>B. bavariensis</i>	-	X	-	-	-	-	-	-	X	-	-
PRas	<i>B. garinii</i>	X	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-
PRef	<i>B. garinii</i>	X	-	-	-	-	X	-	X	-	-	-
PRof	<i>B. bavariensis</i>	-	X	-	-	X	-	-	-	-	-	-
PSae	<i>B. garinii</i>	X	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-
PScf	<i>B. bavariensis</i>	X	-	X	-	-	-	X	-	-	-	-
PScp	<i>B. garinii</i>	-	X	-	-	X	-	-	-	-	-	-

PSeS	<i>B. garinii</i>	X	-	X	-	-	X	-	-	-	-	-	-
PSh	<i>B. bavariensis</i>	X	-	-	-	-	-	X	-	-	-	-	-
PShm	<i>B. garinii</i>	X	-	X	-	-	-	-	X	-	-	-	-
PSigl	<i>B. bavariensis</i>	X	X	X	-	X	-	-	-	-	-	-	-
PSma	<i>B. garinii</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	X
PSoR	<i>B. garinii</i>	X	-	X	-	-	X	-	-	-	-	-	-
PStg	<i>B. garinii</i>	-	X	-	-	-	-	-	-	-	X	-	-
PSth	<i>B. garinii</i>	X	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PTrob	<i>B. bavariensis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	X
PUh	<i>B. garinii</i>	X	-	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-
PUI	<i>B. garinii</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	X
PVo	<i>B. bavariensis</i>	X	-	-	-	-	X	-	X	-	-	-	-
PWa	<i>B. bavariensis</i>	X	-	-	-	-	X	-	X	-	-	-	-
PWat	<i>B. bavariensis</i>	X	-	-	-	-	-	-	X	-	-	-	-
PWest	<i>B. garinii</i>	-	X	-	-	X	-	-	-	-	-	-	-
PWin	<i>B. bavariensis</i>	X	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PZwi	<i>B. bavariensis</i>	-	X	-	-	X	-	-	-	-	-	-	-
gesamt		71	71	70	72	72	72	72	72	72	72	1	72

Tabelle 7.20: Klinische Manifestationen

ST (MLST)	Stamm	Fundland	Fundkontinent	Spezies	Isolationsquelle
86	Np189	Russia	Asia	<i>Borrelia garinii</i>	tick
115	MDH1	China	Asia	<i>Borrelia garinii</i>	tick
117	VH1	China	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
118	VH2	China	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
119	VH3	China	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
120	VH4	China	Asia	<i>Borrelia garinii</i>	tick
122	FiEE11	Japan	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	animal host
122	enkichi 9	China	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
122	VH11	China	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
123	VH18	China	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
124	VH19	China	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
125	enkichi 32	China	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
125	VH20	China	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
125	BgVir	Russia	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
126	VL2	China	Asia	<i>Borrelia garinii</i>	tick
127	J-21	Japan	Asia	<i>Borrelia garinii</i>	human
127	J-38	Japan	Asia	<i>Borrelia garinii</i>	human
127	JL2	China	Asia	<i>Borrelia garinii</i>	tick
127	NP76	Japan	Asia	<i>Borrelia garinii</i>	tick
128	FsAE2	Japan	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	animal host
128	sai6B	Japan	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	animal host
128	Hiratsuka	Japan	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	human
128	J-17	Japan	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	human
128	ALH1	China	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
128	enkichi 22	China	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
128	J1	China	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
128	NMK3	China	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
128	TP	China	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
128	MNG28	Mongolia	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
128	Arh923-2012	Russia	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
128	Krg1090-09	Russia	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
128	Nsk1403-2013	Russia	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
128	Sykt1010-2014	Russia	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
128	Sykt1011-2014	Russia	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
128	Tmn3057-2009	Russia	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
128	Tmn3101-2009	Russia	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
128	Tmsk1207-2013	Russia	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
128	Tmsk1692-2014	Russia	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
128	Tom3506	Russia	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
128	Tom9305	Russia	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
128	Tom9805	Russia	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
129	JLHCH	China	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
130	HQ	China	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
131	HkCR1	Japan	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	animal host

131	HkCR11	Japan	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	animal host
131	HkCR12	Japan	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	animal host
131	HkCR5	Japan	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	animal host
131	HkCR6	Japan	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	animal host
131	meman As 11	Japan	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	animal host
131	Mr 17	Japan	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	animal host
131	J-32	Japan	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	human
131	J-33	Japan	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	human
131	J-34	Japan	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	human
131	J-35	Japan	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	human
131	enkichi 33	China	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
131	JW1	China	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
131	horobetsu 8	Japan	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
131	konnai 17 clone1	Japan	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
131	NT29	Japan	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
131	rebun 8	Japan	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
131	rebun 9	Japan	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
131	MNG15	Mongolia	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
134	MDH2	China	Asia	<i>Borrelia garinii</i>	tick
134	NT31	Japan	Asia	<i>Borrelia garinii</i>	tick
135	MDH3	China	Asia	<i>Borrelia garinii</i>	tick
137	NMK2	China	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
137	Mng4702	Mongolia	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
138	NMK6	China	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
139	NMS2	China	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
140	NMS3	China	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
154	N161	China	Asia	<i>Borrelia garinii</i>	tick
154	N672	China	Asia	<i>Borrelia garinii</i>	tick
154	Ekb1232-2014	Russia	Asia	<i>Borrelia garinii</i>	tick
154	Ekb712-11	Russia	Asia	<i>Borrelia garinii</i>	tick
157	JW3	China	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
244	Ekb950-2014	Russia	Asia	<i>Borrelia garinii</i>	tick
328	CTA4a	China	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	animal host
328	MNG14	Mongolia	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
328	Mng1602	Mongolia	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
328	MNG76	Mongolia	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
328	Ekb19-2012	Russia	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
328	Ekb26-2012	Russia	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
328	Ekb706-2012	Russia	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
328	Ekb9220423-2013	Russia	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
328	Krv743-2012	Russia	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
328	Krv970-2013	Russia	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
328	Nsk1418-2013	Russia	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
328	Sykt1144-2014	Russia	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
328	Tom1406	Russia	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick

328	Tom1506	Russia	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
328	Tom2806	Russia	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
328	Tom3803	Russia	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
328	Tom3806	Russia	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
328	Tom4906	Russia	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
328	Tom5102	Russia	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
328	Tom6506	Russia	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
328	Tom6606	Russia	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
328	Tom6706	Russia	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
328	Tom7005	Russia	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
329	MNG24	Mongolia	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
330	MNG50	Mongolia	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
331	MNG61	Mongolia	Asia	<i>Borrelia garinii</i>	tick
362	J-40	Japan	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	human
362	J-42	Japan	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	human
362	HkIP1	Japan	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
363	HkIP2	Japan	Asia	<i>Borrelia garinii</i>	tick
364	HP1	Japan	Asia	<i>Borrelia garinii</i>	tick
364	Ekb1239-2014	Russia	Asia	<i>Borrelia garinii</i>	tick
364	Ekb42-2012	Russia	Asia	<i>Borrelia garinii</i>	tick
364	Ekb704-11	Russia	Asia	<i>Borrelia garinii</i>	tick
364	Ekb762-2013	Russia	Asia	<i>Borrelia garinii</i>	tick
364	Ekb767-2013	Russia	Asia	<i>Borrelia garinii</i>	tick
365	HP3	Japan	Asia	<i>Borrelia garinii</i>	tick
366	HT18	Japan	Asia	<i>Borrelia garinii</i>	tick
366	Nsk1399-2013	Russia	Asia	<i>Borrelia garinii</i>	tick
367	HT59	Japan	Asia	<i>Borrelia garinii</i>	tick
368	NP4	Japan	Asia	<i>Borrelia garinii</i>	tick
369	NP8	Japan	Asia	<i>Borrelia garinii</i>	tick
370	NP81	Japan	Asia	<i>Borrelia garinii</i>	tick
371	sai7B	Japan	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	animal host
371	sai8E	Japan	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	animal host
371	J-14	Japan	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	human
371	J-18	Japan	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	human
371	FujiP2	Japan	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
371	NT24	Japan	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
372	NT25	Japan	Asia	<i>Borrelia garinii</i>	tick
372	Ekb155-2012	Russia	Asia	<i>Borrelia garinii</i>	tick
372	Ekb774-2013	Russia	Asia	<i>Borrelia garinii</i>	tick
372	Ekb777-2013	Russia	Asia	<i>Borrelia garinii</i>	tick
372	Ekb791-2013	Russia	Asia	<i>Borrelia garinii</i>	tick
372	Ekb795-2013	Russia	Asia	<i>Borrelia garinii</i>	tick
372	Ekb815-2013	Russia	Asia	<i>Borrelia garinii</i>	tick
373	lp-90	Russia	Asia	<i>Borrelia garinii</i>	tick
374	Mp7	Russia	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
374	Prm7569-11	Russia	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick

374	Prm965-2013	Russia	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
374	Tom5306	Russia	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
375	HkCR3	Japan	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	animal host
375	HkCR4	Japan	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	animal host
375	HkCR9	Japan	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	animal host
375	HokkaidoCRB35B	Japan	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	animal host
375	konnai 25	Japan	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
375	sarufutsu 2	Japan	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
375	sarufutsu 3	Japan	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
376	ASF	Japan	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	animal host
376	HkCR7	Japan	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	animal host
376	HokkaidoAS7B	Japan	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	animal host
376	J-41	Japan	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	human
376	horobetsu 5	Japan	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
377	FsAE1	Japan	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	animal host
378	ChYAE2	China	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	animal host
379	CTA1b	China	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	animal host
379	Tom3101	Russia	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
380	CTA5b	China	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	animal host
381	J-15	Japan	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	human
382	J-16	Japan	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	human
383	J-20T	Japan	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
384	J-37	Japan	Asia	<i>Borrelia garinii</i>	human
384	konnai 20	Japan	Asia	<i>Borrelia garinii</i>	tick
385	HH1	Japan	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	human
386	N346	Japan	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
387	J-39	Japan	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	human
387	kaminae lp 1	Japan	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
417	enkichi 30	China	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
417	enkichi 31	China	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
420	konnai 1	Japan	Asia	<i>Borrelia garinii</i>	tick
420	konnai 10	Japan	Asia	<i>Borrelia garinii</i>	tick
420	konnai 2	Japan	Asia	<i>Borrelia garinii</i>	tick
423	konnai 14	Japan	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
425	takamine As 5	Japan	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	animal host
427	rebun 20	Japan	Asia	<i>Borrelia garinii</i>	tick
428	konnai 15 clone5	Japan	Asia	<i>Borrelia garinii</i>	tick
429	konnai 26	Japan	Asia	<i>Borrelia garinii</i>	tick
431	Ekb140-2012	Russia	Asia	<i>Borrelia garinii</i>	tick
431	Ekb1458-2014	Russia	Asia	<i>Borrelia garinii</i>	tick
431	Ekb701-11	Russia	Asia	<i>Borrelia garinii</i>	tick
431	Ekb706-11	Russia	Asia	<i>Borrelia garinii</i>	tick
431	Ekb709-11	Russia	Asia	<i>Borrelia garinii</i>	tick
431	Ekb721-2013	Russia	Asia	<i>Borrelia garinii</i>	tick
431	Tmsk981-2013	Russia	Asia	<i>Borrelia garinii</i>	tick
431	Tom1206	Russia	Asia	<i>Borrelia garinii</i>	tick

431	Tom203	Russia	Asia	<i>Borrelia garinii</i>	tick
431	Tom303	Russia	Asia	<i>Borrelia garinii</i>	tick
431	Tom9405	Russia	Asia	<i>Borrelia garinii</i>	tick
433	Prm7564-11	Russia	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
436	Alt756-11	Russia	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
436	Krv750-11	Russia	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
436	Tmn3131-2009	Russia	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
436	Tmn3144-2009	Russia	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
440	Alt763-11	Russia	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
441	Ekb166-10	Russia	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
594	Arh913-2012	Russia	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
596	Ekb1421-2014	Russia	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
597	Ekb151-2012	Russia	Asia	<i>Borrelia garinii</i>	tick
598	Ekb169-2012	Russia	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
600	Ekb776-2013	Russia	Asia	<i>Borrelia garinii</i>	tick
601	Ekb779-2013	Russia	Asia	<i>Borrelia garinii</i>	tick
602	Ekb783-2013	Russia	Asia	<i>Borrelia garinii</i>	tick
605	Nsk1400-2013	Russia	Asia	<i>Borrelia garinii</i>	tick
610	Tmsk1109-2013	Russia	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
611	Tmsk1125-2013	Russia	Asia	<i>Borrelia garinii</i>	tick
611	Tmsk1974-2014	Russia	Asia	<i>Borrelia garinii</i>	tick
612	Tmsk1128-2013	Russia	Asia	<i>Borrelia garinii</i>	tick
612	Tmsk1192-2013	Russia	Asia	<i>Borrelia garinii</i>	tick
613	Tmsk1130-2013	Russia	Asia	<i>Borrelia garinii</i>	tick
613	Tmsk1190-2013	Russia	Asia	<i>Borrelia garinii</i>	tick
613	Tom3005	Russia	Asia	<i>Borrelia garinii</i>	tick
613	Tom9105	Russia	Asia	<i>Borrelia garinii</i>	tick
614	Tmsk1187-2013	Russia	Asia	<i>Borrelia garinii</i>	tick
615	Tmsk1188-2013	Russia	Asia	<i>Borrelia garinii</i>	tick
616	Tmsk1189-2013	Russia	Asia	<i>Borrelia garinii</i>	tick
617	Tmsk1193-2013	Russia	Asia	<i>Borrelia garinii</i>	tick
618	Tmsk1218-2013	Russia	Asia	<i>Borrelia garinii</i>	tick
618	Tmsk1810-2014	Russia	Asia	<i>Borrelia garinii</i>	tick
618	Tmsk979-2013	Russia	Asia	<i>Borrelia garinii</i>	tick
619	Tmsk1233-2013	Russia	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
620	Tmsk1253-2013	Russia	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
621	Tmsk1576-2014	Russia	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
622	Tmsk1613-2014	Russia	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
623	Tmsk2148-2014	Russia	Asia	<i>Borrelia garinii</i>	tick
660	Tom1003	Russia	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
660	Tom5906	Russia	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
661	Tom4606	Russia	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
662	Tom5007	Russia	Asia	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
663	Tom5202	Russia	Asia	<i>Borrelia garinii</i>	tick
664	Tom2903	Russia	Asia	<i>Borrelia garinii</i>	tick
665	Tom1805	Russia	Asia	<i>Borrelia garinii</i>	tick

665	Tom7105	Russia	Asia	<i>Borrelia garinii</i>	tick
666	Tom8705	Russia	Asia	<i>Borrelia garinii</i>	tick
82	PZel	Germany	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	human
82	20047	France	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
82	226/10a	Serbia	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
82	71180B	UK	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
82	80235B	UK	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
82	84214B	UK	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
83	IPT157	France	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
84	PBaell	Germany	Europe	<i>Borrelia bavariensis</i>	human
84	PBar	Germany	Europe	<i>Borrelia bavariensis</i>	human
84	PBi	Germany	Europe	<i>Borrelia bavariensis</i>	human
84	PBN	Germany	Europe	<i>Borrelia bavariensis</i>	human
84	PEi	Germany	Europe	<i>Borrelia bavariensis</i>	human
84	PFei	Germany	Europe	<i>Borrelia bavariensis</i>	human
84	PFin	Germany	Europe	<i>Borrelia bavariensis</i>	human
84	PFik	Germany	Europe	<i>Borrelia bavariensis</i>	human
84	PFo	Germany	Europe	<i>Borrelia bavariensis</i>	human
84	PHerl	Germany	Europe	<i>Borrelia bavariensis</i>	human
84	PHoe	Germany	Europe	<i>Borrelia bavariensis</i>	human
84	PLad	Germany	Europe	<i>Borrelia bavariensis</i>	human
84	PLeh	Germany	Europe	<i>Borrelia bavariensis</i>	human
84	PMch	Germany	Europe	<i>Borrelia bavariensis</i>	human
84	PMüe/PMuee	Germany	Europe	<i>Borrelia bavariensis</i>	human
84	PMun	Germany	Europe	<i>Borrelia bavariensis</i>	human
84	PNeb	Germany	Europe	<i>Borrelia bavariensis</i>	human
84	PNi	Germany	Europe	<i>Borrelia bavariensis</i>	human
84	PRab	Germany	Europe	<i>Borrelia bavariensis</i>	human
84	PRof	Germany	Europe	<i>Borrelia bavariensis</i>	human
84	PScf	Germany	Europe	<i>Borrelia bavariensis</i>	human
84	PSh	Germany	Europe	<i>Borrelia bavariensis</i>	human
84	PSigl	Germany	Europe	<i>Borrelia bavariensis</i>	human
84	PVo	Germany	Europe	<i>Borrelia bavariensis</i>	human
84	PWa	Germany	Europe	<i>Borrelia bavariensis</i>	human
84	PWat	Germany	Europe	<i>Borrelia bavariensis</i>	human
84	PWin	Germany	Europe	<i>Borrelia bavariensis</i>	human
84	80505G	Germany	Europe	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
85	POb	Germany	Europe	<i>Borrelia bavariensis</i>	human
85	PZwi	Germany	Europe	<i>Borrelia bavariensis</i>	human
85	PLep	Jugoslavia	Europe	<i>Borrelia bavariensis</i>	human
85	PTrob	Jugoslavia	Europe	<i>Borrelia bavariensis</i>	human
85	160/13e	Serbia	Europe	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
85	163/11h	Serbia	Europe	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
85	220/10e	Serbia	Europe	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
86	PBet	Germany	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	human
86	PBol	Germany	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	human

86	PHC	Germany	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	human
86	PHe	Germany	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	human
86	PHez	Germany	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	human
86	PKie	Germany	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	human
86	POhm	Germany	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	human
86	PSae	Germany	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	human
86	PSeS	Germany	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	human
86	PSoR	Germany	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	human
86	1001141A	Austria	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
86	IPT156	France	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
86	IPT167	France	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
86	IPT168	France	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
86	IPT178	France	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
86	IPT189	France	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
86	IPT28	France	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
86	0400649I	Italy	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
86	61006L	Latvia	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
86	65006L	Latvia	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
86	70903L	Latvia	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
86	74215L	Latvia	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
86	679BT	UK	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
86	70879B	UK	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
86	81640B	UK	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
87	PFu	Germany	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	human
87	PUh	Germany	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	human
87	PMa	Jugoslavia	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	human
87	IPT140	France	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
87	70207B	UK	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
87	70276B	UK	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
87	71057B	UK	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
87	73294B	UK	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
88	IPT114	France	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
88	IPT158	France	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
88	IPT195	France	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
88	11B491	Germany	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
88	81329B	UK	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
88	82514B	UK	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
88	GM15	UK	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
89	IPT130	France	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
89	73606L	Latvia	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
89	75309L	Latvia	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
90	IPT139	France	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
90	71609L	Latvia	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
91	IPT165	France	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
92	IPT169	France	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
93	IPT171	France	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick

93	0220354I	Italy	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
93	70242B	UK	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
93	80602B	UK	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
94	IPT172	France	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
94	91102G	Germany	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
132	164/11g	Serbia	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
163	61406L	Latvia	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
163	70809L	Latvia	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
163	64418BT	UK	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
163	71063B	UK	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
163	71077B	UK	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
163	71287B	UK	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
172	70268B	UK	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
172	73580B	UK	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
173	PNel	Germany	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	human
173	70260B	UK	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
173	81222B	UK	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
174	70576B	UK	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
175	78180B	UK	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
176	6128BT	UK	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
177	PMit	Germany	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	human
177	61009L	Latvia	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
178	76418L	Latvia	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
179	PStg	Germany	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	human
179	91001G	Germany	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
179	61710BT	UK	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
180	PNov	Slovenia	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	human
180	81201G	Germany	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
180	62118L	Latvia	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
180	62306L	Latvia	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
180	62506L	Latvia	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
181	74503L	Latvia	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
182	74109L	Latvia	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
183	61030BT	UK	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
184	70406L	Latvia	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
185	63809L	Latvia	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
186	610112L	Latvia	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
187	90104G	Germany	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
187	91806G	Germany	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
187	0510605I	Italy	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
187	73912L	Latvia	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
187	61210BT	UK	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
187	70250B	UK	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
187	70489B	UK	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
187	82310B	UK	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
187	83215B	UK	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick

187	85013B	UK	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
188	62303L	Latvia	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
188	62309L	Latvia	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
189	61209L	Latvia	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
190	62909L	Latvia	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
190	72409L	Latvia	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
190	60809BT	UK	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
190	6725BT	UK	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
190	72680B	UK	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
190	73163B	UK	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
191	6910BT	UK	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
193	69212L	Latvia	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
207	74415L	Latvia	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
207	70531B	UK	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
207	70643B	UK	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
207	73802B	UK	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
207	74694B	UK	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
207	84715B	UK	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
208	75803L	Latvia	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
214	66612L	Latvia	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
243	80914B	UK	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
243	81315B	UK	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
243	83013B	UK	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
244	PBr	Germany	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	human
244	PFe	Germany	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	human
244	PFr	Germany	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	human
244	PMoel	Germany	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	human
244	PSma	Germany	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	human
244	PStH	Germany	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	human
244	PWest	Germany	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	human
244	EU7-6	Germany	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
244	82239B	UK	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
244	83016B	UK	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
244	83439B	UK	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
245	PBe	Germany	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	human
245	PKi	Germany	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	human
245	PLa	Germany	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	human
245	83113B	UK	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
246	PBu	Germany	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	human
246	PHei	Germany	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	human
246	PLi	Germany	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	human
246	PMe	Germany	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	human
246	PScp	Germany	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	human
246	EU9-22	The Nether-lands	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
246	80215B	UK	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick

246	80330B	UK	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
246	80813B	UK	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
246	82814B	UK	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
246	85513B	UK	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
251	PBes	Germany	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	human
251	PKuf	Germany	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	human
251	PRas	Germany	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	human
251	PShm	Germany	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	human
251	81001G	Germany	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
251	74403L	Latvia	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
252	82805G	Germany	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
253	80201G	Germany	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
262	91701G	Germany	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
296	TS1	UK	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
297	DR46	UK	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
298	b26	UK	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
299	b90	UK	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
303	LV5M	UK	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
304	DV12	UK	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
310	b34	UK	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
312	DV46	UK	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
319	DV23	UK	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
320	DV13	UK	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
321	DV28	UK	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
323	DR49	UK	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
324	LA9	UK	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
325	LA34	UK	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
355	0510578I	Italy	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
482	PRef	Germany	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	human
485	akt4	Norway	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
486	akt7	Norway	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
486	akt8	Norway	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
487	akt10	Norway	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
488	akt11	Norway	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
494	akt19	Norway	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
494	akt45	Norway	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
494	akt47	Norway	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
498	akt24	Norway	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
499	akt25	Norway	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
510	akt43	Norway	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
510	akt44	Norway	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
511	akt46	Norway	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
515	akt52	Norway	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
516	akt53	Norway	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
516	akt54	Norway	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	tick
573	PCoo	Germany	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	human

574	PFiM	Germany	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	human
575	PMag	Germany	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	human
576	PMek	Germany	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	human
577	PRa	Germany	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	human
578	PUI	Germany	Europe	<i>Borrelia garinii</i>	human
244	NL12-300N	Canada	North America	<i>Borrelia garinii</i>	tick
575	NL12-312D	Canada	North America	<i>Borrelia garinii</i>	tick
575	NL12-314	Canada	North America	<i>Borrelia garinii</i>	tick
575	NL13-127	Canada	North America	<i>Borrelia garinii</i>	tick
575	NL14-370	Canada	North America	<i>Borrelia garinii</i>	tick
684	NL11-021	Canada	North America	<i>Borrelia garinii</i>	tick
684	NL13-533	Canada	North America	<i>Borrelia garinii</i>	tick
685	NL11-061	Canada	North America	<i>Borrelia bavariensis</i>	tick
686	NL12-114	Canada	North America	<i>Borrelia garinii</i>	tick
686	NL12-330	Canada	North America	<i>Borrelia garinii</i>	tick
686	NL12-341A	Canada	North America	<i>Borrelia garinii</i>	tick
687	NL12-334C	Canada	North America	<i>Borrelia garinii</i>	tick
688	NL13-029	Canada	North America	<i>Borrelia garinii</i>	tick
688	NL13-053	Canada	North America	<i>Borrelia garinii</i>	tick
689	NL13-080	Canada	North America	<i>Borrelia garinii</i>	tick
690	NL13-245	Canada	North America	<i>Borrelia garinii</i>	tick
691	NL13-534	Canada	North America	<i>Borrelia garinii</i>	tick
692	NL14-1000	Canada	North America	<i>Borrelia garinii</i>	tick
693	NL12-340F	Canada	North America	<i>Borrelia garinii</i>	tick
694	NL13-440	Canada	North America	<i>Borrelia garinii</i>	tick

Tabelle 7.21: *B. garinii*- und *B. bavariensis*-Isolate der MLST-Datenbank

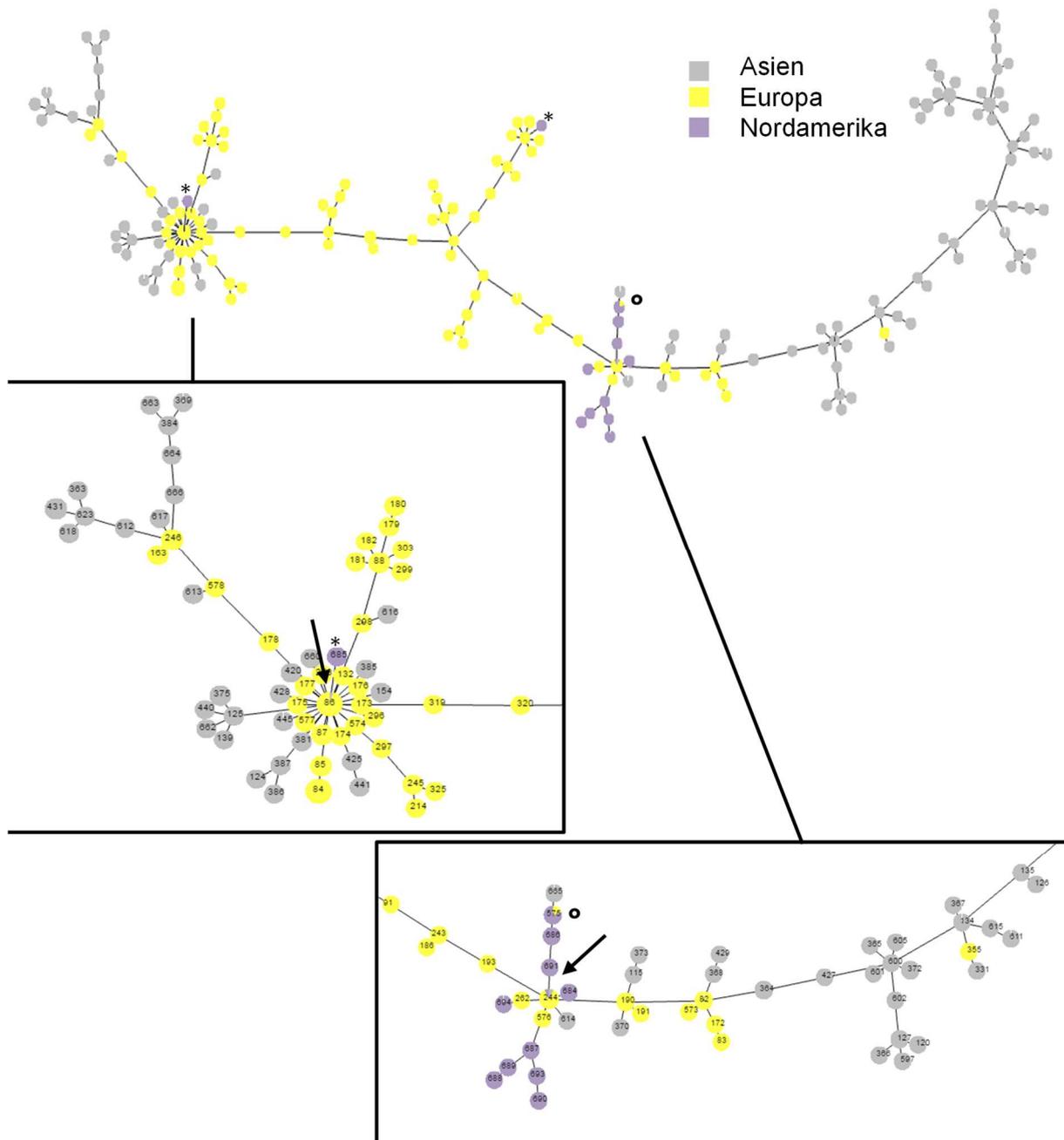


Abbildung 7.13: *B. garinii* und *B. bavariensis* in Asien, Europa und Nordamerika

Zugrundeliegende Daten finden sich in Tabelle 7.21, thematisiert wird die Abbildung in Abschnitt 3.3. Gruppenfounder sind ST 86 und 244 (markiert mit Pfeilen), sie bilden eine Schnittstelle zwischen asiatischen und europäischen Stämmen. (°) kennzeichnet ST 575, siehe auch Abschnitt 3.3 und 4.3.

ST	Quelle			Spezies	Fundort
	Zecke	Mensch	tierischer Wirt		
82	5	1	0	<i>B. garinii</i>	FRA, GBR, GER, SRB
84	1	2	0	<i>B. bavariensis</i>	GER
85	3	4	0	<i>B. bavariensis</i>	GER, RUS, SRB, YU
86	16	10	0	<i>B. garinii</i>	AUS, FRA, GBR, GER, ITA, LVA
87	5	3	0	<i>B. garinii</i>	Frau, GER, UK, YU
122	2	0	1	<i>B. bavariensis</i>	CHN, JPN
127	2	2	0	<i>B. garinii</i>	CHN, JPN
128	18	2	2	<i>B. bavariensis</i>	CHN, JPN, MGL, RUS
131	8	4	7	<i>B. bavariensis</i>	CHN, JPN, MGL
173	2	1	0	<i>B. garinii</i>	GBR, GER
177	1	1	0	<i>B. garinii</i>	GER, LVA
179	2	1	0	<i>B. garinii</i>	GBR, GER
180	4	1	0	<i>B. garinii</i>	GER, LVA, SLO
244	6	7	0	<i>B. garinii</i>	CAN, GBR, GER, RUS
245	1	3	0	<i>B. garinii</i>	GBR, GER
246	6	5	0	<i>B. garinii</i>	GBR, GER, NLD
251	2	4	0	<i>B. garinii</i>	GER, LVA
328	22	0	1	<i>B. bavariensis</i>	CHN, MGL, RUS
362	1	2	0	<i>B. bavariensis</i>	JPN
371	2	2	2	<i>B. bavariensis</i>	JPN
375	3	0	4	<i>B. bavariensis</i>	JPN
376	1	1	3	<i>B. bavariensis</i>	JPN
379	1	0	1	<i>B. bavariensis</i>	CHN, RUS
384	1	1	0	<i>B. garinii</i>	JPN
387	1	1	0	<i>B. bavariensis</i>	JPN
575	4	1	0	<i>B. garinii</i>	CAN, GER

Tabelle 7.22: Sequenztypen mit mehr als einer Isolationsquelle

Die Länderkürzel der Fundorte finden sich im Abkürzungsverzeichnis.

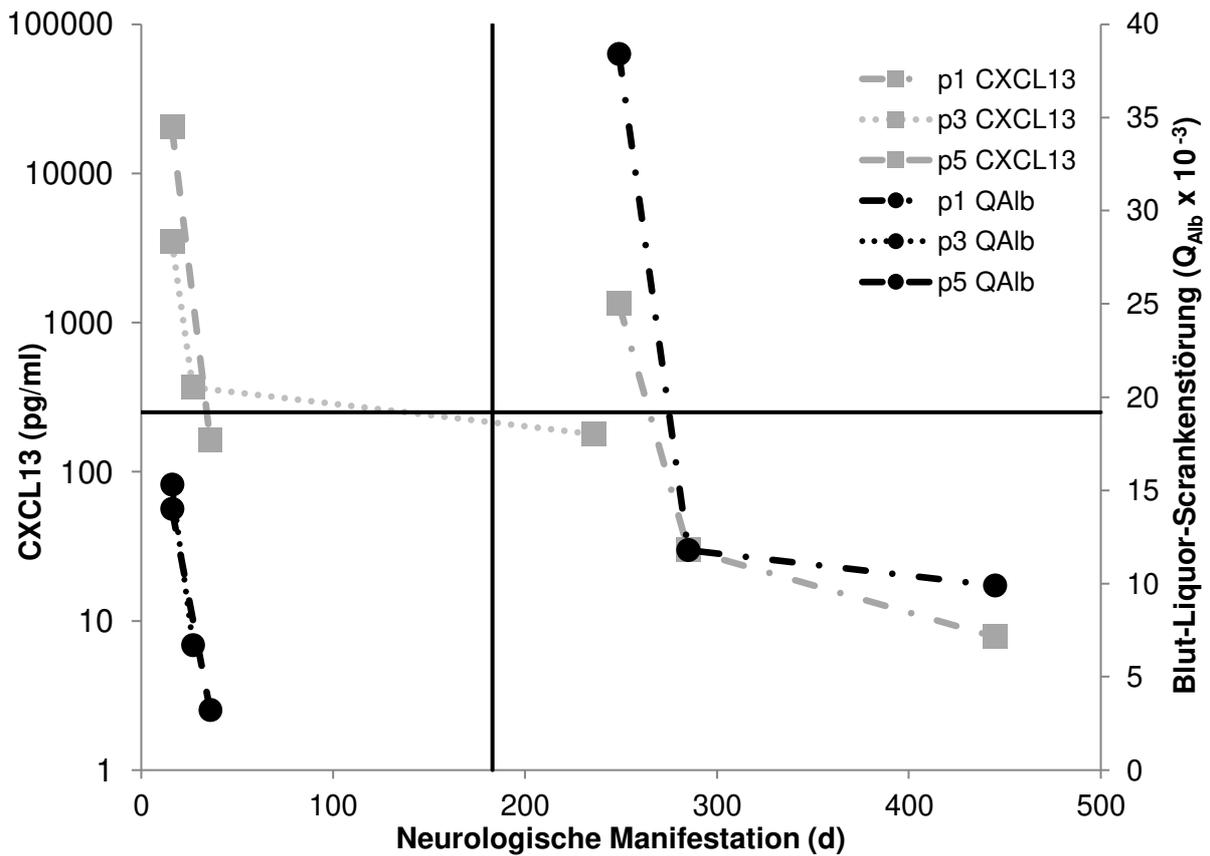


Abbildung 7.14: CXCL13-Konzentration und Blut-Liquor-Schrankenstörung in Fallserien

Für die Patienten 1, 4 und 6 waren Fallserien vorhanden. Mit Beginn der antibiotischen Therapie sanken die CXCL13-Konzentrationen und die Blut-Liquor-Schranke verbesserte sich. Die horizontale Linie markiert den Cut-off-Wert (250 pg/ml) der CXCL13-Konzentration und die waagrechte Linie zeigt ein Zeitintervall von sechs Monaten an (Differenzierung zwischen akuter und später NB; Mygland et al. 2010, Rauer et al. 2012). Ein cut-off-Wert für die Schrankenstörung ließ sich nicht einzeichnen, da er altersabhängig ist, die Blut-Liquor-Schranke war jedoch für alle abgebildeten Patienten im ersten Liquorpunktat gestört.

Danksagung

Ich möchte mich herzlich bei Herrn **Prof. Dr. med. Dr. phil. Andreas Sing** für die äußerst freundliche und kompetente Betreuung bedanken. Nicht nur profitierte ich sehr von der Möglichkeit, eine Doktorarbeit über ein so interessantes und vielseitiges Thema mit einem hervorragenden Einblick in die mikrobiologische Methodik zu verfassen, sondern auch für die herzliche Aufnahme am Bayerischen Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit in Oberschleißheim. Vielen Dank auch für Ihr offenes Ohr in Bezug auf organisatorische Fragen und das Studium.

Mein ganz besonderer Dank gilt Herrn **Dr. med. Volker Fingerle** und Frau **Dr. rer. nat. Gabriele Margos** für die wertschätzende und unterstützende Betreuung vom ersten Schritt im LGL bis zum letzten Wort dieser Arbeit. Nicht nur gewährten sie jederzeit fachkundige Unterstützung und förderten und forderten meine gezielte Weiterbildung, ich durfte auch vom Teamgeist, ihrem Herzblut für Forschung und der hilfsbereiten und humorvollen Art profitieren und lernen. Ohne euch wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen!

Darüber hinaus bedanke ich mich bei Frau **Cecilia Hizo-Teufel** und **Wiltrud Strehle**, die mich beide mit viel Herzlichkeit und Geduld in die Grundlagen der Laborarbeit und die mikrobiologischen Arbeitstechniken eingelernt haben. Auch habe ich die zahlreichen praxisrelevanten Hilfestellungen und Ratschläge immer zu schätzen gewusst. Für eure Unterstützung während meiner aktiven experimentellen Phase am LGL und euer offenes Ohr beim Verfassen meiner Doktorarbeit bin ich sehr dankbar.

Auch meiner Kommilitonin **Sabrina Jungnick** mit ihrer am LGL-angesiedelten Dissertation und **Eldina Ibralic-Dzaferovic** während des Praxissemesters am LGL möchte ich für den wertvollen fachlichen als auch freundschaftlichen Austausch danken.

Allen weiteren Mitarbeitern, insbesondere der Arbeitsgruppe Borrelien, möchte ich für ihre herzliche Aufnahme am LGL danken.

Ein herzliches Dankeschön an **Prof. Dr. med. Peter Herzer** für die vielen lehrreichen Stunden und die Weichenstellung bei der Weiterbildungsfindung.

Meinen lieben Eltern **Heidi Kraus-Rieger** und **Manfred Rieger** möchte ich von Herzen danken für Euren Rückhalt und Euer offenes Ohr. Danke, dass Ihr immer für mich da wart und seid.

Lieber **Erik** – Danke für alles.

Veröffentlichungen

Publikationen in internationalen Peer-reviewed Journals:

Jungnick S, Margos G, **Rieger M**, Dzaferovic E, Bent S, Overzier E, Silaghi C, Walder G, Wex F, Koloczec J, Sing A, Fingerle V (2015) *Borrelia burgdorferi* sensu stricto and *Borrelia afzelii*: Population structure and differential pathogenicity. *Int J Med Microbiol* 305(7):673-681. doi: 10.1016/j.ijmm.2015.08.017.

Margos G, Stockmeier S, Hizo-Teufel C, Fish D, Dautel H, Sing A, Dzaferovic E, **Rieger M**, Jungnick S, Binder K, Straubinger RK, Fingerle V (2015) Long-term in vitro cultivation of *Borrelia miyamotoi*. *Ticks Tick Borne Dis* 6(2):181-4. doi: 10.1016/j.ttbdis.2014.12.001.

Rieger M, Margos G, Sing A, Fingerle. CXCL13 for diagnosis and therapy control in neuroborreliosis following long-term storage of CSF. Submitted.

Vorträge:

Fallvorstellung RS3PE-Syndrom auf der 50. Aktuellen Rheumatologie, 09.12.2017, LMU München

Poster auf folgenden Konferenzen:

- ESCMID (European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases) in Kopenhagen, Dänemark (04/2015)
- DGHM (Deutsche Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie)-Tagung in Dresden, Deutschland (10/2014)
- Tagung der DVG-Fachgruppe (Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft) „Bakteriologie und Mykologie“ in Freising, Deutschland (05/2014)
- Zweiter Süddeutscher Zeckenkongress in Hohenheim (Stuttgart), Deutschland (03/2014)

Gibt es eine Korrelation zwischen *Borrelia* Sequenztyp und Lyme Borreliose Symptomatik? **Rieger M**, Margos G, Jungnick S, Dzaferovic E, Binder K, Hizo-Teufel C, Sing A, Fingerle V. (Englischer Titel: Is there a correlation between sequence type and disease manifestation in Lyme borreliosis?).

Eignung der hbb real-time PCR zur Borrelien Speziesbestimmung. Dzaferovic E, Binder K, Jungnick S, **Rieger M**, Silaghi C, Margos G, Hizo-Teufel C, Sing A, Fingerle V.

Relevante humanpathogene Sequenztypen der Spezies *B. burgdorferi* sensu stricto und *B. afzelii* - Gibt es einen Zusammenhang zwischen Patientensymptomatik und Borrelien-Sequenztyp? Jungnick S, Margos G, **Rieger M**, Sing A, Fingerle V. (Englischer Titel: Investigation of human pathogenic types of the species *Borrelia burgdorferi* sensu stricto and *Borrelia afzelii* using multilocus sequence analysis (MLSA)).

Borrelia garinii and *B. bavariensis* sequence type and symptoms in human Lyme borreliosis: Is there a correlation? **Rieger M**, Margos G, Dzaferovic E, Jungnick S, Hizo-Teufel C, Sing A, Fingerle V.

Eidesstattliche Versicherung

Von Melissa Sabrina Jessica Rieger

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema

**Klinische und molekularepidemiologische Untersuchungen zur Pathogenität von
Borrelia garinii und *Borrelia bavariensis*: Ein MLST-basierter Ansatz zur
Populationsanalyse der Heterogenität von *Borrelia garinii* und *Borrelia bavariensis***

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

Melissa Rieger

München, den 13.12.2018

Melissa Rieger

8 Tabelle 7.15 Pairwise Distance (Print-Version s. CD)

Species 1	Species 2	Dist
lcl PBe 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PBes 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	0,009275
lcl PBe 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PBet 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,00525
lcl PBes 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	lcl PBet 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,009488
lcl PBe 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PBoI 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,00525
lcl PBes 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	lcl PBoI 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,009488
lcl PBet 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PBoI 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0
lcl PBe 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PBr 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008001
lcl PBes 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	lcl PBr 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,00885
lcl PBet 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PBr 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008426
lcl PBoI 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PBr 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008426
lcl PBe 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PBu 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0,006731
lcl PBes 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	lcl PBu 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0,008851
lcl PBet 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PBu 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0,006096
lcl PBoI 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PBu 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0,006096
lcl PBr 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PBu 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0,006945
lcl PBe 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PCoo 573 40-25-26-159-27-34-25-31 B. garinii lgl mlst ps	0,010978
lcl PBes 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	lcl PCoo 573 40-25-26-159-27-34-25-31 B. garinii lgl mlst ps	0,009704
lcl PBet 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PCoo 573 40-25-26-159-27-34-25-31 B. garinii lgl mlst ps	0,010341
lcl PBoI 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PCoo 573 40-25-26-159-27-34-25-31 B. garinii lgl mlst ps	0,010341
lcl PBr 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PCoo 573 40-25-26-159-27-34-25-31 B. garinii lgl mlst ps	0,010764
lcl PBu 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PCoo 573 40-25-26-159-27-34-25-31 B. garinii lgl mlst ps	0,010979
lcl PBe 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PFe 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008001
lcl PBes 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	lcl PFe 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,00885
lcl PBet 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PFe 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008426

lcl PBo 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PFe 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008426
lcl PBr 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PFe 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0
lcl PBu 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PFe 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,006945
lcl PCoo 573 40-25-26-159-27-34-25-31 B. garinii lgl mlst ps	lcl PFe 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,010764
lcl PBe 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PFiM 574 42-27-29-38-29-36-27-160 B. garinii lgl mlst ps	0,005461
lcl PBes 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	lcl PFiM 574 42-27-29-38-29-36-27-160 B. garinii lgl mlst ps	0,0097
lcl PBet 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PFiM 574 42-27-29-38-29-36-27-160 B. garinii lgl mlst ps	0,000209
lcl PBo 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PFiM 574 42-27-29-38-29-36-27-160 B. garinii lgl mlst ps	0,000209
lcl PBr 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PFiM 574 42-27-29-38-29-36-27-160 B. garinii lgl mlst ps	0,008638
lcl PBu 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PFiM 574 42-27-29-38-29-36-27-160 B. garinii lgl mlst ps	0,006307
lcl PCoo 573 40-25-26-159-27-34-25-31 B. garinii lgl mlst ps	lcl PFiM 574 42-27-29-38-29-36-27-160 B. garinii lgl mlst ps	0,010555
lcl PFe 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PFiM 574 42-27-29-38-29-36-27-160 B. garinii lgl mlst ps	0,008638
lcl PBe 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PFR 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008001
lcl PBes 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	lcl PFR 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,00885
lcl PBet 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PFR 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008426
lcl PBo 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PFR 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008426
lcl PBr 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PFR 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0
lcl PBu 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PFR 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,006945
lcl PCoo 573 40-25-26-159-27-34-25-31 B. garinii lgl mlst ps	lcl PFR 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,010764
lcl PFe 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PFR 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0
lcl PFiM 574 42-27-29-38-29-36-27-160 B. garinii lgl mlst ps	lcl PFR 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008638
lcl PBe 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PFu 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,006306
lcl PBes 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	lcl PFu 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,0097
lcl PBet 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PFu 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,001047
lcl PBo 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PFu 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,001047
lcl PBr 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PFu 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,008638
lcl PBu 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PFu 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,00504
lcl PCoo 573 40-25-26-159-27-34-25-31 B. garinii lgl mlst ps	lcl PFu 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,010981
lcl PFe 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PFu 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,008638
lcl PFiM 574 42-27-29-38-29-36-27-160 B. garinii lgl mlst ps	lcl PFu 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,001256

lcl PFr 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PFu 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,008638
lcl PBe 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PHC 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,00525
lcl PBes 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	lcl PHC 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,009488
lcl PBet 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PHC 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0
lcl PBo 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PHC 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0
lcl PBr 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PHC 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,008426
lcl PBu 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PHC 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,006096
lcl PCoo 573 40-25-26-159-27-34-25-31 B. garinii lgl mlst ps	lcl PHC 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,010341
lcl PFe 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PHC 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,008426
lcl PFiM 574 42-27-29-38-29-36-27-160 B. garinii lgl mlst ps	lcl PHC 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,000209
lcl PFr 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PHC 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,008426
lcl PFu 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PHC 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,001047
lcl PBe 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PHe 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,00525
lcl PBes 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	lcl PHe 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,009488
lcl PBet 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PHe 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0
lcl PBo 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PHe 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0
lcl PBr 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PHe 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,008426
lcl PBu 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PHe 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,006096
lcl PCoo 573 40-25-26-159-27-34-25-31 B. garinii lgl mlst ps	lcl PHe 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,010341
lcl PFe 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PHe 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,008426
lcl PFiM 574 42-27-29-38-29-36-27-160 B. garinii lgl mlst ps	lcl PHe 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,000209
lcl PFr 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PHe 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,008426
lcl PFu 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PHe 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,001047
lcl PHC 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PHe 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0
lcl PBe 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PHei 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0,006731
lcl PBes 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	lcl PHei 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0,008851
lcl PBet 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PHei 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0,006096
lcl PBo 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PHei 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0,006096
lcl PBr 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PHei 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0,006945
lcl PBu 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PHei 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0

lcl PCoo 573 40-25-26-159-27-34-25-31 B. garinii lgl mlst ps	lcl PHei 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0,010979
lcl PFe 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PHei 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0,006945
lcl PFiM 574 42-27-29-38-29-36-27-160 B. garinii lgl mlst ps	lcl PHei 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0,006307
lcl PFr 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PHei 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0,006945
lcl PFu 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PHei 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0,00504
lcl PHC 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PHei 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0,006096
lcl PHe 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PHei 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0,006096
lcl PBe 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PHez 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,00525
lcl PBes 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	lcl PHez 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,009488
lcl PBet 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PHez 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0
lcl PBo 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PHez 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0
lcl PBr 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PHez 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,008426
lcl PBu 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PHez 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,006096
lcl PCoo 573 40-25-26-159-27-34-25-31 B. garinii lgl mlst ps	lcl PHez 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,010341
lcl PFe 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PHez 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,008426
lcl PFiM 574 42-27-29-38-29-36-27-160 B. garinii lgl mlst ps	lcl PHez 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,000209
lcl PFr 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PHez 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,008426
lcl PFu 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PHez 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,001047
lcl PHC 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PHez 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0
lcl PHe 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PHez 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0
lcl PHei 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PHez 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,006096
lcl PBe 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PKi 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	0
lcl PBes 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	lcl PKi 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	0,009275
lcl PBet 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PKi 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	0,00525
lcl PBo 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PKi 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	0,00525
lcl PBr 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PKi 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	0,008001
lcl PBu 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PKi 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	0,006731
lcl PCoo 573 40-25-26-159-27-34-25-31 B. garinii lgl mlst ps	lcl PKi 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	0,010978
lcl PFe 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PKi 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	0,008001
lcl PFiM 574 42-27-29-38-29-36-27-160 B. garinii lgl mlst ps	lcl PKi 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	0,005461

lcl PFR 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PKi 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	0,008001
lcl PFu 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PKi 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	0,006306
lcl PHC 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PKi 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	0,00525
lcl PHe 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PKi 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	0,00525
lcl PHei 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PKi 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	0,006731
lcl PHez 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PKi 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	0,00525
lcl PBe 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PLa 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	0
lcl PBes 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	lcl PLa 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	0,009275
lcl PBet 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PLa 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	0,00525
lcl PBol 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PLa 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	0,00525
lcl PBr 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PLa 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	0,008001
lcl PBu 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PLa 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	0,006731
lcl PCoo 573 40-25-26-159-27-34-25-31 B. garinii lgl mlst ps	lcl PLa 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	0,010978
lcl PFe 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PLa 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	0,008001
lcl PFiM 574 42-27-29-38-29-36-27-160 B. garinii lgl mlst ps	lcl PLa 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	0,005461
lcl PFR 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PLa 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	0,008001
lcl PFu 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PLa 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	0,006306
lcl PHC 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PLa 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	0,00525
lcl PHe 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PLa 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	0,00525
lcl PHei 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PLa 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	0,006731
lcl PHez 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PLa 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	0,00525
lcl PKi 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PLa 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	0
lcl PBe 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PLi 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0,006731
lcl PBes 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	lcl PLi 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0,008851
lcl PBet 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PLi 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0,006096
lcl PBol 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PLi 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0,006096
lcl PBr 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PLi 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0,006945
lcl PBu 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PLi 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0
lcl PCoo 573 40-25-26-159-27-34-25-31 B. garinii lgl mlst ps	lcl PLi 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0,010979
lcl PFe 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PLi 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0,006945

lcl PFiM 574 42-27-29-38-29-36-27-160 B. garinii lgl mlst ps	lcl PLi 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0,006307
lcl PFR 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PLi 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0,006945
lcl PFu 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PLi 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0,00504
lcl PHC 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PLi 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0,006096
lcl PHe 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PLi 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0,006096
lcl PHei 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PLi 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0
lcl PHez 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PLi 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0,006096
lcl PKi 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PLi 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0,006731
lcl PLa 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PLi 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0,006731
lcl PBe 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMA 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,006306
lcl PBeS 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMA 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,0097
lcl PBet 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMA 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,001047
lcl PBo 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMA 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,001047
lcl PBr 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMA 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,008638
lcl PBu 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMA 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,00504
lcl PCoo 573 40-25-26-159-27-34-25-31 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMA 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,010981
lcl PFe 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMA 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,008638
lcl PFiM 574 42-27-29-38-29-36-27-160 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMA 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,001256
lcl PFR 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMA 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,008638
lcl PFu 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMA 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0
lcl PHC 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMA 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,001047
lcl PHe 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMA 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,001047
lcl PHei 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMA 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,00504
lcl PHez 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMA 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,001047
lcl PKi 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMA 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,006306
lcl PLa 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMA 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,006306
lcl PLi 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMA 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,00504
lcl PBe 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMag 575 185-147-134-160-34-170-144-161 B. garinii lgl mlst ps	0,012044
lcl PBeS 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMag 575 185-147-134-160-34-170-144-161 B. garinii lgl mlst ps	0,010768

	ps	
lcl PBet 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMag 575 185-147-134-160-34-170-144-161 B. garinii lgl mlst ps	0,011403
lcl PBol 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMag 575 185-147-134-160-34-170-144-161 B. garinii lgl mlst ps	0,011403
lcl PBr 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMag 575 185-147-134-160-34-170-144-161 B. garinii lgl mlst ps	0,012258
lcl PBu 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMag 575 185-147-134-160-34-170-144-161 B. garinii lgl mlst ps	0,011191
lcl PCoo 573 40-25-26-159-27-34-25-31 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMag 575 185-147-134-160-34-170-144-161 B. garinii lgl mlst ps	0,012476
lcl PFe 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMag 575 185-147-134-160-34-170-144-161 B. garinii lgl mlst ps	0,012258
lcl PFiM 574 42-27-29-38-29-36-27-160 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMag 575 185-147-134-160-34-170-144-161 B. garinii lgl mlst ps	0,011616
lcl PFr 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMag 575 185-147-134-160-34-170-144-161 B. garinii lgl mlst ps	0,012258
lcl PFu 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMag 575 185-147-134-160-34-170-144-161 B. garinii lgl mlst ps	0,011616
lcl PHC 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMag 575 185-147-134-160-34-170-144-161 B. garinii lgl mlst ps	0,011403
lcl PHe 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMag 575 185-147-134-160-34-170-144-161 B. garinii lgl mlst ps	0,011403
lcl PHei 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMag 575 185-147-134-160-34-170-144-161 B. garinii lgl mlst ps	0,011191
lcl PHez 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMag 575 185-147-134-160-34-170-144-161 B. garinii lgl mlst ps	0,011403
lcl PKi 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMag 575 185-147-134-160-34-170-144-161 B. garinii lgl mlst ps	0,012044
lcl PLa 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMag 575 185-147-134-160-34-170-144-161 B. garinii lgl mlst ps	0,012044
lcl PLi 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMag 575 185-147-134-160-34-170-144-161 B. garinii lgl mlst ps	0,011191
lcl PMa 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMag 575 185-147-134-160-34-170-144-161 B. garinii lgl mlst ps	0,011616

	ps	
lcl PBe 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMe 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0,006731
lcl PBes 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMe 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0,008851
lcl PBet 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMe 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0,006096
lcl PBo 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMe 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0,006096
lcl PBr 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMe 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0,006945
lcl PBu 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMe 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0
lcl PCoo 573 40-25-26-159-27-34-25-31 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMe 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0,010979
lcl PFe 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMe 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0,006945
lcl PFiM 574 42-27-29-38-29-36-27-160 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMe 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0,006307
lcl PFr 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMe 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0,006945
lcl PFu 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMe 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0,00504
lcl PHC 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMe 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0,006096
lcl PHe 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMe 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0,006096
lcl PHei 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMe 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0
lcl PHez 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMe 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0,006096
lcl PKi 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMe 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0,006731
lcl PLa 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMe 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0,006731
lcl PLi 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMe 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0
lcl PMa 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMe 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0,00504
lcl PMag 575 185-147-134-160-34-170-144-161 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMe 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0,011191
lcl PBe 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMek 576 186-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008214
lcl PBes 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMek 576 186-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,009062
lcl PBet 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMek 576 186-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008638
lcl PBo 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMek 576 186-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008638
lcl PBr 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMek 576 186-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,000209
lcl PBu 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMek 576 186-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,007157
lcl PCoo 573 40-25-26-159-27-34-25-31 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMek 576 186-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,010978
lcl PFe 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMek 576 186-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,000209

lcl PFiM 574 42-27-29-38-29-36-27-160 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMek 576 186-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008851
lcl PFR 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMek 576 186-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,000209
lcl PFu 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMek 576 186-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008851
lcl PHC 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMek 576 186-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008638
lcl PHe 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMek 576 186-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008638
lcl PHei 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMek 576 186-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,007157
lcl PHez 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMek 576 186-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008638
lcl PKi 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMek 576 186-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008214
lcl PLa 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMek 576 186-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008214
lcl PLi 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMek 576 186-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,007157
lcl PMa 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMek 576 186-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008851
lcl PMag 575 185-147-134-160-34-170-144-161 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMek 576 186-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,012472
lcl PMe 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMek 576 186-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,007157
lcl PBe 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMit 177 42-27-29-92-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,005461
lcl PBes 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMit 177 42-27-29-92-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,0097
lcl PBet 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMit 177 42-27-29-92-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,000209
lcl PBo 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMit 177 42-27-29-92-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,000209
lcl PBr 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMit 177 42-27-29-92-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,008638
lcl PBu 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMit 177 42-27-29-92-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,006307
lcl PCoo 573 40-25-26-159-27-34-25-31 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMit 177 42-27-29-92-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,010555
lcl PFe 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMit 177 42-27-29-92-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,008638
lcl PFiM 574 42-27-29-38-29-36-27-160 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMit 177 42-27-29-92-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,000418
lcl PFR 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMit 177 42-27-29-92-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,008638
lcl PFu 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMit 177 42-27-29-92-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,001256
lcl PHC 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMit 177 42-27-29-92-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,000209
lcl PHe 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMit 177 42-27-29-92-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,000209
lcl PHei 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMit 177 42-27-29-92-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,006307
lcl PHez 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMit 177 42-27-29-92-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,000209
lcl PKi 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMit 177 42-27-29-92-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,005461

lcl PLa 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMit 177 42-27-29-92-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,005461
lcl PLi 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMit 177 42-27-29-92-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,006307
lcl PMa 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMit 177 42-27-29-92-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,001256
lcl PMag 575 185-147-134-160-34-170-144-161 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMit 177 42-27-29-92-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,011616
lcl PMe 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMit 177 42-27-29-92-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,006307
lcl PMek 576 186-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMit 177 42-27-29-92-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,008851
lcl PBe 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMoel 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008001
lcl PBes 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMoel 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,00885
lcl PBet 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMoel 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008426
lcl PBo 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMoel 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008426
lcl PBr 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMoel 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0
lcl PBu 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMoel 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,006945
lcl PCoo 573 40-25-26-159-27-34-25-31 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMoel 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,010764
lcl PFe 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMoel 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0
lcl PFiM 574 42-27-29-38-29-36-27-160 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMoel 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008638
lcl PFr 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMoel 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0
lcl PFu 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMoel 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008638
lcl PHC 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMoel 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008426
lcl PHe 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMoel 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008426
lcl PHei 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMoel 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,006945
lcl PHez 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMoel 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008426
lcl PKi 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMoel 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008001
lcl PLa 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMoel 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008001
lcl PLi 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMoel 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,006945
lcl PMa 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMoel 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008638
lcl PMag 575 185-147-134-160-34-170-144-161 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMoel 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,012258
lcl PMe 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMoel 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,006945
lcl PMek 576 186-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMoel 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,000209

lcl PMit 177 42-27-29-92-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PMoel 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008638
lcl PBe 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PNe 173 42-27-29-38-29-36-27-82 B. garinii lgl mlst ps	0,00546
lcl PBes 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	lcl PNe 173 42-27-29-38-29-36-27-82 B. garinii lgl mlst ps	0,009699
lcl PBet 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PNe 173 42-27-29-38-29-36-27-82 B. garinii lgl mlst ps	0,000209
lcl PBo 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PNe 173 42-27-29-38-29-36-27-82 B. garinii lgl mlst ps	0,000209
lcl PBr 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PNe 173 42-27-29-38-29-36-27-82 B. garinii lgl mlst ps	0,008215
lcl PBu 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PNe 173 42-27-29-38-29-36-27-82 B. garinii lgl mlst ps	0,005885
lcl PCoo 573 40-25-26-159-27-34-25-31 B. garinii lgl mlst ps	lcl PNe 173 42-27-29-38-29-36-27-82 B. garinii lgl mlst ps	0,010553
lcl PFe 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PNe 173 42-27-29-38-29-36-27-82 B. garinii lgl mlst ps	0,008215
lcl PFiM 574 42-27-29-38-29-36-27-160 B. garinii lgl mlst ps	lcl PNe 173 42-27-29-38-29-36-27-82 B. garinii lgl mlst ps	0,000418
lcl PFr 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PNe 173 42-27-29-38-29-36-27-82 B. garinii lgl mlst ps	0,008215
lcl PFu 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PNe 173 42-27-29-38-29-36-27-82 B. garinii lgl mlst ps	0,001256
lcl PHC 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PNe 173 42-27-29-38-29-36-27-82 B. garinii lgl mlst ps	0,000209
lcl PHe 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PNe 173 42-27-29-38-29-36-27-82 B. garinii lgl mlst ps	0,000209
lcl PHei 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PNe 173 42-27-29-38-29-36-27-82 B. garinii lgl mlst ps	0,005885
lcl PHez 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PNe 173 42-27-29-38-29-36-27-82 B. garinii lgl mlst ps	0,000209
lcl PKi 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PNe 173 42-27-29-38-29-36-27-82 B. garinii lgl mlst ps	0,00546
lcl PLa 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PNe 173 42-27-29-38-29-36-27-82 B. garinii lgl mlst ps	0,00546
lcl PLi 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PNe 173 42-27-29-38-29-36-27-82 B. garinii lgl mlst ps	0,005885
lcl PMa 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PNe 173 42-27-29-38-29-36-27-82 B. garinii lgl mlst ps	0,001256
lcl PMag 575 185-147-134-160-34-170-144-161 B. garinii lgl mlst ps	lcl PNe 173 42-27-29-38-29-36-27-82 B. garinii lgl mlst ps	0,011615
lcl PMe 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PNe 173 42-27-29-38-29-36-27-82 B. garinii lgl mlst ps	0,005885
lcl PMek 576 186-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PNe 173 42-27-29-38-29-36-27-82 B. garinii lgl mlst ps	0,008427
lcl PMit 177 42-27-29-92-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PNe 173 42-27-29-38-29-36-27-82 B. garinii lgl mlst ps	0,000418
lcl PMoel 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PNe 173 42-27-29-38-29-36-27-82 B. garinii lgl mlst ps	0,008215
lcl PBe 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PNov 180 43-28-30-90-87-36-28-34 B. garinii lgl mlst ps	0,007999
lcl PBes 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	lcl PNov 180 43-28-30-90-87-36-28-34 B. garinii lgl mlst ps	0,01034
lcl PBet 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PNov 180 43-28-30-90-87-36-28-34 B. garinii lgl mlst ps	0,006941
lcl PBo 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PNov 180 43-28-30-90-87-36-28-34 B. garinii lgl mlst ps	0,006941

lcl PBr 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PNov 180 43-28-30-90-87-36-28-34 B. garinii lgl mlst ps	0,010764
lcl PBu 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PNov 180 43-28-30-90-87-36-28-34 B. garinii lgl mlst ps	0,008
lcl PCoo 573 40-25-26-159-27-34-25-31 B. garinii lgl mlst ps	lcl PNov 180 43-28-30-90-87-36-28-34 B. garinii lgl mlst ps	0,012478
lcl PFe 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PNov 180 43-28-30-90-87-36-28-34 B. garinii lgl mlst ps	0,010764
lcl PFiM 574 42-27-29-38-29-36-27-160 B. garinii lgl mlst ps	lcl PNov 180 43-28-30-90-87-36-28-34 B. garinii lgl mlst ps	0,007153
lcl PFR 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PNov 180 43-28-30-90-87-36-28-34 B. garinii lgl mlst ps	0,010764
lcl PFu 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PNov 180 43-28-30-90-87-36-28-34 B. garinii lgl mlst ps	0,008001
lcl PHC 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PNov 180 43-28-30-90-87-36-28-34 B. garinii lgl mlst ps	0,006941
lcl PHe 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PNov 180 43-28-30-90-87-36-28-34 B. garinii lgl mlst ps	0,006941
lcl PHei 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PNov 180 43-28-30-90-87-36-28-34 B. garinii lgl mlst ps	0,008
lcl PHez 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PNov 180 43-28-30-90-87-36-28-34 B. garinii lgl mlst ps	0,006941
lcl PKi 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PNov 180 43-28-30-90-87-36-28-34 B. garinii lgl mlst ps	0,007999
lcl PLa 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PNov 180 43-28-30-90-87-36-28-34 B. garinii lgl mlst ps	0,007999
lcl PLi 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PNov 180 43-28-30-90-87-36-28-34 B. garinii lgl mlst ps	0,008
lcl PMa 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PNov 180 43-28-30-90-87-36-28-34 B. garinii lgl mlst ps	0,008001
lcl PMag 575 185-147-134-160-34-170-144-161 B. garinii lgl mlst ps	lcl PNov 180 43-28-30-90-87-36-28-34 B. garinii lgl mlst ps	0,013114
lcl PMe 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PNov 180 43-28-30-90-87-36-28-34 B. garinii lgl mlst ps	0,008
lcl PMek 576 186-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PNov 180 43-28-30-90-87-36-28-34 B. garinii lgl mlst ps	0,010978
lcl PMit 177 42-27-29-92-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PNov 180 43-28-30-90-87-36-28-34 B. garinii lgl mlst ps	0,007153
lcl PMoel 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PNov 180 43-28-30-90-87-36-28-34 B. garinii lgl mlst ps	0,010764
lcl PNe 173 42-27-29-38-29-36-27-82 B. garinii lgl mlst ps	lcl PNov 180 43-28-30-90-87-36-28-34 B. garinii lgl mlst ps	0,007152
lcl PBe 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl POhm 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,00525
lcl PBes 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	lcl POhm 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,009488
lcl PBet 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl POhm 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0
lcl PBo 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl POhm 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0
lcl PBr 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl POhm 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,008426
lcl PBu 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl POhm 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,006096
lcl PCoo 573 40-25-26-159-27-34-25-31 B. garinii lgl mlst ps	lcl POhm 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,010341
lcl PFe 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl POhm 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,008426

lcl PFiM 574 42-27-29-38-29-36-27-160 B. garinii lgl mlst ps	lcl POhm 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,000209
lcl PFR 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl POhm 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,008426
lcl PFu 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl POhm 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,001047
lcl PHC 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl POhm 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0
lcl PHe 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl POhm 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0
lcl PHei 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl POhm 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,006096
lcl PHez 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl POhm 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0
lcl PKi 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl POhm 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,00525
lcl PLa 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl POhm 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,00525
lcl PLi 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl POhm 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,006096
lcl PMa 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl POhm 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,001047
lcl PMag 575 185-147-134-160-34-170-144-161 B. garinii lgl mlst ps	lcl POhm 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,011403
lcl PMe 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl POhm 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,006096
lcl PMek 576 186-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl POhm 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,008638
lcl PMit 177 42-27-29-92-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl POhm 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,000209
lcl PMoel 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl POhm 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,008426
lcl PNe 173 42-27-29-38-29-36-27-82 B. garinii lgl mlst ps	lcl POhm 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,000209
lcl PNov 180 43-28-30-90-87-36-28-34 B. garinii lgl mlst ps	lcl POhm 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,006941
lcl PBe 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PRa 577 187-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,00546
lcl PBes 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	lcl PRa 577 187-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,009699
lcl PBet 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PRa 577 187-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,000209
lcl PBol 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PRa 577 187-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,000209
lcl PBr 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PRa 577 187-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,008637
lcl PBu 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PRa 577 187-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,006306
lcl PCoo 573 40-25-26-159-27-34-25-31 B. garinii lgl mlst ps	lcl PRa 577 187-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,010553
lcl PFe 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PRa 577 187-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,008637
lcl PFiM 574 42-27-29-38-29-36-27-160 B. garinii lgl mlst ps	lcl PRa 577 187-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,000418
lcl PFR 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PRa 577 187-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,008637
lcl PFu 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PRa 577 187-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,001256

lcl PHC 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PRa 577 187-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,000209
lcl PHe 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PRa 577 187-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,000209
lcl PHei 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PRa 577 187-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,006306
lcl PHez 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PRa 577 187-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,000209
lcl PKi 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PRa 577 187-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,00546
lcl PLa 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PRa 577 187-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,00546
lcl PLi 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PRa 577 187-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,006306
lcl PMa 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PRa 577 187-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,001256
lcl PMag 575 185-147-134-160-34-170-144-161 B. garinii lgl mlst ps	lcl PRa 577 187-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,011615
lcl PMe 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PRa 577 187-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,006306
lcl PMek 576 186-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PRa 577 187-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,00885
lcl PMit 177 42-27-29-92-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PRa 577 187-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,000418
lcl PMoel 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PRa 577 187-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,008637
lcl PNel 173 42-27-29-38-29-36-27-82 B. garinii lgl mlst ps	lcl PRa 577 187-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,000418
lcl PNov 180 43-28-30-90-87-36-28-34 B. garinii lgl mlst ps	lcl PRa 577 187-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,007152
lcl POhm 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PRa 577 187-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,000209
lcl PBe 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PRas 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	0,009275
lcl PBes 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	lcl PRas 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	0
lcl PBet 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PRas 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	0,009488
lcl PBo 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PRas 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	0,009488
lcl PBr 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PRas 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	0,00885
lcl PBu 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PRas 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	0,008851
lcl PCoo 573 40-25-26-159-27-34-25-31 B. garinii lgl mlst ps	lcl PRas 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	0,009704
lcl PFe 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PRas 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	0,00885
lcl PFiM 574 42-27-29-38-29-36-27-160 B. garinii lgl mlst ps	lcl PRas 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	0,0097
lcl PFr 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PRas 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	0,00885
lcl PFu 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PRas 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	0,0097
lcl PHC 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PRas 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	0,009488
lcl PHe 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PRas 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	0,009488

lcl PHei 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PRas 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	0,008851
lcl PHez 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PRas 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	0,009488
lcl PKi 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PRas 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	0,009275
lcl PLa 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PRas 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	0,009275
lcl PLi 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PRas 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	0,008851
lcl PMa 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PRas 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	0,0097
lcl PMag 575 185-147-134-160-34-170-144-161 B. garinii lgl mlst ps	lcl PRas 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	0,010768
lcl PMe 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PRas 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	0,008851
lcl PMek 576 186-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PRas 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	0,009062
lcl PMit 177 42-27-29-92-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PRas 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	0,0097
lcl PMoel 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PRas 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	0,00885
lcl PNel 173 42-27-29-38-29-36-27-82 B. garinii lgl mlst ps	lcl PRas 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	0,009699
lcl PNov 180 43-28-30-90-87-36-28-34 B. garinii lgl mlst ps	lcl PRas 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	0,01034
lcl POhm 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PRas 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	0,009488
lcl PRa 577 187-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PRas 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	0,009699
lcl PBe 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PRef 482 95-74-34-96-89-78-77-154 B. garinii lgl mlst ps	0,009488
lcl PBes 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	lcl PRef 482 95-74-34-96-89-78-77-154 B. garinii lgl mlst ps	0,000209
lcl PBet 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PRef 482 95-74-34-96-89-78-77-154 B. garinii lgl mlst ps	0,0097
lcl PBo 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PRef 482 95-74-34-96-89-78-77-154 B. garinii lgl mlst ps	0,0097
lcl PBr 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PRef 482 95-74-34-96-89-78-77-154 B. garinii lgl mlst ps	0,009062
lcl PBu 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PRef 482 95-74-34-96-89-78-77-154 B. garinii lgl mlst ps	0,009064
lcl PCoo 573 40-25-26-159-27-34-25-31 B. garinii lgl mlst ps	lcl PRef 482 95-74-34-96-89-78-77-154 B. garinii lgl mlst ps	0,009917
lcl PFe 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PRef 482 95-74-34-96-89-78-77-154 B. garinii lgl mlst ps	0,009062
lcl PFiM 574 42-27-29-38-29-36-27-160 B. garinii lgl mlst ps	lcl PRef 482 95-74-34-96-89-78-77-154 B. garinii lgl mlst ps	0,009913
lcl PFr 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PRef 482 95-74-34-96-89-78-77-154 B. garinii lgl mlst ps	0,009062
lcl PFu 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PRef 482 95-74-34-96-89-78-77-154 B. garinii lgl mlst ps	0,009913
lcl PHC 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PRef 482 95-74-34-96-89-78-77-154 B. garinii lgl mlst ps	0,0097
lcl PHe 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PRef 482 95-74-34-96-89-78-77-154 B. garinii lgl mlst ps	0,0097
lcl PHei 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PRef 482 95-74-34-96-89-78-77-154 B. garinii lgl mlst ps	0,009064

lcl PHez 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PRef 482 95-74-34-96-89-78-77-154 B. garinii lgl mlst ps	0,0097
lcl PKi 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PRef 482 95-74-34-96-89-78-77-154 B. garinii lgl mlst ps	0,009488
lcl PLa 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PRef 482 95-74-34-96-89-78-77-154 B. garinii lgl mlst ps	0,009488
lcl PLi 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PRef 482 95-74-34-96-89-78-77-154 B. garinii lgl mlst ps	0,009064
lcl PMa 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PRef 482 95-74-34-96-89-78-77-154 B. garinii lgl mlst ps	0,009913
lcl PMag 575 185-147-134-160-34-170-144-161 B. garinii lgl mlst ps	lcl PRef 482 95-74-34-96-89-78-77-154 B. garinii lgl mlst ps	0,010981
lcl PMe 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PRef 482 95-74-34-96-89-78-77-154 B. garinii lgl mlst ps	0,009064
lcl PMek 576 186-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PRef 482 95-74-34-96-89-78-77-154 B. garinii lgl mlst ps	0,009275
lcl PMit 177 42-27-29-92-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PRef 482 95-74-34-96-89-78-77-154 B. garinii lgl mlst ps	0,009913
lcl PMoel 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PRef 482 95-74-34-96-89-78-77-154 B. garinii lgl mlst ps	0,009062
lcl PNe 173 42-27-29-38-29-36-27-82 B. garinii lgl mlst ps	lcl PRef 482 95-74-34-96-89-78-77-154 B. garinii lgl mlst ps	0,009912
lcl PNov 180 43-28-30-90-87-36-28-34 B. garinii lgl mlst ps	lcl PRef 482 95-74-34-96-89-78-77-154 B. garinii lgl mlst ps	0,010553
lcl POhm 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PRef 482 95-74-34-96-89-78-77-154 B. garinii lgl mlst ps	0,0097
lcl PRa 577 187-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PRef 482 95-74-34-96-89-78-77-154 B. garinii lgl mlst ps	0,009912
lcl PRas 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	lcl PRef 482 95-74-34-96-89-78-77-154 B. garinii lgl mlst ps	0,000209
lcl PBe 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSae 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,00525
lcl PBes 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSae 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,009488
lcl PBet 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSae 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0
lcl PBo 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSae 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0
lcl PBr 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSae 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,008426
lcl PBu 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSae 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,006096
lcl PCoo 573 40-25-26-159-27-34-25-31 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSae 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,010341
lcl PFe 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSae 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,008426
lcl PFiM 574 42-27-29-38-29-36-27-160 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSae 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,000209
lcl PFr 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSae 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,008426
lcl PFu 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSae 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,001047
lcl PHC 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSae 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0
lcl PHe 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSae 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0
lcl PHei 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSae 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,006096

lcl PHez 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSae 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0
lcl PKi 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSae 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,00525
lcl PLa 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSae 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,00525
lcl PLi 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSae 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,006096
lcl PMa 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSae 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,001047
lcl PMag 575 185-147-134-160-34-170-144-161 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSae 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,011403
lcl PMe 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSae 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,006096
lcl PMek 576 186-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSae 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,008638
lcl PMit 177 42-27-29-92-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSae 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,000209
lcl PMoel 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSae 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,008426
lcl PNe 173 42-27-29-38-29-36-27-82 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSae 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,000209
lcl PNov 180 43-28-30-90-87-36-28-34 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSae 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,006941
lcl POhm 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSae 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0
lcl PRa 577 187-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSae 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,000209
lcl PRas 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSae 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,009488
lcl PRef 482 95-74-34-96-89-78-77-154 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSae 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,0097
lcl PBe 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PScp 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0,006731
lcl PBes 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	lcl PScp 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0,008851
lcl PBet 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PScp 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0,006096
lcl PBol 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PScp 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0,006096
lcl PBr 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PScp 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0,006945
lcl PBu 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PScp 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0
lcl PCoo 573 40-25-26-159-27-34-25-31 B. garinii lgl mlst ps	lcl PScp 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0,010979
lcl PFe 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PScp 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0,006945
lcl PFiM 574 42-27-29-38-29-36-27-160 B. garinii lgl mlst ps	lcl PScp 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0,006307
lcl PFr 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PScp 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0,006945
lcl PFu 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PScp 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0,00504
lcl PHC 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PScp 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0,006096
lcl PHe 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PScp 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0,006096

lcl PHei 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PScp 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0
lcl PHez 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PScp 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0,006096
lcl PKi 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PScp 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0,006731
lcl PLa 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PScp 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0,006731
lcl PLi 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PScp 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0
lcl PMa 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PScp 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0,00504
lcl PMag 575 185-147-134-160-34-170-144-161 B. garinii lgl mlst ps	lcl PScp 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0,011191
lcl PMe 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PScp 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0
lcl PMek 576 186-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PScp 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0,007157
lcl PMit 177 42-27-29-92-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PScp 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0,006307
lcl PMoel 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PScp 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0,006945
lcl PNel 173 42-27-29-38-29-36-27-82 B. garinii lgl mlst ps	lcl PScp 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0,005885
lcl PNov 180 43-28-30-90-87-36-28-34 B. garinii lgl mlst ps	lcl PScp 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0,008
lcl POhm 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PScp 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0,006096
lcl PRa 577 187-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PScp 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0,006306
lcl PRas 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	lcl PScp 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0,008851
lcl PRef 482 95-74-34-96-89-78-77-154 B. garinii lgl mlst ps	lcl PScp 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0,009064
lcl PSae 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PScp 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	0,006096
lcl PBe 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSeS 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,00525
lcl PBes 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSeS 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,009488
lcl PBet 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSeS 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0
lcl PBol 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSeS 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0
lcl PBr 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSeS 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,008426
lcl PBu 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSeS 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,006096
lcl PCoo 573 40-25-26-159-27-34-25-31 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSeS 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,010341
lcl PFe 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSeS 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,008426
lcl PFiM 574 42-27-29-38-29-36-27-160 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSeS 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,000209
lcl PFr 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSeS 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,008426
lcl PFu 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSeS 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,001047

lcl PHC 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSeS 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0
lcl PHe 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSeS 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0
lcl PHei 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSeS 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,006096
lcl PHez 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSeS 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0
lcl PKi 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSeS 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,00525
lcl PLa 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSeS 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,00525
lcl PLi 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSeS 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,006096
lcl PMa 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSeS 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,001047
lcl PMag 575 185-147-134-160-34-170-144-161 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSeS 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,011403
lcl PMe 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSeS 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,006096
lcl PMek 576 186-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSeS 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,008638
lcl PMit 177 42-27-29-92-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSeS 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,000209
lcl PMoel 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSeS 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,008426
lcl PNel 173 42-27-29-38-29-36-27-82 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSeS 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,000209
lcl PNov 180 43-28-30-90-87-36-28-34 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSeS 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,006941
lcl POhm 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSeS 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0
lcl PRa 577 187-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSeS 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,000209
lcl PRas 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSeS 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,009488
lcl PRef 482 95-74-34-96-89-78-77-154 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSeS 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,0097
lcl PSae 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSeS 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0
lcl PScp 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSeS 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,006096
lcl PBe 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PShm 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	0,009275
lcl PBes 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	lcl PShm 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	0
lcl PBet 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PShm 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	0,009488
lcl PBo 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PShm 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	0,009488
lcl PBr 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PShm 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	0,00885
lcl PBu 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PShm 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	0,008851
lcl PCoo 573 40-25-26-159-27-34-25-31 B. garinii lgl mlst ps	lcl PShm 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	0,009704
lcl PFe 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PShm 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	0,00885

lcl PFiM 574 42-27-29-38-29-36-27-160 B. garinii lgl mlst ps	lcl PShm 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	0,0097
lcl PFR 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PShm 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	0,00885
lcl PFu 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PShm 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	0,0097
lcl PHC 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PShm 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	0,009488
lcl PHe 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PShm 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	0,009488
lcl PHei 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PShm 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	0,008851
lcl PHez 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PShm 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	0,009488
lcl PKi 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PShm 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	0,009275
lcl PLa 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PShm 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	0,009275
lcl PLi 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PShm 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	0,008851
lcl PMa 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PShm 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	0,0097
lcl PMag 575 185-147-134-160-34-170-144-161 B. garinii lgl mlst ps	lcl PShm 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	0,010768
lcl PMe 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PShm 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	0,008851
lcl PMek 576 186-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PShm 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	0,009062
lcl PMit 177 42-27-29-92-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PShm 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	0,0097
lcl PMoel 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PShm 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	0,00885
lcl PNe 173 42-27-29-38-29-36-27-82 B. garinii lgl mlst ps	lcl PShm 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	0,009699
lcl PNov 180 43-28-30-90-87-36-28-34 B. garinii lgl mlst ps	lcl PShm 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	0,01034
lcl POhm 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PShm 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	0,009488
lcl PRa 577 187-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PShm 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	0,009699
lcl PRas 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	lcl PShm 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	0
lcl PRef 482 95-74-34-96-89-78-77-154 B. garinii lgl mlst ps	lcl PShm 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	0,000209
lcl PSae 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PShm 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	0,009488
lcl PScp 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PShm 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	0,008851
lcl PSeS 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PShm 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	0,009488
lcl PBe 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSma 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008001
lcl PBes 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSma 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,00885
lcl PBet 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSma 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008426
lcl PBo 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSma 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008426

lcl PBr 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSma 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0
lcl PBu 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSma 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,006945
lcl PCoo 573 40-25-26-159-27-34-25-31 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSma 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,010764
lcl PFe 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSma 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0
lcl PFiM 574 42-27-29-38-29-36-27-160 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSma 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008638
lcl PFR 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSma 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0
lcl PFu 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSma 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008638
lcl PHC 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSma 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008426
lcl PHe 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSma 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008426
lcl PHei 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSma 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,006945
lcl PHez 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSma 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008426
lcl PKi 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSma 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008001
lcl PLa 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSma 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008001
lcl PLi 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSma 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,006945
lcl PMa 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSma 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008638
lcl PMag 575 185-147-134-160-34-170-144-161 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSma 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,012258
lcl PMe 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSma 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,006945
lcl PMek 576 186-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSma 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,000209
lcl PMit 177 42-27-29-92-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSma 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008638
lcl PMoel 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSma 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0
lcl PNe 173 42-27-29-38-29-36-27-82 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSma 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008215
lcl PNov 180 43-28-30-90-87-36-28-34 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSma 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,010764
lcl POhm 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSma 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008426
lcl PRa 577 187-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSma 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008637
lcl PRas 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSma 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,00885
lcl PRef 482 95-74-34-96-89-78-77-154 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSma 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,009062
lcl PSae 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSma 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008426
lcl PScp 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSma 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,006945
lcl PSeS 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSma 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008426

lcl PShm 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSma 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,00885
lcl PBe 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSoR 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,00525
lcl PBes 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSoR 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,009488
lcl PBet 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSoR 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0
lcl PBo 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSoR 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0
lcl PBr 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSoR 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,008426
lcl PBu 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSoR 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,006096
lcl PCoo 573 40-25-26-159-27-34-25-31 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSoR 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,010341
lcl PFe 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSoR 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,008426
lcl PFiM 574 42-27-29-38-29-36-27-160 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSoR 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,000209
lcl PFr 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSoR 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,008426
lcl PFu 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSoR 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,001047
lcl PHC 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSoR 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0
lcl PHe 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSoR 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0
lcl PHei 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSoR 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,006096
lcl PHez 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSoR 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0
lcl PKi 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSoR 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,00525
lcl PLa 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSoR 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,00525
lcl PLi 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSoR 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,006096
lcl PMa 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSoR 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,001047
lcl PMag 575 185-147-134-160-34-170-144-161 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSoR 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,011403
lcl PMe 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSoR 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,006096
lcl PMek 576 186-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSoR 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,008638
lcl PMit 177 42-27-29-92-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSoR 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,000209
lcl PMoel 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSoR 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,008426
lcl PNe 173 42-27-29-38-29-36-27-82 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSoR 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,000209
lcl PNov 180 43-28-30-90-87-36-28-34 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSoR 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,006941
lcl POhm 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSoR 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0
lcl PRa 577 187-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSoR 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,000209

lcl PRas 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSoR 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,009488
lcl PRef 482 95-74-34-96-89-78-77-154 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSoR 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,0097
lcl PSae 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSoR 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0
lcl PScp 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSoR 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,006096
lcl PSeS 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSoR 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0
lcl PShm 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSoR 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,009488
lcl PSma 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PSoR 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,008426
lcl PBe 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PStH 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008001
lcl PBes 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	lcl PStH 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,00885
lcl PBet 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PStH 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008426
lcl PBol 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PStH 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008426
lcl PBr 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PStH 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0
lcl PBu 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PStH 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,006945
lcl PCoo 573 40-25-26-159-27-34-25-31 B. garinii lgl mlst ps	lcl PStH 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,010764
lcl PFe 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PStH 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0
lcl PFiM 574 42-27-29-38-29-36-27-160 B. garinii lgl mlst ps	lcl PStH 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008638
lcl PFr 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PStH 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0
lcl PFu 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PStH 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008638
lcl PHC 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PStH 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008426
lcl PHe 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PStH 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008426
lcl PHei 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PStH 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,006945
lcl PHez 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PStH 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008426
lcl PKi 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PStH 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008001
lcl PLa 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PStH 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008001
lcl PLi 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PStH 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,006945
lcl PMa 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PStH 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008638
lcl PMag 575 185-147-134-160-34-170-144-161 B. garinii lgl mlst ps	lcl PStH 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,012258
lcl PMe 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PStH 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,006945
lcl PMek 576 186-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PStH 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,000209

lcl PMit 177 42-27-29-92-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PStH 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008638
lcl PMoel 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PStH 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0
lcl PNeI 173 42-27-29-38-29-36-27-82 B. garinii lgl mlst ps	lcl PStH 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008215
lcl PNov 180 43-28-30-90-87-36-28-34 B. garinii lgl mlst ps	lcl PStH 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,010764
lcl POhm 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PStH 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008426
lcl PRa 577 187-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PStH 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008637
lcl PRas 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	lcl PStH 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,00885
lcl PRef 482 95-74-34-96-89-78-77-154 B. garinii lgl mlst ps	lcl PStH 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,009062
lcl PSae 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PStH 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008426
lcl PScp 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PStH 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,006945
lcl PSeS 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PStH 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008426
lcl PShm 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	lcl PStH 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,00885
lcl PSma 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PStH 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0
lcl PSoR 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PStH 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008426
lcl PBe 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PStg 179 43-28-30-90-82-36-28-34 B. garinii lgl mlst ps	0,007787
lcl PBes 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	lcl PStg 179 43-28-30-90-82-36-28-34 B. garinii lgl mlst ps	0,010126
lcl PBet 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PStg 179 43-28-30-90-82-36-28-34 B. garinii lgl mlst ps	0,00673
lcl PBoI 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PStg 179 43-28-30-90-82-36-28-34 B. garinii lgl mlst ps	0,00673
lcl PBr 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PStg 179 43-28-30-90-82-36-28-34 B. garinii lgl mlst ps	0,010551
lcl PBu 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PStg 179 43-28-30-90-82-36-28-34 B. garinii lgl mlst ps	0,007788
lcl PCoo 573 40-25-26-159-27-34-25-31 B. garinii lgl mlst ps	lcl PStg 179 43-28-30-90-82-36-28-34 B. garinii lgl mlst ps	0,012264
lcl PFe 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PStg 179 43-28-30-90-82-36-28-34 B. garinii lgl mlst ps	0,010551
lcl PFiM 574 42-27-29-38-29-36-27-160 B. garinii lgl mlst ps	lcl PStg 179 43-28-30-90-82-36-28-34 B. garinii lgl mlst ps	0,006941
lcl PFr 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PStg 179 43-28-30-90-82-36-28-34 B. garinii lgl mlst ps	0,010551
lcl PFu 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PStg 179 43-28-30-90-82-36-28-34 B. garinii lgl mlst ps	0,007789
lcl PHC 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PStg 179 43-28-30-90-82-36-28-34 B. garinii lgl mlst ps	0,00673
lcl PHe 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PStg 179 43-28-30-90-82-36-28-34 B. garinii lgl mlst ps	0,00673
lcl PHei 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PStg 179 43-28-30-90-82-36-28-34 B. garinii lgl mlst ps	0,007788
lcl PHez 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PStg 179 43-28-30-90-82-36-28-34 B. garinii lgl mlst ps	0,00673
lcl PKi 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PStg 179 43-28-30-90-82-36-28-34 B. garinii lgl mlst ps	0,007787

lcl PLa 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PStg 179 43-28-30-90-82-36-28-34 B. garinii lgl mlst ps	0,007787
lcl PLi 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PStg 179 43-28-30-90-82-36-28-34 B. garinii lgl mlst ps	0,007788
lcl PMa 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PStg 179 43-28-30-90-82-36-28-34 B. garinii lgl mlst ps	0,007789
lcl PMag 575 185-147-134-160-34-170-144-161 B. garinii lgl mlst ps	lcl PStg 179 43-28-30-90-82-36-28-34 B. garinii lgl mlst ps	0,0129
lcl PMe 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PStg 179 43-28-30-90-82-36-28-34 B. garinii lgl mlst ps	0,007788
lcl PMek 576 186-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PStg 179 43-28-30-90-82-36-28-34 B. garinii lgl mlst ps	0,010764
lcl PMit 177 42-27-29-92-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PStg 179 43-28-30-90-82-36-28-34 B. garinii lgl mlst ps	0,006941
lcl PMoel 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PStg 179 43-28-30-90-82-36-28-34 B. garinii lgl mlst ps	0,010551
lcl PNe 173 42-27-29-38-29-36-27-82 B. garinii lgl mlst ps	lcl PStg 179 43-28-30-90-82-36-28-34 B. garinii lgl mlst ps	0,00694
lcl PNov 180 43-28-30-90-87-36-28-34 B. garinii lgl mlst ps	lcl PStg 179 43-28-30-90-82-36-28-34 B. garinii lgl mlst ps	0,000209
lcl POhm 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PStg 179 43-28-30-90-82-36-28-34 B. garinii lgl mlst ps	0,00673
lcl PRa 577 187-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PStg 179 43-28-30-90-82-36-28-34 B. garinii lgl mlst ps	0,00694
lcl PRas 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	lcl PStg 179 43-28-30-90-82-36-28-34 B. garinii lgl mlst ps	0,010126
lcl PRef 482 95-74-34-96-89-78-77-154 B. garinii lgl mlst ps	lcl PStg 179 43-28-30-90-82-36-28-34 B. garinii lgl mlst ps	0,01034
lcl PSae 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PStg 179 43-28-30-90-82-36-28-34 B. garinii lgl mlst ps	0,00673
lcl PScp 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PStg 179 43-28-30-90-82-36-28-34 B. garinii lgl mlst ps	0,007788
lcl PSeS 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PStg 179 43-28-30-90-82-36-28-34 B. garinii lgl mlst ps	0,00673
lcl PShm 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	lcl PStg 179 43-28-30-90-82-36-28-34 B. garinii lgl mlst ps	0,010126
lcl PSma 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PStg 179 43-28-30-90-82-36-28-34 B. garinii lgl mlst ps	0,010551
lcl PSoR 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PStg 179 43-28-30-90-82-36-28-34 B. garinii lgl mlst ps	0,00673
lcl PSth 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PStg 179 43-28-30-90-82-36-28-34 B. garinii lgl mlst ps	0,010551
lcl PBe 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PUh 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,006306
lcl PBes 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	lcl PUh 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,0097
lcl PBet 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PUh 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,001047
lcl PBo 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PUh 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,001047
lcl PBr 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PUh 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,008638
lcl PBu 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PUh 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,00504
lcl PCoo 573 40-25-26-159-27-34-25-31 B. garinii lgl mlst ps	lcl PUh 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,010981
lcl PFe 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PUh 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,008638

lcl PFiM 574 42-27-29-38-29-36-27-160 B. garinii lgl mlst ps	lcl PUh 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,001256
lcl PFR 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PUh 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,008638
lcl PFu 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PUh 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0
lcl PHC 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PUh 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,001047
lcl PHe 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PUh 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,001047
lcl PHei 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PUh 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,00504
lcl PHez 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PUh 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,001047
lcl PKi 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PUh 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,006306
lcl PLa 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PUh 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,006306
lcl PLi 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PUh 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,00504
lcl PMa 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PUh 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0
lcl PMag 575 185-147-134-160-34-170-144-161 B. garinii lgl mlst ps	lcl PUh 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,011616
lcl PMe 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PUh 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,00504
lcl PMek 576 186-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PUh 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,008851
lcl PMit 177 42-27-29-92-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PUh 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,001256
lcl PMoel 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PUh 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,008638
lcl PNe 173 42-27-29-38-29-36-27-82 B. garinii lgl mlst ps	lcl PUh 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,001256
lcl PNov 180 43-28-30-90-87-36-28-34 B. garinii lgl mlst ps	lcl PUh 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,008001
lcl POhm 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PUh 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,001047
lcl PRa 577 187-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PUh 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,001256
lcl PRas 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	lcl PUh 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,0097
lcl PRef 482 95-74-34-96-89-78-77-154 B. garinii lgl mlst ps	lcl PUh 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,009913
lcl PSae 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PUh 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,001047
lcl PScp 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PUh 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,00504
lcl PSeS 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PUh 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,001047
lcl PShm 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	lcl PUh 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,0097
lcl PSma 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PUh 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,008638
lcl PSoR 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PUh 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,001047
lcl PStH 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PUh 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,008638

lcl PStg 179 43-28-30-90-82-36-28-34 B. garinii lgl mlst ps	lcl PUh 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	0,007789
lcl PBe 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PUI 578 112-80-78-96-81-39-145-33 B. garinii lgl mlst ps	0,005674
lcl PBes 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	lcl PUI 578 112-80-78-96-81-39-145-33 B. garinii lgl mlst ps	0,00779
lcl PBet 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PUI 578 112-80-78-96-81-39-145-33 B. garinii lgl mlst ps	0,00504
lcl PBo 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PUI 578 112-80-78-96-81-39-145-33 B. garinii lgl mlst ps	0,00504
lcl PBr 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PUI 578 112-80-78-96-81-39-145-33 B. garinii lgl mlst ps	0,006732
lcl PBu 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PUI 578 112-80-78-96-81-39-145-33 B. garinii lgl mlst ps	0,001046
lcl PCoo 573 40-25-26-159-27-34-25-31 B. garinii lgl mlst ps	lcl PUI 578 112-80-78-96-81-39-145-33 B. garinii lgl mlst ps	0,010341
lcl PFe 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PUI 578 112-80-78-96-81-39-145-33 B. garinii lgl mlst ps	0,006732
lcl PFiM 574 42-27-29-38-29-36-27-160 B. garinii lgl mlst ps	lcl PUI 578 112-80-78-96-81-39-145-33 B. garinii lgl mlst ps	0,005252
lcl PFr 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PUI 578 112-80-78-96-81-39-145-33 B. garinii lgl mlst ps	0,006732
lcl PFu 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PUI 578 112-80-78-96-81-39-145-33 B. garinii lgl mlst ps	0,003986
lcl PHC 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PUI 578 112-80-78-96-81-39-145-33 B. garinii lgl mlst ps	0,00504
lcl PHe 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PUI 578 112-80-78-96-81-39-145-33 B. garinii lgl mlst ps	0,00504
lcl PHei 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PUI 578 112-80-78-96-81-39-145-33 B. garinii lgl mlst ps	0,001046
lcl PHez 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PUI 578 112-80-78-96-81-39-145-33 B. garinii lgl mlst ps	0,00504
lcl PKi 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PUI 578 112-80-78-96-81-39-145-33 B. garinii lgl mlst ps	0,005674
lcl PLa 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PUI 578 112-80-78-96-81-39-145-33 B. garinii lgl mlst ps	0,005674
lcl PLi 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PUI 578 112-80-78-96-81-39-145-33 B. garinii lgl mlst ps	0,001046
lcl PMa 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PUI 578 112-80-78-96-81-39-145-33 B. garinii lgl mlst ps	0,003986
lcl PMag 575 185-147-134-160-34-170-144-161 B. garinii lgl mlst ps	lcl PUI 578 112-80-78-96-81-39-145-33 B. garinii lgl mlst ps	0,010126
lcl PMe 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PUI 578 112-80-78-96-81-39-145-33 B. garinii lgl mlst ps	0,001046
lcl PMek 576 186-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PUI 578 112-80-78-96-81-39-145-33 B. garinii lgl mlst ps	0,006944
lcl PMit 177 42-27-29-92-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PUI 578 112-80-78-96-81-39-145-33 B. garinii lgl mlst ps	0,005252
lcl PMoel 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PUI 578 112-80-78-96-81-39-145-33 B. garinii lgl mlst ps	0,006732
lcl PNe 173 42-27-29-38-29-36-27-82 B. garinii lgl mlst ps	lcl PUI 578 112-80-78-96-81-39-145-33 B. garinii lgl mlst ps	0,005251
lcl PNov 180 43-28-30-90-87-36-28-34 B. garinii lgl mlst ps	lcl PUI 578 112-80-78-96-81-39-145-33 B. garinii lgl mlst ps	0,006941
lcl POhm 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PUI 578 112-80-78-96-81-39-145-33 B. garinii lgl mlst ps	0,00504
lcl PRa 577 187-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PUI 578 112-80-78-96-81-39-145-33 B. garinii lgl mlst ps	0,005251

lcl PRas 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	lcl PUI 578 112-80-78-96-81-39-145-33 B. garinii lgl mlst ps	0,00779
lcl PRef 482 95-74-34-96-89-78-77-154 B. garinii lgl mlst ps	lcl PUI 578 112-80-78-96-81-39-145-33 B. garinii lgl mlst ps	0,008003
lcl PSae 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PUI 578 112-80-78-96-81-39-145-33 B. garinii lgl mlst ps	0,00504
lcl PScp 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PUI 578 112-80-78-96-81-39-145-33 B. garinii lgl mlst ps	0,001046
lcl PSeS 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PUI 578 112-80-78-96-81-39-145-33 B. garinii lgl mlst ps	0,00504
lcl PShm 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	lcl PUI 578 112-80-78-96-81-39-145-33 B. garinii lgl mlst ps	0,00779
lcl PSma 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PUI 578 112-80-78-96-81-39-145-33 B. garinii lgl mlst ps	0,006732
lcl PSoR 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PUI 578 112-80-78-96-81-39-145-33 B. garinii lgl mlst ps	0,00504
lcl PStH 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PUI 578 112-80-78-96-81-39-145-33 B. garinii lgl mlst ps	0,006732
lcl PStg 179 43-28-30-90-82-36-28-34 B. garinii lgl mlst ps	lcl PUI 578 112-80-78-96-81-39-145-33 B. garinii lgl mlst ps	0,00673
lcl PUh 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PUI 578 112-80-78-96-81-39-145-33 B. garinii lgl mlst ps	0,003986
lcl PBe 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PWest 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008001
lcl PBes 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	lcl PWest 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,00885
lcl PBet 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PWest 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008426
lcl PBo 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PWest 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008426
lcl PBr 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PWest 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0
lcl PBu 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PWest 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,006945
lcl PCoo 573 40-25-26-159-27-34-25-31 B. garinii lgl mlst ps	lcl PWest 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,010764
lcl PFe 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PWest 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0
lcl PFiM 574 42-27-29-38-29-36-27-160 B. garinii lgl mlst ps	lcl PWest 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008638
lcl PFR 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PWest 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0
lcl PFu 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PWest 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008638
lcl PHC 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PWest 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008426
lcl PHe 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PWest 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008426
lcl PHei 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PWest 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,006945
lcl PHez 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PWest 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008426
lcl PKi 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PWest 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008001
lcl PLa 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PWest 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008001
lcl PLi 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PWest 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,006945
lcl PMa 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PWest 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008638

lcl PMag 575 185-147-134-160-34-170-144-161 B. garinii lgl mlst ps	lcl PWest 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,012258
lcl PMe 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PWest 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,006945
lcl PMek 576 186-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PWest 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,000209
lcl PMit 177 42-27-29-92-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PWest 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008638
lcl PMoel 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PWest 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0
lcl PNel 173 42-27-29-38-29-36-27-82 B. garinii lgl mlst ps	lcl PWest 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008215
lcl PNov 180 43-28-30-90-87-36-28-34 B. garinii lgl mlst ps	lcl PWest 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,010764
lcl POhm 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PWest 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008426
lcl PRa 577 187-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PWest 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008637
lcl PRas 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	lcl PWest 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,00885
lcl PRef 482 95-74-34-96-89-78-77-154 B. garinii lgl mlst ps	lcl PWest 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,009062
lcl PSae 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PWest 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008426
lcl PScp 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl PWest 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,006945
lcl PSeS 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PWest 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008426
lcl PShm 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	lcl PWest 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,00885
lcl PSma 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PWest 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0
lcl PSoR 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PWest 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008426
lcl PSth 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl PWest 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0
lcl PStg 179 43-28-30-90-82-36-28-34 B. garinii lgl mlst ps	lcl PWest 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,010551
lcl PUh 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PWest 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,008638
lcl PUl 578 112-80-78-96-81-39-145-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl PWest 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	0,006732
lcl PBe 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl 20047 82 40-25-26-36-27-34-25-31 B. garinii lgl mlst ps	0,010766
lcl PBes 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	lcl 20047 82 40-25-26-36-27-34-25-31 B. garinii lgl mlst ps	0,009492
lcl PBet 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl 20047 82 40-25-26-36-27-34-25-31 B. garinii lgl mlst ps	0,01013
lcl PBo 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl 20047 82 40-25-26-36-27-34-25-31 B. garinii lgl mlst ps	0,01013
lcl PBr 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl 20047 82 40-25-26-36-27-34-25-31 B. garinii lgl mlst ps	0,010553
lcl PBu 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl 20047 82 40-25-26-36-27-34-25-31 B. garinii lgl mlst ps	0,010768
lcl PCoo 573 40-25-26-159-27-34-25-31 B. garinii lgl mlst ps	lcl 20047 82 40-25-26-36-27-34-25-31 B. garinii lgl mlst ps	0,000209
lcl PFe 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl 20047 82 40-25-26-36-27-34-25-31 B. garinii lgl mlst ps	0,010553

lcl PFiM 574 42-27-29-38-29-36-27-160 B. garinii lgl mlst ps	lcl 20047 82 40-25-26-36-27-34-25-31 B. garinii lgl mlst ps	0,010343
lcl PFR 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl 20047 82 40-25-26-36-27-34-25-31 B. garinii lgl mlst ps	0,010553
lcl PFu 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl 20047 82 40-25-26-36-27-34-25-31 B. garinii lgl mlst ps	0,01077
lcl PHC 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl 20047 82 40-25-26-36-27-34-25-31 B. garinii lgl mlst ps	0,01013
lcl PHe 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl 20047 82 40-25-26-36-27-34-25-31 B. garinii lgl mlst ps	0,01013
lcl PHei 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl 20047 82 40-25-26-36-27-34-25-31 B. garinii lgl mlst ps	0,010768
lcl PHez 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl 20047 82 40-25-26-36-27-34-25-31 B. garinii lgl mlst ps	0,01013
lcl PKi 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl 20047 82 40-25-26-36-27-34-25-31 B. garinii lgl mlst ps	0,010766
lcl PLa 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl 20047 82 40-25-26-36-27-34-25-31 B. garinii lgl mlst ps	0,010766
lcl PLi 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl 20047 82 40-25-26-36-27-34-25-31 B. garinii lgl mlst ps	0,010768
lcl PMa 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl 20047 82 40-25-26-36-27-34-25-31 B. garinii lgl mlst ps	0,01077
lcl PMag 575 185-147-134-160-34-170-144-161 B. garinii lgl mlst ps	lcl 20047 82 40-25-26-36-27-34-25-31 B. garinii lgl mlst ps	0,012264
lcl PMe 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl 20047 82 40-25-26-36-27-34-25-31 B. garinii lgl mlst ps	0,010768
lcl PMek 576 186-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl 20047 82 40-25-26-36-27-34-25-31 B. garinii lgl mlst ps	0,010766
lcl PMit 177 42-27-29-92-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl 20047 82 40-25-26-36-27-34-25-31 B. garinii lgl mlst ps	0,010343
lcl PMoel 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl 20047 82 40-25-26-36-27-34-25-31 B. garinii lgl mlst ps	0,010553
lcl PNe 173 42-27-29-38-29-36-27-82 B. garinii lgl mlst ps	lcl 20047 82 40-25-26-36-27-34-25-31 B. garinii lgl mlst ps	0,010341
lcl PNov 180 43-28-30-90-87-36-28-34 B. garinii lgl mlst ps	lcl 20047 82 40-25-26-36-27-34-25-31 B. garinii lgl mlst ps	0,012266
lcl POhm 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl 20047 82 40-25-26-36-27-34-25-31 B. garinii lgl mlst ps	0,01013
lcl PRa 577 187-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl 20047 82 40-25-26-36-27-34-25-31 B. garinii lgl mlst ps	0,010341
lcl PRas 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	lcl 20047 82 40-25-26-36-27-34-25-31 B. garinii lgl mlst ps	0,009492
lcl PRef 482 95-74-34-96-89-78-77-154 B. garinii lgl mlst ps	lcl 20047 82 40-25-26-36-27-34-25-31 B. garinii lgl mlst ps	0,009705
lcl PSae 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl 20047 82 40-25-26-36-27-34-25-31 B. garinii lgl mlst ps	0,01013
lcl PScp 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl 20047 82 40-25-26-36-27-34-25-31 B. garinii lgl mlst ps	0,010768
lcl PSeS 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl 20047 82 40-25-26-36-27-34-25-31 B. garinii lgl mlst ps	0,01013
lcl PShm 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	lcl 20047 82 40-25-26-36-27-34-25-31 B. garinii lgl mlst ps	0,009492
lcl PSma 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl 20047 82 40-25-26-36-27-34-25-31 B. garinii lgl mlst ps	0,010553
lcl PSoR 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl 20047 82 40-25-26-36-27-34-25-31 B. garinii lgl mlst ps	0,01013
lcl PStH 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl 20047 82 40-25-26-36-27-34-25-31 B. garinii lgl mlst ps	0,010553

lcl PStg 179 43-28-30-90-82-36-28-34 B. garinii lgl mlst ps	lcl 20047 82 40-25-26-36-27-34-25-31 B. garinii lgl mlst ps	0,012052
lcl PUh 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl 20047 82 40-25-26-36-27-34-25-31 B. garinii lgl mlst ps	0,01077
lcl PUI 578 112-80-78-96-81-39-145-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl 20047 82 40-25-26-36-27-34-25-31 B. garinii lgl mlst ps	0,01013
lcl PWest 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl 20047 82 40-25-26-36-27-34-25-31 B. garinii lgl mlst ps	0,010553
lcl PBe 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl IP90 373 143-49-104-129-27-126-45-110 B. garinii lgl mlst ps	0,011405
lcl PBes 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	lcl IP90 373 143-49-104-129-27-126-45-110 B. garinii lgl mlst ps	0,012262
lcl PBet 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl IP90 373 143-49-104-129-27-126-45-110 B. garinii lgl mlst ps	0,010981
lcl PBo 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl IP90 373 143-49-104-129-27-126-45-110 B. garinii lgl mlst ps	0,010981
lcl PBr 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl IP90 373 143-49-104-129-27-126-45-110 B. garinii lgl mlst ps	0,012474
lcl PBu 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl IP90 373 143-49-104-129-27-126-45-110 B. garinii lgl mlst ps	0,011834
lcl PCoo 573 40-25-26-159-27-34-25-31 B. garinii lgl mlst ps	lcl IP90 373 143-49-104-129-27-126-45-110 B. garinii lgl mlst ps	0,009915
lcl PFe 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl IP90 373 143-49-104-129-27-126-45-110 B. garinii lgl mlst ps	0,012474
lcl PFiM 574 42-27-29-38-29-36-27-160 B. garinii lgl mlst ps	lcl IP90 373 143-49-104-129-27-126-45-110 B. garinii lgl mlst ps	0,011195
lcl PFR 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl IP90 373 143-49-104-129-27-126-45-110 B. garinii lgl mlst ps	0,012474
lcl PFu 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl IP90 373 143-49-104-129-27-126-45-110 B. garinii lgl mlst ps	0,011622
lcl PHC 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl IP90 373 143-49-104-129-27-126-45-110 B. garinii lgl mlst ps	0,010981
lcl PHe 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl IP90 373 143-49-104-129-27-126-45-110 B. garinii lgl mlst ps	0,010981
lcl PHei 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl IP90 373 143-49-104-129-27-126-45-110 B. garinii lgl mlst ps	0,011834
lcl PHez 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl IP90 373 143-49-104-129-27-126-45-110 B. garinii lgl mlst ps	0,010981
lcl PKi 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl IP90 373 143-49-104-129-27-126-45-110 B. garinii lgl mlst ps	0,011405
lcl PLa 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl IP90 373 143-49-104-129-27-126-45-110 B. garinii lgl mlst ps	0,011405
lcl PLi 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl IP90 373 143-49-104-129-27-126-45-110 B. garinii lgl mlst ps	0,011834
lcl PMa 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl IP90 373 143-49-104-129-27-126-45-110 B. garinii lgl mlst ps	0,011622
lcl PMag 575 185-147-134-160-34-170-144-161 B. garinii lgl mlst ps	lcl IP90 373 143-49-104-129-27-126-45-110 B. garinii lgl mlst ps	0,013328
lcl PMe 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl IP90 373 143-49-104-129-27-126-45-110 B. garinii lgl mlst ps	0,011834
lcl PMek 576 186-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl IP90 373 143-49-104-129-27-126-45-110 B. garinii lgl mlst ps	0,012688
lcl PMit 177 42-27-29-92-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl IP90 373 143-49-104-129-27-126-45-110 B. garinii lgl mlst ps	0,011195
lcl PMoel 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl IP90 373 143-49-104-129-27-126-45-110 B. garinii lgl mlst ps	0,012474
lcl PNel 173 42-27-29-38-29-36-27-82 B. garinii lgl mlst ps	lcl IP90 373 143-49-104-129-27-126-45-110 B. garinii lgl mlst ps	0,011193

lcl PNov 180 43-28-30-90-87-36-28-34 B. garinii lgl mlst ps	lcl IP90 373 143-49-104-129-27-126-45-110 B. garinii lgl mlst ps	0,010981
lcl POhm 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl IP90 373 143-49-104-129-27-126-45-110 B. garinii lgl mlst ps	0,010981
lcl PRa 577 187-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl IP90 373 143-49-104-129-27-126-45-110 B. garinii lgl mlst ps	0,011193
lcl PRas 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	lcl IP90 373 143-49-104-129-27-126-45-110 B. garinii lgl mlst ps	0,012262
lcl PRef 482 95-74-34-96-89-78-77-154 B. garinii lgl mlst ps	lcl IP90 373 143-49-104-129-27-126-45-110 B. garinii lgl mlst ps	0,012476
lcl PSae 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl IP90 373 143-49-104-129-27-126-45-110 B. garinii lgl mlst ps	0,010981
lcl PScp 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B. garinii lgl mlst ps	lcl IP90 373 143-49-104-129-27-126-45-110 B. garinii lgl mlst ps	0,011834
lcl PSeS 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl IP90 373 143-49-104-129-27-126-45-110 B. garinii lgl mlst ps	0,010981
lcl PShm 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B. garinii lgl mlst ps	lcl IP90 373 143-49-104-129-27-126-45-110 B. garinii lgl mlst ps	0,012262
lcl PSma 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl IP90 373 143-49-104-129-27-126-45-110 B. garinii lgl mlst ps	0,012474
lcl PSoR 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl IP90 373 143-49-104-129-27-126-45-110 B. garinii lgl mlst ps	0,010981
lcl PStH 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl IP90 373 143-49-104-129-27-126-45-110 B. garinii lgl mlst ps	0,012474
lcl PStg 179 43-28-30-90-82-36-28-34 B. garinii lgl mlst ps	lcl IP90 373 143-49-104-129-27-126-45-110 B. garinii lgl mlst ps	0,010768
lcl PUh 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl IP90 373 143-49-104-129-27-126-45-110 B. garinii lgl mlst ps	0,011622
lcl PUI 578 112-80-78-96-81-39-145-33 B. garinii lgl mlst ps	lcl IP90 373 143-49-104-129-27-126-45-110 B. garinii lgl mlst ps	0,011195
lcl PWest 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B. garinii lgl mlst ps	lcl IP90 373 143-49-104-129-27-126-45-110 B. garinii lgl mlst ps	0,012474
lcl 20047 82 40-25-26-36-27-34-25-31 B. garinii lgl mlst ps	lcl IP90 373 143-49-104-129-27-126-45-110 B. garinii lgl mlst ps	0,009704

Tabelle 7.15.1: *B. garinii*

Species 1	Species 2	Dist
lcl PBae 84 41-26-27-37-28-35-26-32 B._bavariensis lgl_mlst_ps	lcl PBar 84 41-26-27-37-28-35-26-32 B._bavariensis lgl_mlst_ps	0,000
lcl PBae 84 41-26-27-37-28-35-26-32 B._bavariensis lgl_mlst_ps	lcl PBi 84 41-26-27-37-28-35-26-32 B._bavariensis lgl_mlst_ps	0,000
lcl PBar 84 41-26-27-37-28-35-26-32 B._bavariensis lgl_mlst_ps	lcl PBi 84 41-26-27-37-28-35-26-32 B._bavariensis lgl_mlst_ps	0,000
lcl PBae 84 41-26-27-37-28-35-26-32 B._bavariensis lgl_mlst_ps	lcl PBN 84 41-26-27-37-28-35-26-32 B._bavariensis lgl_mlst_ps	0,000
lcl PBar 84 41-26-27-37-28-35-26-32 B._bavariensis lgl_mlst_ps	lcl PBN 84 41-26-27-37-28-35-26-32 B._bavariensis lgl_mlst_ps	0,000
lcl PBi 84 41-26-27-37-28-35-26-32 B._bavariensis lgl_mlst_ps	lcl PBN 84 41-26-27-37-28-35-26-32 B._bavariensis lgl_mlst_ps	0,000
lcl PBae 84 41-26-27-37-28-35-26-32 B._bavariensis lgl_mlst_ps	lcl PEi 84 41-26-27-37-28-35-26-32 B._bavariensis lgl_mlst_ps	0,000
lcl PBar 84 41-26-27-37-28-35-26-32 B._bavariensis lgl_mlst_ps	lcl PEi 84 41-26-27-37-28-35-26-32 B._bavariensis lgl_mlst_ps	0,000

lcl PBe 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B._garinii lgl_mlst_ps	0,021	0,021					
lcl PBes 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B._garinii lgl_mlst_ps	0,022	0,022	0,009				
lcl PBet 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B._garinii lgl_mlst_ps	0,021	0,021	0,005	0,009			
lcl PBi 84 41-26-27-37-28-35-26-32 B._bavariensis lgl_mlst_ps	0,000	0,000	0,021	0,022	0,021		
lcl PBN 84 41-26-27-37-28-35-26-32 B._bavariensis lgl_mlst_ps	0,000	0,000	0,021	0,022	0,021	0,000	
lcl PBo 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B._garinii lgl_mlst_ps	0,021	0,021	0,005	0,009	0,000	0,021	0,021
lcl PBr 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B._garinii lgl_mlst_ps	0,020	0,020	0,008	0,009	0,008	0,020	0,020
lcl PBu 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B._garinii lgl_mlst_ps	0,020	0,020	0,007	0,009	0,006	0,020	0,020
lcl PCoo 573 40-25-26-159-27-34-25-31 B._garinii lgl_mlst_ps	0,020	0,020	0,011	0,010	0,010	0,020	0,020
lcl PEi 84 41-26-27-37-28-35-26-32 B._bavariensis lgl_mlst_ps	0,000	0,000	0,021	0,022	0,021	0,000	0,000
lcl PFe 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B._garinii lgl_mlst_ps	0,020	0,020	0,008	0,009	0,008	0,020	0,020
lcl PFei 84 41-26-27-37-28-35-26-32 B._bavariensis lgl_mlst_ps	0,000	0,000	0,021	0,022	0,021	0,000	0,000
lcl PFiM 574 42-27-29-38-29-36-27-160 B._garinii lgl_mlst_ps	0,021	0,021	0,005	0,010	0,000	0,021	0,021
lcl PFin 84 41-26-27-37-28-35-26-32 B._bavariensis lgl_mlst_ps	0,000	0,000	0,021	0,022	0,021	0,000	0,000
lcl PFik 84 41-26-27-37-28-35-26-32 B._bavariensis lgl_mlst_ps	0,000	0,000	0,021	0,022	0,021	0,000	0,000
lcl PFo 84 41-26-27-37-28-35-26-32 B._bavariensis lgl_mlst_ps	0,000	0,000	0,021	0,022	0,021	0,000	0,000
lcl PFr 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B._garinii lgl_mlst_ps	0,020	0,020	0,008	0,009	0,008	0,020	0,020
lcl PFu 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B._garinii lgl_mlst_ps	0,021	0,021	0,006	0,010	0,001	0,021	0,021
lcl PHC 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B._garinii lgl_mlst_ps	0,021	0,021	0,005	0,009	0,000	0,021	0,021
lcl PHe 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B._garinii lgl_mlst_ps	0,021	0,021	0,005	0,009	0,000	0,021	0,021
lcl PHei 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B._garinii lgl_mlst_ps	0,020	0,020	0,007	0,009	0,006	0,020	0,020
lcl PHerl 84 41-26-27-37-28-35-26-32 B._bavariensis lgl_mlst_ps	0,000	0,000	0,021	0,022	0,021	0,000	0,000
lcl PHez 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B._garinii lgl_mlst_ps	0,021	0,021	0,005	0,009	0,000	0,021	0,021
lcl PHoe 84 41-26-27-37-28-35-26-32 B._bavariensis lgl_mlst_ps	0,000	0,000	0,021	0,022	0,021	0,000	0,000
lcl PKi 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B._garinii lgl_mlst_ps	0,021	0,021	0,000	0,009	0,005	0,021	0,021
lcl PLa 245 99-77-81-91-88-84-82-33 B._garinii lgl_mlst_ps	0,021	0,021	0,000	0,009	0,005	0,021	0,021
lcl PLad 84 41-26-27-37-28-35-26-32 B._bavariensis lgl_mlst_ps	0,000	0,000	0,021	0,022	0,021	0,000	0,000
lcl PLeh 84 41-26-27-37-28-35-26-32 B._bavariensis lgl_mlst_ps	0,000	0,000	0,021	0,022	0,021	0,000	0,000
lcl PLep 85 41-26-28-37-28-35-26-32 B._bavariensis lgl_mlst_ps	0,000	0,000	0,021	0,023	0,021	0,000	0,000
lcl PLi 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B._garinii lgl_mlst_ps	0,020	0,020	0,007	0,009	0,006	0,020	0,020
lcl PMa 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B._garinii lgl_mlst_ps	0,021	0,021	0,006	0,010	0,001	0,021	0,021

lcl PMag 575 185-147-134-160-34-170-144-161 B._garinii lg _mlst_ps	0,023	0,023	0,012	0,011	0,011	0,023	0,023
lcl PMch 84 41-26-27-37-28-35-26-32 B._bavariensis lg _mlst_ps	0,000	0,000	0,021	0,022	0,021	0,000	0,000
lcl PMe 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B._garinii lg _mlst_ps	0,020	0,020	0,007	0,009	0,006	0,020	0,020
lcl PMek 576 186-34-34-44-37-42-33-39 B._garinii lg _mlst_ps	0,020	0,020	0,008	0,009	0,009	0,020	0,020
lcl PMit 177 42-27-29-92-29-36-27-33 B._garinii lg _mlst_ps	0,021	0,021	0,005	0,010	0,000	0,021	0,021
lcl PMoel 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B._garinii lg _mlst_ps	0,020	0,020	0,008	0,009	0,008	0,020	0,020
lcl PMuee 84 41-26-27-37-28-35-26-32 B._bavariensis lg _mlst_ps	0,000	0,000	0,021	0,022	0,021	0,000	0,000
lcl PMun 84 41-26-27-37-28-35-26-32 B.bavariensis lg _mlst_ps	0,000	0,000	0,021	0,022	0,021	0,000	0,000
lcl PNeb 84 41-26-27-37-28-35-26-32 B.bavariensis lg _mlst_ps	0,000	0,000	0,021	0,022	0,021	0,000	0,000
lcl PNe 173 42-27-29-38-29-36-27-82 B._garinii lg _mlst_ps	0,021	0,021	0,005	0,010	0,000	0,021	0,021
lcl PNi 84 41-26-27-37-28-35-26-32 B.bavariensis lg _mlst_ps	0,000	0,000	0,021	0,022	0,021	0,000	0,000
lcl PNov 180 43-28-30-90-87-36-28-34 B._garinii lg _mlst_ps	0,021	0,021	0,008	0,010	0,007	0,021	0,021
lcl POhm 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B._garinii lg _mlst_ps	0,021	0,021	0,005	0,009	0,000	0,021	0,021
lcl POb 85 41-26-28-37-28-35-26-32 B.bavariensis lg _mlst_ps	0,000	0,000	0,021	0,023	0,021	0,000	0,000
lcl PRa 577 187-27-29-38-29-36-27-33 B._garinii lg _mlst_ps	0,021	0,021	0,005	0,010	0,000	0,021	0,021
lcl PRab 84 41-26-27-37-28-35-26-32 B.bavariensis lg _mlst_ps	0,000	0,000	0,021	0,022	0,021	0,000	0,000
lcl PRas 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B._garinii lg _mlst_ps	0,022	0,022	0,009	0,000	0,009	0,022	0,022
lcl PRef 482 95-74-34-96-89-78-77-154 B._garinii lg _mlst_ps	0,023	0,023	0,009	0,000	0,010	0,023	0,023
lcl PRef 84 41-26-27-37-28-35-26-32 B.bavariensis lg _mlst_ps	0,000	0,000	0,021	0,022	0,021	0,000	0,000
lcl PSae 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B._garinii lg _mlst_ps	0,021	0,021	0,005	0,009	0,000	0,021	0,021
lcl PScf 84 41-26-27-37-28-35-26-32 B.bavariensis lg _mlst_ps	0,000	0,000	0,021	0,022	0,021	0,000	0,000
lcl PScp 246 112-80-78-99-81-39-79-87 B._garinii lg _mlst_ps	0,020	0,020	0,007	0,009	0,006	0,020	0,020
lcl PSeS 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B._garinii lg _mlst_ps	0,021	0,021	0,005	0,009	0,000	0,021	0,021
lcl PSh 84 41-26-27-37-28-35-26-32 B.bavariensis lg _mlst_ps	0,000	0,000	0,021	0,022	0,021	0,000	0,000
lcl PShm 251 95-74-34-96-89-78-77-85 B._garinii lg _mlst_ps	0,022	0,022	0,009	0,000	0,009	0,022	0,022
lcl PSig 84 41-26-27-37-28-35-26-32 B._bavariensis lg _mlst_ps	0,000	0,000	0,021	0,022	0,021	0,000	0,000
lcl PSma 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B._garinii lg _mlst_ps	0,020	0,020	0,008	0,009	0,008	0,020	0,020
lcl PSoR 86 42-27-29-38-29-36-27-33 B._garinii lg _mlst_ps	0,021	0,021	0,005	0,009	0,000	0,021	0,021
lcl PStg 179 43-28-30-90-82-36-28-34 B._garinii lg _mlst_ps	0,021	0,021	0,008	0,010	0,007	0,021	0,021
lcl PSth 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B._garinii lg _mlst_ps	0,020	0,020	0,008	0,009	0,008	0,020	0,020

lcl PTrob 85 41-26-28-37-28-35-26-32 B._bavariensis lgl_mlst_ps	0,000	0,000	0,021	0,023	0,021	0,000	0,000
lcl PUh 87 42-27-29-38-29-39-27-33 B._garinii lgl_mlst_ps	0,021	0,021	0,006	0,010	0,001	0,021	0,021
lcl PUI 578 112-80-78-96-81-39-145-33 B._garinii lgl_mlst_ps	0,020	0,020	0,006	0,008	0,005	0,020	0,020
lcl PVo 84 41-26-27-37-28-35-26-32 B._bavariensis lgl_mlst_ps	0,000	0,000	0,021	0,022	0,021	0,000	0,000
lcl PWa 84 41-26-27-37-28-35-26-32 B.bavariensis lgl_mlst_ps	0,000	0,000	0,021	0,022	0,021	0,000	0,000
lcl PWat 84 41-26-27-37-28-35-26-32 B._bavariensis 579 lgl_mlst_ps	0,000	0,000	0,021	0,022	0,021	0,000	0,000
lcl PWest 244 48-34-34-44-37-42-33-39 B._garinii lgl_mlst_ps	0,020	0,020	0,008	0,009	0,008	0,020	0,020
lcl PWin 84 41-26-27-37-28-35-26-32 B._bavariensis 579 lgl_mlst_ps	0,000	0,000	0,021	0,022	0,021	0,000	0,000
lcl PZwi 85 41-26-28-37-28-35-26-32 B._bavariensis 579 lgl_mlst_ps	0,000	0,000	0,021	0,023	0,021	0,000	0,000

0,008																	
0,006	0,007																
0,010	0,011	0,011															
0,021	0,020	0,020	0,020														
0,008	0,000	0,007	0,011	0,020													
0,021	0,020	0,020	0,020	0,000	0,020												
0,000	0,009	0,006	0,011	0,021	0,009	0,021											
0,021	0,020	0,020	0,020	0,000	0,020	0,000	0,021										
0,021	0,020	0,020	0,020	0,000	0,020	0,000	0,021	0,000									
0,021	0,020	0,020	0,020	0,000	0,020	0,000	0,021	0,000	0,000								
0,008	0,000	0,007	0,011	0,020	0,000	0,020	0,009	0,020	0,020	0,020							
0,001	0,009	0,005	0,011	0,021	0,009	0,021	0,001	0,021	0,021	0,021	0,009						
0,000	0,008	0,006	0,010	0,021	0,008	0,021	0,000	0,021	0,021	0,021	0,008	0,001					
0,000	0,008	0,006	0,010	0,021	0,008	0,021	0,000	0,021	0,021	0,021	0,008	0,001	0,000				
0,006	0,007	0,000	0,011	0,020	0,007	0,020	0,006	0,020	0,020	0,020	0,007	0,005	0,006	0,006			
0,021	0,020	0,020	0,020	0,000	0,020	0,000	0,021	0,000	0,000	0,000	0,020	0,021	0,021	0,021	0,020		
0,000	0,008	0,006	0,010	0,021	0,008	0,021	0,000	0,021	0,021	0,021	0,008	0,001	0,000	0,000	0,006		
0,021	0,020	0,020	0,020	0,000	0,020	0,000	0,021	0,000	0,000	0,000	0,020	0,021	0,021	0,021	0,020		
0,005	0,008	0,007	0,011	0,021	0,008	0,021	0,005	0,021	0,021	0,021	0,008	0,006	0,005	0,005	0,007		
0,005	0,008	0,007	0,011	0,021	0,008	0,021	0,005	0,021	0,021	0,021	0,008	0,006	0,005	0,005	0,007		

0,008	0,000	0,007	0,011	0,020	0,000	0,020	0,009	0,020	0,020	0,020	0,000	0,009	0,008	0,008	0,007
0,000	0,008	0,006	0,010	0,021	0,008	0,021	0,000	0,021	0,021	0,021	0,008	0,001	0,000	0,000	0,006
0,007	0,011	0,008	0,012	0,021	0,011	0,021	0,007	0,021	0,021	0,021	0,011	0,008	0,007	0,007	0,008
0,008	0,000	0,007	0,011	0,020	0,000	0,020	0,009	0,020	0,020	0,020	0,000	0,009	0,008	0,008	0,007
0,021	0,020	0,020	0,020	0,000	0,020	0,000	0,021	0,000	0,000	0,000	0,020	0,021	0,021	0,021	0,020
0,001	0,009	0,005	0,011	0,021	0,009	0,021	0,001	0,021	0,021	0,021	0,009	0,000	0,001	0,001	0,005
0,005	0,007	0,001	0,010	0,020	0,007	0,020	0,005	0,020	0,020	0,020	0,007	0,004	0,005	0,005	0,001
0,021	0,020	0,020	0,020	0,000	0,020	0,000	0,021	0,000	0,000	0,000	0,020	0,021	0,021	0,021	0,020
0,021	0,020	0,020	0,020	0,000	0,020	0,000	0,021	0,000	0,000	0,000	0,020	0,021	0,021	0,021	0,020
0,021	0,020	0,020	0,020	0,000	0,020	0,000	0,021	0,000	0,000	0,000	0,020	0,021	0,021	0,021	0,020
0,008	0,000	0,007	0,011	0,020	0,000	0,020	0,009	0,020	0,020	0,020	0,000	0,009	0,008	0,008	0,007
0,021	0,020	0,020	0,020	0,000	0,020	0,000	0,021	0,000	0,000	0,000	0,020	0,021	0,021	0,021	0,020
0,021	0,020	0,020	0,020	0,000	0,020	0,000	0,021	0,000	0,000	0,000	0,020	0,021	0,021	0,021	0,020

0,021															
0,000	0,021														
0,021	0,005	0,021													
0,021	0,005	0,021	0,000												
0,000	0,021	0,000	0,021	0,021											
0,000	0,021	0,000	0,021	0,021	0,000										
0,000	0,021	0,000	0,021	0,021	0,000	0,000									
0,020	0,006	0,020	0,007	0,007	0,020	0,020	0,020								
0,021	0,001	0,021	0,006	0,006	0,021	0,021	0,021	0,005							
0,023	0,011	0,023	0,012	0,012	0,023	0,023	0,023	0,011	0,012						
0,000	0,021	0,000	0,021	0,021	0,000	0,000	0,000	0,020	0,021	0,023					
0,020	0,006	0,020	0,007	0,007	0,020	0,020	0,020	0,000	0,005	0,011	0,020				
0,020	0,009	0,020	0,008	0,008	0,020	0,020	0,021	0,007	0,009	0,012	0,020	0,007			
0,021	0,000	0,021	0,005	0,005	0,021	0,021	0,021	0,006	0,001	0,012	0,021	0,006	0,009		
0,020	0,008	0,020	0,008	0,008	0,020	0,020	0,020	0,007	0,009	0,012	0,020	0,007	0,000	0,009	
0,000	0,021	0,000	0,021	0,021	0,000	0,000	0,000	0,020	0,021	0,023	0,000	0,020	0,020	0,021	0,020

0,000	0,021	0,000	0,021	0,021	0,000	0,000	0,000	0,020	0,021	0,023	0,000	0,020	0,021	0,021	0,020
0,000															
0,000	0,000														
0,021	0,021	0,021													
0,000	0,000	0,000	0,021												
0,021	0,021	0,021	0,007	0,021											
0,021	0,021	0,021	0,000	0,021	0,007										
0,000	0,000	0,000	0,021	0,000	0,021	0,021									
0,021	0,021	0,021	0,000	0,021	0,007	0,000	0,021								
0,000	0,000	0,000	0,021	0,000	0,021	0,021	0,000	0,021							
0,022	0,022	0,022	0,010	0,022	0,010	0,009	0,023	0,010	0,022						
0,023	0,023	0,023	0,010	0,023	0,011	0,010	0,023	0,010	0,023	0,000					
0,000	0,000	0,000	0,021	0,000	0,021	0,021	0,000	0,021	0,000	0,022	0,023				
0,021	0,021	0,021	0,000	0,021	0,007	0,000	0,021	0,000	0,021	0,009	0,010	0,021			
0,000	0,000	0,000	0,021	0,000	0,021	0,021	0,000	0,021	0,000	0,022	0,023	0,000	0,021		
0,020	0,020	0,020	0,006	0,020	0,008	0,006	0,020	0,006	0,020	0,009	0,009	0,020	0,006	0,020	
0,021	0,021	0,021	0,000	0,021	0,007	0,000	0,021	0,000	0,021	0,009	0,010	0,021	0,000	0,021	0,006
0,000	0,000	0,000	0,021	0,000	0,021	0,021	0,000	0,021	0,000	0,022	0,023	0,000	0,021	0,000	0,020
0,022	0,022	0,022	0,010	0,022	0,010	0,009	0,023	0,010	0,022	0,000	0,000	0,022	0,009	0,022	0,009
0,000	0,000	0,000	0,021	0,000	0,021	0,021	0,000	0,021	0,000	0,022	0,023	0,000	0,021	0,000	0,020
0,020	0,020	0,020	0,008	0,020	0,011	0,008	0,020	0,009	0,020	0,009	0,009	0,020	0,008	0,020	0,007
0,021	0,021	0,021	0,000	0,021	0,007	0,000	0,021	0,000	0,021	0,009	0,010	0,021	0,000	0,021	0,006
0,021	0,021	0,021	0,007	0,021	0,000	0,007	0,021	0,007	0,021	0,010	0,010	0,021	0,007	0,021	0,008
0,020	0,020	0,020	0,008	0,020	0,011	0,008	0,020	0,009	0,020	0,009	0,009	0,020	0,008	0,020	0,007
0,000	0,000	0,000	0,021	0,000	0,021	0,021	0,000	0,021	0,000	0,023	0,023	0,000	0,021	0,000	0,020
0,021	0,021	0,021	0,001	0,021	0,008	0,001	0,021	0,001	0,021	0,010	0,010	0,021	0,001	0,021	0,005
0,020	0,020	0,020	0,005	0,020	0,007	0,005	0,020	0,005	0,020	0,008	0,008	0,020	0,005	0,020	0,001
0,000	0,000	0,000	0,021	0,000	0,021	0,021	0,000	0,021	0,000	0,022	0,023	0,000	0,021	0,000	0,020
0,000	0,000	0,000	0,021	0,000	0,021	0,021	0,000	0,021	0,000	0,022	0,023	0,000	0,021	0,000	0,020

0,000	0,000	0,000	0,021	0,000	0,021	0,021	0,000	0,021	0,000	0,022	0,023	0,000	0,021	0,000	0,020
0,020	0,020	0,020	0,008	0,020	0,011	0,008	0,020	0,009	0,020	0,009	0,009	0,020	0,008	0,020	0,007
0,000	0,000	0,000	0,021	0,000	0,021	0,021	0,000	0,021	0,000	0,022	0,023	0,000	0,021	0,000	0,020
0,000	0,000	0,000	0,021	0,000	0,021	0,021	0,000	0,021	0,000	0,023	0,023	0,000	0,021	0,000	0,020

0,021															
0,009	0,022														
0,021	0,000	0,022													
0,008	0,020	0,009	0,020												
0,000	0,021	0,009	0,021	0,008											
0,007	0,021	0,010	0,021	0,011	0,007										
0,008	0,020	0,009	0,020	0,000	0,008	0,011									
0,021	0,000	0,023	0,000	0,020	0,021	0,021	0,020								
0,001	0,021	0,010	0,021	0,009	0,001	0,008	0,009	0,021							
0,005	0,020	0,008	0,020	0,007	0,005	0,007	0,007	0,020	0,004						
0,021	0,000	0,022	0,000	0,020	0,021	0,021	0,020	0,000	0,021	0,020					
0,021	0,000	0,022	0,000	0,020	0,021	0,021	0,020	0,000	0,021	0,020	0,000				
0,021	0,000	0,022	0,000	0,020	0,021	0,021	0,020	0,000	0,021	0,020	0,000	0,000			
0,008	0,020	0,009	0,020	0,000	0,008	0,011	0,000	0,020	0,009	0,007	0,020	0,020	0,020		
0,021	0,000	0,022	0,000	0,020	0,021	0,021	0,020	0,000	0,021	0,020	0,000	0,000	0,000	0,020	
0,021	0,000	0,023	0,000	0,020	0,021	0,021	0,020	0,000	0,021	0,020	0,000	0,000	0,000	0,020	0,000

Tabelle 7.15.3 *B. garinii* und *B. bavariensis*