

2. LITERATURÜBERSICHT

2.1. Erreger

2.1.1. Taxonomie

Der Erreger der Lyme-Borreliose gehört zu den schraubenförmigen Bakterien, die taxonomisch zur Ordnung *Spirochaetales* gehören. Innerhalb dieser Ordnung werden zwei Familien unterschieden, die *Spirochaetaceae* und die *Leptospiraceae*. Die Familie der *Spirochaetaceae* umfasst neben dem Genus *Borrelia* noch 6 weitere Gattungen (MASUZAWA and YANAGIHARA, 1998). Die Verbreitung und Übertragung dieser Spirochäten ist an blutsaugende Arthropoden (in der Regel Zecken) gebunden.

Durch genetische Analysen der Spezies *B. burgdorferi* s.l. wurden drei Genospezies definiert: *B. burgdorferi* s.s., *B. garinii*, *B. afzelii* (Gruppe VS461) (SCHÖNBERG et al., 1995). Des weiteren werden in Europa *B. valaisiana* (Gruppe VS116) und *B. lusitaniae* (Gruppe PotiB2), in Nordamerika *B. andersonii* (Gruppe 21038), *B. bissettii* (Gruppe DN127) und *B. lonestari*, ferner in Japan *B. japonica*, *B. miyamotoi*, *B. tanukii* sowie *B. turdae* beschrieben (FUKUNAGA, 1997; LE FLECHE et al., 1997; MASUZAWA, 1997; KURTENBACH et al., 1999; SIMON et al., 1999).

Ordnung: Spirochaetales

Familie: Spirochaetaceae Leptospiraceae

Gattung: Spirochaeta
Critispira
Treponema
Borrelia
Serpulina
Brachyspira
Brevinema

Leptonema
Leptospira
Turneria

Spezies: *B. burgdorferi* s.l.

Genospezies: B. burgdorferi s.s.
B. garinii
B. afzelii (Gruppe VS461)

2.1.2. Morphologie

Borrelien sind spiralförmige Bakterien mit 4 bis 10 Windungen. Sie sind 10 bis 30 μm lang und 0,18 bis 0,25 μm dick (HAYES and BURGDORFER, 1993). Die Morphologie des Erregers wird in den Abb. 1 und 2 veranschaulicht.

Der helikale Protoplasmazyylinder mit dem Chromosom und den Plasmiden wird von einer Cytoplasmamembran (innere Membran) eingeschlossen, die wiederum von einer äußeren Membran umgeben ist. Der periplasmatische Raum zwischen den beiden Schichten enthält 3 bis 18 Endoflagellen, die bei *B. burgdorferi* subterminal an beiden Enden des Protoplasmazyinders inserieren und parallel zur Längsachse verlaufen (JOHNSON et al., 1984a; HOVIND-HOUGEN, 1984). Die Borrelien sind von einer amorphen mukoiden Schicht (S-Layer) umgeben, welche sich leicht von der äußeren Membran ablösen lässt (KRAICZY et al., 1998). Die Motilität kommt durch Knickung, Streckung und Rotation zustande.

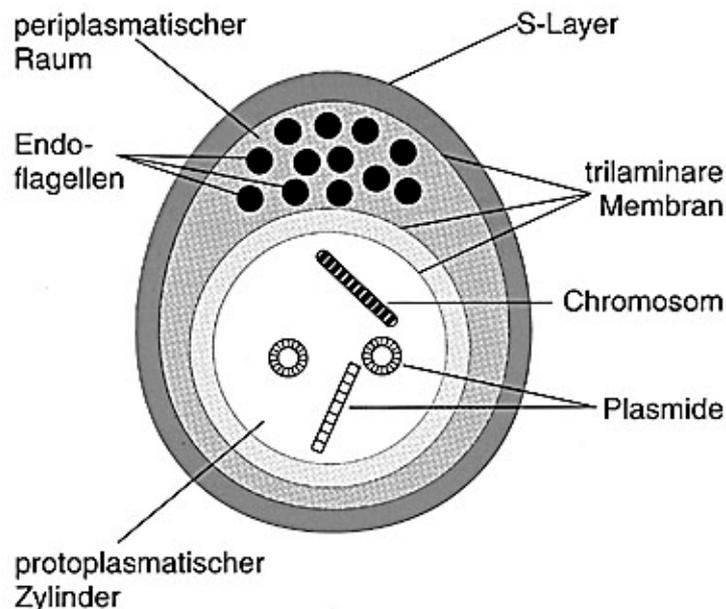


Abb. 1: Schematischer Aufbau einer Borrelie im Querschnitt (nach KRAICZY et al., 1998)

Verschiedene Borrelien-Stämme neigen zur Zystenbildung, die mit einer vermehrten Formation von kleinen, extrazellulären, membrangebundenen oder freiliegenden Vesikeln oder „Blebs“ einhergeht (SCHULZE et al., 1995; PREAC-MURSIC et al., 1996). Die Bildung dieser Bläschen wird beobachtet, wenn Borrelien mit Penicillin, hypotonen Lösungen oder spezifischen Antikörpern in Kontakt kommen. Ferner sieht man sie in gefrorenen und aufgetauten sowie in überalterten Kulturen (STANEK, 1997). Einige Forscher sehen sie als ein bestimmtes Stadium im Borrelienleben an.

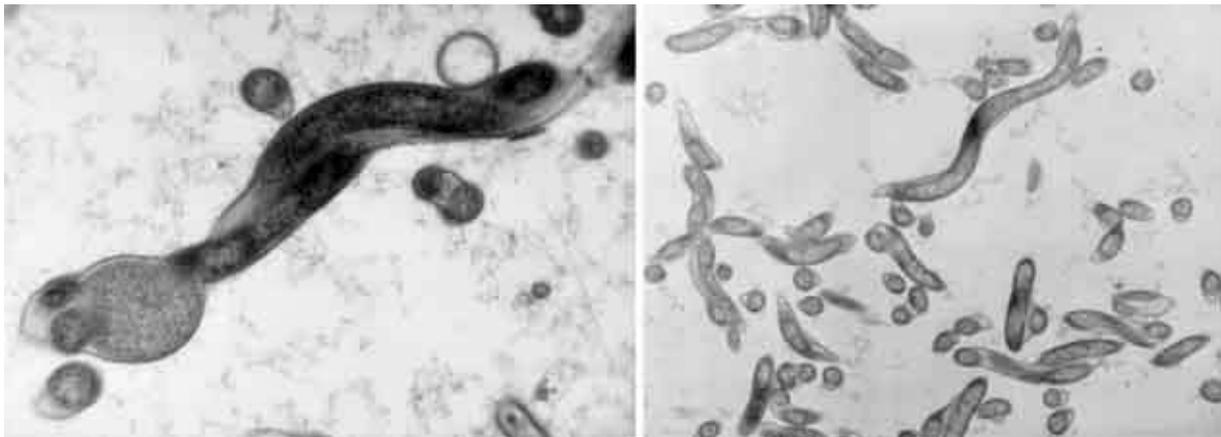


Abb. 2: elektronenmikroskopische Darstellung längs- und querschnittener *B. burgdorferi* (Originalvergrößerung links 1: 18000, rechts 1: 10500)

2.1.3. Antigenstruktur

Während noch relativ wenig über die Lipid- oder Carbohydrat-Antigene des Erregers bekannt ist, wurden die Protein-Antigene eingehender untersucht. Zwei Proteine sind bei allen bisher analysierten *B. burgdorferi*-Stämmen nachweisbar. Zum einen das Strukturprotein der Endoflagellen (Flagellin) mit einem Molekulargewicht von 41 kDa, dessen Gen auf dem linearen Chromosom liegt, und zum anderen das auch als „common antigen“ (CA) bezeichnete hochkonservierte 60 kDa-Protein (PREAC-MURSIC and WILSKE, 1993).

Des weiteren existieren ein hochspezifisches immundominantes, wahrscheinlich protoplasmaassoziiertes Protein p 83/100 (83-100 kDa) (ROESSLER et al., 1995), und ein membranassoziiertes Protein p 39 (39 kDa) (SIMPSON et al., 1990).

Der Erreger exprimiert plasmidkodierte „outer surface“-Proteine (Osp-Proteine), die wichtige Antigene darstellen und möglicherweise auch biologische Funktionen (Adhäsine) besitzen. Derzeit werden sechs Oberflächenproteine (A-F) unterschieden. Als Antigene sind vor allem OspA (31 kDa), OspB (34 kDa) und OspC (21-25 kDa) von Interesse. Die Gene für OspA und OspB liegen auf dem linearen 49 kb Plasmid, während das Gen für OspC auf dem zirkulären 27 kb Plasmid liegt. Diese membranassoziierten Lipoproteine können stark in ihrer Expression variieren und sind genetisch sowie immunologisch heterogen. Verglichen mit amerikanischen Stämmen besitzen die europäischen Isolate eine ausgeprägtere antigenetische Variabilität (WILSKE et al., 1985). Diese Tatsache hat negative Auswirkungen auf die Herstellung einer Vakzine.

Die erwähnten „Blebs“ (Umstülpungen der äußeren Membran), „Spherical bodies“ oder „Gemmae“ (Umstülpungen der äußeren und protoplasmatischen Membran) werden von der Borrelienoberfläche abgesondert und rufen humorale und zelluläre Reaktionen hervor. HULINSKA et al. (1994) sind der Ansicht, dass sie eine Rolle beim Schutz der Borrelienzellen vor dem Erkennen durch das Immunsystem spielen. KERSTEN et al. (1995) dagegen meinen, dass sie für einen ständigen antigenen Reiz verantwortlich sind, der im Endeffekt zu den Beschwerden einer chronischen Lyme-Borreliose führt.

2.2. Epidemiologie

Die Lyme-Borreliose gilt weltweit als die häufigste durch Zecken übertragene Infektionserkrankung der nördlichen Hemisphäre (DORN et al., 1995; KAHL, 1998). Sie kommt hauptsächlich in Nordamerika und Europa sowie in Teilen Asiens vor. Enzootische Gebiete von *B. burgdorferi* sind die USA, Kanada, die britischen Inseln, Skandinavien, West- und Mitteleuropa, die Balkanstaaten, die Staaten der früheren UdSSR und Nordasien (China, Japan) (DENNIS, 1997).

Sie ist eine typische Naturherdinfektion, die durch das Zirkulieren des Krankheitserregers (*B. burgdorferi*) zwischen freilebenden Wirbeltierwirten (Reservoir), Arthropoden als Vektoren (Zecken) und empfänglichen Wirten (Mensch, Haustiere) gekennzeichnet ist. Nur für letztere gilt der Erreger als pathogen. Exponiert sind vor allem Personen, die sich beruflich (Forstarbeiter, Landwirte,

Schäfer) oder in der Freizeit (Jäger, Jogger, Ferienlager, Camping, Garten) in Zeckenbiotopen aufhalten (DEDIE, 1989).

2.2.1. Vektoren und Übertragung

Die Hauptvektoren von *B. burgdorferi* sind Schildzecken der Gattung *Ixodes* (*I.*). Die Übertragung erfolgt in Nordamerika hauptsächlich durch *I. scapularis* (früher *I. dammini*) an der Ostküste sowie *I. pacificus* an der Westküste, in West- und Mitteleuropa vorwiegend durch *I. ricinus*. In Osteuropa und Asien ist *I. persulcatus* der Hauptvektor. Außerdem übertragen *I. ricinus* und *I. persulcatus* in einigen Regionen Osteuropas das FSME-Virus auf den Menschen (DENNIS, 1997; OLIVER, 1997). MIYAMOTO et al. (1992) beschrieben *I. ovatus* als potentiellen Vektor für Lyme-Borreliose-Spirochäten in Japan.

Während ihrer bis zu 6jährigen Lebensdauer, in der sie vorwiegend von März bis Oktober aktiv sind, durchlaufen die Zecken drei Entwicklungsstadien. Die Larven, Nymphen, geschlechtsreifen Weibchen und Männchen infizieren sich jeweils während der mehrtägigen Blutmahlzeit auf einem Reservoirtier. Im Anschluss an die Blutmahlzeit verlassen sie den Wirt, verdauen die Nahrung und erreichen durch Entwicklung und Häutung das nächste Stadium. Die Borrelien persistieren im Mitteldarm der Zecken und vermehren sich dort (GERN et al., 1990). Bei einigen Arten konnte die systemische Infektion der Hämolymphe, des Zentralganglions, der Malpighischen Gefäße und der Ovarien bewiesen werden (MONIN et al., 1987). Das Vorkommen von Borrelien in der Speicheldrüse von *I. ricinus* lieferte den Beweis für den Speichel-Übertragungsweg (WOLF, 1996). Neben der transstadiellen Weitergabe des Erregers ist auch eine transovarielle Übertragung beschrieben, die eher eine unwesentliche Rolle im Infektionszyklus spielt (KAHL, 1991).

Zusätzlich wurde der Erreger bisher aus wenigstens 16 anderen Schildzeckenarten (*Amblyomma*, *Dermacentor*, *Boophilus*, *Haemaphysalis* und *Rhipicephalus*) sowie aus Milben, Flöhen, Läusen, Bremsen, Mücken und einer Fliegenlarve isoliert (LIEBISCH, 1993a). In der Epidemiologie der Lyme-Borreliose scheint ihnen jedoch nur eine geringe Bedeutung zuzukommen.

2. LITERATURÜBERSICHT

Die Tab. 1 veranschaulicht die Infektionsraten von *B. burgdorferi* in *I. ricinus* in Europa (modifiziert nach HUBALEK and HALOUZKA, 1998). Es wurde soweit wie möglich versucht, die Ergebnisse auf weibliche Adulti zu beziehen.

Tab. 1: Prävalenzraten von *B. burgdorferi* in *I. ricinus* in Europa (ermittelt mittels IFT und PCR)

LÄNDER	INFEKTIONS- RATE (%)	REFERENZ
Schweiz		
Kanton Ticino	1,3	BERNASCONI et al. (1997)
Kanton Valais	23,4	PETER et al. (1995)
Slowakei	5,2	PROKOPCAKOVA et al. (1992)
Grossbritannien		
London	7,7	GUY and FARQUHAR (1991)
Südengland	16,0	KURTENBACH et al. (1998)
England und Schottland	38,6	NUTTALL et al. (1994)
Deutschland		
Berlin	8,2	KAHL et al. (1989)
Mecklenburg- Vorpommern	16,5	BURMEISTER et al. (1998)
München	17,9-20,2	FINGERLE et al. (1995)
Giessen	22,0	WITTENBRINK et al. (1994)
Bruchsal	22,0	BEICHEL et al. (1996)
Brandenburg	33,3	GUPTA (1994)
Göttingen	34,7	EIFFERT et al. (1995)
Frankreich		
Ile de France	8,6	HUBALEK and HALOUZKA (1998)
Westfrankreich	11,5	DOBY et al. (1990)
Gesamtfrankreich	12,5	GILOT et al. (1996)
Elsass	12,7	DOBY et al. (1990)
Lyon	23,9	QUESSADA et al. (1999)
Polen		
Bialystok	10,7-24,6	WEGNER et al. (1997)
Olsztyn	18,7	WEGNER et al. (1993/94)
Wielkopolska	28,8	JENEK and GLAZACZOW (1996)
Niederlande		
Ameland	11,0	RIJPKEMA et al. (1995)
3 Gebiete	27,5	HERBES et al. (1995)
Ameland	24,6	RIJPKEMA et al. (1994)
Tschechei		
Brno	14,5	POKORNY and ZAHRAKOVA (1990)
Prag	15,9	POKORNY (1990)
Prag	7,7-33,3	BASTA et al. (1999)
Belgien	15,2	MARTIN et al. (1990)

Schweden		
23 Gebiete	15,4	GUSTAFSON et al. (1995)
Südschweden	26,3	BERGLUND and EITREM (1993)
Dänemark	15,7	LANDBO and FLÖNG (1992)
Irland		
Galway	15,9	GRAY et al. (1995)
Killarney	20,7	KIRSTEIN et al. (1997)
Slowenien		
10 Gebiete	23,5	RUZIC-SABLJIC et al. (1993)
6 Gebiete	35,0	STRLE et al. (1995)
Norwegen	24,1	MEHL et al. (1987)
Bulgarien	26,9	HUBALEK and HALOUZKA (1998)
Schweden	30,2	BERGSTRÖM et al. (1992)
Kroatien	47,0	GOLUBIC et al. (1998)

2.2.2. Erregerreservoir

Wildtiere sind zum einen als Wirte für die Spirochäten und zum anderen als Nahrungsquelle für die Zecken wichtig. Da klinische Anzeichen einer Erkrankung meist fehlen, scheinen sie nur inapparent zu erkranken (BURGESS, 1991).

Das Hauptreservoir für *B. burgdorferi* stellen Kleinnager dar, da sie ubiquitär vorhanden und hoch empfänglich sind. Die Wirtstiere variieren in Abhängigkeit von der Zeckenart. ANDERSON (1991) beschreibt, dass 317 Tierarten von *I. ricinus*, 241 von *I. persulcatus* und 50-80 von *I. scapularis* befallen werden.

Während im Norden und Nordosten der Vereinigten Staaten die Weißfußmaus (*Peromyscus leucopus*) und das Backenhörnchen (*Tamias striatus*) die größte Reservoirkompetenz für Larven und Nymphen aufweisen (MAGNARELLI et al., 1994; SLAJCHERT et al., 1997), sind es an der pazifischen Küste die dunkle Waldratte (*Pack rat*) und die Kängururatte (*Kangaroo rat*) (DENNIS, 1997).

Hirsche, besonders der Weißwedelhirsch (*Odocoileus virginianus*), und andere größere Säugetiere werden von adulten Zecken regelmäßig als Blutspender genutzt, sind aber als Reserviertiere nicht kompetent (TELFORD et al., 1988; MAGNARELLI et al., 1995).

Verschiedene Vögel, insbesondere Zugvögel, dienen oftmals als Transportwirte und verlagern damit die Endemiegebiete (KLICH et al., 1996).

In Europa sind die wichtigsten Wirtstiere der Larven von *I. ricinus* Kleinsäuger, wie Rötel- (*Clethrionomys glareolus*), Gelbhals- (*Apodemus flavicollis*) und Waldmaus (*Apodemus sylvaticus*) (KRAMPITZ und BARK, 1987; HOVMARK et al., 1988; DE BOER et al., 1993; HUMAIR et al., 1993).

Die Nymphen bevorzugen mittelgroße Säuger (Igel, Eichhörnchen), Vögel (Amsel, Singdrossel, Eichelhäher, Rotkehlchen) und den Menschen (CRAINE et al., 1995). Da der Igel (*Erinaceus europaeus*) eine hohe Befallsrate mit Borrelien-infizierten Zeckenlarven und -nymphen aufweist, stellt er ein hohes Reservoirpotential dar (GRAY et al., 1994; FINKBEINER-WEBER, 1996; GERN et al., 1997). LIEBISCH (1997) gelang die wiederholte Erregerisolierung aus Hautbiopsien von Igel, Steinmarder, Mauswiesel und Dachs.

Als Wirte für die adulten Zecken kommen vorwiegend Wildwiederkäuer und Haustiere sowie der Mensch in Betracht (TÄLLEKLINT and JAENSON, 1994).

Untersuchungen auf zwei schwedischen Inseln ergaben, dass der Feldhase (*Lepus timidus*) als Hauptwirt für alle Entwicklungsstadien von *I. ricinus* dient (JAENSON and TÄLLEKLINT, 1996). In Kroatien waren 33 % der Feldhasen seropositiv (GOLUBIC et al., 1995).

Rehwild (*Capreolus capreolus*) scheint eine wichtige Rolle in der Epidemiologie der Lyme-Borreliose zu spielen. 66 % der von BARK (1986), 21 % der von GOLUBIC et al. (1995) und 13 % der von RIJPKEMA et al. (1996) untersuchten Rehseren waren seropositiv.

Als Resultat der „EUCALB“-Studie können 9 Kleinsäuger, 7 mittlere Säugetiere (darunter 2 Eichhörnchenarten, der europäische Igel und Dachs) und 16 Vogelarten als reservoirkompetent eingeschätzt werden. Im Gegensatz dazu besitzen 7 Tierarten (darunter das Rind, das Reh, der Hirsch und das Schaf) als Reservoiertiere für *B. burgdorferi* keine Bedeutung. Des weiteren ist eine Affinität von *B. garinii* und *B. valaisiana* zu Vögeln sowie von *B. afzelii* zu Nagern zu erkennen (GERN et al., 1998).

2.3. Klinik

Die Borrelieninfektion ist eine chronisch verlaufende Multisystemerkrankung von Mensch und Tier. Sie zählt zu den bedeutendsten durch blutsaugende Arthropoden übertragenen bakteriellen Zoonosen (SCHRÖCK und SCHÖNBERG, 1998). Das größte Infektionsrisiko geht vermutlich von infizierten Nymphen aus, da sie dicht verbreitet sind, und aufgrund ihrer geringen Größe leicht zu übersehen sind (KAHL, 1998).

Es deutet sich ein gewisser Organotropismus der verschiedenen Genospezies an (MASUZAWA and YANAGIHARA, 1998):

<i>B. burgdorferi</i> s.s.:	→ Erythema migrans, Arthritis, chronische erosive Synovitis
<i>B. afzelii</i> :	→ Erythema migrans, Acrodermatitis chronica atrophicans
<i>B. garinii</i> :	→ Erythema migrans, Neuroborreliosen

2.3.1. Humanmedizinische Aspekte

Die Lyme-Borreliose kann verschiedene Organsysteme befallen und zeigt eine außerordentliche Symptomvielfalt. Die Erkrankung lässt sich anhand zeitlicher Abläufe und bestimmter Organmanifestationen in drei Stadien einteilen, wobei fließende Übergänge möglich sind (STANEK, 1998).

Die Einteilung der Krankheitsstadien erfolgte in Anlehnung an GÜTHOFF und WEINKE (1998).

Stadium 1, Stadium der lokalen Reaktion:

Das Leitsymptom der Lyme-Borreliose ist das Erythema migrans. Zwischen 4 und 14 Tagen (maximal 6 bis 8 Wochen) nach einem Zeckenstich bildet sich um die Stichstelle herum eine makulöse oder papulöse Effloreszenz, die im weiteren Verlauf meist als zentral ablassendes, peripher wanderndes Ring-Erythem imponiert. Etwa 20 % der Patienten klagen über ein grippales Syndrom mit Abgeschlagenheit, Fieber,

Kopf- und Gliederschmerzen sowie milder Nackensteifheit. Das Borrelien-Lymphozytom (rötlich-livider Tumor an typischen Lokalisationen wie Ohrläppchen, Mamille oder Skrotum) ist relativ selten und wird vor allem bei Kindern gesehen.

Stadium 2, Stadium der disseminierten Infektion mit Organmanifestation:

Zu den frühen Manifestationen der Neuroborreliose gehören Meningitis, isolierte einseitige (gelegentlich beidseitige) Fazialisparese, Neuritis anderer Hirnnerven und die eher bei Erwachsenen auftretende schmerzhaft Radikuloneuritis (Meningopolyneuritis, Garin-Bujadoux-Bannwarth Syndrom). Die Latenzzeit beträgt 2 bis 10 Wochen.

Kardiale Beteiligungen werden selten beobachtet, sie betreffen vorwiegend das Reizleitungssystem des Herzens. Am häufigsten werden AV-Blockierungen, Endokarditiden und Myokarditiden erfasst. Die Symptome sind unspezifisch und lassen sich auf Rhythmusstörungen zurückführen.

Bei Augenmanifestationen können alle Abschnitte betroffen sein, ferner kann die Erkrankung zu Augenmuskellähmungen und Sehnervenentzündungen führen.

Des Weiteren können nach wenigen Wochen Mono- und Oligoarthritis auftreten, die mit Gelenkschwellung, Überwärmung, Ergussbildung, aber geringen Schmerzen einhergehen.

Stadium 3, Stadium der persistierenden Organmanifestation:

Dieses Stadium ist häufig geprägt durch die typische rezidivierende Lyme-Arthritis, welche Monate bis Jahre nach einer Infektion auftreten kann. Häufig sind Knie-, Hand- und Sprunggelenke betroffen.

Im Bereich der Haut kann sich fast ausschließlich bei Erwachsenen und bevorzugt bei Frauen die Acrodermatitis chronica atrophicans entwickeln. Sie ist durch zigarettenpapierdünne, gefaltete Haut, rote oder bläulich-rote Läsionen, plastisches Hervortreten der Gefäße meist an den Streckseiten der Extremitäten gekennzeichnet.

Im Bereich des Nervensystems kann es zu Polyneuropathien und chronisch verlaufenden Meningoenzephalomyelitiden kommen.

2.3.2. Veterinärmedizinische Aspekte

Potenziell können alle Haus- und Wildtiere durch den Stich einer erregerehaltigen Zecke infiziert werden, da sie in stärkerem Maße dem Befall mit Zecken ausgesetzt sind. Noch weitgehend ungeklärt ist die Frage, inwieweit infizierte Tiere an einer Borrelieninfektion erkranken bzw. aufgrund der Persistenz des Erregers zu einem Reservoir für Borrelieninfektionen werden (LIEBISCH, 1993b).

2.3.2.1. Hund und Katze

Die Mehrheit der Erkenntnisse bezieht sich auf die kanine Lyme-Borreliose, denn der Hund ist aufgrund der hohen Befallsrate mit Zecken und einer damit verbundenen hohen Infektionsrate sowie seiner flächendeckenden Verbreitung als geeigneter Indikator anzusehen. Jagdhunde und Hunde, die im Bau oder Lager von Fuchs, Marder oder Igel gestöbert haben, können mit vielen Entwicklungsstadien der *Ixodes*-Arten befallen sein (LIEBISCH, 1993b).

1984 gelang amerikanischen Wissenschaftlern (LISSMANN et al., 1984) erstmals der Nachweis von Spirochäten aus dem Blut eines Hundes mit fieberhafter Poly-arthritis. 1992 wurde der sichere experimentelle Nachweis zur Reproduzierbarkeit der Lyme-Arthritis bei Hunden unter Erfüllung der Koch'schen Postulate erbracht (WASMOEN et al., 1992).

Eine Einteilung der vielfältigen Krankheitssymptome in Stadien ist nicht möglich. Ein EM wird im Vergleich zum Menschen selten beschrieben, da die Hautrötung aufgrund der dunklen Pigmentierung oft unerkant bleibt oder nur an hellhäutigen Stellen zu sehen ist. Lediglich PFISTER et al. (1989) beschrieben Erkrankungsfälle mit ungeklärten Dermatitiden und erhöhtem AK-Titer. Am häufigsten sind ein gestörtes Allgemeinbefinden mit Anorexie, Ermattung und Fieber sowie das geradezu pathognomische Auftreten einer wechselnden Lahmheit und Arthritis zu verzeichnen (BOSLER et al., 1988; ENG et al., 1988; WEBER und HEIM, 1989; BREITSCHWERDT et al., 1994). Die überwiegende Zahl der Patienten zeigte einen plötzlichen Lahmheitsbeginn mit Schwellung, vermehrter Wärme sowie Schmerzempfindlichkeit der Gelenke und Extremitäten. Die Gelenkentzündungen können zwei oder mehrere Gelenke betreffen und in Krankheitsschüben von 1 bis

23 Monaten rezidivieren. WEBER und HEIM (1989) berichteten über allgemeine Gliedersteifheit.

Des Weiteren wurden Lymphadenopathien (BARK, 1986; MAGNARELLI et al., 1987; FISCHER und LEUTERER, 1992), Fazialisparese (ENG et al., 1988; MÖRNER et al., 1990), Herzblock (LEVY and DURAY, 1988) und zum Teil schwere Nierenfunktionsstörungen (MAGNARELLI et al., 1987; BOSLER et al., 1988; GRAUER et al., 1988) beobachtet. AZUMA et al. (1993) berichteten über neurologische Anzeichen (Ästhesie, Krämpfe, Hyperreflexion) nach einem Zeckenstich bei zwei Hunden. Nach experimenteller Infektion durch Zecken (*I. ricinus*) konnten bei zwei von fünf Hunden vergrößerte Körperlymphknoten und Paresen der Hintergliedmaßen beobachtet werden (FRESE, 1997).

Untersuchungsergebnisse zur feline Lyme-Borreliose wurden bisher nur wenig veröffentlicht. BURGESS (1992) infizierte 15 Katzen auf verschiedenen Wegen (intravenös, oral, okulär und oral-okulär). Die Tiere entwickelten Antikörper gegen *B. burgdorferi* ohne klinische Anzeichen einer Infektion.

1993 erschien der erste Bericht über die Erzeugung klinischer Symptome bei der Katze. Nach intradermaler Injektion von *B. burgdorferi* standen Läsionen des Bewegungsapparates im Vordergrund (GIBSON et al., 1993). In Amerika (Texas) wiesen 36 % (ANGULO, 1986) der untersuchten Katzen und in England 4,8 % (MAY et al., 1994) einen spezifischen AK-Titer auf. Saisonale Unterschiede wurden von MAGNARELLI et al. (1990) beschrieben. Serumtiter $\geq 1:160$ wurden im Zeitraum von Mai bis Juli bei 8,8 % der untersuchten Katzen, von August bis November bei 12 % und von Februar bis April bei 33,3 % gefunden. Dagegen konnten bei der Untersuchung von 29 feline Blutseren in Deutschland (Berlin) keine Infektionstiter festgestellt werden (KÄSBOHRER und SCHÖNBERG, 1990).

2.3.2.2. Wiederkäuer

BURGESS et al. (1987) publizierten den ersten klinisch manifesten Borreliosefall mit spezifischem AK-Titer beim Rind. Die Kuh zeigte Lahmheit, bilaterale Schwellung der Karpalgelenke, Gewichtsverlust und Lymphadenopathie. Der Erreger konnte aus Lunge und Leber isoliert werden.

Im Endemiegebiet der Lyme-Borreliose in Wisconsin wurden bei seropositiven Rindern Steifheit, Gelenkschwellung, Lahmheit, Aborte, Pododermatitis, Fieber und unklarer Gewichtsverlust beschrieben (BURGESS, 1988). Ähnliche Befunde ergaben die klinischen Untersuchungen von POST et al. (1988). Als Symptome wurden Erytheme, lokale Hyperthermie, Schwellungen und Hypersensibilität am Euter sowie verdickte Fesselgelenke und geringgradige Lahmheiten ohne Erhöhung der Körpertemperaturen beobachtet. Positive AK-Reaktionen konnten durch mehrere seroepidemiologische Untersuchungen in Europa ermittelt werden (HOVMARK et al., 1986; BRAND, 1990; CUTLER et al., 1990; KÄSBOHRER und SCHÖNBERG, 1990; KOPP, 1990; NIEPOLD, 1990).

Häufig wird als klinisches Anzeichen einer Borrelieninfektion der kleinen Wiederkäuer Arthritis beobachtet. Bei der Untersuchung von Schaf- und Ziegenseren zeigten sich erhöhte Antikörperspiegel (HOVMARK et al., 1986; KOPP, 1990; BERGMANN et al., 1992).

HJELLE (1966) beschrieb borrelienähnliche Organismen, die er in großer Zahl im Urnsediment von photosensibilisierten Schafen entdeckte. Die Erregerisolierung bei klinisch kranken Schafen gelang bisher noch nicht (FRIDRIKSDOTTIR et al., 1992).

2.3.2.3. Pferd

Untersuchungen von Pferdeseren aus Endemiegebieten ergaben höhere Durchseuchungstiter als Blutproben aus nicht endemischen Regionen (DOBY et al., 1987; BURGESS, 1988; MAGNARELLI et al., 1988; COHEN et al., 1992; BROWNING et al., 1993; CARTER et al., 1994). Bei einer seroepidemiologischen Studie in Berlin reagierten im IFT kein Pferd und im ELISA 16,1 % der Tiere positiv (KÄSBOHRER und SCHÖNBERG, 1990).

Die bisherigen Untersuchungsergebnisse der equinen Lyme-Borreliose gaben nur Anhaltspunkte zur Klinik. Am häufigsten traten beim Pferd neben unspezifischen Symptomen Lahmheit, Gelenk-, Augen- sowie Hauterkrankungen und Aborte auf (BURGESS et al., 1986; COHEN et al., 1988; BROWNING et al., 1993; MADIGAN, 1993; LIEBISCH, 1993b). BURGESS und MATTISON (1987) berichteten über ein Pferd mit zentralnervösen Störungen, aus dessen Gehirn Spirochäten isoliert wurden.

2.4. Immunantwort

Der serologische Befund ist abhängig von der Klinik, der Dauer der Symptome, dem Auftreten von Allgemeinsymptomen und von der Therapie (SCHÖNBERG et al., 1989).

Es reagieren IgM-Antikörper überwiegend mit OspC und Flagellin, IgG-Antikörper zu Beginn mit Flagellin und im späteren Krankheitsverlauf mit einem breiten Spektrum von Borrelien-Antigenen (SCHÖNBERG et al., 1995).

Untersuchungen zum Titerverlauf bei Mensch und Tier zeigen voneinander abweichende Ergebnisse. Beim Mensch sind nach 1 bis 1,5 Monaten erhöhte IgG-Werte feststellbar, die Titer steigen langsam an und erreichen mit fortschreitender Erkrankung erst Monate bis Jahre später den Höhepunkt (LIEBISCH, 1993b).

Signifikant erhöhte AK-Titer sind beim EM in etwa 20-50 % (vorwiegend IgM-AK), bei Neuroborreliose Stadium II in 70-90 % (überwiegend IgG-AK) und im Spätstadium etwa in 90-100 % der Fälle (in der Regel IgG-AK) nachweisbar (WILSKE and PREAC-MURSIC, 1993).

Da der Infektionsbeginn beim Tier schwer festzustellen ist, können nur experimentelle Untersuchungen Auskunft über den Titerverlauf geben. Die Titerstufe 1:64, die als positiver Grenzwert anzusehen ist, wird nach ca. 2 bis 4 Wochen erreicht (KOPP, 1990; CERRI et al., 1994).

2.5. Diagnostik

Die Diagnose der Lyme-Borreliose stellt eine Synopsis von Anamnese, klinischem Bild und serologischen Befunden dar. Sie kann endgültig bei positivem Erregernachweis oder Serumtiternanstieg gestellt werden. Vor Einleitung einer Therapie sollten immer die vor allem zu Lahmheit führenden anderen Ursachen differentialdiagnostisch ausgeschlossen werden.

Die Vielzahl der klinischen Erscheinungsformen und ihre teilweise langen Inkubationszeiten erfordern direkte oder indirekte Nachweisverfahren zur Erhärtung der klinisch gestellten Verdachtsdiagnose. Als Untersuchungsmaterial dienen Blut, Liquor, Synovia, Urin, Haut und andere Gewebeproben.

Obwohl sich in den letzten Jahren die Labordiagnostik der Lyme-Borreliose stark weiterentwickelt hat, ist die bisherige Situation in Europa in hohem Masse unbefriedigend, da es keinerlei Standardisierung der verschiedenen Testmethoden oder der Ergebnisinterpretation gibt (DRESSLER, 1998; GUBLER, 1998; RINDER, 1999).

Problemfälle in der Diagnostik stellen Kreuzreaktionen (hauptsächlich mit *Treponema* sp.), Titerhöhe, fehlender bzw. durch frühzeitige Antibiotikatherapie unterdrückter AK-Nachweis, Reinfektionen und persistierende IgM-Antikörper dar (TALASKA, 1998a).

2.5.1. Direkter Erregernachweis

2.5.1.1. Mikroskopie

Borrelien verhalten sich gramnegativ und sind nach Giemsa oder Warthin-Starry gut anfärbbar. Es eignet sich ebenfalls die Färbung mit Carbofuchsin (PREAC-MURSIC and WILSKE, 1993). Die Nativdarstellung der Borrelien ist nur im Dunkelfeld- oder Phasenkontrastmikroskop bei einer 160- bis 400fachen Vergrößerung möglich. Die Ultrastruktur von *B. burgdorferi* wurde erstmals elektronenmikroskopisch von HOVIND-HOUGEN (1984) dargestellt. Eine ideale, schnelle und praktische Methode zur direkten Darstellung des Erregers aus der Kultur des BSK II-Mediums ist die „Multiple-Drop-Technique“ mit Negativ-Kontrastierung (WOLFF, 1996).

Borrelien verändern während der Fixierung und Färbung ihre Form, wodurch oftmals Artefakte entstehen (PREAC-MURSIC et al., 1986).

2.5.1.2. Kultivierung

Die kulturelle Anzüchtung von *B. burgdorferi* ist aufgrund des hohen Nährstoffanspruches und der langen Wachstumszeit schwierig. Borrelien vermehren sich durch Querteilung bei einer Generationszeit von 7 bis 20 Stunden, wodurch sich vorhandene Begleitkeime stark vermehren können und zum Absterben des Erregers führen (SCHÖNBERG et al., 1989).

Die Bakterien benötigen mikroaerophiles Milieu sowie Temperaturen zwischen 30 und 34° Celsius (BARBOUR, 1984). Das pH-Optimum liegt bei 7,6. Sie decken ihren Kohlenstoff- und Energiebedarf durch fermentativen Abbau von Kohlenhydraten und glykogenen Aminosäuren. Als Hauptstoffwechselprodukt entsteht Laktat (JOHNSON et al., 1984b). Borrelien sind Katalase negativ und gegenüber Rifampicin, Sulfonamiden, Fosfomycin sowie Fluorouracil resistent (STANEK, 1997).

Kelly beschrieb erstmals 1971 ein komplexes Flüssigmedium zur Kultivierung von Spirochäten. Barbour gelang 1981 die erste Anzucht von *B. burgdorferi* aus *I. scapularis*. Er verwendete dafür das 1974 durch Stoenner weiterentwickelte Kelly-Medium. Es erfuhr im Laufe der Entwicklung mehrere Modifikationen, bis letztendlich das mit Aminosäuren, Vitaminen, Rinderserumalbumin und Kaninchenserum supplementierte BSK II-Medium entstand (BARBOUR, 1984).

Eine weitere Abwandlung stellt das MKP-Medium dar (PREAC-MURSIC et al., 1986). Es ist im Vergleich zum BSK-Medium eiweiß- und kohlenhydratärmer und bei der Anzucht von Borrelien aus Humanproben erfolgreicher.

2.5.1.3. Polymerase-Kettenreaktion (PCR)

Die PCR-Technik erlaubt einen Nachweis geringster Mengen erregerspezifischer DNS im Probenmaterial (Blut, Synovia, Liquor, Urin, Gewebe). Die Reaktion beruht auf einer zyklischen Neusynthese (Amplifikation) von DNS-Sequenzen nach Zugabe einer thermostabilen DNS-Polymerase, der sequenzspezifischen Oligonukleotide (Primer) als Starter und den vier Nukleinsäureeinzelbausteinen (dNTP's).

Das Verfahren ist in drei Schritte gegliedert: 1. Denaturierung der doppelsträngigen DNS-Matrize, 2. Primeranlagerung und 3. Polymerisation. Diese Schritte werden in zahlreichen aufeinanderfolgenden Zyklen alternierend durchlaufen.

Durch eine entsprechende Primerauswahl bzw. durch Sequenzierung der PCR-Amplifikate kann eine Geno- und Serotypisierung des Erregers vorgenommen werden (EIFFERT et al., 1995; ROESSLER et al., 1996).

Als Zielsequenzen werden insbesondere spezifische plasmidkodierte Gensequenzen der äußeren Membranproteine A (OspA: WILSKE et al., 1996; HUBBARD et al., 1998) und B (OspB: WILLIAMS et al., 1992; KAWABATA et al., 1994) sowie

chromosomale Genabschnitte (Flagellin: ASSOUS et al., 1994; KIMURA et al., 1995; CINCO et al., 1996; SKOTARCZAK et al., 1998; 16S rRNA: MATEICKA et al., 1997; LIEBISCH et al., 1998; 23S rRNA: MAIWALD et al., 1995; PETNEY et al., 1996; ALEKSEEV et al., 1998) verwandt.

Oft wird eine geschachtelte PCR (nested-PCR), wie die nested-Flagellin-PCR (LEBECH et al., 1995; PICKEN et al., 1996; BAUERFEIND et al., 1998) oder die nested-OspA-PCR (LIVESLEY et al., 1994; MATUSCHKA et al., 1998) durchgeführt.

Der Nachweis spezifischer DNS-Fragmente von *B. burgdorferi* erfolgt entweder direkt oder nach in-vitro-Hybridisierung im Southern-Blot-Verfahren. Nach elektrophoretischer Trennung (Agarosegel) und alkalischer Denaturierung werden die Fragmente auf einen Filter (Membran) übertragen, der anschließend mit einer spezifischen Gensonde inkubiert wird. Die einsträngigen komplementären Sequenzen können sich miteinander paaren und bilden Hybridmoleküle, die autoradiographisch nachgewiesen werden.

2.5.2. Indirekter Erregernachweis

2.5.2.1. Immunfluoreszenztest (IFT)

Das Prinzip der Immunfluoreszenztechnik beruht auf der Kopplung eines spezifischen AK mit einem fluoreszierenden Farbstoff (Konjugation) und der anschließenden Darstellung des AG-AK-Komplexes im Fluoreszenzmikroskop (COONS et al., 1941). Das in einer Quecksilberhochdrucklampe erzeugte UV-Licht regt den Farbstoff zur Abgabe des hell-gelbgrünen Fluoreszenzlichtes an. Der am häufigsten verwendete Farbstoff ist Fluoreszein-Isothiozyanat (FITC). Gewisse diagnostische Schwierigkeiten entstehen durch unspezifische Fluoreszenzen.

Direkter Immunfluoreszenztest (DIFT):

Beim direkten Immunfluoreszenztest wird das darzustellende AG direkt mit einem spezifischen Konjugat behandelt.

Dieser Test findet in der Diagnostik der Borreliose vorwiegend in epidemiologischen Untersuchungen Anwendung (BERGMANN et al., 1992; OHEIM und HERRMANN, 1994; LIVESLEY et al., 1994; ZHIOUA et al., 1996; MATUSCHKA et al., 1998).

Indirekter Immunfluoreszenztest (IIFT):

Die erste serologische Untersuchungsmethode zum Nachweis spezifischer AK gegen *B. burgdorferi* war der indirekte Immunfluoreszenztest (BURGDORFER et al., 1982).

Das mit bekanntem AG beschichtete Präparat (Ausstrich, Gewebeschnitt) wird mit dem Untersuchungsmaterial (in der Regel Serum) versetzt. Zum Nachweis des AG-AK-Komplexes kommt anschließend ein gegen die Spezies des Serumspenders gerichtetes Antiglobulin-Konjugat zum Einsatz. Zum Erkennen von *B. burgdorferi* können mono- oder polyklonale AK verwendet werden (WILSKE and PREAC-MURSIC, 1993).

Inzwischen hat sich diese Methode zur Routine etabliert, überwiegend zum Nachweis von Borrelien in Zecken (KAHL et al., 1992; FEIR et al., 1994; GUPTA, 1994; ESTRADA-PEÑA et al., 1995; OLIVER et al., 1998).

2.5.2.2. Indirekter Hämagglutinationstest (IHAT)

Der indirekte Hämagglutinationstest bietet eine weitere Möglichkeit spezifische AK nachzuweisen. Da dieser Test Immunglobuline der Klassen IgM und IgG gemeinsam erfasst, eignet er sich gut zum Screening (SCHÖNBERG et al., 1989; WILSKE and PREAC-MURSIC, 1993).

Mit einem Antigengemisch aus Borrelien-Ultrasonikat beladene Schaferythrozyten werden mit dem zu untersuchenden Serum inkubiert. Im positiven Fall kommt es zur Bildung eines AG-AK-Komplexes und dadurch zur Agglutination der Erythrozyten.

Mittels IHAT wurden Wildseren untersucht (DOBY et al., 1991b; MEHLE, 1996) und bei exponierten Humanseren eine AK-Prävalenz von 25,2% festgestellt (HÜLßE et al., 1995).

2.5.2.3. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

Dieser hochempfindliche serologische Test kombiniert immunologische und enzymatische Verfahren. Die Erstbeschreibung erfolgte durch ENGVALL und PERLMANN (1972).

Nach Ablauf einer AG-AK-Reaktion und Zugabe von enzymmarkierten Antiseren kommt es zur Bildung eines Immunkomplexes, der durch den enzymabhängigen Farbumschlag eines zugegebenen Substrates sichtbar gemacht wird. Die Intensität der Farbänderung korreliert mit der AK-Konzentration des fraglichen Serums. Die Tests sind entweder als Sandwichtest oder als Capturetest (insbesondere für den spezifischen IgM-Nachweis) ausgelegt.

Der ELISA kann sowohl zum AG- als auch zum AK-Nachweis eingesetzt werden. In der Diagnostik der Lyme-Borreliose ist die AK-Bestimmung am gebräuchlichsten (KÄSBOHRER und SCHÖNBERG, 1990; MAGNARELLI et al., 1990; MATUSCHKA et al., 1993; RUSSEL et al., 1994; GOLUBIC et al., 1998). Durch die Differenzierung der AK in verschiedene Immunglobulinklassen (IgM, IgG) können Rückschlüsse auf den Infektionszeitraum geschlossen werden.

2.5.2.4. Immuno-Blot (Western-Blot)

Die Antigene von *B. burgdorferi* werden mit Hilfe der Natriumdodecylsulfat-Polyacrylamid-Gelelektrophorese (SDS-PAGE) aufgetrennt und auf eine Membran aus Nitrozellulose oder Polyvinylidendifluorid (PVDF) transfundiert. Nach Inkubation mit dem zu untersuchenden Serum wird die Reaktion mittels Substratfärbung sichtbar gemacht. Es entstehen dabei unterschiedliche Banden, die nach ihrer Spezifität interpretiert werden (GILL et al., 1993; LEUBA-GARCIA et al., 1994; LOTTMANN et al., 1996; NORMAN et al., 1996; RATH et al., 1996; SCHÖNBERG et al., 1996; MATEICKA et al., 1997; SAINT GIRONS et al., 1998).