

---

# Untersuchung von Zecken als Marker für die Gefährdung durch von ihnen übertragene Krankheiten

Die Prävalenz von Borrelien, Babesien, Rickettsien und  
Anaplasmen in *Ixodes ricinus*, *Dermacentor reticulatus* und  
*Haemaphysalis concinna*

Freie Universität



Berlin

Dissertation zur Erlangung des akademischen Grades des Doktors der  
Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.)

eingereicht im Fachbereich Biologie, Chemie, Pharmazie  
der Freien Universität Berlin

von

Dipl.-Biol. Peter Hagedorn

aus Bocholt

Berlin

2013

---

---

Die Promotion wurde im Robert Koch Institut im Zentrum für biologische Sicherheit 1 (ZBS1) Hochpathogene virale Erreger unter der Leitung von Prof. Dr. Matthias Niedrig von April 2008 bis August 2012 angefertigt.

1. Gutachter: Prof. Dr. Matthias Niedrig (RKI/HUB)
2. Gutachter: Prof. Dr. Rupert Mutzel (FUB)

Tag der Disputation: 31.5.2013

---

# Inhaltsverzeichnis

|           |   |           |
|-----------|---|-----------|
| <b>A.</b> | <b>Einleitung.....</b>  | <b>5</b>  |
| A.1       | Die in dieser Arbeit berücksichtigten Zecken.....                         | 5         |
| A.1.1     | Allgemeines zu Zecken.....  | 5         |
| A.1.2     | Gemeiner Holzbock ( <i>Ixodes ricinus</i> ).....                          | 9         |
| A.1.3     | Auwaldzecke ( <i>Dermacentor reticulatus</i> ).....                       | 10        |
| A.1.4     | Reliktzecke ( <i>Haemaphysalis concinna</i> ).....                        | 11        |
| A.2       | In dieser Arbeit berücksichtigte Pathogene .....                          | 12        |
| A.2.1     | <i>Borrelia burgdorferi</i> .....   | 12        |
| A.2.2     | Bakterien der Gattung <i>Rickettsia</i> .....                             | 15        |
| A.2.3     | Das Bakterium <i>Anaplasma phagocytophilum</i> .....                      | 18        |
| A.2.4     | Parasiten der Gattung <i>Babesia</i> .....                                | 19        |
| A.2.5     | Frühsommer-Meningoencephalitis-Virus (FSMEV).....                         | 21        |
| A.2.6     | Zirkulation der Pathogene in den Zecken .....                             | 23        |
| A.2.7     | Diagnose durch Zecken übertragener Krankheiten .....                      | 23        |
| A.2.7.1   | Diagnose Humane granulocytäre Anaplasrose.....                            | 24        |
| A.2.7.2   | Diagnose Babesiose.....   | 25        |
| A.2.7.3   | Diagnose Borreliose .....   | 26        |
| A.2.7.4   | Diagnose Erkrankungen durch Bakterien der Gattung <i>Rickettsia</i> ..... | 27        |
| A.2.7.5   | Diagnose einer Frühsommer-Meningoenzephalitis.....                        | 27        |
| A.3       | Zielsetzung der Arbeit .....  | 31        |
| <b>B.</b> | <b>Material und Methoden .....</b>  | <b>32</b> |
| B.1       | Material .....  | 32        |
| B.1.1     | Verwendete Software.....  | 33        |
| B.2       | Methoden .....  | 33        |
| B.2.1     | Sammeln von Zecken.....   | 33        |
| B.2.1.1   | Sammeln von Zecken durch „Dragging“ .....                                 | 34        |
| B.2.1.2   | Sammeln von Zecken durch „Flagging“ .....                                 | 35        |
| B.2.2     | Makroskopische Untersuchung der Zecken.....                               | 35        |
| B.3       | Pflanzensoziologische Einordnung der Sammelgebiete .....                  | 35        |
| B.4       | Molekularbiologische Methoden .....                                       | 41        |
| B.4.1     | Isolierung von Nukleinsäuren .....  | 41        |
| B.4.2     | Quantifizierung der extrahierten Nukleinsäuren.....                       | 41        |
| B.4.3     | Auftrennung von DNA-Fragmenten durch Agarose-Gelelektrophorese.....       | 41        |
| B.4.4     | Nachweis der Pathogene mittels PCR-Methoden.....                          | 41        |
| B.4.4.1   | Funktionsweise der Lateral flow Streifen .....                            | 42        |
| B.4.5     | PCR-Reaktionen zur näheren Untersuchung der positiven Proben .....        | 43        |
| B.4.6     | Sequenzierung von DNA-Fragmenten.....                                     | 45        |

|           |   |           |
|-----------|---|-----------|
| <b>C.</b> | <b>Ergebnisse</b> .....   | <b>46</b> |
| C.1       | Quantität der Zecken .....  | 46        |
| C.1.1     | <i>Ixodes ricinus</i> .....   | 46        |
| C.2       | Nachgewiesene Zecken.....   | 48        |
| C.2.1     | <i>Dermacentor reticulatus</i> .....  | 48        |
| C.3       | Einfluss der Umweltfaktoren .....   | 55        |
| C.4       | Prävalenz von Pathogenen .....  | 60        |
| C.4.1     | Prävalenz der Pathogene in <i>Ixodes-ricinus</i> -Zecken 2008/2009.....                                     | 60        |
| C.4.2     | Prävalenz der Pathogene in <i>Ixodes ricinus</i> 2010 .....   | 64        |
| C.4.3     | Prävalenz der Pathogene in <i>Dermacentor reticulatus</i> .....   | 67        |
| C.4.4     | Gefundene Koinfektionen in <i>I. ricinus</i> .....  | 70        |
| C.4.5     | Gefundene Koinfektionen in <i>Dermacentor reticulatus</i> .....   | 71        |
| C.5       | Phylogenetische Einordnung der gefundenen Pathogene .....   | 71        |
| C.5.1     | Gefundene Genotypen von <i>Borrelia burgdorferi</i> .....   | 72        |
| C.5.2     | Gefundene Rickettsienarten .....  | 75        |
| C.5.3     | Gefundene Anaplasma-DNA .....   | 75        |
| C.5.4     | Vergleich der verwendeten kommerziellen Kits mit herkömmlichen PCR-Methoden.....                            | 75        |
| <b>D.</b> | <b>Diskussion</b> .....   | <b>77</b> |
| D.1       | Betrachtungen zu den Zeckenfundzahlen in dieser Arbeit .....  | 77        |
| D.1.1     | Zeckendichte nach Sammelgebiet.....   | 77        |
| D.1.2     | Zeckendichte nach Sammelpunkten .....   | 78        |
| D.1.3     | Aktivitätsmuster nach Jahreszeit .....  | 79        |
| D.1.4     | Einfluss der Fangmethode.....   | 80        |
| D.1.5     | Quantität gefundener Arten.....   | 81        |
| D.1.6     | Risikoabschätzung anhand der Zahl gesammelter Zecken und ihrer Stadien.....                                 | 83        |
| D.1.7     | Eine Infektion mit dem FSME- Virus in Berlin ist unwahrscheinlich.....                                      | 84        |
| D.2       | Pathogenbelastung der Zecken .....  | 85        |
| D.2.1     | Unterschiede der Prävalenz bei den untersuchten Pathogenen.....   | 85        |
| D.2.2     | Quantität der Zecken und Prävalenz der Pathogene .....  | 88        |
| D.2.3     | Charakteristika der Infektionsmuster der Zeckenstadien bei <i>I. ricinus</i> .....                          | 89        |
| D.2.4     | Besonderheiten der gefundenen Pathogen .....  | 90        |
| D.2.4.1   | <i>Dermacentor reticulatus</i> ist ausschließlich mit <i>Rickettsia raoultii</i> belastet.....              | 90        |
| D.2.4.2   | <i>Rickettsia raoultii</i> wurde in Deutschland zum ersten Mal auch in <i>Ixodes ricinus</i> gefunden ..... | 90        |
| D.2.5     | Es wurden Borrelien auch in <i>Dermacentor reticulatus</i> gefunden .....                                   | 91        |
| D.2.6     | Unterschiede in der Pathogenlast unterschiedlicher Zeckenarten .....  | 92        |
| D.3       | Gebrauch der verwendeten Kits zum Nachweis der Pathogene .....  | 93        |
| D.3.1     | rapidStripe Anaplasma Stripe Assay .....  | 93        |
| D.3.2     | rapidStripe Babesia Stripe Assay.....   | 93        |
| D.3.3     | rapidStripe Borrelia Stripe Assay .....   | 94        |
| D.3.4     | rapidStripe Rickettsia Stripe Assay .....   | 94        |

|   |   |            |
|---|---|------------|
| D.4                                       | Schlussfolgerungen aus der Studie in Bezug auf den Gebrauch von Zecken als Risikomarker ..... | 94         |
| D.4.1                                     | Das Beobachten von Zeckenpopulationen ist wichtig .....                                       | 94         |
| D.4.2                                     | Um ein Sammelgebiet beurteilen zu können, muss eine sehr große Fläche abgesucht werden .....  | 95         |
| D.4.3                                     | Krankheitsfälle von Menschen als Indikator sind problematisch .....                           | 95         |
| <b>Zusammenfassung .....</b>              |   | <b>96</b>  |
| <b>Lebenslauf .....</b>                   |   | <b>99</b>  |
| <b>Abkürzungsverzeichnis .....</b>        |   | <b>101</b> |
| <b>Publikationen und Konferenzen.....</b> |   | <b>103</b> |
| <b>F.</b>                                 | <b>Anhang .....</b>   | <b>105</b> |
| F.1                                       | Genaue Pflanzensoziologie der Sammelgebiete .....   | 105        |
| F.1.1                                     | Bucher Forst.....   | 105        |
| F.1.2                                     | Frohnau .....   | 106        |
| F.1.3                                     | Rehberge .....  | 107        |
| F.1.4                                     | Hasenheide.....   | 108        |
| F.1.5                                     | Michendorfer Heide .....  | 109        |
| F.1.6                                     | Wannsee.....  | 110        |
| F.1.7                                     | Spandau.....  | 110        |
| F.1.8                                     | Teufelssee .....  | 111        |
| F.1.9                                     | Marzahn .....   | 112        |
| F.1.10                                    | Brieskow-Finkenheerd.....   | 112        |
| <b>Abbildungsverzeichnis .....</b>        |   | <b>115</b> |
| <b>Tabellenverzeichnis .....</b>          |   | <b>116</b> |
| <b>Literaturverzeichnis .....</b>         |   | <b>117</b> |
| <b>Kartenmaterial nach Titel.....</b>     |   | <b>126</b> |
| <b>Danksagung.....</b>                    |   | <b>127</b> |
| <b>Erklärung.....</b>                     |   | <b>129</b> |





## **A. Einleitung**

### **A.1 Die in dieser Arbeit berücksichtigten Zecken**

#### **A.1.1 Allgemeines zu Zecken**

##### Urzeitrelikte

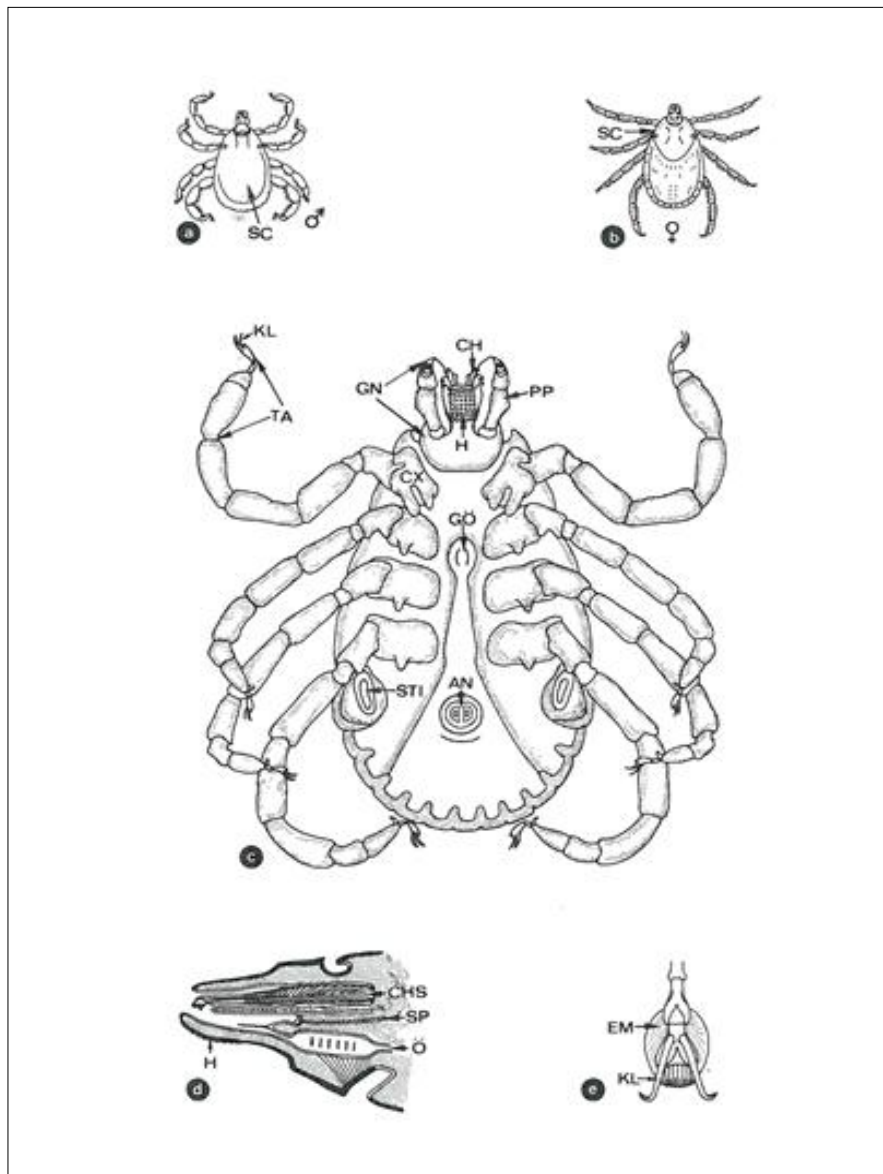
Der Ursprung der Zecken liegt in der frühen bis mittleren Kreidezeit. Sie waren also schon Zeitgenossen der Dinosaurier. Ihre ersten Wirte waren wahrscheinlich Reptilien oder Amphibien (Nava et al. 2009). Menschen wurden bereits prähistorisch von Zecken befallen, wie eine menschliche Mumie und Koprolithe beweisen (Baker 2009). Auch der Gletschermann „Ötzi“ wurde von Zecken gestochen und infizierte sich mit Borrelien (Keller et al. 2012). In der Antike war die medizinische Bedeutung der Zecken den Ägyptern bekannt, und Zeckenfieber wurde 1500 v. Cr. in einer Papyrusrolle beschrieben. Homer erwähnte Zecken in der Ilias, und Aristoteles schilderte Beobachtungen zum Vorkommen von Zecken. Plinius der Ältere stellte einen Bezug zur Medizin her (Hillyard 1996, S. 14).

##### Überträger von Krankheiten

Von Zecken wird eine größere Bandbreite pathogener Mikroorganismen auf Menschen und Tiere übertragen als von jedem anderen Vektor. Sie zählen zu den Vektoren, die für die größte Anzahl von Infektionen verantwortlich sind. Nach den durch Moskitos übertragenen Pathogenen sind durch Zecken übertragene Krankheitserreger wahrscheinlich die zweithäufigste Ursache von Krankheiten bei Menschen, die durch Vektoren übertragen werden (Jongejan und Uilenberg 2004). Bei den Nutztieren sind Zecken wahrscheinlich der wichtigste Vektor überhaupt. Zu den übertragenen Pathogenen zählen Viren, Bakterien

und Protozoen. Es wird vermutet, dass weltweit durch Zecken übertragene Pathogene jährlich etwa 100.000 Erkrankungen bei Menschen verursachen (de la Fuente J et al. 2008). Zecken stellen aufgrund der von ihnen übertragenen Pathogene eine Gefahr für die Gesundheit dar. Deswegen ist es wichtig, über die Verbreitung der unterschiedlichen Zeckenarten und der von ihnen potenziell übertragenen Krankheitserreger Informationen zu besitzen. Zur Abschätzung des Infektionsrisikos mit durch Zecken übertragenen Krankheiten wäre es wünschenswert, Gesetzmäßigkeiten zur Verbreitung der verschiedenen Zecken und der Prävalenz der unterschiedlichen Pathogene zu besitzen. Das Wissen über die durch Zecken übertragenen Krankheitserreger ist wichtig, um geeignete Maßnahmen zu ergreifen, um die durch die Zecken verursachten Gefahren einzuschätzen und ihnen entgegen zu wirken. Stehen Impfungen zur Verfügung, können diese mit Wissen über die Verbreitung von Zecken und Pathogenen gezielter eingesetzt werden. Das Wissen um vorliegende Belastungen der Zecken mit Pathogenen erhöht das Bewusstsein für eventuell auftretende Krankheiten und ermöglicht es, eine an die Gefahrenlage angepasste Diagnostik durchzuführen. Die Informationen, die zur Verbreitung von Zecken und der durch sie übertragenen Pathogene vorliegen, sind lückenhaft.

Zecken gehören im Reich der *Metazoa* (vielzellige Tiere) zum Stamm der *Arthropoda* (Gliederfüßer). Dort werden sie dem Unterstamm der *Chelicerata* und innerhalb dieses Unterstammes der Klasse der *Arachnida* (Spinnenartige) zugeordnet. Innerhalb der *Arachnida* gehören die Zecken den *Acari* (Milbenartige) an. Zecken werden zur Ordnung der *Metastigmata* gezählt. Diese Ordnung teilt sich in drei Familien auf. Die *Ixodidae* (Schildzecken) stehen den *Argasidae* (Lederzecken) gegenüber. Eine Zwischenstellung nimmt die Familie der *Nutalliedidae* ein. Diese Zeckenfamilie besitzt ein teilweise sklerotisiertes Rückenschild (Pseudo-Skutum) und scheint der Stammart am ähnlichsten zu sein. Die Familie der *Ixodidae* beinhaltet weltweit ungefähr 650 Arten. In Deutschland kommen ca. 23 Arten vor. Schildzecken sind die vorherrschende und artenreichste Familie der Zecken. In ihr kommen die meisten medizinisch relevanten Arten vor. Die Familie wird in Langrüsselige (*Prostriata*) und Kurzrüsselige (*Metastricata*) eingeteilt. Die langrüsseligen Zecken, zu denen *Ixodes ricinus* gehört, besitzen keine Linsenaugen. Diese sind ein wichtiges Unterscheidungsmerkmal (Hillyard 1996, S. 8-21), (Lucius und Loos-Frank 2008).



a) nüchternes Weibchen; b) nüchternes Männchen; c) Ventralseite *Dermacentor* sp.; d) Mundwerkzeuge *Dermacentor* sp.; e) Tarsus *Dermacentor* sp.; AN = Anus; CH = Cheliceren; CHS = Chelicerenscheide; CX = Coxa; EM = Empodium; GN = Capitulum; GÖ = Geschlechtsöffnung; H = Hypostom; KL = Klaue; Ö = Oesophagus; PP = Pedipalpus; SC = Scutum; SP = Speichelgang; STI = Stigma; TA = Tarsus

Abb. A.1: Schematische Darstellung einer Schildzecke (Mehlhorn 1989, S. 276–277)

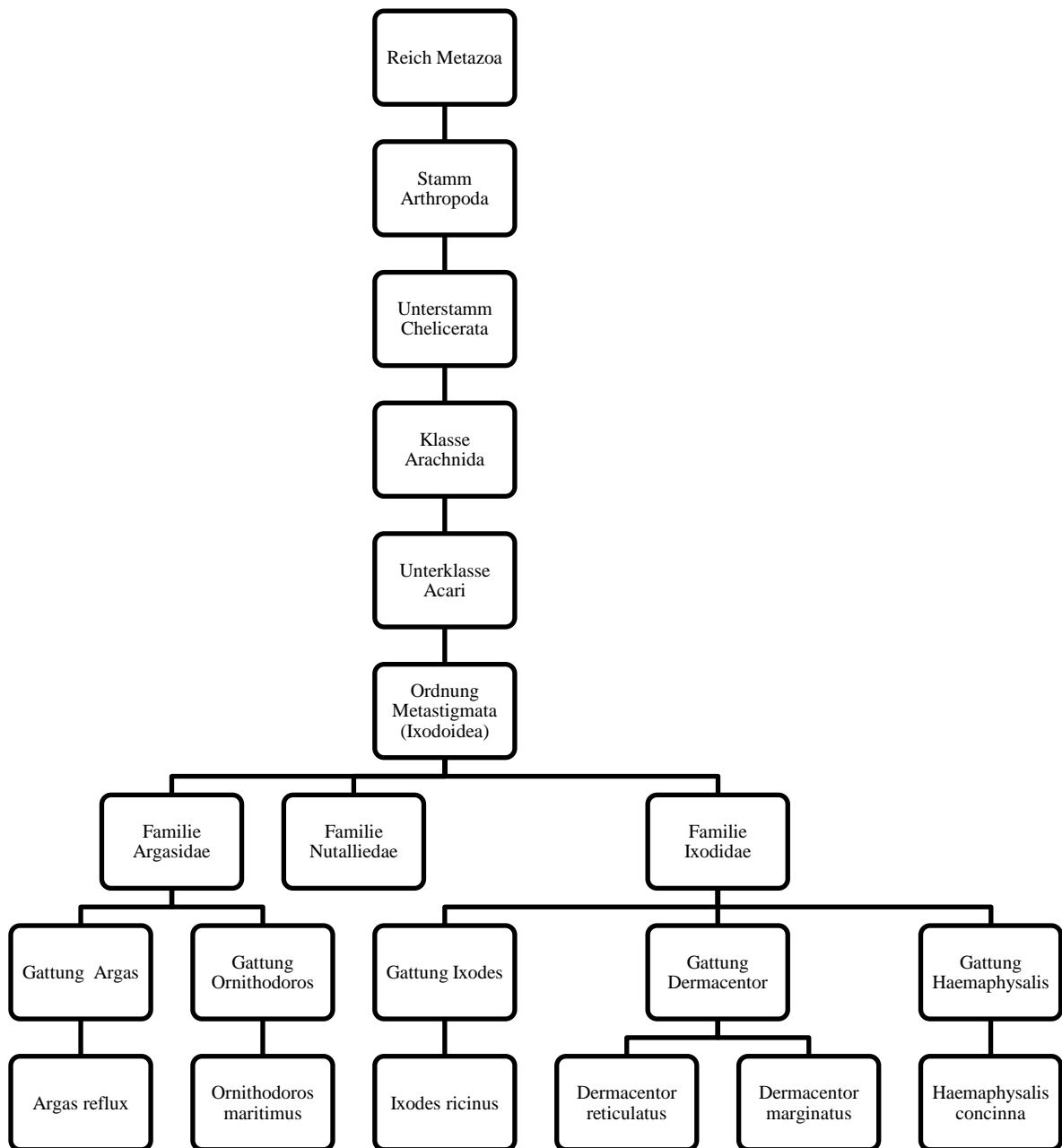


Abb. A.2: Taxonomische Einordnung der Zecken in das hierarchische System der Organismen (stark vereinfacht) (Hillyard 1996, S. 57–144)

### A.1.2 Gemeiner Holzbock (*Ixodes ricinus*)

Phylogenie: Bei *Ixodes ricinus* (*I. ricinus*, deutsche Bezeichnung: Holzbock) handelt es sich um die in Nordwest-Europa häufigste Zeckenspezies. *I. ricinus* gehört zur Familie der Schildzecken (*Ixodidae*) und zu den langrüsseligen Zecken (*Prostriata*).

Morphologie: Ausgewachsene Weibchen sind 3,5 bis 4,5 mm lang. Beine und Schild (scutum) sind dunkelbraun. Der Körper (alloscutum) hat eine rötliche Färbung. Mit Blut vollgesogen hat das Weibchen eine Länge von 12-14 mm. Der Körper nimmt in diesem Zustand eine graubraune Farbe an. *I. ricinus* besitzt keine Linsenaugen.

Wirtsspektrum: *Ixodes ricinus* besitzt ein sehr großes Wirtsspektrum. Die Zecke ist 3-wirtig, das heißt, jedes Zeckenstadium saugt einmal auf einem jeweils anderen Wirt. Trotzdem können alle Stadien dieser Zeckenart gleichzeitig auf einem Wirt vorkommen. Normalerweise parasitieren die Larven und Nymphen auf kleinen Säugetieren, aber auch auf Vögeln wie Amseln (*Turdus merula*) oder Grasmücken (*Sylvia* spp.). Larven und Nymphen werden sogar auf Reptilien gefunden. Die adulten Stadien findet man häufiger auf größeren Tieren wie Schafen, Rindern, Rehen und Hunden. Selten und mehr zufällig findet man *Ixodes ricinus* auch auf Fledermäusen. Männchen findet man selten saugend auf Wirtstieren.

Verbreitungsgebiet: *Ixodes ricinus* kommt in ganz Nordwesteuropa und großen Teilen der westlichen Paläarktis (von Island bis Zentralasien) vor. Südliche Grenze der Ausbreitung ist das Atlasgebirge in Nordafrika.

Ökologische Ansprüche: Diese Zecke benötigt ein feuchtes Mikrohabitat, was z. B. durch eine dichte Bodenschicht gewährleistet wird. Je dichter die Krautschicht ausgeprägt ist, desto größer ist der Zeckenbefall. Die Zeckenaktivitätsperiode wird aber auch maßgeblich durch Trockenperioden und Verfügbarkeit von Wirten beeinflusst.

Potenziell übertragene Krankheitserreger: *Ixodes ricinus* ist die bestuntersuchte Zeckenart. Dementsprechend ist ein sehr breites Spektrum übertragener Pathogene in ihr beschrieben worden. Darunter Vertreter von Viren, Bakterien und Protozoen.

Das wichtigste in Deutschland übertragene Virus ist das Frühsommermeningoenzephalitis-Virus (FSMEV). Aber in Deutschland wurden auch Tettang- und Eyach-Virus in *Ixodes ricinus* nachgewiesen. Die Liste der übertragenen bakteriellen Pathogene ist sehr lang. Das wichtigste und bekannteste durch *Ixodes ricinus* übertragene Bakterium ist *Borrelia burgdorferi sensu lato*. Aber auch die meisten Rickettsienarten wie *Rickettsia conori*, *Rickettsia helvetica* und *Rickettsia raoultii* wurden in *Ixodes ricinus* nachgewiesen. Auch andere zur Familie der *Rickettsiaceae* gehörende Bakterien wie *Coxiella burnetii* und

*Anaplasma phagocytophilum* werden durch *Ixodes ricinus* übertragen. Das phylogenetisch weiter entfernt stehende Bakterium *Francisella tularensis* wurde ebenfalls in *Ixodes ricinus* nachgewiesen und die Übertragung beobachtet. Die Gruppe der einzelligen Organismen wird durch die Familie *Babesiidae* vertreten. *Babesia divergens* und *Babesia microti* sind zwei Vertreter dieser Familie, von denen beschrieben wurde, dass sie in Deutschland durch *Ixodes ricinus* übertragen werden (Hillyard 1996, S. 31–32). Mindestens ein weiterer Vertreter dieser Gattung (*Babesia venatorum*) wurde in Europa als humanpathogen beschrieben.

### **A.1.3 Auwaldzecke (*Dermacentor reticulatus*)**

Phylogenie: Wie *Ixodes ricinus* auch gehört *Dermacentor reticulatus* zu den Schildzecken (*Ixodidae*). Innerhalb dieser Familie, aber im Gegensatz zu *I. ricinus* dort zu den kurzrüsseligen Zecken (*Metastricata*) und muss deswegen beim Saugakt unbedingt eine leim- oder kittartige Substanz ausscheiden, weil sonst eine effektive Verankerung in der Stichstelle nicht möglich wäre.

Morphologie: *Dermacentor reticulatus* (*D. reticulatus*) ist eine eher große Zecke. Weibchen besitzen eine Länge von 10 mm, Männchen eine Länge von 4,2–4,8 mm. Das eindeutige Unterscheidungsmerkmal gegenüber anderen Zecken ist das Emaille-artig ornamentierte Schild. Im Gegensatz zu *I. ricinus* besitzt diese Zecke Augen, die am äußeren Ende der breitesten Stelle des Schildes lokalisiert sind. Die Palpen sind kurz und dick. Auf der Rückseite der Zecken am unteren Rand des Körpers befinden sich 11 Festone. *D. reticulatus* und *marginatus* können durch einen nach hinten gerichteten Dorn an den Palpen, der bei *Dermacentor marginatus* fehlt, und einen breiten zu den daneben liegenden parallel verlaufenden Dornen an der Coxa I unterschieden werden.

Wirtsspektrum: Die erwachsene Zecke befällt wilde und domestizierte Säugetiere, aber auch den Menschen (Hillyard 1996, S. 116–120). Larven und Nymphen leben ausschließlich in den Bauten der von ihnen befallenen Wirtstieren (über 30 kleine Wirbeltiere, z. B. Eichhörnchen (*Sciurus vulgaris*), Pferdespringer (Gattung *Allactaga*), verschiedene Spitzmäuse (Gattung *Soricidae*) u.s.w. Sie stellen somit keine Gefahr für den Menschen dar (Immler 1973).

Verbreitungsgebiet: *Dermacentor reticulatus* ist von Europa bis Zentralasien weit verbreitet. Die Zecke kommt in Frankreich, Spanien, der Schweiz, England, Belgien, Deutschland und Polen vor.

*D. reticulatus* hat sich in den letzten Jahren verstärkt in Deutschland ausgebreitet.

Ökologische Ansprüche: Die Auwaldzecke bewohnt Grasland wie Wiesen, kommt aber auch in Wäldern vor.

Potenziell übertragene Krankheitserreger: *D. reticulatus* ist dafür bekannt, verschiedene Babesienarten (*B. divergens*, *Babesia microti* und *Babesia canis*) zu übertragen. Es ist auch beschrieben, dass diese Art das FSMEV übertragen kann. Weitere durch *D. reticulatus* übertragene Krankheitserreger sind *R. conori* und *Francisella tularensis* (Hillyard 1996, S. 120).

#### **A.1.4 Reliktzecke (*Haemaphysalis concinna*)**

Phylogenie: Wie *Ixodes ricinus* und *Dermacentor reticulatus* gehört *Haemaphysalis concinna* zu den *Ixodidae*. Innerhalb dieser Familie gehört *Haemaphysalis concinna* zu den *Metastricata*.

Morphologie: Die Palpen ragen oberhalb der Basis zur Seite. Die Basis ist kurz und breit. Das Scutum ist fast rund. Diese Zecke hat eine kurze Mundpartie und einen breiten nach hinten zeigenden Dorn an Trochanter I. Das Capitulum ist kurz und die Palpen breit. Eine Musterung oder Augen sind nicht vorhanden. Normalerweise besitzt die Zecke 11 Festone, die auch schon bei den Nymphen vorliegen. Anders als bei *I. ricinus* und *D. reticulatus* scheinen die Nymphen verkleinerte Formen der Imagos zu sein. Nymphen und Larven sind im Gegensatz zu *D. reticulatus* in der freien Natur auf Wirtssuche. Ausgewachsene, ungesogene Weibchen haben eine Länge von bis zu 4 mm

Wirtsspektrum: Der wichtigste Wirt für die Imagos sind Rehe. Sie werden aber auch auf Rindern, Pferden, Hunden, Katzen und Hasen gefunden. Larven und Nymphen kommen auf Rehen, Igel, Nagern, Reptilien und Vögeln vor. Nymphen wurden auch von Menschen entfernt.

Verbreitungsgebiet: Die Reliktzecke kommt in Frankreich, Deutschland und Polen vor. Ostwärts wurden Vorkommen in China und Japan beobachtet. In Deutschland wurde sie nahe Hannover, in Lüneburg und Südhessen beobachtet (Hillyard 1996, S. 116–120).

Ökologische Ansprüche: Die Reliktzecke bewohnt gemäßigte Laub- und Mischwälder

Potenziell übertragene Krankheitserreger: *Haemaphysalis concinna* wird mit *Francisella tularensis* und dem Frühsommermeningoenzephalitis-Virus assoziiert. Es wurde beschrieben, dass die Zecke *Rickettsia sibirica* übertragen kann. Für *Borrelia* spp. scheint *Haemaphysalis concinna* kein guter Vektor zu sein. Kahl konnte 1996 keine unter 96 *H. concinna* Zecken finden, die Träger von *B. burgdorferi* war (Kahl et al. 1992).

## A.2 In dieser Arbeit berücksichtigte Pathogene

In dieser Arbeit wurden die in Berlin relevanten durch Zecken übertragenen Krankheiten berücksichtigt. Berlin und seine Umgebung gehörten noch nie zu den Risikogebieten für die Frühsommer-Meningoenzephalitis (FSME). Darüber hinaus wurde in Berlin noch nie ein FSME-Fall registriert, dessen Infektion im Berliner Gebiet erfolgt ist. Selbst in Risikogebieten, in denen die Wahrscheinlichkeit, sich mit FSME zu infizieren, höher ist, fand man bei Untersuchungen von sehr großen Mengen Zecken aller Entwicklungsstufen nur eine geringe Prävalenz des FSME-Virus. Da Berlin nicht zu den Risikogebieten für FSME gehört, ist eine Prävalenz des Virus von unter einem Prozent zu erwarten. Eine statistische Aussage über die Häufigkeit des FSME-Virus im Gebiet von Berlin könnte wahrscheinlich erst bei einer Stichprobengröße von mehreren Tausend Zecken gemacht werden. Deswegen wurde sich auf die bakteriellen durch Zecken übertragenen Krankheiten konzentriert, deren Prävalenz in Zecken höher ist (Stefanoff et al. 2012), (Bingsohn et al. 2013), (Süss et al. 1999), (Lommano et al. 2012).

### A.2.1 *Borrelia burgdorferi*

Bei *Borrelia burgdorferi* sensu lato (*B. burgdorferi* sl) handelt es sich um ein gramnegatives Bakterium.

Taxonomische Einordnung: *Borrelia burgdorferi* gehört zur Ordnung der *Spirochaetales*. Innerhalb dieser Ordnung wird es der Familie der *Spirochaetaceae* und der Gattung *Borrelia* zugeordnet.

Morphologie: Das Bakterium besitzt eine inkonstante Anzahl von Windungen, ist zwischen 10 und 30 µm lang und hat einen Durchmesser zwischen 0,2 und 0,5 µm. Die einzelnen Windungen haben eine Länge von 1,5 bis 3,8 µm. Das Bakterium besitzt 7 bis 11 Endoflagellen. Das Erbgut des Bakteriums ist auf einem Chromosom und mehreren linearen und zirkulären Plasmiden lokalisiert. Das Bakterium gilt als mikroaerophil.

Innerhalb der Familie der Spirochäten wird die Gattung der Borrelien mit Hilfe der Sequenzanalyse der 16S rRNA abgegrenzt. Die Gattung enthält etwa 20 Arten und wird in Borrelien, die das Rückfallfieber verursachen, und in die Borrelien, die die Lyme-Borreliose verursachen, unterteilt. Letztere werden in dem Komplex *Borrelia burgdorferi* sensu lato zusammengefasst (Satz 2010, S. 12–53).



Tab. A.1: Übersicht der verschiedenen Borreliengenotypen (Rudenko et al. 2011), (Satz 2010, S. 30–40), (Mayne 2012), (Masuzawa et al. 1996), (Földvári et al. 2005)

| Genotyp                             | Verbreitung   | Assoziierte Manifestationen   | Kompetenter Wirte   | Vektoren   |
|-------------------------------------|---|---|---|--|
| <i>B. andersonii</i>                | New York, Connecticut   | noch nicht als humanpathogen beschrieben                                    | Waldhasen ( <i>Sylvilagus floridanus</i> )                    | <i>I. dentatus</i> ,<br><i>I. scapularis</i>   |
| <i>B. afzelii</i>                   | West-, Osteuropa, Sibirien, Fernost, Japan  | komplette Ausprägung der Borreliose   | Kleine Säuger   | <i>I. ricinus</i> ,<br><i>I. persulcatus</i> ,<br><i>I. pacificus</i> ,<br><i>I. minor</i> ,<br><i>I. dentatus</i> , |
| <i>B. bissettii</i>                 | Nordamerika (Kalifornien, New York)<br>Europa (Slowenien, Sibirien)                             | systemische Meningitis, Erythema migrans, Endocarditis                      | Hasen, Nager, nur selten Menschen                             | <i>I. spinipalpis</i> ,<br><i>I. pacificus</i> ,<br><i>I. scapularis</i> ,<br><i>I. ricinus</i> ,                    |
| <i>B. garinii</i>                   | Europa und Asien  | komplette Ausprägung der Borreliose   | Vögel (für OspA Serotyp 4 auch Nager ( <i>Apodemus sp.</i> )) | <i>I. ricinus</i> ,<br><i>I. persulcatus</i> ,<br><i>I. uriae</i>  |
| <i>B. japonica</i>                  | Japan   | Erythema migrans, Lymphknotenschwellung,                                    | kleine Säuger (Nager)   | <i>I. ovatus</i>   |
| <i>B. burgdorferi sensu stricto</i> | Nordamerika (Nordost- und Westküste), West- und Osteuropa, nicht in Sibirien, Fernost und Japan | komplette Ausprägung der Borreliose, klassischer Erreger der Lyme-Arthritis | Säuger, kleine Säuger wie Nager, Vögel                        | <i>I. scapularis</i> ,<br><i>I. pacificus</i> ,<br><i>I. ricinus</i>   |
| <i>B. sinica</i>                    | Südchina, Zentralchina, Taiwan, Nepal, Thailand   | noch nicht als humanpathogen beschrieben                                    | kleine Säuger ( <i>Niventer confucianus</i> )                 | <i>I. ovatus</i>   |
| <i>B. spielmanii</i>                | Holland, Belgien, Deutschland, Frankreich, Tschechien   | Erythema migrans  | Siebenschläfer ( <i>Glis glis</i> )                           | <i>I. ricinus</i>  |
| <i>B. tanukii</i>                   | Japan   | noch nicht als humanpathogen beschrieben                                    | Säuger (Nager)  | <i>I. tanuki</i>   |

| Genotyp              | Verbreitung   | Assoziierte Manifestationen              | Kompetenter Wirte | Vektoren   |
|----------------------|---|--|-------------------|--|
| <i>B. turdi</i>      | Japan   | noch nicht als humanpathogen beschrieben | Säuger (Nager)    | <i>I. turdus</i>   |
| <i>B. valaisiana</i> | West- und Osteuropa   | Erythema migrans                         | Vögel             | <i>I. ricinus</i> ,<br><i>I. persulcatus</i> ,<br><i>I. columnae</i> |
| <i>B. lusitaniae</i> | West- und Osteuropa (Portugal, Spanien, Italien, Frankreich, Schweiz, Polen, Tschechien, Slowenien, Moldawien, Weißrussland, Ukraine), Türkei, Nordafrika (Tunesien, Marokko) | Chronische, unspezifische Hauterkrankung | Zugvögel          | <i>I. ricinus</i>  |

Pathogenese: Dringen die Bakterien in die Haut ein, proliferieren sie, und es erfolgt lokal eine Ausbreitung. Folge ist die Ausbildung von typischen Entzündungsreaktionen. Die lokale Durchblutung erhöht, und Entzündungszellen wandern ins Gewebe. Durch diese Vorgänge kommt es zur Rötung der Haut. Charakteristischerweise bildet sich eine ringförmige Rötung aus, sobald sich die Haut im Zentrum erholt und die Proliferation der Borrelien zentrifugal fortschreitet. Die Hautrötung heißt Erythema migrans und ist die am häufigsten beschriebene Manifestation der Lyme-Borreliose. In Europa wird es nur bei 30 % der Borreliose-Patienten beobachtet. Im Gegensatz dazu wird es bei 90 % der Borreliose-Patienten in den USA beschrieben (Satz 2010, S. 278–310). Verantwortlich für die Entzündungsreaktion ist die Immunantwort der befallenen Person. Zum einen werden das Komplementsystem und die Makrophagen aktiviert. Zum anderen wird die spezifische Antikörperbildung in Gang gesetzt. Im weiteren Verlauf der Krankheit disseminieren die Spirochäten über den Blut- und Lymphweg und besiedeln verschiedene Organe. Eine Manifestation der Lyme-Borreliose in den jeweiligen Orten geht in der Regel mit der Anwesenheit lebender Erreger am Ort der Entzündung einher. Das dominierende pathologisch-anatomische Korrelat der Erkrankung sind perivaskuläre mononukleäre

(lympho-plasmazelluläre) Infiltrate. Beim Lymphadenom nehmen die lymphohistiozytären Infiltrate einen lymphknotenartigen Aufbau an (Suerbaum et al. 2012, S. 372–383).

## A.2.2 Bakterien der Gattung *Rickettsia*

Taxonomische Einordnung: Die Bakterien der Gattung *Rickettsia* gehören zur Klasse der *α-Proteobacteria*. Dort werden sie in der Ordnung der Rickettsiales angeordnet. Diese Ordnung enthält die Familie der *Rickettsiaceae*. In dieser Familie werden sie in der Gattung *Rickettsia* zusammengefasst.

Tab. A.2: Übersicht der verschiedenen *Rickettsienarten* (Dobler und Wölfel 2009:0515), (McDade et al. 1980), (Maina et al. 2012; Pérez-Osorio et al. 2008), (Fornadel et al. 2013), (Switaj et al. 2012), (Lin und Decker 2012), (Botelho-Nevers et al. 2012), (Zavala-Castro et al. 2009), (Renvoisé et al. 2012)

| Rickettsienart              | Verbreitung                                 | Erkrankung                     | kompetenter Wirte  | Vektoren   |
|-----------------------------|---|--------------------------------|--|--|
| <i>R. africae</i>           | Subsahara-Afrika, Karibik                   | Afrikanisches Zeckenbissfieber | unbekannt  | <i>Amblyomma</i> spp.<br><i>Hyalomma dromedarii</i> ,<br><i>Rh. decoloratus</i> , <i>Rh. annulatus</i> |
| <i>R. akari</i>             | vermutlich weltweit                         | Rickettsienpocken              | Ratten, Mäuse  | Milben ( <i>Liponyssoides sanguineus</i> ),<br>möglicherweise<br><i>Rh. sanguineus</i>                 |
| <i>R. aeschlimannii</i>     | Afrika, Europa                              | Zeckenbissfieber               | Zecken   | <i>Hyalomma marginatum</i> ,<br><i>Rh. appendiculatus</i>  |
| <i>R. australis</i>         | Australien, Tasmanien                       | Queensland Flecktyphus         | unbekannt  | <i>I. holocyclus</i> ,<br><i>I. tasmani</i>  |
| <i>R. heilongjiangensis</i> | Ferner Osten                                | Zeckenbissfieber               | unbekannt  | <i>D. silvarum</i>   |
| <i>R. helvetica</i>         | Europa, Asien                               | Aneruptives Zeckenbissfieber   | Zecken<br>( <i>I. ricinus</i> )  | <i>I. ricinus</i> ,<br><i>I. ovatus</i> ,<br><i>I. persulcatus</i> ,<br><i>I. monospinus</i>           |
| <i>R. parkeri</i>           | Südamerika, Nordamerika                     | Makuläres Fieber               | potenziell Hunde ( <i>Canis familiaris</i> ),<br>Zecken                        | <i>Amblyomma maculatum</i> ,<br><i>Amblyomma trisre</i>  |
| <i>R. prowazekii</i>        | Afrika, Asien, Zentral- und Südamerika, USA | Epidemisches Fleckfieber       | Mensch ( <i>Homo sapiens</i> )<br>Eichhörnchen ( <i>Sciurus carolinensis</i> ) | Kleiderläuse ( <i>Pediculus humanus</i> )  |

| Rickettsienart               | Verbreitung                                      | Erkrankung  | kompetenter Wirte  | Vektoren   |
|------------------------------|--|---|--|--|
| <i>R. conorii</i>            | Mittelmeerregion, Mittlerer Osten, Afrika        | Boutonneuse-Fieber (Mittelmeerfleckfieber)                                | potenziell Hunde ( <i>Canis familiaris</i> ), Zecken ( <i>Rhipicephalus sanguineus</i> ) | Braune Hundezecke ( <i>Rh. sanguineus</i> )  |
| <i>R. conorii caspia</i>     | Russland, Kasachstan, Kosovo, Tschad, Frankreich | Astrachisches Fieber  | potenziell Hunde ( <i>Canis familiaris</i> ), Zecken ( <i>Rhipicephalus sanguineus</i> ) | <i>Rh. sanguineus</i> ,<br><i>Rh. pumilio</i>  |
| <i>R. conori indica</i>      | Indien   | Indischer Zeckentyphus  | unbekannt  | <i>Rh. sanguineus</i>  |
| <i>R. conori israelensis</i> | Israel, Portugal, Sizilien, Tunesien, Lybien     | Israelisches Zeckenbissfieber   | unbekannt  | <i>Rh. sanguineus</i>  |
| <i>R. felis</i>              | Afrika, Südamerika, Europa, Asien                | Typische Rickettsiosezeichen mit Einbeziehung des zentralen Nervensystems | Katzenfloh ( <i>Ctenocephalides felis</i> ), Zecken ( <i>Haemaphysalis flava</i> ?)      | Katzenfloh ( <i>Ctenocephalides felis</i> ), Zecken<br><i>Haemaphysalis flava</i> ,<br><i>Rh. sanguineus</i> ,<br><i>I. ovatus</i> |
| <i>R. honei</i>              | Australien, Thailand                             | Flinders Island-Zeckenbissfieber  | unbekannt  | <i>I. granulatus</i><br><i>Haemaphysalis novaeguinae</i> ,<br><i>Rh. haemaphysaloides</i>  |
| <i>R. honei marmionii</i>    | Queensland, Tasmanien, Südastralien              | Zeckenbissfieber  | unbekannt  | <i>Haemaphysalis novaeguinae</i> ,<br><i>I. holocyclus</i>   |
| <i>R. japonica</i>           | Japan, Südkorea                                  | Östliches Zeckenbissfieber  | unbekannt  | <i>Haemaphysalis flava</i> ,<br><i>Haemaphysalis longicornis</i> ,<br><i>D. taiwanensis</i> ,<br><i>I. ovatus</i>                  |
| <i>R. monacensis</i>         | Europa, Nordafrika                               | Zeckenbissfieber  | unbekannt  | <i>I. ricinus</i>  |
| <i>R. massiliae</i>          | Europa, USA, Südamerika                          | Zeckenbissfieber  | potenziell Hunde ( <i>Canis familiaris</i> )   | <i>Rh. sanguineus</i> ,<br><i>Rh. turanicus</i> ,<br><i>Rh. muhsamae</i> ,<br><i>Rh. lunulatus</i> ,<br><i>Rh. sulcatus</i>        |

| Rickettsienart                    | Verbreitung  | Erkrankung                       | kompetenter Wirte  | Vektoren  |
|-----------------------------------|--|----------------------------------|--|---|
| <i>R. rickettsii</i>              | Amerika  | Rocky Mountain-Zeckenbissfieber  | potenziell Hunde ( <i>Canis familiaris</i> ), Zecken         | <i>D. variabilis</i> ,<br><i>D. andersoni</i> ,<br><i>Amblyomma cajennense</i> ,<br><i>Amblyomma arueolatum</i><br><i>Rh. sanguineus</i>                |
| <i>R. raoultii</i>                | Europa, Zentral-Ostsibirien, Zentral und Ostasien, China | TIBOLA, Zeckenbissfieber         | nur in Zecken  | <i>D. marginatus</i> ,<br><i>D. reticulatus</i> ,<br><i>I. ricinus</i> ,<br><i>D. nuttalli</i> ,<br><i>Rh. Pumilio</i> ,<br><i>D. silvarium</i>         |
| <i>R. sibirica</i>                | Russland, China, Mongolei                                | Nordasiatisches Zeckenbissfieber | unbekannt  | <i>Hyalomma asiaticum</i> ,<br><i>Hyalomma truncatum</i> ,<br><i>Hyalomma anatolicum</i> ,<br><i>Hyalomma excavatum</i> ,<br><i>Hyalomma truncatum</i>  |
| <i>R. sibirica mongolitimonae</i> | Europa, Afrika, Asien                                    | Lymphangitis                     | unbekannt  | <i>Hyalomma asiaticum</i> ,<br><i>Hyalomma truncatum</i> ,<br><i>Hyalomma anatolicum</i> ,<br><i>Hyalomma excavatum</i> ,<br><i>Hyalomma. truncatum</i> |
| <i>R. slovaca</i>                 | Europa, Asien  | TIBOLA                           | unbekannt  | <i>D. reticulatus</i> ,<br><i>D. marginatus</i>   |
| <i>R. typhi</i>                   | weltweit   | Endemisches Fleckfieber          | Ratten ( <i>Rattus norvegicus</i> und <i>Rattus rattus</i> ) | <i>Xenopsylla cheopis</i>   |

Morphologie: Bakterien der Gattung *Rickettsia* sind gram-negative obligat intrazellulär lebende Bakterien. Sie sind pleomorph und bilden keine Sporen. Meist sind sie rund bis oval mit einem Durchmesser von 0,1 µm. Selten werden Ketten gebildet. Regelmäßig treten sie einzeln oder in Paaren auf (Suerbaum et al. 2012, S. 383–392).

In Deutschland sind mindestens sechs Rickettsienarten aus Zecken isoliert worden (Schicht et al. 2012). Diese sind:

- *Rickettsia helvetica*

- *Rickettsia raoultii*

- *Rickettsia monacensis*

- *Rickettsia slovaca*

- *Rickettsia felis*

- *Rickettsia massilae*

Pathogenese: Die primären Zielzellen der hier behandelten Rickettsien sind Endothelzellen der kleinen bis mittleren Gefäße. Die Aufnahme in die Endothelzellen erfolgt durch induzierte Phagozytose. Danach brechen die Rickettsien aus dem Phagosom ins Zytosol aus. Ein Eindringen in den Zellkern ist möglich. Die Rickettsien der Zeckenbissfiebergruppe zeigen eine zytoplasmatische Beweglichkeit. Bei ihnen löst das RickA-Oberflächenprotein eine Aktinpolymerisation aus, wodurch die Rickettsien sich im Zytoplasma bewegen können. Über die Bildung zellulärer Ausstülpungen gelangen sie in Nachbarzellen. Die Endothelzellen werden durch die Bildung von Radikalen, Phospholipasen und Proteasen geschädigt. Durch die erhöhte Gefäßpermeabilität werden Ödeme verursacht, das zirkulierende Blutvolumen verringert sich und der Blutdruck fällt.

Wichtige Symptome: Rickettsiosen verursachen Fieber (Zeckenbissfieber). Das für das Mittelmeer-Fleckfieber typische Tache noire ist ein mit bläulich-schwarzer Kruste belegtes Geschwür, das sich an der Stichstelle der Zecke aus dem papulösen Primärfiltrat entwickelt. Es kann auch bei anderen Rickettsiosen auftreten. Die Patienten leiden unter starken Kopf- und Muskelschmerzen. Es kann ein Exanthem auftreten. Die Krankheitsbilder mancher Rickettsiosen gehen mit Lymphadenopathien einher. Bei fulminanten bzw. letal verlaufenden Fällen treten Enzephalitiden, Myokarditis, Nephritis und Hämorrhagien auf (Suerbaum et al. 2012, S. 383–392).

### **A.2.3 Das Bakterium *Anaplasma phagocytophilum***

Taxonomische Einordnung: Wie die Rickettsien auch, gehört *Anaplasma phagocytophilum* zur Klasse der  $\alpha$ -Proteobacteria und zur Ordnung der Rickettsiales. In dieser Ordnung ist die Familie Anaplasmataceae angesiedelt. In dieser Familie befinden sich die Gattung *Anaplasma* und die Art *Anaplasma phagocytophilum*.

Morphologie: *Anaplasma phagocytophilum* ist ebenfalls ein gram-negatives Bakterium, das intrazellulär in Granulozyten lebt. Es ist Verursacher der humanen granulozytären Anaplasmose. Früher hieß die Erkrankung humane granulozytäre Ehrlichiose, wurde aber nach der Zuordnung des Erregers zu den Anaplasmen aufgrund von molekularbiologischen Daten umbenannt.

Pathogenese: Durch einen Zeckenstich übertragene Erreger gelangen über Lymph- und Blutbahn in Leber, Milz, Lymphknoten und Knochenmark. Die Anaplasmen werden durch

rezeptorvermittelte Endozytose in die Granulozyten aufgenommen. Dort verhindern sie die Endolysosomenverschmelzung in der Endosomen-Vakuole. Die Bakterien teilen sich und bilden eine so genannte Morula. Die Morula kann entweder exozytiert werden, oder sie wird beim Tod der Granulozyten freigesetzt. Die freigesetzten Anaplasmen befallen daraufhin weitere gesunde Granulozyten.

Wichtige Symptome: Die Leitsymptome umfassen Fieber, Krankheitsgefühl, Muskelschmerzen, Kopfschmerzen, Übelkeit, Erbrechen und Husten. Mehr als ein Drittel der Patienten weist ein makulopapulöses Exanthem auf. Häufig zeigt sich ein Rigor (Suerbaum et al. 2012, S. 387–391).

In den USA gilt die durch *Anaplasmosis phagocytophilum* verursachte Humane granulozytäre Anaplasrose als „emerging disease“, da dort die Inzidenz von 2000 bis 2007 von 1,4 auf 3 Fälle/Million Einwohner und Jahr angestiegen ist (St Clair und Decker 2012).

#### **A.2.4 Parasiten der Gattung *Babesia***

Taxonomische Einordnung: Babesien gehören zur Klasse der *Sporozoa*, die die Unterklasse: *Piroplasmia* enthält. Dort werden die Babesien zur Ordnung *Piroplasmida* gezählt, in der die Familie *Babesiidae* enthalten ist. Die Gattung: *Babesia* enthält mehrere Babesienarten, die teilweise spezifisch für ihr Wirtstier sind und entsprechend benannt werden

Morphologie: In der Gattung *Babesia* ist eine Reihe von Babesien zusammengefasst, die man nach der Größe in kleine und große Babesien unterteilt. Kleine Babesien sind kleiner als 3 µm, große Babesien sind größer als 3 µm.

Lebenszyklus: Sporozoiten der Babesien befallen die Erythrozyten der Wirbeltiere. Diese vermehren sich dann durch Zweiteilung, wodurch birnenförmige Merozoiten mit einer Größe von 2 µm x 1 µm entstehen. Diese neu entstandenen Sporozoiten können weitere Erythrozyten infizieren. Daneben entstehen rundliche Gametozyten. Im Fall eines Zeckenstiches nimmt die Zecke mit dem infizierten Blut auch diese Gametozyten auf. Diese differenzieren sich innerhalb der Erythrozyten zu isogamen Gameten, die von ihrem Entdecker Robert Koch „Strahlenkörper“ genannt wurden. Nach dem Freiwerden aus den Erythrozyten verschmelzen sie zu einer Zygote. Die Zygote wandert in eine Darmepithelzelle der Zecke. Es entwickelt sich ein wurmförmiger Kinet, der die Fähigkeit besitzt, über das Hämozöl verschiedene Organe der Zecken, bevorzugt die Ovarien, zu befallen. In den befallenen Organen laufen Vielfachteilungen ab, was zur Entstehung vieler neuer Kineten führt. Diese durchlaufen erneut Vermehrungszyklen. Sobald die Zecke mit

einer Blutmahlzeit beginnt, invadieren die Kineten die Speicheldrüse, vermehren sich erneut, so dass schließlich mehrere Tausend Sporoziten vorhanden sind. Eine Übertragung der Sporoziten ist bereits nach einem Tag mit dem Zeckenspeichel möglich. Der Befall des Ovars und damit der Eier der Zecke stört die Entwicklung der Zeckenlarven nicht. Das bedeutet, dass Zecken das Reservoir für Babesien bilden, in dem die Babesien auch ohne Vorhandensein von Blutwirten mehrere Generationen existieren können (Lucius und Loos-Frank 2008).

Pathogenese: Die Entstehung einer symptomatischen Babesiose wird maßgeblich durch die Immunantwort des Wirtes hervorgerufen. In mild verlaufenden Babesiosen wird die Bildung von Cytokinen (z. B. Tumornekrosefaktor  $\alpha$  (TNF  $\alpha$ ) oder Interleukin 6) hochreguliert. Dasselbe gilt für die Adhäsionsmoleküle E-Selektin, Intrazellulär-Adhäsionsmolekül 1 (CAM-1) und dem Vascular-Zell-Adhäsionsmolekül. Es wird vermutet, dass eine überschießende Produktion dieser Stoffe zu einer Pneumonie führt. Intravaskuläre Sequestration von Leukozyten und infizierten Erythrozyten kann zur Verstopfung der kleinen Gefäße führen, was eine Hypoxie des Gewebes hervorruft. Einige Babesienarten schleusen Proteine auf die Oberfläche infizierter Erythrozyten, was eine Anheftung dieser Erythrozyten an das Endothel der Gefäße und damit zu einer verzögerten Aussortierung in der Milz führt.

Der Befall der Erythrozyten löst darüber hinaus eine Hämolyse aus, was direkt zu Anämie und Ikterus führen kann.

In Deutschland spielen die beiden Babesienspezies *Babesia divergens* und *Babesia microti* eine Rolle. Veterinärmedizinisch ist *Babesia bovis* wichtig. *Babesia venatorum* kann nur molekularbiologisch von den anderen Babesienarten unterschieden werden. Deswegen ist unklar, ob und wie viele der vor der Entwicklung dieser Methoden beschriebenen humanen Babesiosefälle auf diese Babesienart zurückzuführen sind.

In den USA gilt die Babesiose genau wie die oben erwähnte humane granulocytäre Anaplasmosis als „emerging disease“, da einerseits die Anzahl der gemeldeten Fälle in den letzten 20 Jahre dramatisch zugenommen hat und andererseits sich die Verbreitung des Erregers vergrößert hat (Vannier und Krause 2009).

Verbreitung: Der erste Fall von humaner Babesiose wurde in Kroatien beschrieben (Gritsun und Deanovic 1957). Dieser Fall trat bei einer immunsupprimierten Person auf. Der erste Fall humaner Babesiose bei einer immunkompetenten Person trat auf der Nantucket Island vor der Küste von Massachusetts auf (Spielman 1976). Seitdem traten Fälle im Nordosten und im höheren mittleren Westen der USA auf. In Japan und Taiwan verursachten *Babesia microti*-ähnliche Organismen Erkrankungen, und in Südkorea wurde



ein neuer Babesienstamm (KO1) identifiziert. Sporadische Fälle der Babesiose traten aber auch in Afrika (Ägypten) (El-Bahnasawy et al. 2011), Australien (Senanayake et al. 2012) und Südamerika (Kolumbien) (Rios et al.) auf. 2007 wurde der erste autochtone Fall von Babesiose in Westeuropa (Deutschland) beschrieben (Hildebrandt et al. 2007).

### **A.2.5 Frühsommer-Meningoenzephalitis-Virus (FSMEV)**

Taxonomische Einordnung: Das FSME-Virus ist ein durch Gliederfüßler (Arthropoden) übertragenes Virus. Deswegen wird es zu den Arboviren gezählt. Es gehört zur Familie der Flaviviridae. Von den in dieser Familie zusammengefassten drei Genera – Flavivirus, Herpacivirus und Pestivirus – zählt es mit Viren wie dem Gelbfieber-, Dengue-, oder dem Japanische-Enzephalitis-Virus zu den Flaviviren, wird aber im Gegensatz zu den beiden vorher genannten Viren nicht durch Mücken, sondern durch Zecken übertragen. Es ist ein Virus mit einzelsträngigem RNA-Genom in Plusorientierung (Satz 2006, S. 13–16), (Modrow et al. 2010, S. 198–218) Von den FSME-Viren sind drei Subtypen beschrieben worden. Die Spezies wird in europäischen, fernöstlichen und sibirischen Subtyp eingeteilt (Satz 2006, S. 15–18), Gritsun et al. 2003). Gritsun unterteilt die Flaviviren darüber hinaus in durch Mücken übertragene, durch Zecken übertragene und durch einen unbekanntem Vektor übertragene Flaviviren. Bei den durch Zecken übertragenen Flaviviren unterscheidet Gritsun noch die Gruppen der Seevogelviren und der Säugetierviren, zu der das FSME-Virus gehört (Gritsun et al. 2003).

Morphologie: Bei dem FSME-Virus handelt es sich um einen sphärischen Partikel mit einem Durchmesser von 40-50 nm. Der kugelförmige Mantel, der aus den Strukturproteinen M und E besteht, umschließt einen zehnfächigen ikosaedrischen Kern. Das Virus besteht aus drei Strukturproteinen. Das Kernprotein C (Capsid), das Membranprotein M (membrane) bzw. prM für das Vorläuferprotein (pre-membrane) und dem Mantelprotein E (envelope). Bei letzterem handelt es sich um ein Glykoprotein, das bei allen Flaviviren vorkommt und immer ähnlich aufgebaut ist.

Pathogenese: Nach einem Zeckenstich durch eine infizierte Zecke gelangt das Virus in die Lederschicht der Haut (Corium). Ein Blutsaugen der Zecke ist dazu nicht nötig. Deswegen können auch Männchen, die nur interstitielle Flüssigkeit aufnehmen, das FSME-Virus übertragen (Satz 2006, S. 145). An der Stichstelle wird es von Makrophagen, Langerhans-Zellen, Granulozyten und Epithelzellen aufgenommen und vermehrt sich. Eine erste Verbreitung findet über die Lymphgefäße zu den lokoregionären Lymphknoten statt. Zuerst erreicht das Virus Leber, Milz und Knochenmark und nicht das zentrale Nervensystem. Primär kann das Virus in Herz, Nieren, Muskulatur und Bindegewebe gefunden werden. Bei anderen Flavivireninfektionen wie bei dem hämorrhagischen Omsk-

Fieber ist dieser Organbefall der Schlüssel zum pathologischen Geschehen und der Auslöser des hämorrhagischen Fiebers. 1999 wurden auch acht FSME-Erkrankungen mit hämorrhagischen Verläufen und fatalem Ausgang in der Region von Novosibirsk in Russland beschrieben, die durch eine mit dem fernöstlichen Virustyp verwandte Virusform ausgelöst wurden (Tick-Borne Enzephalitis with Hemorrhagic Syndrome, Novosibirsk Region, Russia, 1999). In den primär befallenen Organen findet eine starke Vermehrung des Virus statt, wobei es zu jeder Zeit vom Immunsystem durch Phagozytose und Bildung von Antikörpern bekämpft wird. Aufgrund der Immunreaktion kommt es nur in 10 % der Infektionen zur vollen Ausprägung der Meningoenzephalitis (Satz 2006, S. 145). Bei der Ausschüttung der Viren aus dem retikuloendothelialen System entsteht eine Virämie, die zu den Symptomen der ersten klinischen Krankheitsphasen führt. Eine weitere Verbreitung erfolgt durch den Blutstrom entweder zellassoziiert oder plasmaassoziiert (Hahn et al. 2001, S. 466). Eine Überwindung der Blut-Hirn-Schranke ist nur möglich, wenn die Virämie ausreichend hoch ausfällt. Der genaue Mechanismus der Überwindung der Blut-Hirn-Schranke ist nicht geklärt. Der Befall des zentralen Nervensystems geht mit dem zweiten Fieberschub einher. Im Gehirn werden die prädisponierten Zellen befallen. Diese werden durch die Vermehrung des Virus nachhaltig geschädigt. Die Lyse der befallenen Zelle wird Neurolyse genannt. Danach verändern sich die Gefäße aufgrund von entzündlichen Vorgängen. Es kommt zu perivaskulären, knötchenartigen Infiltraten innerhalb des Parenchyms und nachfolgend in den Meningen. Die Infiltrate bestehen aus Granulocysten und Makrophagen. Es entsteht eine knötchenförmigen Polioenzephalitis. Zuletzt werden die geschädigten Zellen durch Phagozytose beseitigt (Neuronophagie) und das untergegangene Parenchym durch mesenchymales gliöses Gewebe ersetzt (Satz 2006, S. 148).

Wichtige Symptome: Bei der Erkrankung an einer FSME muss man unterscheiden, welcher Subtyp die Infektion hervorgerufen hat. Der fernöstliche Subtyp verursacht im Allgemeinen einen einphasigen Krankheitsverlauf. Der europäische Subtyp verursacht meist einen zweiphasigen Krankheitsverlauf. Die Besonderheit des sibirischen Subtyps ist ein chronischer Verlauf der FSME-Infektion. Nach einer Inkubationszeit von vier bis 14 Tagen kommt es in der ersten Krankheitsphase zu hohem Fieber, Unwohlsein, Müdigkeit, Kopf- und Nackenschmerzen bzw. Rückenschmerzen. Die Symptome persistieren zwei bis fünf Tage. Bei einem biphasischen Verlauf kommt es nun zu einer symptomfreien Phase von etwa sieben Tagen. Bei ca. 25 % der Fälle kommt es dann zu einer zweiten Erkrankungsphase unter Beteiligung des zentralen Nervensystems (ZNS). Bei einer chronischen Verlaufsform, die durch den sibirischen Subtyp verursacht wird, kommt es zu einer Kozshevnikovs-Epilepsie, die von Parkinson-ähnlichen Symptomen wie Rigor, Tremor und Akinese begleitet wird.

Verbreitung: FSME ist die wichtigste durch Zecken übertragene Virusinfektion in Eurasien. Das Verbreitungsgebiet reicht von Japan im Osten bis nach Frankreich im äußersten Westen. In den letzten Jahren wurde eine Ausweitung des Verbreitungsgebietes zum einen nach Norden (Nord-Russland, Schweden und Finnland) (Dobler et al. 2012) und zum anderen in höhere Gebiete beobachtet (Danielová et al. 2008).

## **A.2.6 Zirkulation der Pathogene in den Zecken**

Systemische Übertragung: Für die Pathogene sind unterschiedliche Wege der Übertragung von einer Zecke auf die andere Zecke bekannt. In der klassischen Vorstellung infiziert sich die Zecke, die als Vektor zwischen dem als Reservoir dienenden Tier (z. B. einem kleinen Nager) und dem nachfolgenden Wirt (z. B. Mensch) fungiert, bei einem Individuum aus dem Reservoir während einer systemischen Verbreitung (Virämie, Bakteriämie) des Pathogen. Die Zecke kann das Pathogen nachfolgend bei einem weiteren Saugakt auf ein weiteres Wirts- oder Reserviertier übertragen. Dieser Übertragungsweg setzt eine ausreichend hohe Pathogenlast während der Virämie bzw. Bakteriämie voraus. Dieser Übertragungsweg ist für alle hier betrachteten Pathogene und dem FSME-Virus nachgewiesen. Es bestehen jedoch Unterschiede in der Effektivität dieses Übertragungsweges für die einzelnen Pathogene.

Transovarielle Übertragung: Bei der transovariellen Übertragung wird das Pathogen von dem Muttertier auf die Nachkommengeneration übertragen. Das ist nur möglich, wenn das Pathogen die Ovarien der Zecken besiedeln kann. Für diesen Übertragungsweg gilt dasselbe wie für den systemischen Übertragungsweg. Er ist für alle hier beschriebenen Pathogene in unterschiedlicher Effektivität nachgewiesen (Satz 2010, S. 115), (Lucius und Loos-Frank 2008, S. 235), (Baldrige et al. 2009), (Arbobakterien: über Arthropoden übertragbare Bakterien, 2007).

Übertragung durch Cofeeding (Nicht systemische Übertragung): Die Übertragung der Pathogene durch das Cofeeding wird auch als nichtsystemische Erregerübertragung bezeichnet. Bei diesem Vorgang wird das Pathogen beim gemeinschaftlichen Blutsaugen auf andere Zecken übertragen. Infizierte und uninfizierte Zecken saugen dabei in einem maximalen Abstand von 1 cm am selben Wirtstier. Bei dem Saugvorgang werden die Erreger über das lokale Gewebe direkt an eine nicht infizierte saugende Zecke weitergegeben (Gern und Rais 1996).

## **A.2.7 Diagnose durch Zecken übertragener Krankheiten**

Die Diagnosemethoden sind in Tab. A.1 zusammengefasst.

### Generelles:

Jeder Patient mit einer unerklärlichen fiebrigen Erkrankung, der sich in den letzten zwei Monaten in Endemiegebieten für durch Zecken übertragene Krankheiten aufgehalten oder der in den letzten sechs Monaten eine Bluttransfusion erhalten hat, kann eine durch Zecken übertragene Erkrankung entwickeln.

Insbesondere bei Patienten, bei denen schon eine durch Zecken übertragene Krankheit diagnostiziert wurde, besteht grundsätzlich der Verdacht, dass er sich auch mit anderen durch Zecken übertragenen Krankheitserregern infiziert hat, besonders, wenn die Krankheit einen besonders schweren Krankheitsverlauf zeigt oder auf die Standardtherapien schlecht oder gar nicht anspricht.

Die Kultur eines Pathogens gehört zu den klassischen Methoden des Nachweises. Bei den in dieser Arbeit behandelten Krankheitserregern ist diese Methode aber wenig praktikabel. Jeder der hier behandelten Krankheitserreger zeigt Besonderheiten bei der Kultur, sodass diese Methode als Routinemaßnahme, selbst in Forschungslaboratorien, nur in Ausnahmefällen möglich ist.

#### **A.2.7.1 Diagnose Humane granulocytäre Anaplasmosen**

Kultur: Die Kultur von *Anaplasma phagocytophilum* *in vitro* ist möglich, aber durch die erforderliche Kultur von Zeckenzellen sehr aufwendig (Massung et al. 2007), (Passos 2012). Darüberhinaus ist die Methode wegen des hohen Zeitaufwandes zur Diagnose einer akuten Anaplasmosen nicht geeignet.

Direkter mikroskopischer Nachweis: Da *Anaplasma phagocytophilum* bevorzugt Granulozyten befällt und sich dort in zytoplasmatischen Vakuolen vermehrt, kann man bei einem Verdachtsfall auf humane granulocytäre Anaplasmosen versuchen, die Erreger in einen nach Giemsa angefärbten Blutaussstrich nachzuweisen. Die etwa 3,5 µm großen Einschlüsse haben Ähnlichkeit mit Maulbeeren und werden deswegen Morulae genannt. Eine solche Diagnose ist nur durch erfahrene Mikroskopiker möglich. Die Sensitivität ist gering. Zudem muss die Diagnose immer durch molekularbiologische und serologische Methoden abgesichert werden (Chapman 2006).

Molekularbiologische Methoden: Es sind verschiedene Assays beschrieben worden. Das verwendete Material ist im allgemeinen Blut. Es muss bedacht werden, dass eine antibiotische Behandlung die Sensitivität der molekularbiologischen Methoden senkt. Der molekularbiologische Nachweis ist für die Frühdiagnostik die Methode der Wahl (Chapman 2006).

Serologische Methoden: Es sind serologische Tests vorhanden (Chapman 2006), aber die Immunreaktion setzt erst 1-2 Wochen nach Erkrankungsbeginn ein, sodass ein zur

Behandlung der Patienten zu großer Zeitverlust entstehen würde. Es werden Indirekte Immunfluoreszenzteste (IFT) und enzyme linked immuno-absorbent assays (ELISA) verwendet. Immunfluoreszenztest (Es müssen zwei Proben im Abstand von 2 Wochen genommen werden, die einen vierfachen Anstieg der Antikörper aufweisen, um eine Probe positiv zu befinden).

### **A.2.7.2 Diagnose Babesiose**

Kultur: Die Kultur von Babesien ist möglich, aber extrem aufwendig (Galuppi et al. 2012), weil Babesien intrazelluläre Parasiten sind. Deswegen ist die Kultur von Babesien in der Humanmedizin als diagnostische Methode nicht anwendbar.

Direkter mikroskopischer Nachweis: Bei Verdacht auf eine akute Babesiose ist der direkte mikroskopische Nachweis der erste Schritt bei der Differentialdiagnose. Es wird ein Giemsa oder Wright gefärbter Blutausschlag untersucht. Sogenannte Malteserkreuze, die durch das Zusammenlagern zweier Merozoitenpaare (s. u.) entstehen, sind typisch für eine Babesieninfektion mit *B. microti* und *B. duncani*. *B. divergens* und *B. venatorum* zeigen eine birnenartige Form. Diese typischen Formen bieten – zusammen mit der Reiseanamnese – eine Möglichkeit, eine Babesien- von einer Malariainfektion zu unterscheiden. Die Untersuchung ist aber nur erfahrenen Mikroskopierern möglich. Zusammen mit der geringen Sensitivität stellt diese Tatsache die Limitierung dieser Methode dar. Deswegen muss auch bei negativem Blutausschlag eine weitere Diagnostik durchgeführt werden. Andererseits gibt einem ein positiver Befund die Möglichkeit einer sehr schnellen Behandlung.

Molekularbiologische Methoden: Konnten keine Babesien nachgewiesen werden, wird als nächster Diagnoseschritt eine PCR durchgeführt. Das am besten geeignete Probenmaterial ist Blut. Optimalerweise wird eine PCR im real-time Format durchgeführt.

Serologische Methoden: Die standardmäßig angewendete serologische Methode ist ein indirekter Immunfluoreszenz-Assay. Der IgM-Antikörper-Titer steigt zwei Wochen nach Beginn der Krankheit. IgG-Antikörper steigen in der akuten Phase der Erkrankung bis zu einem Titer von 1:1024 an und fallen danach wieder auf einen Titer von 1:64. Ein Immunoblot ist für *B. microti* verfügbar, detektiert aber *B. duncani*, *B. divergens* und *B. venatorum* nicht. Zu Forschungszwecken wird das Blut Erkrankter selten in Hamster injiziert, in deren Blut die Babesien nach 2-4 Wochen erscheinen (Vannier und Krause 2012).

### A.2.7.3 Diagnose Borreliose

Die Diagnose einer akuten Borreliose ist kompliziert. Grundvoraussetzung einer guten Diagnose ist eine intensive Inspektion des Patienten und eine gut durchgeführte Anamnese. Bei dieser Vorgehensweise sollten sich die Bedingungen der geltenden Falldefinitionen weitestgehend bestätigen (Tugwell et al. 1997). Es ist zu beachten, dass die Falldefinitionen nur als Anhaltspunkte gesehen werden können, da spezielle (seltene) Manifestationen der Borreliose (Auge, Herz) nicht erfasst werden. Labordiagnostische Tests können die Diagnose nur unterstützen und geben mit Ausnahme des Direktnachweises des Erregers keine Ja-Nein-Diagnose.

Kultur: Die Kultur von Borrelien ist am besten aus Hautbiopsieproben möglich, gelingt aber auch aus Gelenkpunktaten, und Liquor. Die Anzucht der Bakterien benötigt aber spezielle Bedingungen und Nährböden. Die heute meist verwendeten Medien sind das Barbour-Stoenner-Kelly-II-Medium (BSK II) und das Kelly-Medium modifiziert nach Preac-Mursic. Aufgrund der langen Generationsdauer von Borrelien kann diese Methode nicht für die Diagnostik in einem akuten Fall benutzt werden (Wilske et al. 2007).

Direkter mikroskopischer Nachweis: Die Bakterien können im Gelenkpunktat, Liquor, Blut oder in Gewebeproben mit Fluoreszenzmikroskopie, im Dunkelfeld oder nach Giemsa, Fuchsin- oder Silberfärbung nachgewiesen werden. Ein Problem dieser Methode ist die geringe Sensitivität (Satz 2006, S. 191).

Molekularbiologische Methoden: Ähnlich wie die Kultur ist der Nachweis der Borrelien mit einer PCR-basierten Methode am ehesten aus einer Biopsieprobe möglich (Wilske et al. 2007). Eine große Anzahl von Assays wurde veröffentlicht, aber das Fehlen eines Standards erschwert die Diagnose mit molekularbiologischen Methoden (Brouqui et al. 2004).

Serologische Methoden: Die serologische Diagnose einer Borreliose folgt einem Prinzip des zweistufigen Vorgehens. Zunächst wird ein enzymgekoppelter Immunadsorptionstest (ELISA) durchgeführt, der im Falle eines positiven Ergebnisses mit einem Immunoblot (Westernblot) bestätigt wird. Der benutzte ELISA-Test sollte wenigstens ein ELISA-Test der zweiten Generation sein. Der verwendete Immunoblot sollte eine Spezifität von 95 % besitzen (Wilske et al. 2007). Es muss immer bedacht werden, dass positive serologische Befunde auch auf eine symptomlos verlaufende Infektion oder einer Seronarbe hinweisen können. In Amerika entwickelte Richtlinien zur Diagnose von Borreliose sind in Europa wegen der Situation der unterschiedlichen Genotypen nicht verwendbar. Stattdessen müssen europäische Standards verwendet werden (Brouqui et al. 2004).

#### **A.2.7.4 Diagnose Erkrankungen durch Bakterien der Gattung *Rickettsia***

Direkter mikroskopischer Nachweis: Bakterien der Gattung *Rickettsia* besiedeln vor allem Epithelzellen der kleinen bis mittleren Blutgefäße. Deswegen flotieren sie nicht im Blut und sind nicht in den Blutzellen zu finden. Ein direkter Nachweis im Blut- oder Liquorausstrich ist deswegen nicht möglich. In postmortal gewonnenen Gewebeproben können die Erreger mit immunhistochemischen Methoden nahezu zu 100 % als Krankheitsverursacher identifiziert werden.

Kultur: Die Isolierung und Kultur von Rickettsien besitzt große Wichtigkeit als endgültiger Nachweis einer durch Rickettsien verursachte Krankheit. Die Kultivierung von Rickettsien als obligat intrazellulärer Parasiten erfolgt in Zellkultur. Großer Nachteil dieser Methode ist, dass unter Biosafety Level 3 (BSL-3) Bedingungen gearbeitet werden muss. Geeignetes Probenmaterial sind Zecken, Blut und Gewebe.

Molekularbiologische Methoden: Die Diagnosemethode der Wahl. Rickettsien können in Blut und Gewebeproben detektiert und identifiziert werden. Als Gewebeproben haben sich besonders Biopsien des „Tache noire“ als nützlich herausgestellt. Das „Tache noire“ ist eine charakteristische Verkrustung an der Zeckenstichstelle, die aber nicht immer auftritt (Hahn et al. 2001).

Serologische Methoden: Mikroimmunfluoreszenz ist als Methode zum Nachweis einer Rickettsiose anerkannt und standardisiert. IgG-Titer über 128 und IgM-Titer größer als 64 gelten als ein Indikator für eine Infektion mit *R. conorii* IgG-Titer höher als 64 (IgM-Titer höher als 32) gelten als Indikator für andere Rickettsieninfektionen. IgG und IgM können im Allgemeinen 7-15 Tage nach Beginn der Erkrankung detektiert werden. Bei *R. africae* verzögert sich die Antikörperbildung (Brouqui et al. 2004) Grundsätzlich wird die Diagnose durch starke Crossreaktivität erschwert.

#### **A.2.7.5 Diagnose einer Frühsommer-Meningoenzephalitis**

Kultur: Zu Beginn der Erkrankung kann das Virus im Blut und Liquor nachgewiesen werden. Dazu muss das Virus in Zellkultur vermehrt und dann mit geeigneten Methoden (s. u.) nachgewiesen werden.

Erster Hinweis auf eine Virusinfektion ist das Auftreten eines cytopathischen Effekts im Zellrasen. Danach kann der Verdacht auf eine FSMEV-Infektion kann mit Immunfluoreszenzmikroskopie bestärkt werden (Robert Koch-Institut 2008).

Direkter mikroskopischer Nachweis: Postmortal kann das Virus im Gehirn mittels elektronenmikroskopischer Methoden nachgewiesen werden (Mázló und Szántó 1978).

Molekularbiologische Methoden: Beim FSMEV muss wegen der Struktur des Virusgenoms eine Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) verwendet werden. Wegen der Aufwendigkeit und des Zeitaufwandes der Kultur und des direkten mikroskopischen Nachweises des Virus gewinnt diese Methode in der Frühdiagnostik an Bedeutung. Untersuchungsmaterial sollten Blut oder Serum sein. Liquor ist in der Frühphase nur selten positiv (Satz 2006, S. 220), (Domingo et al. 2011). Da die Serologie in der ersten Phase der Erkrankung noch negativ ist, ist ein molekularbiologischer Nachweis die Methode der Wahl bei der Frühdiagnostik.

Serologische Methoden: Im Normalfall werden Patienten erst mit dem Auftreten schwererer (neurologischer) Symptome beim Arzt vorstellig. In diesem Stadium der Erkrankung verliert die molekularbiologische Diagnose an Bedeutung, da die Viren in Blut und Liquor kaum noch nachzuweisen sind. Im Gegensatz dazu steigen Antikörper (IgG und IgM) an und können als Marker für eine FSME benutzt werden. Nachteil der Benutzung von kommerziell erhältlichen ELISA oder IFT-Tests ist das Auftreten von Kreuzreaktionen zu anderen Flaviviren (Niedrig et al. 1994). Weitere wichtige serologische Tests sind der Neutralisationsteste (NT) wie zum Beispiel der Plaquereduktionstest (PRNT). Der Vorteil dieser Methoden ist die höchste Spezifität aller Methoden. Demgegenüber steht die komplizierte Durchführung der Teste (Satz 2006, S. 209–210).



Tab. A.3: Übersicht möglicher Labordiagnostikmethoden bei durch Zecken übertragenen Krankheiten: Die zu bevorzugende Methode ist jeweils fett gedruckt.

| Pathogen  | Probenmaterial     | Untersuchungsmethode   | Problematik  |
|-----------|--------------------|--|--|
| Anaplasma | Blut/Serum         | Ein Anstieg der Lebertransaminasen, Leukozytopenie, Thrombozytopenie deuten auf eine Humane granulocytäre Anaplasiose (HGA) hin<br>C-reaktives Protein (CRP) und die Blutsenkung sind erhöht<br>Kreatinkinase kann erhöht sein<br>Der direkte mikroskopische Nachweis im Giemsa- oder Wright-gefärbten Blutaussstrich bzw. im Leukozytenfilm ist möglich<br>Indirekter Immunfluoreszenztest (Es müssen zwei Proben im Abstand von zwei Wochen genommen werden, die einen vierfachen Anstieg der Antikörper aufweisen, um eine Probe positiv zu befinden)<br><b>PCR</b> | Der direkte Nachweis ist möglich, aber nicht sehr sensitiv<br>Abwesenheit von Antikörpern in der akuten Phase<br>Antikörper werden zwei Wochen nach der Erkrankung gebildet<br>kein Standard für Erkrankung bei Immunfluoreszenztest |
|           | Liquor             | Direkter Nachweis des Erregers durch Mikroskopieren eines Ausstriches nach Giemsa- oder Wrightfärbung<br><b>PCR</b>  | Ein positiver direkter Nachweis muss in jedem Fall durch molekulare und serologische Methoden bestätigt werden   |
|           | Eschar/Hautbiopsie | <b>PCR</b>   |  |
|           | Zecke              | <b>PCR</b>   | Positive oder negative Zecke entscheidet nicht über Therapiebeginn   |
|           | Blut/Serum         | Direkter Nachweis des Erregers durch Mikroskopieren eines Blutaussstrichs nach Giemsa- oder Wrightfärbung<br>Bei negativem Befund, aber fortdauernden Symptomen (Realtime-) PCR aus Blut, Indirekte <b>Immunfluoreszenz</b> (IgM zwei Wochen nach Beginn der Krankheit, IgG ist 8-10 Monate mit Titer 1:64 nachweisbar), Immunoblot ist verfügbar, Westernblot   | Kits für <i>Babesia microti</i> detektieren die anderen Babesienarten nicht  |
| Babesien  | Liquor             | entfällt   |  |
|           | Eschar/Hautbiopsie | <b>PCR</b>   | Keine Standardisierung vorhanden   |
|           | Zecke              | <b>PCR</b>   | Der Befund verändert nicht die weitere Vorgehensweise bei der Behandlung   |
|           | Urin               | hat keine Relevanz   |  |

| Pathogen                                    | Probenmaterial     | Untersuchungsmethode  | Problematik  |
|---|--------------------|---|--|
| Babesien                                    | Blut/Serum/Plasma  | Kultur, Mikroskopischer Nachweis in Dunkelfeld oder nach Giemsa-, Fuchsin oder Silberfärbung Ausstrich, Kultur, Komplementbindungsreaktion (KBR), <b>ELISA, Immunfluoreszenz (IF)</b> , PCR | Direkter mikroskopischer Nachweis schwer und serologische Test bei einigen Babesienarten nicht zuverlässig   |
| Borrelien                                   | Liquor             | Kultur, Mikroskopischer Nachweis in Dunkelfeld oder nach Giemsa-, Fuchsin- oder Silberfärbung, ELISA, Immunfluoreszenz (IF), <b>PCR</b>   | Kultur benötigt spezielle Nährmedien und dauert lange, wenig sensitiv  |
|   | Eschar/Hautbiopsie | Kultur, <b>PCR</b>  | Wenig sensitiv, Probe schwer zu nehmen   |
|   | Zecke              | <b>PCR</b> , indirekte Immunfluoreszenz, Dunkelfeldmikroskopie oder Kultur  | Eine positive Zecke indiziert keine Antibiotikabehandlung  |
|   | Urin               | hat keine Relevanz  |  |
|   | Blut/Serum         | Mikroskopischer Nachweis in Dunkelfeld oder nach Giemsa-, Fuchsin- oder Silberfärbung Ausstrich, Kultur, <b>PCR</b>   | Es muss eine Stufendiagnostik durchgeführt werden: Stufe 1: ELISA, Immunfluoreszenz, Stufe 2: Immunoblot<br>Der direkte Nachweis ist wegen geringer Erregermenge schwierig |
|   | Gelenkpunktat      | <b>Kultur</b>   | Geringe Sensitivität, da die Erregermenge gering ist   |
| Rickettsien<br>(Gattung <i>Rickettsia</i> ) | Liquor             | <b>PCR</b>  |  |
|   | Eschar/Hautbiopsie | <b>PCR</b>  | Probe schwer zu nehmen   |
|   | Urin               | hat keine Relevanz  |  |
|   | Zecke              | <b>PCR</b>  | Ein positiver oder negativer Befund verändert nicht die weitere Vorgehensweise bei der Behandlung  |
|   | Blut/Serum         | Kultur, Direkter mikroskopischer Nachweis nicht möglich, <b>PCR</b>   | Kultur langwierig  |
| FSMEV                                       | Liquor             |   | In Frühphase selten positiv  |
|   | Eschar/Hautbiopsie | Hat keine Relevanz  |  |
|   | Zecke              | <b>PCR</b>  | Ein positiver oder negativer Befund verändert nicht die weitere Vorgehensweise bei der Behandlung  |

### A.3 Zielsetzung der Arbeit

Diese Arbeit soll dazu beitragen, weiterführende Informationen über das Vorkommen verschiedener Zeckenarten und der durch sie übertragenen Pathogene im Raum Berlin zu sammeln. Dazu sollen

- i) die Anzahl der Zecken in möglichst repräsentativ ausgewählten Sammelgebieten im Raum Berlin beobachtet und deren jahreszeitlicher Verlauf bestimmt werden.
- ii) das Artenspektrum der vorkommenden und eine Gefahr darstellenden Zecken in den unterschiedlichen Sammelgebieten bestimmt werden.
- iii) die Daten der Zeckendichte und der gefundenen Arten mit den geographischen, saisonalen und ökologischen Faktoren wie Jahreszeit, Temperatur, Luftfeuchtigkeit und Bewuchs in Beziehung gebracht werden.
- iv) Unterschiede der Infektionsrate bezüglich Entwicklungsstadien, Geschlecht und Jahrzeit untersucht werden.
- v) die Prävalenzen von *Borrelia* spp., *Rickettsia* spp., *Babesia* spp., und *Anaplasma phagocytophilum* in Zecken festgestellt und mögliche Coinfektionen charakterisiert werden. Dazu sollen die gefundenen Zecken mit molekularbiologischen Methoden auf diese Pathogene untersucht werden. Für diese Untersuchungen sollen neuartige kommerzielle Kits benutzt werden.
- vi) Mit dem im Rahmen dieser Untersuchungen erhaltenen Ergebnisse sollen die neuartigen Kits mit konventionellen PCR-Methoden validiert und verglichen werden.
- vii) Die Proben sollen auf genetische Varianten von *Borrelia* spp. (16SrRNA Gen) und *Rickettsia* spp. (Omp A Gen) untersucht werden.

## B. Material und Methoden

### B.1 Material

#### Geräte und Verbrauchsmaterialien

Tab. B.1: In dieser Arbeit verwendete Geräte

| Gerät                               | Typbezeichnung                                  | Hersteller  |
|-------------------------------------|---|---|
| Autoklav                            | WebecoEST mit Sauter Steuerung                  | Webeco Matachana group, Selmsdorf, Deutschland    |
| Fotokamera                          | Digital Ixus 85 IS                              | Canon-Europe, Amstelveen, Niederlande             |
| Geldokumentation                    | Doc-Print Geldokumentationssystem CN-3000.WL/LC | PEQLAB Biotechnologie GmbH, Erlangen, Deutschland |
| Gefrierschrank -80 °C               | VIP Series -86°C                                | Sanyo, Moriguchi, Japan                           |
| Gefrierschrank -20 °C               | Liebherr Comfort                                | Liebherr GmbH, Biberach, Deutschland              |
| Pinzetten                           | Pinzette, gebogen, spitz                        | Carl Roth GmbH + CO. KG                           |
| Spannungsgerät                      | PowerPack 300                                   | Bio-Rad Laboratories GmbH, München, Deutschland   |
| Homogenisator                       | SpeedMill Plus                                  | Analytik Jena AG, Jena, Deutschland               |
| PCR-Thermocycler                    | Biometra Tgradient, Biometra Tpersonal          | Analytik Jena AG, Jena, Deutschland               |
| PCR-Thermocycler                    | SpeedCycler                                     | Analytik Jena AG, Jena, Deutschland               |
| Kühlschrank 4 °C                    | Super-V-520                                     | Philipp Kirsch GmbH, Offenburg, Deutschland       |
| Mini-Thermohygrometer               | Thermo-Hygro Button                             | Baacklab, Schwerin, Deutschland                   |
| Pipetten<br>(20, 100, 200, 1000 µl) | Gilson Pipetman                                 | Gilson, Middleton, USA                            |
| Stereomikroskop                     | Leica S8 APO Stereozoom 1.0x-8.0x               | Leica, Solms, Deutschland                         |
| Thermohygrometer                    | BC/T2 Thermohygrometer                          | TROTEC® GmbH&Co. KG, Heinsberg, Deutschland       |
| GPS-Handnavigationsgerät            | GPSMAP® 60CSX                                   | Garmin Ltd, Olathe, USA                           |
| Vortexer                            | Neolab-2020                                     | Scientific Industries Inc, Bohemia, USA           |
| Waage                               | Mettler PL 1200                                 | Mettler Toledo, Schweiz                           |
| Zentrifuge                          | Typ 1-13 und 1-15                               | Sigma, Osterode, Deutschland                      |

Tab. B.2: In dieser Arbeit verwendete Materialien

| Bezeichnung                                  | Hersteller                                      |
|--|---|
| 1,5 ml + 2 ml Eppendorfgefäße                | Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland              |
| 50 ml Falcontubes                            | BD Bioscience, Franklin Lakes, USA              |
| Aufbewahrungsboxen, 81 Plätzig               | Carl Roth GmbH +Co. KG, Karlsruhe, Deutschland  |
| Frostsichere Etiketten                       | Herma GmbH, Filderstadt, Deutschland            |
| <i>Chemikalien</i>                           |   |
| Agarose (NuSieve <sup>®</sup> )              | Biozym Scientific GmbH, Oldendorf, Deutschland  |
| Aqua dest                                    | Robert Koch-Institut                            |
| Ethanol (96%)                                | Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe, Deutschland |
| Ethidiumbromid                               | Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe, Deutschland |
| Magnesiumchlorid                             | Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe, Deutschland |
| <i>Enzyme</i>                                |   |
| Platinum <sup>®</sup> Taq-Polymerase [5U/μl] | Invitrogen GmbH, Karlsruhe, Deutschland         |

### B.1.1 Verwendete Software

Für die Analyse der durch die Sequenzierung erhaltenen Daten wurde das Programmpaket DNASTAR Lasergene 10 Core Suite (DNASStar Inc., Madison, USA) verwendet. Ergänzend wurde MEGA 5.0 (Centers for Evolutionary Functional Genomics, Tempe, USA) benutzt. Für die Anfertigung von Grafiken wurde MacVector 12.6 (MacVector inc., Cary, USA) benutzt. Die Karte wurde mit dem Programm RegioGraphAnalyse 11 (Beloch & Franzbach BbR, Gronau, Deutschland) erstellt.

## B.2 Methoden

### B.2.1 Sammeln von Zecken

Die in dieser Arbeit untersuchten Zecken stammten aus verschiedenen Sammelgebieten. Diese Sammelgebiete wurden vor Beginn der Studie anhand von topografischen Karten (Berlin-Buchholz 1999), (Berlin-Marzahn 1996), (Landesvermessung und Geobasisinformation Brandenburg 2007), (Potsdam Nord 2001), (Rüdersdorf bei Berlin 2007), (Staat Brandenburg 1993), (Topographische Karte 2001), (Topographische Stadtkarte 1998), (Übersichtskarte Berlin 2008), (Wandlitz 1998) ausgewählt. Dabei wurde unter einem Sammelgebiet ein Gebiet verstanden, das auf das Vorkommen von Zecken untersucht werden sollte. Dabei stellte jedes Sammelgebiet ein nach außen ökologisch und geografisch gegenüber der Umwelt abgrenzbares Gebiet dar. Das Vorkommen von Zecken wird stark durch Bewuchs und Mikroklima

beeinflusst (Hillyard 1996, S. 39–41). Um über ein Sammelgebiet eine allgemeine Aussage treffen zu können, wurden pro Sammelgebiet drei unterschiedliche Sammelstellen untersucht, die jeweils unterschiedlichen Bewuchs und Mikroklimata aufwiesen. Für diese Studie wurden Zecken von August 2008 bis Dezember 2010 gesammelt. Die Sammlung wurde alle 35 bis 40 Tage in fünf verschiedenen Sammelgebieten durchgeführt. Die Sammelgebiete unterschieden sich in Vegetation, Klima und Bebauung. Im Norden Berlins wurden Zecken in Frohnau und Buch gesammelt. Die Michendorfer Heide stand für den Süden. Die Gegend um den Wannsee repräsentierte die westliche Region Berlins, während der Teufelssee, ein kleiner Endmoränensee in der Nähe des Müggelsees, als repräsentatives Gebiet für den östlichen Teil Berlins ausgewählt wurde. Um das Vorkommen von Zecken im innerstädtischen Bereich Berlins zu untersuchen, wurden zwei Parkanlagen ausgewählt. Die Rehberge und die Hasenheide sind zwei oft besuchte, öffentliche Parks und dienen als Naherholungsgebiet für die Berliner Bevölkerung. Die Zecken wurden bei vergleichbaren Wetterbedingungen zeitnah gesammelt. Vor der Sammlung wurden Temperatur und Luftfeuchtigkeit mit einem Thermo hygrometer gemessen. Die generellen Wetterbedingungen wie Wind und Bewölkung wurden standardisiert festgestellt und in einem Sammelprotokoll festgehalten (Liljequist und Cehak 1974, S. 66–168). Die Zecken wurden mit den zwei unterschiedlichen Methoden „Dragging“ und „Flagging“ gesammelt. Beide Methoden wurden simultan in nahen vergleichbaren Abschnitten durchgeführt. Um die Temperatur und Luftfeuchtigkeit an den Sammelstellen permanent zu kontrollieren, wurden in jedem Sammelgebiet Thermo-Hygro-Buttons in einer Höhe von 30 cm mit südlicher Orientierung an einem Baum angebracht.

### **B.2.1.1 Sammeln von Zecken durch „Dragging“**

Das Draggingfanggerät bestand aus zwei aneinander geschraubten Latten, an denen ein 1 qm großes weißes Baumwolltuch befestigt war. Das Baumwolltuch wurde vor der Benutzung gesäumt. An der den Latten gegenüberliegenden Seiten wurden kleine Gardinengewichte aufgenäht, sodass das Tuch möglichst am Boden gehalten wurde. An den Latten wurden Leinen befestigt, die zusammengeknotet und mit einem Griff versehen wurden. An diesem Griff konnte das Tuch über die Vegetation gezogen werden. Unter „Dragging“ versteht man das Ziehen dieses Schlittens über den Boden des zu untersuchenden Gebietes. Zecken, die in Warteposition auf einen Wirt lauern, klammern sich an das Leinentuch des Schlittens fest und können abgesammelt werden. Das Absammeln der Zecken vom Schlitten geschah alle 50 m.

Um die Populationsdichte an unterschiedlichen Sammelorten vergleichen zu können, wurden regelmäßig 200 m<sup>2</sup> Fläche abgesucht. Dazu wurde mit dem Dragging-Sammelgerät ein 200 m langer Streifen untersucht, wobei nach jeweils 50 m die am Tuch haftenden Zecken abgesammelt und in ein vorbereitetes Falcontube überführt wurden. Der Ort des Draggings wurde am Anfang der 200 m mit dem GPS Gerät bestimmt, damit bei der Auswertung der Daten am Computer den Zecken geografische Längen und Breiten zugeordnet werden konnten.

### **B.2.1.2 Sammeln von Zecken durch „Flagging“**

Das Flaggingfanggerät besteht aus einer aus weißem, gesäumtem Baumwollstoff hergestellten Fahne und einem Teleskopstab. Die Fahne wurde mit drei Rohrschellen an der Teleskopstange befestigt. Parallel zu der Strecke, die mit der Methode des „Dragging“ untersucht wurde, wurde ein 200m langer Bereich mit dem „Flagging“ untersucht. Dazu wurde die Flagge mit jedem Schritt einmal nach links und einmal nach rechts durch die Vegetation geschwenkt. Nach jedem Schwenken wurde die Flagge nach Zecken abgesucht. Bei einem Fund wurden die Zecken in ein vorbereitetes Falcontube überführt. Die GPS-Position des Zeckenfundes wurde wie beim „Dragging“ beschrieben bestimmt. Die Vorbereitung der Falcontubes bestand in einer eindeutigen Beschriftung, in der das Datum, das Sammelgebiet und die Sammelstelle enthalten waren. Weiterhin war wichtig, dass sich im Falcontube ein mit Wasser getränktes Haushaltspapier befand, um ein Austrocknen der Zecken in dem Zeitraum bis zum Einfrieren zu verhindern. Für das „Dragging“ wurden die Falcontubes auf gleiche Weise vorbereitet.

### **B.2.2 Makroskopische Untersuchung der Zecken**

Zeckenart, Entwicklungsstadium und Geschlecht der Zecken wurden mit einem Stereomikroskop bestimmt. Dazu wurden Standardbestimmungsschlüssel benutzt (Hillyard 1996, S. 58–72). Charakterisierte Zecken wurden in ein mit einer eindeutigen Identifizierungsnummer versehenes 1,5 ml-Eppendorfgefäß überführt und bis zur weiteren Untersuchung bei -80 °C eingefroren. Die Daten der Zecke wurden unter der eindeutigen Nummer in eine Datenbank (Microsoft® Access 2003) eingepflegt. Dabei wurden das Sammelgebiet, die Sammelstelle, das Entwicklungsstadium, das Geschlecht, das Sammeldatum, die Temperatur, die Luftfeuchtigkeit, die Bewölkung während der Sammlung, die Windgeschwindigkeit, der Niederschlag, die genauen Sammelkoordinaten und die Höhe erfasst. Für jede Zecke wurde eine komplette Entität mit den zur Zecke gehörenden ökologischen Daten und den gefundenen Pathogenen erzeugt und in einem für ein geografisches Informationssystem (GIS) lesbaren Format gespeichert.

## **B.3 Pflanzensoziologische Einordnung der Sammelgebiete**

Die Sammelgebiete in Berlin wurden nach dem im Internet zur Verfügung stehenden Umweltatlas Berlin in verschiedene Biotoptypen eingeteilt (Biotopkartierung Berlin 2005). Dieses ermöglicht eine ökologische Bewertung der Zeckenfundstellen, aus denen gegebenenfalls vorliegende Gesetzmäßigkeiten hergeleitet werden können. Bei vom

Umweltatlas nicht erfassten Gebieten oder offensichtlichen Ungenauigkeiten des Umweltatlases und zur genaueren Feststellung der Zusammensetzung der ökologischen Gruppe der Waldbodenpflanzen wurden in jedem Gebiet mindestens zwei Vegetationsaufnahmen im April und Juni 2009/2010 durchgeführt. Als ökologische Gruppe werden Pflanzenarten zusammengefasst, die in ihrem soziologischen und ökologischen Verhalten weitgehend übereinstimmen (Hofmeister 1997, S. 40). Wichtigster Bestandteil dieser Vegetationsaufnahmen war eine Artenliste. Die Pflanzenarten in den einzelnen Gebieten wurden anhand der folgenden Bestimmungsschlüssel identifiziert: (Schmeil et al. 2011), (Aichele und Golte-Bechtle 1997), (Aichele und Schwegler 1999), (Aichele et al. 2011), (Bachofer und Mayer 2008), (Blamey und Grey-Wilson 2008), (Christiansen et al. 1988; Darke 2010), (Kremer op. 1998), (Stinglwagner et al. 2009), (Wirth und Düll 2000). In der Beurteilung der Vegetation wurden der Deckungsgrad und die Häufigkeit der Pflanzen als Artmächtigkeit zusammengefasst und auf der Basis der Skala nach Braun-Blanquet abgeschätzt (Hofmeister 1997, S. 134). Die Vegetationsaufnahme wurde für jede Zeckensammelstelle auf einer Probestfläche von 200 m<sup>2</sup> durchgeführt. Die Pflanzengesellschaften wurden schließlich nach Schubert (Schubert et al. 2010) und nach Hofmeister bestimmt (Hofmeister 1997). Auf der Basis dieser Vegetationsaufnahme wurden in den Sammelgebieten jeweils drei Sammelstellen ausgewählt, deren Ökologie das jeweilige Sammelgebiet repräsentierte.



Tab. B.3: Pflanzensoziologische Einordnung der Sammelgebiete und der Sammelpunkte

| Sammelgebiet        | Sammelstelle (SSt.)      | Pflanzensoziologische Einordnung  |
|---------------------|--------------------------|---|
| <b>Bucher Forst</b> | SSt. 1 Wald              | Eichenforstgesellschaft mit mehr als 30 % Buche, mittel bis ziemlich arm nährstoffversorgte Böden. Es kommen <i>Quercus robur</i> und <i>Quercus petraea</i> vor. Strauchschicht bestand aus 60 % <i>Sorbus aucuparia</i> und 40 % <i>Carbinus betulus</i> . Krautschicht: <i>Anemone nemorosa</i> -Gruppe    |
|                     | SSt. 2 Wiese             | Nährstoffreiche Feuchtwiese verarmter Ausprägung. Strauchschicht: <i>Filipendula ulmaria</i> -Gruppe  |
|                     | SSt. 3 Waldweg           | Kiefernforst mit mehreren Laubholzarten in etwa gleichen Anteilen<br>Baum- und Strauchschicht: Spättrauben-Kiefernforst<br>Krautschicht: nicht ausgeprägt   |
| <b>Frohnau</b>      | SSt. 1 Wald              | Baumschicht: Eichenforst mit <i>Quercus robur</i> und <i>Quercus petraea</i><br>Strauchschicht: <i>Prunus padus</i><br>Krautschicht: <i>Vaccinium myrtillus</i> -Gruppe   |
|                     | SSt. 2 Mauerweg          | Baumschicht: Eichenforst<br>Strauchschicht: -<br>Krautschicht: <i>Corynephorion canescentis</i>   |
|                     | SSt. 3 Waldweg           | Baumschicht: Kiefernforst mit Eiche (10-30%)<br>Strauch- und Krautschicht: <i>Vaccinium-myrtillus</i> -Gruppe   |
| <b>Rehberge</b>     | SSt. 1<br>Kastanienbäume | Baumschicht: <i>Aesculus hippocastanum</i> , <i>Quercus petraea</i> , <i>Carpinus betulus</i><br>Strauchschicht: junge <i>Carpinus betulus</i><br>Krautschicht: <i>Milium effusum</i> , <i>Agrostis stolonifera</i> , <i>Taraxacum officinale</i> , <i>Plantago lanceolata</i> , <i>Lysimachia nummularia</i> |
|                     | SSt. 2 Weg               | <i>Carpinus betulus</i><br>Strauchschicht: nicht vorhanden<br>Krautschicht: wie Sammelstelle 1, zusätzlich Verband <i>Onopordion acanthii</i> mit <i>Cynoglossum officinale</i>   |
|                     | SSt. 3 Liegewiese        | Baumschicht: <i>Quercus petraea</i> , <i>Fraxinus excelsior</i> , <i>Fagus sylvatica</i> , <i>Larix decidua</i><br>Strauchschicht: nicht vorhanden<br>Krautschicht: nicht vorhanden   |

| Sammelgebiet       | Sammelstelle (SSt.)         | Pflanzensoziologische Einordnung  |
|--------------------|-----------------------------|---|
| Hasenheide         | SSt. 1<br>Hundeauslaufplatz | Baumschicht: <i>Quercus robur</i> , <i>Acer pseudoplatanus</i> , <i>Fagus sylvatica</i><br>Strauchschicht: <i>Sambus nigra</i> , <i>Symphoricarpos albus</i> , <i>Cornus alba</i><br>Krautschicht: <i>Poa annua</i> , <i>Plantago major</i> , <i>Polygonum aviculare</i> , <i>Urtica dioica und major</i> , <i>Lamium purpureum</i> , im zentralen Bereich Tritt-Gesellschaft ( <i>Plantagineta majoris</i> )   |
|                    | SSt. 2<br>Liegewiese 1      | Baumschicht: <i>Quercus robur</i> , <i>Alnus glutinosa</i> , <i>Fraxinus excelsior</i><br>Strauchschicht: <i>Sambucus nigra</i> , <i>Symphoricarpos albus</i> , <i>Sorbus acuparia</i> , <i>Cornus alba</i><br>Krautschicht: <i>Urtica dioica</i>   |
|                    | SSt. 3<br>Liegewiese 2      | wie Liegewiese 1  |
| Michendorfer Heide | SSt. 1 Wald                 | Heidekraut Kiefernforst mit bodensauren, nährstoffarmen Böden<br>Baumschicht: <i>Pinus sylvestris</i> , <i>Betula pendula</i><br>Strauchschicht: junge <i>Pinus sylvestris</i> , junge <i>Quercus robur</i> , vereinzelt <i>Vaccinium myrtillus</i><br>Krautschicht: <i>Calluna vulgaris</i> , <i>Festuca ovina</i> , <i>Rumex acetosella</i> , <i>Hieracium aurantiacum</i> , <i>Leukobryum glaucum</i> ( <i>Calluna vulgaris</i> -Gruppe) <i>Cladonia</i> |
|                    | SSt.2<br>Feuerschneise      | Baumschicht: -<br>Strauchschicht: -<br>Krautschicht: <i>Calluna vulgaris</i> , <i>Juncus effusus</i> <i>festuca ovina</i> agg.  |
|                    | SSt. 3 Weg                  | Identisch mit Sammelstelle Wald   |
| Wannsee            | SSt. 1 Wald                 | Kiefernforst mit Eiche und Birke<br>Baumschicht: <i>Pinus sylvestris</i> , <i>Quercus robur</i> , <i>Betula pendula</i><br>Strauchschicht: <i>Sorbus acuparia</i> , <i>Deschampsia flexuosa</i>   |
|                    | SSt. 2 Gaststätte           | Hainrispen-Winterlinden -Hainbuchenwald<br>Baumschicht: <i>Carpinus betulus</i> , <i>Tilia cordata</i><br>Strauchschicht: <i>Rubus fruticosus</i><br>Krautschicht: <i>Poa nemoralis</i> , <i>Anemone nemorosa</i> , <i>Convallaria majalis</i> , <i>Hepatica nobilis</i> , <i>Corydalis intermedia</i>  |
|                    | SSt. 3 Weg                  | Baumschicht: Eichenforst mit Kiefer<br>Strauch und Krautschicht fehlen  |

| Sammelgebiet         | Sammelstelle (SSt.) | Pflanzensoziologische Einordnung  |
|----------------------|---------------------|---|
| Spandau              | SSt. 1 Wald         | Kiefernforst mit mehreren Laubholzarten<br>Baumschicht: <i>Quercus robur</i> , <i>Fagus sylvaticus</i> , <i>Pinus sylvestris</i>  |
|                      | SSt. 2 Mauerweg     | Baumschicht: vereinzelt <i>Pinus sylvestris</i><br>Strauchschicht: nicht vorhanden<br>Krautschicht: <i>Corynephorion canescentis</i>  |
|                      | SSt. 3 Weg          | junge Aufforstungen von Nadelholz<br>Baumschicht: <i>Pinus sylvestris</i><br>Strauch- und Krautschicht nicht vorhanden  |
| Marzahn              | SSt. 1 Wald         | Kiefernforst mit Nebenbaumarten Eichen, Robinien und Birke<br>Baumschicht: <i>Quercus robur</i> , <i>Robina pseudoacacia</i> , <i>Betula pendula</i><br>Strauchschicht: <i>Prunus padus</i> , <i>Prunus serotina</i> , <i>Sorbus aucuparia</i><br>Krautschicht: <i>Anemone nemorosa</i> |
|                      | SSt. 2 Weg          | Baum- und Krautschicht wie Sammelstelle Wald<br>Krautschicht: <i>Anemone nemorosa</i> -Gruppe   |
|                      | SSt. 3 Bauschutt    | Ruderalgesellschaft <i>Tanaceto-Artemisietum</i><br>Baumschicht: nicht vorhanden<br>Strauchschicht: nicht vorhanden<br>Krautschicht: <i>Tanacetum vulgare</i> , <i>Artemisia vulgare</i> , <i>Arrhenatherum elatius</i> , <i>Elytrigia repens</i> , <i>Conyza canadensis</i>            |
| Brieskow-Finkenheerd | SSt. 1 Larvennest   | Mesophiles Schlehen-Gebüsch ( <i>Carpino betuli</i> , <i>Prunus spinosa</i> )<br>Strauchschicht: <i>Prunus spinosa</i> , <i>Corylus avellana</i> , <i>Carpinus betulus</i><br>Krautschicht: <i>Carex caryophylla</i> , <i>Bromus erectus</i> , <i>Trisetum flavescens</i>               |
|                      | SSt. 2 Sandberg     | Pioniergesellschaft mit einer Strauchschicht aus <i>Prunus spinosa</i> , <i>Hippophae rhamnoides</i>  |
|                      | SSt. 3 Pappelwald   | <i>Populo tremulae-Quercetum petraeae</i> Gesellschaft<br>Baum- und Krautschicht: <i>Populus tremula</i> , <i>Quercus petraea</i><br>Krautschicht: <i>Trientalis europaea</i>   |

| Sammelgebiet | Sammelstelle (SSt.) | Pflanzensoziologische Einordnung  |
|--------------|---------------------|---|
| Teufelssee   | SSt. 1 Wald         | Kiefernforst mit Nebenbaumarten Stiel- und Traubeneichen<br>Baumschicht: <i>Quercus robur</i> , <i>Quercus petraea</i><br>Strauchschicht: junge <i>Betula pendula</i> , <i>Sorbus aucuparia</i> , <i>Prunus serotina</i><br>Krautschicht: <i>Leucobryum glaucum</i> , <i>Pleurozium schreberi</i> , <i>Hypnum jutlandicum</i> |
|              | SSt. 2 Weg          | Kiefernforst mit Nebenbaumarten Stiel- und Traubeneichen<br>Baumschicht: <i>Quercus robur</i> , <i>Quercus petraea</i><br>Strauchschicht: junge <i>Betula pendula</i> , <i>Sorbus aucuparia</i> , <i>Prunus serotina</i><br>Krautschicht: <i>Leucobryum glaucum</i> , <i>Pleurozium schreberi</i> , <i>Hypnum jutlandicum</i> |
|              | SSt. 3 Spielplatz   | Eichenforst mit Kiefer (>30 %)<br>Strauchschicht: nicht vorhanden<br>Krautschicht: nicht vorhanden  |

## **B.4 Molekularbiologische Methoden**

### **B.4.1 Isolierung von Nukleinsäuren**

Die Isolierung der DNA und RNA aus Zecken wurde mit dem rapidStripe Tick DNA/RNA Extraction Kit der Firma analytikjena gemäß der Gebrauchsanleitung durchgeführt.

### **B.4.2 Quantifizierung der extrahierten Nukleinsäuren**

Um die Konzentration für die Sequenzierungsreaktion richtig einzustellen, wurde die Konzentration der amplifizierten DNA nach Reinigung gemäß Anleitung unter Verwendung des MSB<sup>®</sup> Spin PCRapace-Kit der Firma Invitex mit einem NanoDrop<sup>™</sup> ND-1000 spektrophotometrisch gemessen und auf eine Konzentration von 5 ng DNA/ $\mu$ l eingestellt.

### **B.4.3 Auftrennung von DNA-Fragmenten durch Agarose-Gelelektrophorese**

Zur Trennung und Identifizierung von DNA-Fragmenten wurde die Agarose-Gelelektrophorese benutzt. Dazu wurden ein- bis zweiprozentige Agarosegele aus Biozym Sieve 3:1 Agarose und TBE-Puffer hergestellt. (TBE-Puffer = TRIS-Borat-EDTA-Puffer; EDTA = Ethylendiamintetraessigsäure). Dazu wurde die der Prozentzahl des Gels entsprechende Grammzahl Agarose in einem 250 ml Erlenmeyer-Kolben abgewogen und mit 100 ml TBE-Puffer aufgefüllt. Die Mischung wurde in der Mikrowelle bis zur vollständigen Auflösung der Agarose erhitzt. Nach Abkühlen des Gemisches wurde die Agarose in die vorbereitete Gelkammer gegeben. Dort war Ethidiumbromid vorgelegt, so dass Gele mit einer Ethidiumbromidkonzentration von etwa 0,5  $\mu$ g/ml entstanden. Die zu untersuchenden Proben wurden mit einem sechsfach konzentrierten Ladepuffer verdünnt. Die Gele wurden mit 10  $\mu$ l der zu untersuchenden Proben zusammen mit einem Größenstandard beladen. Je nach Größe der zu erwartenden DNA-Fragmente wurde ein 100 bp-Standard oder ein 1 kb-Standard verwendet. Die Proben wurden bei 80 V aufgetrennt.

### **B.4.4 Nachweis der Pathogene mittels PCR-Methoden**

Aus jedem Sammelgebiet wurden 100 Zecken zur Analyse auf die unterschiedlichen Pathogene so ausgewählt, dass die Stadienverteilung der in diesem Sammelgebiet gefundenen entsprach. Ansonsten war die Auswahl zufällig. Die Gesamt-DNA bzw. -RNA wurde individuell aus jeder isoliert. Dabei wurde darauf geachtet, dass immer nur Zecken

aus einen Sammelgebiet zusammen isoliert wurden. Zusätzlich wurden immer nur Zecken der gleichen Spezies gleichzeitig zusammen extrahiert, um Kontaminationen zu vermeiden. Zur Isolierung der Ribonukleinsäuren wurden die Zecken mechanisch mit der SpeedMill zerkleinert. Nachfolgend wurden die DNA und RNA mit dem RapidStripe Tick DNA/RNA extraction kit gemäß der Anleitung des Herstellers isoliert. Die extrahierte DNA wurde bis zur weiteren Analyse bei -20 °C eingefroren.

Die Gattungen der unterschiedlichen Pathogene wurden mit kommerziellen Kits der Firma analytikjena nachgewiesen. Dabei wurden folgende Kits für den Nachweis der jeweiligen Gattungen wie in der Anleitung beschrieben benutzt: Der Nachweis von *Anaplasma phagocytophilum* wurde mit dem rapidSTRIPE Anaplasma StripeAssay erbracht, Babesien wurden mit dem rapidSTRIPE Babesia StripeAssay nachgewiesen, zum Nachweis von Borrelien DNA wurde das Kit rapidStripe Borrelia Stripe Assay benutzt und Rickettsien wurden mit dem rapidSTRIPE Rickettsia StripeAssay nachgewiesen.

#### **B.4.4.1 Funktionsweise der Lateral flow Streifen**

In den PCR Nachweisreaktionen, die in den Kits der Firma Innuscreen benutzt werden, reagieren Biotin markierte Primer mit der Proben-DNA. Durch die PCR-Reaktion wird der durch die Primer bestimmte Bereich der DNA amplifiziert. Die zusätzlich benutzte Sonde ist mit 6-Carboxyfluorescein (FAM) makiert. Sie bindet bei Bildung des Amplifikats innerhalb dieses Amplifikats. Dadurch werden die Spezifität und die Sensitivität erhöht. Bei einer positiven Reaktion (Vorhandensein der pathogen-eigenen DNA) enthielt das nach der Amplifikation erhaltene Reaktionsgemisch biotin- und fam- markiertes Amplifikat.

Zum Nachweis einer positiven Probe wurden 10 µl des Amplifikats auf das Probenfeld der Lateral flow Streifen gegeben. Nach einer Minute Inkubation wurden die Streifen in ein mit 150 µl Laufpuffer gefülltes Gefäß gestellt. Wenn der Lateral flow Streifen mit dem Laufpuffer in Berührung kam, wurde das PCR-Produkt durch Kapillarkräfte auf den Streifen transportiert. Dort reagierte das Fam und Biotin makierte Amplifikat zuerst mit einem Streptavidin-Gold-Konjugat (Detektionssonde). Die Wechselwirkung dieser Reaktion fand zwischen dem Streptavidin und dem Biotin statt. Der Streptavidin-Gold Komplex wurde gelöst und bildete eine Lösung, in der ein in Flüssigkeit gelöster Komplex Biotin-Streptavidin-Gold-Amplifikat-FAM enthalten war. Wenn dieser Komplex die Nachweislinie erreichte, wurde er von anti-Fluorescein-Isothiocyanat (FITC) Antikörpern (Nachweissonde) detektiert, die auch mit Fam reagierten. Das Vorhandensein des Amplifikats wurde durch eine violette Linie angezeigt, da sich der Komplex Biotin-Streptavidin-Gold-Amplifikat-FAM in dem Bereich konzentriert, in dem die FITC Antikörper aufgebracht waren. Der Überschuss der Dispersion des Goldkonjugats wurde in einer zweiten Kontrolllinie angezeigt, die mit dem Gold in Wechselwirkung tritt. Weil sich der Streptavidin-Gold Komplex bereits durch ungebundene Primer löst, kann durch das

Auftauchen der zweiten Kontrolllinie nur der Prozess des Aufsteigens des Laufpuffers durch Kapillarkräfte kontrolliert und protokolliert werden. Um die erfolgreiche Isolierung der Gesamt-DNA aus den Zecken nachzuweisen, wurde zusätzlich zu den oben genannten Kits das Kit „rapidSTRIPE Tick Amplification Test“ derselben Firma benutzt.

#### B.4.5 PCR-Reaktionen zur näheren Untersuchung der positiven Proben

Bei einem positiven Befund der gattungsspezifischen Kits der Firma analytikjena wurden weitergehende Untersuchungen zur möglichst genauen Bestimmung der Pathogenart durchgeführt. Die weitergehenden Untersuchungen wurden mit Polymerase Kettenreaktion (engl. Polymerase chain reaction, PCR) durchgeführt. Einerseits wurde das positive Ergebnis der Kits von analytikjena bestätigt und andererseits wurde durch Amplifizierung von spezifischen Amplikons die Möglichkeit eröffnet, die Pathogenart bis zur Spezies bei den Rickettsien bzw. bis zum Genotyp bei den Borrelien zu bestimmen. Dabei wurden Protokolle veröffentlichter PCR-Reaktionen benutzt. Bei positiven Ergebnissen des Rickettsienschnelltests wurde eine PCR zur Amplifizierung eines Teilstücks des *ompB* Gens durchgeführt, das anschließend sequenziert wurde (Roux und Raoult 2000). Das *ompB* Gen codiert für das Outermembranprotein B. Zur näheren Untersuchung im Schnelltest borrelienpositiver DNA-Proben wurde eine nested PCR zur Amplifizierung eines Fragments der die 16S rRNA encodierenden DNA benutzt (Richter et al. 2003). Zur näheren Untersuchung Babesien-positiv getesteter Zecken wurde eine von Casati entwickelte Methode verwendet, die das Gen für die 18S rRNA analysiert (Casati et al. 2006). Anaplasmen-positive Proben wurden mit einer PCR bestätigt, die als Zielgen das Gen benutzte, das die 16S rRNA codiert (Massung et al. 1998).

Tab. B.4: Verwendete Primer zum Nachweis der unterschiedlichen Pathogene

| Erreger                          | Primernamen | Primersequenz                     | Referenz               |
|----------------------------------|-------------|-----------------------------------|------------------------|
| <i>Rickettsia</i> spp.           | 2788 For    | AAA CAA TAA TCA AGG TAC TGT       | Roux und Raoult (2000) |
|                                  | 3599 Rev    | TAC TTC CGG TTA CAG CAA AGT       |                        |
| <i>Borrelia</i> spp.             | 16S1A       | CTA ACG CTG GCA GTG CGT CTT AAG C | Richter et al. (2003)  |
|                                  | 16S1B       | AGC GTC AGT CTT GAC CCA GAA GTT   |                        |
|                                  | 16S 2A      | AGT CAA ACG GGA TGT AGC AAT AC    |                        |
|                                  | 16S 2B      | GGT ATT CTT TCT GAT ATC AAC AG    |                        |
| <i>Babesia</i> spp.              | BJ1         | GTC TTG TAA TTG GAA TGA TGG       | Casati et al. (2006)   |
|                                  | BN2         | TAG TTT ATG GTT AGG ACT ACG       |                        |
| <i>Anaplasma phagocytophilum</i> | ge3a        | CAC ATG CAA GTC GAA CGG ATT ATT C | Massung et al. (1998)  |
|                                  | ge10r       | TTC CGT TAA GAA GGA TCT AAT CTC C |                        |
|                                  | ge9f        | AAC GGA TTA TTC TTT ATA GCT TGC T |                        |
|                                  | ge2         | GGC AGT ATT AAA AGC TCC AGG       |                        |

Tab. B.5: Pipettierschema Erreger-PCR

| Komponente                | Erreger   |          |           |             |
|---------------------------|-----------|----------|-----------|-------------|
|                           | Anaplasma | Babesien | Borrelien | Rickettsiae |
| 10x Puffer                | 5 µl      | 5 µl     | 5 µl      | 5 µl        |
| dNTP [25 mM]              | 0,5 µl    | 1 µl     | 0,4 µl    | 0,4 µl      |
| MgCl <sub>2</sub> [50 mM] | 0,5 µl    | 1,5 µl   | 1,5 µl    | 1,8 µl      |
| Primer forward [10µM]     | 0,5 µl    | 0,5 µl   | 1,5 µl    | 2,5 µl      |
| Primer reverse [10µM]     | 0,5 µl    | 0,5 µl   | 1,5 µl    | 2,5 µl      |
| Taq Polymerase            | 0,25 µl   | 0,25 µl  | 0,25 µl   | 0,5 µl      |
| Wasser                    | 36,5 µl   | 37,75 µl | 34,85 µl  | 32 µl       |
| Probe                     | 5 µl      |          |           |             |

Tab. B.6: Cyclerprogramm Erreger-PCR.

| Schritt                | Zeit (sec) [Temperature (°C)] |          |           |             |
|------------------------|-------------------------------|----------|-----------|-------------|
|                        | Anaplasma                     | Babesien | Borrelien | Rickettsiae |
| Initiale Denaturierung | 900 [95]                      | 300 [95] | 600 [94]  | 120 [94]    |
| Denaturierung          | 30 [94]                       | 30 [94]  | 20 [94]   | 30 [94]     |
| Annealing              | 30 [55]                       | 30 [55]  | 20 [63]   | 30 [50]     |
| Elongation             | 60 [72]                       | 40 [72]  | 40 [72]   | 90 [68]     |
| Finale Elongation      | 300 [72]                      | 300 [72] | 120 [72]  | 420 [68]    |

} 40 Zyklen  
(Borrelien 30 Zyklen)

Tab. B.7: Pipettierschema Erreger-nested PCR

| Komponente                | Erreger   |          |
|---------------------------|-----------|----------|
|                           | Anaplasma | Babesien |
| 10x Puffer                | 5 µl      | 5 µl     |
| dNTP [25 mM]              | 0,4 µl    | 0,5 µl   |
| MgCl <sub>2</sub> [50 mM] | 2,5 µl    | 0,5 µl   |
| Primer forward [10µM]     | 2 µl      | 0,5 µl   |
| Primer reverse [10µM]     | 2 µl      | 0,5 µl   |
| Taq Polymerase            | 0,25 µl   | 0,25 µl  |
| Wasser                    | 35,85 µl  | 40 µl    |
| Probe                     | 5 µl      | 1 µl     |

Tab. B.8: Cyclerprogramm Erreger-nested PCR.

| Schritt                | Zeit (sec) [Temperatur (°C)] |           |
|------------------------|------------------------------|-----------|
|                        | Anaplasma                    | Borrelien |
| Initiale Denaturierung | 900 [95]                     | 600 [94]  |
| Denaturierung          | 30 [94]                      | 20 [94]   |
| Annealing              | 30 [55]                      | 20 [63]   |
| Elongation             | 60 [72]                      | 30 [72]   |
| Finale Elongation      | 300 [72]                     | 120 [72]  |

} 40 Zyklen  
(Borrelien 35 Zyklen)



### B.4.6 Sequenzierung von DNA-Fragmenten

Amplifizierte DNA-Fragmente wurden in beide Richtungen mit dem ABI PRISM<sup>®</sup> BigDye<sup>®</sup> Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit sequenziert. Das Verfahren basiert auf der Methode nach Sanger (Sanger 1977). In speziell diesem Kit werden vier verschiedene fluoreszierende Farbstoffe benutzt, die an die vier unterschiedlichen Didesoxynukleotiden (ddNTPs) gebunden sind. Diese werden analog der in vivo durch die DNA Polymerase während der Replikation eingebauten Nukleotide in den neusynthetisierten Strang eingebaut. Die Synthese des Stranges wird selektiv an den Stellen beendet, an denen die Nukleotide mit den Basen Adenin, Cytosin, Guanin oder Thymin eingefügt werden müssten, da an den anstatt der Nukleotiden verwendeten Didesoxynukleotiden eine 3'Hydroxylgruppe fehlt. Dadurch entstehen Stränge unterschiedlicher Länge, die mit unterschiedlichen Farbstoffen markiert sind. In der Summe werden also Moleküle erhalten, die sich in der Länge in einem Nukleotid unterscheiden und farblich markiert sind. Diese können in einer hochauflösenden Kapillargel-Elektrophorese getrennt und mit einem Laser analysiert werden. Durch bioinformatische Analyse wird ein Elektropherogramm erstellt, aus dem die gesuchte Sequenz abgelesen werden kann. Die Sequenzierung von DNA wurde von der Sequenzier-Abteilung des RKI ausgeführt. Dazu wurden die Proben vorher wie folgt pipettiert und amplifiziert.

Tab. B.9: Sequenzierungsansatz.

| Reagenz           | Mengue [ $\mu$ l] |
|-------------------|-------------------|
| Big Dye-Puffer 5X | 1,5               |
| Primer 10 $\mu$ M | 0,5               |
| Big-Dye 3.1       | 1                 |
| DNA-Probe         | 4                 |
| Wasser            | 3                 |

Tab. B.10: Cyclerprogramme der Sequenzierungsreaktion

| Schritt                | Zeit (sec) [Temperature (°C)] |
|------------------------|-------------------------------|
| Initiale Denaturierung | 240 [96]                      |
| Denaturierung          | 10 [96]                       |
| Annealing              | 5 [50-60*]                    |
| Elongation             | 240 [50-60*]                  |
| Stand-by               | 4 [ $\infty$ ]                |

\*Je nach Primer zwischen 50 und 60 °C

## C. Ergebnisse

### C.1 Quantität der Zecken in repräsentativ ausgewählten Sammelgebieten im Raum Berlin

#### C.1.1 *Ixodes ricinus*

In den Gebieten im Umkreis von Berlin wurden während der Zeit, in denen Sammlungen stattgefunden haben, 1691 Individuen der Spezies *I. ricinus* gesammelt. Die Gesamtheit dieser Zecken setzte sich aus 546 Larven, 975 Nymphen und 170 Imagos zusammen. Von den 170 adulten Zecken waren 103 (61 %) weiblich und 67 (39 %) männlich.

Bei der Betrachtung der Anzahl der gesammelten Zecken ist zu beachten, dass die Sammelgebiete 2010 geändert wurden. Da von 2008 bis 2009 keine Zecken in den Rehbergen und der Hasenheide gefunden werden konnten, wurden diese Gebiete in der nachfolgenden Saison durch andere Gebiete ersetzt. In dem Zeitraum von 2008 bis 2009 wurden mit 524 Exemplaren der Spezies *I. ricinus* weniger Zecken dieser Art gesammelt als 2010. 2010 wurden insgesamt 1168 *I. ricinus*-Zecken gesammelt. Sowohl 2008 bis 2009 als auch 2010 war die Gesamtzahl der gesammelten *Ixodes-ricinus*-Zecken in Buch am höchsten. In beiden Sammelzeiträumen wurde die zweithöchste Anzahl von Zecken am Wannsee gefunden. 2010 lag die Anzahl gesammelter Zecken in Marzahn zwar höher als die Anzahl der am Wannsee gesammelten; aber an diesem Standort wurde nur 2010 gesammelt. Hier sollen zuerst nur die Sammelgebiete betrachtet werden, an denen sowohl 2008-2009 als auch 2010 Zecken gesammelt wurden. Das am drittstärksten mit Zecken der Art *I. ricinus* belastete Gebiet war die Michendorfer Heide, das zwar im Vergleich zu Frohnau fast die gleiche Gesamtzahl gesammelter *I. ricinus*, aber zusätzlich noch das starke Vorkommen von *D. reticulatus* aufwies. Das Gebiet mit der geringsten Zeckenlast war der Teufelssee. Innerhalb des Zeitraums 2008-2009 war der Anteil der Larven an der Gesamtzahl der gesammelten Zecken leicht höher als 2010. In diesem Jahr stieg der Anteil der gesammelten Nymphen um 10 % von 50,8 % auf 60,8 %. Gleichzeitig fiel der Anteil der gesammelten Imagos ebenfalls leicht von 12,2 auf 9,1 %. In allen Sammelgebieten mit Ausnahme der Michendorfer Heide war *I. ricinus* die vorherrschende Zeckenart. Von der Spezies *Ixodes-ricinus* wurden alle Entwicklungsstufen in nennenswerter Anzahl gesammelt. Im Gegensatz dazu wurden nur adulte *D. reticulatus*-Zecken gefunden. Mit der Methode des „Flagging“ wurden hauptsächlich Imagos (58,9 % aller gesammelter Imagos) und Nymphen (51,5% aller gesammelter Nymphen) gesammelt. Der Anteil mit dem „Flaggen“ gesammelter Larven war dagegen geringer (26,2 % aller gesammelter Larven). Die Methode des „Dragging“ war für das Sammeln von Larven erfolgreicher (73,8 % aller

gesammelter Larven). Bemerkenswert war, dass 82,4 % aller gesammelter *D. reticulatus* durch „Flaggen“ gefangen wurden. Die in den unterschiedlichen Sammelgebieten beobachtete Zeckenpopulation zeigten charakteristische Verteilungen im Hinblick auf die jeweiligen Anteile der Larven, Nymphen und Imagos. In den über den gesamten Zeitraum beobachteten Gebieten zeigte der Wannsee den größten Anteil an Larven. Hier waren 62,1 % der gesammelten Zecken Larven. Den größten Teil der gesammelten Zecken machten ebenfalls die Larven im Sammelgebiet Frohnau aus. Dort bildeten die Larven einen Anteil an der Gesamtzeckenzahl von 44 %. Ansonsten bildeten immer die Nymphen den größten Anteil von allen gesammelten Zecken. In den drei anderen über den gesamten Zeitraum beobachteten Sammelgebieten, Bucher Forst, Teufelssee und Michendorfer Heide, bildeten die Nymphen mit 60 %, 71,4 % und 75,7 % den Großteil der gesammelten Zecken. Dasselbe gilt auch, wenn man die Zeckenzahlen für den gesamten Beobachtungszeitraum für die Sammelgebiete aufaddiert, die die gesamte Zeit beobachtet wurden (Tab. C.3). In der Summe aller dieser gesammelten Zecken bilden die Nymphen mit 53,8 % die größte Gruppe. Der Anteil der gesammelten adulten Zecken variierte von 5,2 % im Bucher Forst bis 25,2 % in der Michendorfer Heide. Der Wannsee mit 8,7 %, Frohnau mit 9,1 % und der Teufelssee mit 20,6 % liegen dazwischen. Bei den Sammelgebieten, die nur eine Fangsaison beobachtet wurden, fallen die Hasenheide und die Rehberge als Extreme auf. In beiden innerstädtischen Sammelgebieten wurde keine Zecke gesammelt, obwohl diese Sammelgebiete mit der gleichen Intensität abgesucht wurden, wie alle anderen Sammelgebiete. Auf der anderen Seite der Extreme steht das Sammelgebiet in Marzahn. Dort wurden mehr Zecken gefunden als in allen anderen Sammelgebieten mit der Ausnahme vom Bucher Forst. Das 2010 dazugekommene Sammelgebiet Spandau zeigte sich mit insgesamt drei gefundenen Zecken wenig ergiebig. Die geringe Anzahl von gesammelten Zecken lässt keine allgemeine Aussage zu. Nicht nur die unterschiedlichen Sammelgebiete zeigten ein sich unterscheidendes Muster im Hinblick auf die Stadienzusammensetzung. Auch innerhalb der Sammelgebiete unterschied sich die Stadienzusammensetzung. Wie oben beschrieben, wurde versucht, in jedem Sammelgebiet einen feuchten, einen mittelfeuchten und einen trockenen Sammelpunkt zu definieren. Generell wurde als feuchtester Sammelpunkt ein in der Mitte des Waldes liegendes Waldstück, ausgesucht. Bei dem mittelfeuchten Sammelpunkt handelte es sich um einen Waldweg und bei dem trockensten Sammelpunkt um freiliegende Grasflächen, die ungehindert von der Sonne beschienen werden konnten. Der größte Anteil *I. ricinus* wurde in den Sammelgebieten, die während des gesamten Untersuchungszeitraums beobachtet wurde, am Sammelpunkt gefunden, der im Wald lag. Hier wurden insgesamt 895 Zecken gesammelt. Nicht so zahlreich wurden die Zecken am zweiten Sammelpunkt, nämlich dem Waldweg, gesammelt. Die geringste Ausbeute an Zecken wurde auf der von der Sonne beschienenen Grasfläche mit 136 Zecken erreicht. Die Zusammensetzung der Zeckenstadien unterschied sich deutlich an den einzelnen Sammelpunkten. Während am

Sammelpunkt im Wald die Larven dominierten, nahm der Anteil der Nymphen am Sammelpunkt Waldweg und schließlich auch auf der sonnenbeschienenen Grasfläche zu. Gleiches gilt auch für den Anteil der adulten Zecken. Aber an den Sammelpunkten Waldweg und Grasfläche waren Nymphen mit jeweils mehr als 50 % Anteil an der Gesamtzeckenanzahl das vorherrschende Zeckenstadium (Vergleiche Tab. C.5.). Generell waren Nymphen von allen gesammelten *I.-ricinus*-Zecken mit 50 % das vorherrschende Stadium unabhängig von Sammelgebiet oder Sammelpunkt. Die Larven waren mit 29 % der gesammelten Zecken das zweitwichtigste Stadium. Die Imagos bildeten einen Anteil von 21 % (Vergleiche Tab. C.2 und Tab. C.3.).

## C.2 Nachgewiesene Zecken

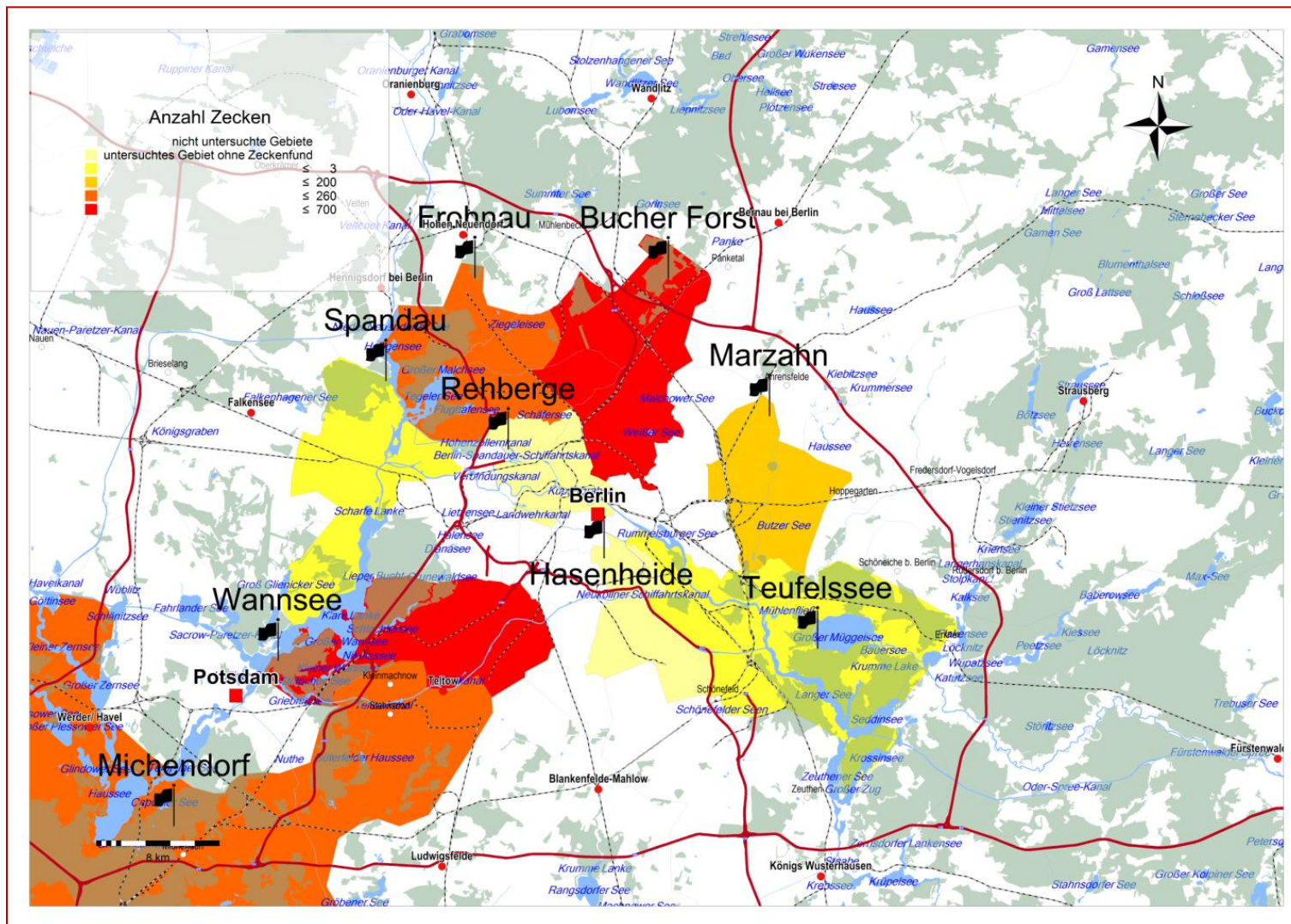
### C.2.1 *Dermacentor reticulatus*

Neben der Zeckenart *I. ricinus* wurde im Raum Berlin *D. reticulatus* in einem erheblichen Umfang nachgewiesen. Im gesamten Zeitraum wurden 257 *D.-reticulatus*-Zecken gefangen, von denen 118 (46 %) männlich und 139 (54 %) weiblich waren. Von diesen *Dermacentor-reticulatus*-Zecken wurden 2008 143 adulte Zecken in der Michendorfer Heide gesammelt. Am Wannsee wurde das Vorkommen von *D.-reticulatus*-Zecken durch fünf gesammelte Exemplare nachgewiesen. Auch in dem Sammelgebiet „Teufelssee“ konnte das Vorkommen der Auwaldzecke durch ein gefundenes Männchen belegt werden (Tab. C.5). 2010 wurden in der Michendorfer Heide mit 104 Exemplaren weniger *D.-reticulatus*-Zecken gefangen. In diesem Jahr wurden am Wannsee noch drei und am Teufelssee eine *D.-reticulatus*-Zecke gefunden. Zusätzlich wurde in dem neu hinzugenommenen Sammelgebiet Marzahn das Vorkommen dieser Zeckenart durch das Sammeln eines männlichen Exemplars belegt. Eine Übersicht über die gefangenen *D.-reticulatus*-Zecken geben Tab. C.5 und Tab.C.7.

Deutschlandweit ist die vorherrschende Zeckenart *I. ricinus*. Das galt auch für diese Untersuchung, aber in einem Gebiet war das nicht der Fall. Die am südlichsten gelegene Michendorfer Heide bildete eine Ausnahme. In diesem Sammelgebiet waren insgesamt fast 53 % aller gefundenen Zecken *D. reticulatus*.

Eine dritte Zeckenart *H. concinna* wurde in großem Umfang etwa 100 km vom Berliner Stadtzentrum entfernt in Brieskow-Finkenheerd gesammelt. Insgesamt wurden 1015 Zecken dieser Art gefunden. Ein großer Anteil davon waren Larven (n=896). Das zweithäufigste gefundene Stadium waren mit 102 Exemplaren Nymphen. Von der Gruppe der adulten Tiere konnten 17 gesammelt werden. Das entspricht einem Verhältnis von 1: 6: 60. Von den gefundenen adulten Tieren waren 12 männlich und 5 weiblich.

Abb. C.1: Übersicht der für diese Arbeit untersuchten Gebiete. Die Gebiete sind in Relation zu der Gesamtzahl der in ihnen gefundenen *I. ricinus* Zecken eingefärbt.





Tab.C.1: Anzahl gesammelter Zecken mit den prozentualen Anteilen der Zeckenstadien für *H. concinna* 2010; l = Larven, n = Nymphen, i = imago

| <b>Sammelgebiet</b> | <b>Anzahl gesammelter Zecken<br/>Entwicklungsstadium (%)</b>              |
|---------------------|---|
| <b>Larvennest</b>   | <b>Total= 953 (100)</b><br>l = 874 (91,7)<br>n = 61 (6,4)<br>i = 18 (1,9) |
| <b>Sandberg</b>     | <b>Total= 12 (100)</b><br>l = 2 (16,7)<br>n = 9 (75)<br>i = 1 (8,3)       |
| <b>Pappelwald</b>   | <b>Total= 43 (100)</b><br>l = 21 (48,8)<br>n = 20 (46,5)<br>i = 2 (4,7)   |

Tab. C.1: Anzahl gesammelter Zecken mit den prozentualen Anteilen der Zeckenstadien für *I. ricinus* in den Jahren 2008- 2009 l = Larven, n = Nymphen, i = imago.

| <b>Sammelgebiet</b>       | <b>Anzahl gesammelter Zecken<br/>Entwicklungsstadium (%)</b>                 |
|---------------------------|--|
| <b>Bucher Forst</b>       | <b>Total= 161 (100)</b><br>l = 39 (24,2)<br>n = 112 (69,6)<br>i = 10 (6,2)   |
| <b>Frohnau</b>            | <b>Total= 109 (100)</b><br>l = 74 (67,9)<br>n = 31 (28,4)<br>i = 4 (3,7)     |
| <b>Wannsee</b>            | <b>Total= 127 (100)</b><br>l = 75 (59,1)<br>n = 42 (33,0)<br>i = 10 (7,9)    |
| <b>Teufelssee</b>         | <b>Total= 15 (100)</b><br>l = 5 (33,3)<br>n = 6 (40)<br>i = 4 (26,7)         |
| <b>Michendorfer Heide</b> | <b>Total= 112 (100)</b><br>l = 1 (0,9)<br>n = 74 (66,1)<br>i = 37 (33,0)     |
| <b>Total</b>              | <b>Total= 524 (100)</b><br>l = 194 (37,0)<br>n = 265 (50,6)<br>i = 65 (12,4) |

Tab. C.2: Anzahl gesammelter Zecken mit den prozentualen Anteilen der Zeckenstadien für die Zeckenart *I. ricinus* 2010.; l = Larven, n = Nymphen, i = imago.

| <b>Sammelgebiet</b>       | <b>Anzahl gesammelter Zecken<br/>Entwicklungsstadium (%)</b>                  |
|---------------------------|---|
| <b>Bucher Forst</b>       | <b>Total= 519 (100)</b><br>l = 198 (38,2)<br>n = 296 (57,0)<br>i = 25 (4,8)   |
| <b>Frohnau</b>            | <b>Total= 121 (100)</b><br>l = 34 (28,1)<br>n = 70 (57,9)<br>i = 17 (14,0)    |
| <b>Spandau</b>            | <b>Total= 3 (100)</b><br>l = 0 (0,0)<br>n = 2 (66,7)<br>i = 1 (33,3)          |
| <b>Marzahn</b>            | <b>Total= 196 (100)</b><br>l = 4 (2)<br>n = 172 (87,8)<br>i = 20 (10,2)       |
| <b>Wannsee</b>            | <b>Total= 171 (100)</b><br>l = 110 (64,3)<br>n = 45 (26,3)<br>i = 16 (9,4)    |
| <b>Teufelssee</b>         | <b>Total= 48 (100)</b><br>l = 0 (0)<br>n = 39 (81,3)<br>i = 9 (18,7)          |
| <b>Michendorfer Heide</b> | <b>Total= 110 (100)</b><br>l = 7 (6,3)<br>n = 84 (76,4)<br>i = 19 (17,3)      |
| <b>Total</b>              | <b>Total= 1168 (100)</b><br>l = 353 (30,2)<br>n = 708 (60,6)<br>i = 107 (9,2) |



Tab. C.3: Anzahl gesammelter Zecken mit den prozentualen Anteilen der Zeckenstadien für *I. ricinus* in der Summe der von 2008 bis Ende 2010 gesammelten Zecken; l = Larven, n = Nymphen, i = imago. Es wurden nur die Sammelgebiete berücksichtigt, in denen über den gesamten Zeitraum Zecken gesammelt wurden.

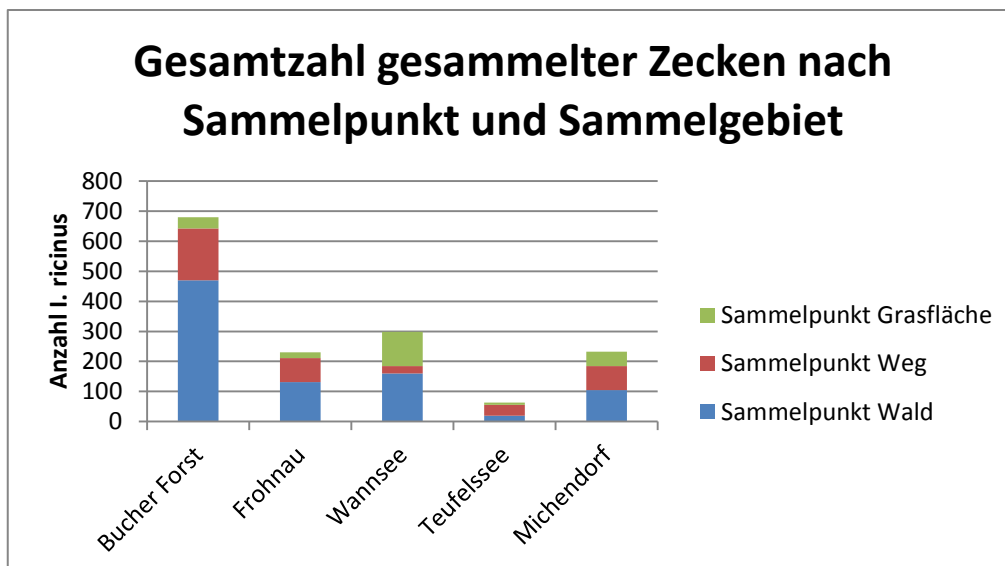
| <b>Sammelgebiet</b>       | <b>Anzahl gesammelter Zecken<br/>Entwicklungsstadium (%)</b>                   |
|---------------------------|--|
| <b>Bucher Forst</b>       | <b>Total= 680 (100)</b><br>l = 237 (34,9)<br>n = 408 (60,0)<br>i = 35 (5,2)    |
| <b>Frohnau</b>            | <b>Total= 230 (100)</b><br>l = 108 (47,0)<br>n = 101 (44)<br>i = 21 (9,1)      |
| <b>Teufelssee</b>         | <b>Total= 63 (100)</b><br>l = 5 (7,9)<br>n = 45 (71,4)<br>i = 13 (20,6)        |
| <b>Wannsee</b>            | <b>Total= 298 (100)</b><br>l = 185 (62,1)<br>n = 87 (29,2)<br>i = 26 (8,7)     |
| <b>Michendorfer Heide</b> | <b>Total= 232 (100)</b><br>l = 8 (3,6)<br>n = 168 (75,7)<br>i = 56 (25,2)      |
| <b>Total</b>              | <b>Total= 1503 (100)</b><br>l = 543 (36,1)<br>n = 809 (53,8)<br>i = 151 (10,0) |

Verglichen mit anderen Untersuchungen zur Zeckenbelastungen von abgegrenzten Gebieten kann man die von uns untersuchten Gebiete wie in Tab. C.4 gezeigt einordnen. Die Berechnung basiert auf der Anzahl von gesammelten Nymphen und adulten Zecken pro Fangsaison bzw. pro Jahr hochgerechnet auf 100 m<sup>2</sup>. Wie bei Schwarz (Schwarz et al. 2009) beschrieben wurde diese Klassifizierung für ein wöchentliches Fangintervall aufgestellt.

Tab. C.4: Klassifizierung der untersuchten Sammelgebiete in Kategorien der Zeckenhäufigkeit nach Schwarz (Schwarz et al. 2009) auf der Basis von *I. ricinus*-Nymphen und adulten Tieren/100 m<sup>2</sup>/Jahr, hochgerechnet auf ein wöchentliches Fangintervall.

| Sammelgebiet | Kategorie                     |
|--------------|-------------------------------|
| Bucher Forst | Sehr hohe Zeckenhäufigkeit    |
| Michendorf   | Hohe Zeckenhäufigkeit         |
| Frohnau      | Mittlere Zeckenhäufigkeit     |
| Wannsee      | Mittlere Zeckenhäufigkeit     |
| Teufelssee   | Mittlere Zeckenhäufigkeit     |
| Marzahn      | Hohe Zeckenhäufigkeit         |
| Rehberge     | Sehr geringe Zeckenhäufigkeit |
| Hasenheide   | Sehr geringe Zeckenhäufigkeit |
| Spandau      | Sehr geringe Zeckenhäufigkeit |

Abb. C.2: Anzahl der gesammelten *I. ricinus* nach Sammelgebiet und Sammelpunkt. In diese Grafik wurden alle *I. ricinus* einbezogen, die von 2008 bis 2010 gesammelt wurden. Es wurden nur die Sammelgebiete berücksichtigt, die während der ganzen Zeit untersucht wurden.



Tab. C.5: Anzahl gesammelter Zecken nach Sammelgebiet für *D. reticulatus* 2008-2009

| Sammelgebiet       | Anzahl der gesammelten <i>D.-reticulatus</i> -Zecken |
|--------------------|--|
| Bucher Forst       | 0  |
| Frohnau            | 0  |
| Wannsee            | 5  |
| Teufelssee         | 1  |
| Michendorfer Heide | 143  |

Tab. C.6: Anzahl gesammelter Zecken nach Sammelgebiet für *D. reticulatus* 2010

| Sammelgebiet       | Anzahl der gesammelten <i>D.-reticulatus</i> -Zecken |
|--------------------|--|
| Bucher Forst       | 0  |
| Frohnau            | 0  |
| Wannsee            | 3  |
| Teufelssee         | 0  |
| Michendorfer Heide | 104  |
| Spandau            | 0  |
| Marzahn            | 1  |

### C.3 Einfluss der Umweltfaktoren

Das Vorkommen und die Aktivität der Zecken werden in großem Maß von abiotischen Bedingungen wie Temperatur, Luftfeuchtigkeit und Bewuchs beeinflusst. Im Folgenden werden einige dieser Faktoren im Zusammenhang mit der Anzahl der gesammelten Zecken gesehen. Um einen Überblick darüber zu bekommen, wie klimatische Bedingungen das Vorkommen oder das Vorherrschen verschiedener Zeckenspezies beeinflussten, wurde die Anzahl der gefundenen *I. ricinus*- und *Dermacentor*-Zecken im Verhältnis zur Lufttemperatur und der Luftfeuchtigkeit in der Michendorfer Heide näher betrachtet (Abb. C.3). Wenn man die Daten zur Temperatur und Luftfeuchtigkeit miteinbezieht, können Unterschiede bei der Anzahl der gesammelten Zecken und der jeweils vorherrschenden Zeckenart im Jahresverlauf ausgemacht werden. Die systematische Analyse zum Vorkommen von *D. reticulatus* und *I. ricinus* zeigt die unterschiedlichen Temperatur- und Feuchtigkeitsansprüche der beiden Zeckenarten. Während *D. reticulatus* bei Temperaturen

nahe am Boden um 10 °C und sogar hinunter bis 0 °C gesammelt werden konnte, wurde eine Aktivität von *I. ricinus* erst oberhalb einer Temperatur von 12 °C beobachtet. Temperaturen von annähernd 20 °C und geringe Luftfeuchtigkeit von unter 78 % während der Sommermonate hatten einen großen Einfluss auf die Zeckenaktivität. Das galt sowohl für *Ixodes-ricinus*- als auch für *Dermacentor-reticulatus*-Zecken. Dieser Einfluss zeigte sich in einer drastischen Abnahme der Zahl gesammelter Zecken. Die Ergebnisse zeigten auch, dass trotz des Verschwindens von *D. reticulatus* von April bis August, die Zeckenart sofort wieder erscheint, wenn sich die Temperaturen im Oktober senkten und die Luftfeuchtigkeit anstieg. Für *I. ricinus* war der Monat der stärksten Aktivität jeweils der Mai, während im Oktober die Anzahl der gesammelten Zecken im Vergleich zu den Sommermonaten anstieg, aber nicht das Niveau vom Mai erreichte. Die höchste Anzahl *D.-reticulatus*-Zecken wurde jeweils im Oktober gefangen, wobei ein zweiter Peak im März/April lag. Dieser Frühjahrspeak lag aber früher als der Peak von *I. ricinus*. In einem Gebiet, das nur von Zecken der Spezies *I. ricinus* besiedelt war, zeigte sich für *Ixodes-ricinus*-Zecken zumindest für 2010 ein ähnliches Bild (

Abb. C.4). Im Mai wurde die für 2010 höchste Anzahl von Zecken im Sammelgebiet Buch gefangen. Danach fiel die Anzahl der gesammelten Zecken, ehe sie im September wieder anstieg. Die Verteilung 2009 passt nicht in dieses Muster. 2009 wurden die meisten *Ixodes-ricinus*-Zecken im August und Oktober gesammelt. Auffällig ist dabei, dass für Mai 2009 nur eine Durchschnittstemperatur von 9,13 °C gemessen wurde, während im Mai 2010 schon eine Durchschnittstemperatur von 21,1 °C erreicht wurde. Generell wurde während des Untersuchungszeitraums für beide untersuchte Zeckenarten das für Zecken beschriebene bimodale Aktivitätsmuster gefunden.

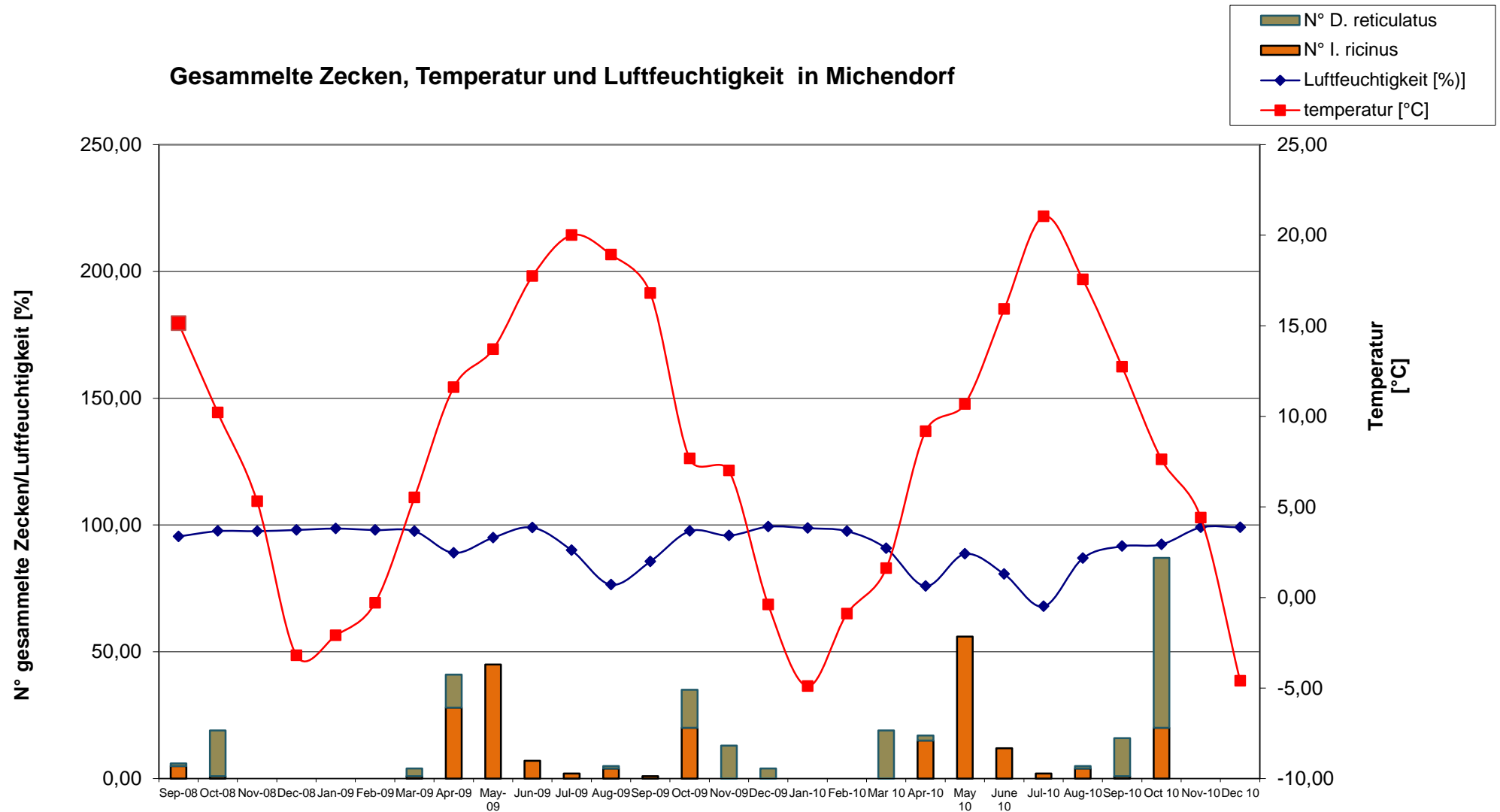


Abb. C.3: Anzahl gesammelter Zecken in Abhängigkeit von Temperatur und Luftfeuchtigkeit in Michendorf während des Beobachtungszeitraums von 2008 bis 2010. Die Werte wurden von Messfühlern, die in ca. 30cm Höhe mit südlicher Orientierung an Bäumen befestigt waren, gemessen. Die dargestellten Werte sind die Durchschnittswerte jeweils eines Monats.

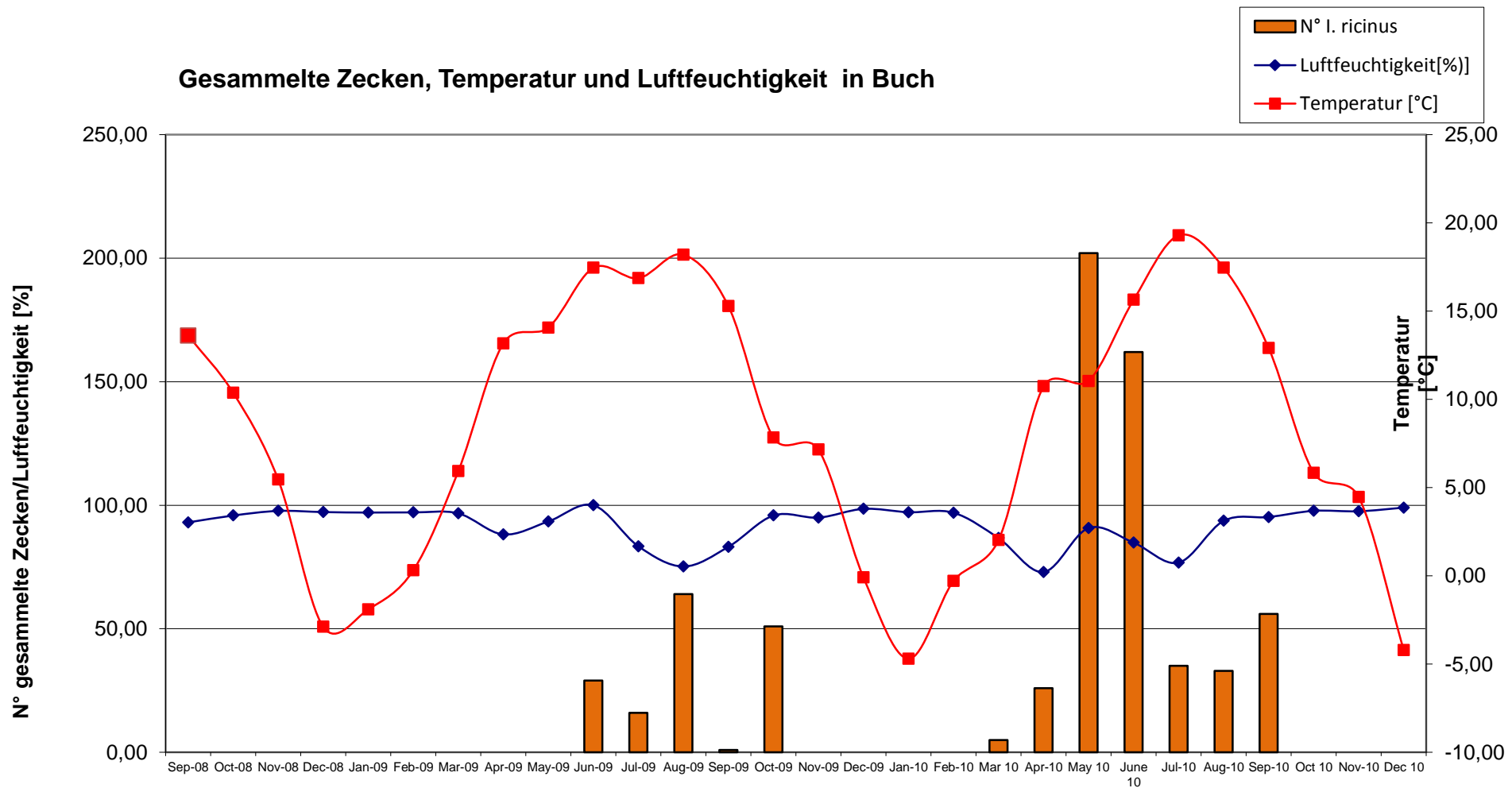


Abb. C.4: Anzahl gesammelter Zecken in Abhängigkeit von Temperatur und Luftfeuchtigkeit in Buch während des Beobachtungszeitraums von 2008 bis 2010. Die Werte wurden von Messfühlern, die in ca. 30cm Höhe mit südlicher Orientierung an Bäumen befestigt waren, gemessen. Die dargestellten Werte sind die Durchschnittswerte jeweils einen Monats

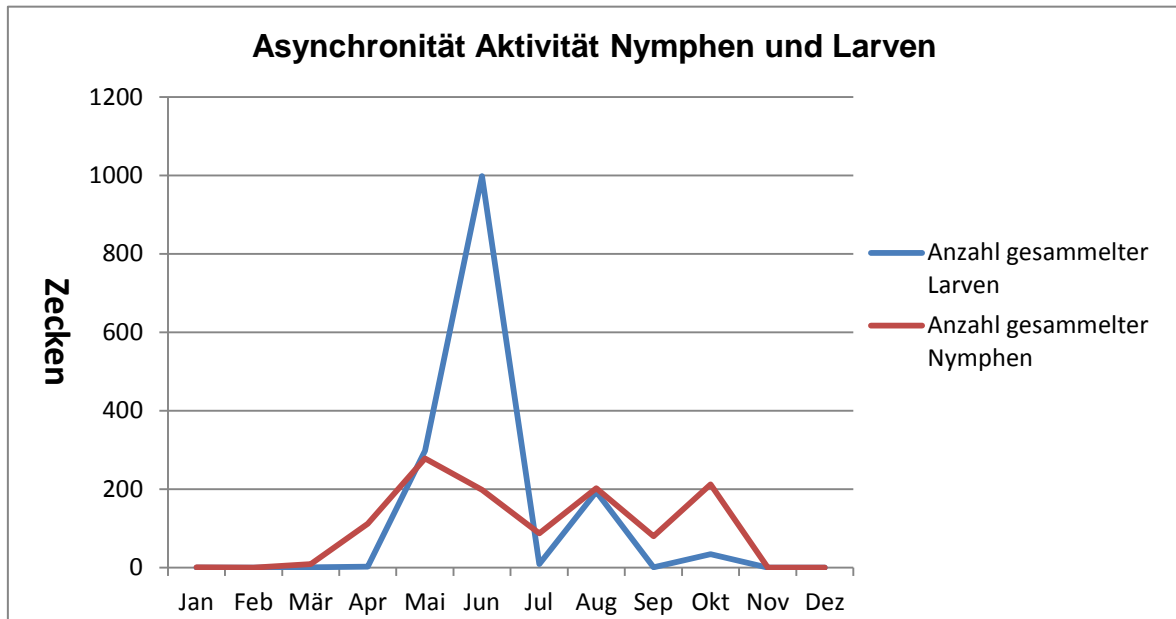


Abb. C.5: Anzahl gefundener Larven und Nymphen von *I. ricinus* in Abhängigkeit des Sammelmonats. Die aufgetragene Zahl der Zecken entspricht der Gesamtzahl der über den ganzen Zeitraum der Studie in allen Sammelgebieten gesammelten Larven und Nymphen.

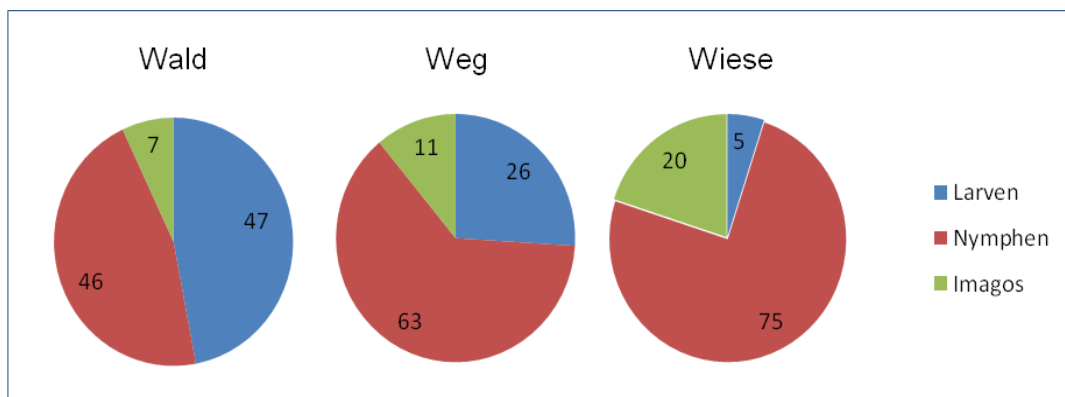


Abb. C.6: Prozentualer Anteil der unterschiedlichen Entwicklungsstadien an den jeweiligen Sammelpunkten. In der Abbildung wurden alle Sammelgebiete berücksichtigt, die 2008/2009 und 2010 untersucht wurden.

## C.4 Prävalenz von Pathogenen

### C.4.1 Prävalenz der Pathogene in *Ixodes-ricinus*-Zecken 2008/2009

Die für die Untersuchung mit molekularbiologischen Methoden ausgewählten Larven, Nymphen und adulten Zecken entsprachen in ihrer Zusammensetzung nach Stadien der Grundgesamtheit der in den jeweiligen Sammelgebieten gefundenen Zecken. Die für jedes Sammelgebiet untersuchten 100 Zecken wurden möglichst so ausgewählt, dass der jeweilige prozentuale Anteil der jeweiligen Zeckenstadien dem prozentualen Anteil den im Sammelgebiet gefundenen entsprach. Das Vorkommen der Zecken und die Prävalenz der unterschiedlichen Krankheitserreger wurden für diese Arbeit zwei Jahre lang beobachtet. Die dabei gemachten Beobachtungen werden in Tab. C.7 zusammengefasst.

#### *B. burgdorferi*

*B. burgdorferi* wurde in allen Sammelgebieten gefunden, wobei das Vorkommen zwischen den einzelnen Sammelgebieten in bemerkenswerter Weise schwankte. In Frohnau wurden 2008/2009 lediglich in 2 % der untersuchten Zecken Borrelien-DNA gefunden, wohingegen im Bucher Forst 22 % der untersuchten Zecken im selben Zeitraum positiv auf Borrelien getestet wurden. Damit stellten diese zwei Sammelgebiete gleichzeitig die beiden Extreme des beobachteten Vorkommens von Borrelien in den Zecken dar. Die Sammelgebiete Wannsee und Teufelssee liegen mit ihrer Prävalenz höher als das Mittel in allen untersuchten *Ixodes-ricinus*-Zecken (13,7 %), wobei die Michendorfer Heide mit 8 % positiven Zecken im Vergleich der Sammelgebiete eine relativ niedrige Prävalenz von Borrelien zeigt.

Das am stärksten von Borrelien befallene Zeckenstadium waren mit 25,9 % die adulten Zecken. Nymphen zeigten mit 20,7 % den zweitstärksten Befall und Larven waren mit 1,9 % am geringsten belastet. Die adulten Zecken zeigten zwar einen geringen geschlechtsspezifischen Unterschied bei der Prävalenz von *B. burgdorferi*. Dieser war aber nicht signifikant (Abb. C.9). Im Jahresverlauf entwickelte sich die Prävalenz von *B. burgdorferi* in Nymphen von *I. ricinus* in etwa parallel zu den insgesamt gesammelten Zecken (Abb.C.8). Ein Unterschied der durch verschiedene Sammelmethode gesammelten *I. ricinus* aller Stadien zeigte sich nur geringfügig (Tab. C.11)

#### *Rickettsia* spp.

Rickettsien-positive *Ixodes-ricinus*-Zecken wurden ebenfalls in allen Sammelgebieten gefunden. Interessanterweise waren Rickettsien mit annähernd 30 % das Pathogen mit der höchsten Prävalenz. Außerdem waren Rickettsien die einzigen von den untersuchten



Krankheitserregern, die in einem hohen Prozentsatz in Larven vorkamen (38 %). Tatsächlich stellten die Larven das Zeckenstadium mit der höchsten Prävalenz von Rickettsien dar, wobei die Imagos das am niedrigsten belastete Zeckenstadium repräsentierten. Der höchste Anteil Rickettsien-positiver Zecken wurde mit 55 % am Wannsee gefunden. Der niedrigste Anteil wurde in Frohnau mit 9 % beobachtet. In der Michendorfer Heide, Buch, und im Sammelgebiet Teufelssee schwankte der Anteil der positiv auf Rickettsien-DNA getesteten Zecken zwischen 25 und 35 %. Die beiden Geschlechter der erwachsenen Zecken zeigten eine leicht höhere Prävalenz bei Weibchen von *I. ricinus*. Bei *D. reticulatus* zeigten die Männchen eine leicht höhere Prävalenz (Abb.C.9 und Abb.C.10). Im Jahresverlauf zeigte die Prävalenz von Rickettsien in Nymphen von *I. ricinus* im Mai einen absoluten Gipfel und im Juli einen zweiten niedrigeren Gipfel (Abb.C.8). Der Unterschied in der Prävalenz bei *I. ricinus*, die mit unterschiedlichen Sammelmethode gesammelt wurden ist nicht so gering wie bei *B. burgdorferi*, aber immer noch nicht signifikant. Ähnlich wie bei *B. burgdorferi* zeigten Zecken eine höhere Prävalenz, wenn sie mit der Sammelmethode des „Draggen“ gesammelt wurden.

#### *Anaplasma phagocytophilum*

*Anaplasma phagocytophilum* wurde in der Saison 2008/2009 in Buch und am Wannsee gefunden. In Frohnau, am Teufelssee und in der Michendorfer Heide konnte dieses Pathogen nicht nachgewiesen werden. Während bei Larven und Nymphen eine geringe Prävalenz von 1,3 bzw. 3 % beobachtet wurde, konnte 2008/2009 *Anaplasma phagocytophilum* in adulten Zecken nicht nachgewiesen werden. Insgesamt war *Anaplasma phagocytophilum* der Krankheitserreger mit der niedrigsten Prävalenz in den gefundenen Zecken (1,8 %). Es wurden keine männlichen *I. ricinus* gefunden, die positiv für *A. phagocytophilum* waren. Bei *D. reticulatus* zeigten die männlichen Zecken hingegen die höhere Prävalenz (Abb.C.9 und Abb.C.10). Im Jahresverlauf zeigte sich über das ganze Jahr eine niedrige Prävalenz bei den Nymphen von *I. ricinus*. Auffällig ist aber der Gipfel im Juli (Abb.C.8).

#### *Babesia* spp.

Babesien konnten mit Ausnahme des Sammelgebietes Teufelssee in allen Sammelgebieten, in denen Zecken gefunden wurden, nachgewiesen werden. Der höchste Anteil positiver Zecken wurde im Bucher Forst mit 7 % gefunden. Der niedrigste Anteil mit Babesien infizierter Zecken wurde in Frohnau mit 1 % gefunden. Wannsee und Michendorfer Heide lagen mit 3 und 4 % infizierter Zecken dazwischen. Am stärksten mit *Babesia* belastet waren die Nymphen mit 7,1 %. 3,7 % der adulten Zecken waren *Babesia*-positiv. Larven waren mit 1,9 % das am geringsten belastete Zeckenstadium. Nach *Anaplasma*

*phagocytophilum* waren Babesien die am wenigsten vorkommenden Pathogen in den gefundenen *Ixodes-ricinus*-Zecken. Die Prävalenz von Babesien zeigte weder in *I. ricinus* noch in *D. reticulatus* erhebliche Unterschiede (Abb.C.9 und Abb.C.10). Im jahreszeitliche Verlauf zeigte sich im August ein Gipfel im August (Abb.C.8). Die Prävalenz in Zecken, die mit den beiden unterschiedlichen Sammelmethode gesammelt wurden ist fast identisch (Ta.C.12)

Tab. C.7: Übersicht der Pathogenbelastung 2008/2009: Die Pathogenbelastung wurde durch PCR-Untersuchungen von *Ixodes-ricinus*-Zecken ermittelt, die an den verschiedenen Sammelstellen in Berlin und Brandenburg gesammelt wurden.

| Pathogen                  | pos/total<br>Larven | pos/total<br>Nymphen | pos/total<br>Imago | Total percentage<br>(%) |
|---------------------------|---------------------|----------------------|--------------------|-------------------------|
| <b>Bucher Forst</b>       |                     |                      |                    |                         |
| <i>Anaplasma</i>          | 0/24                | 1/70                 | 0/6                | 1                       |
| <i>Borrelia</i>           | 0/24                | 21/70                | 1/6                | 22                      |
| <i>Rickettsia</i>         | 11/24               | 22/70                | 2/6                | 35                      |
| <i>Babesia</i>            | 1/24                | 6/70                 | 0/6                | 7                       |
| <b>Frohnau</b>            |                     |                      |                    |                         |
| <i>Anaplasma</i>          | 0/68                | 0/28                 | 0/4                | 0                       |
| <i>Borrelia</i>           | 0/68                | 1/28                 | 1/4                | 2                       |
| <i>Rickettsia</i>         | 0/68                | 8/28                 | 1/4                | 9                       |
| <i>Babesia</i>            | 0/68                | 1/28                 | 0/4                | 1                       |
| <b>Wannsee</b>            |                     |                      |                    |                         |
| <i>Anaplasma</i>          | 2/59                | 4/33                 | 0/8                | 6                       |
| <i>Borrelia</i>           | 3/59                | 9/33                 | 5/8                | 17                      |
| <i>Rickettsia</i>         | 46/59               | 8/33                 | 1/8                | 55                      |
| <i>Babesia</i>            | 2/59                | 1/33                 | 0/8                | 3                       |
| <b>Teufelssee</b>         |                     |                      |                    |                         |
| <i>Anaplasma</i>          | 0/5                 | 0/6                  | 0/4                | 0                       |
| <i>Borrelia</i>           | 0/5                 | 0/6                  | 3/4                | 20                      |
| <i>Rickettsia</i>         | 2/5                 | 1/6                  | 1/4                | 27                      |
| <i>Babesia</i>            | 0/5                 | 0/6                  | 0/4                | 0                       |
| <b>Michendorfer Heide</b> |                     |                      |                    |                         |
| <i>Anaplasma</i>          | 0/1                 | 0/66                 | 0/32               | 0                       |
| <i>Borrelia</i>           | 0/1                 | 4/66                 | 4/32               | 8                       |
| <i>Rickettsia</i>         | 0/1                 | 15/66                | 10/32              | 25                      |
| <i>Babesia</i>            | 0/1                 | 3/66                 | 1/32               | 4                       |
| <b>Gesamt</b>             |                     |                      |                    |                         |
| <i>Anaplasma</i>          | 2/157 (1,3%)        | 5/169 (3%)           | 0/54 (0%)          | 7/380 (1,8%)            |
| <i>Borrelia</i>           | 3/157 (1,9%)        | 35/169 (20,7%)       | 14/54(25,9%)       | 52/380 (13,7%)          |
| <i>Rickettsia</i>         | 59/157 (37,6%)      | 49/169 (29%)         | 5/54 (9,3%)        | 113/380 (29,7%)         |
| <i>Babesia</i>            | 3/157 (1,9%)        | 12/169 (7,1%)        | 2/54 (3,7%)        | 17/380 (4,5%)           |

## C.4.2 Prävalenz der Pathogene in *Ixodes ricinus* 2010

Für das Jahr 2010 wurden die Sammelgebiete geändert. Anstatt der beiden städtischen Sammelgebiete Rehberge und Hasenheide wurden die beiden Sammelgebiete Spandau und Marzahn in die Liste der Sammelgebiete aufgenommen. Dieses geschah zum einen, weil keine Zecken in der Hasenheide bzw. in den Rehbergen in den Jahren 2008/2009 gefunden wurden, und zum anderen, um die Abdeckung des Gebietes von Berlin im Westen und im Osten zu verbessern. Darüber hinaus musste die Anzahl der untersuchten Zecken aus Zeit- und Kostengründen reduziert werden. Es wurde sich auf die bisher am regelmäßigsten und längsten untersuchten Gebiete konzentriert, bei denen man sicher sein konnte, dass die angestrebte Stichprobengröße von 100 zu untersuchenden Zecken erreicht wurde. Zur weitergehenden Untersuchung wurden deswegen die Sammelgebiete Bucher Forst, Michendorfer Heide und Marzahn ausgewählt. Frohnau, der Teufelssee und Spandau wurden 2010 nicht auf die Prävalenz von Pathogenen untersucht. In Spandau und am Teufelssee wurden ohnehin weniger als 100 Zecken gesammelt, so dass ein Vergleich mit den anderen Sammelgebieten schwierig war. In Marzahn dagegen konnten sehr viele Zecken gesammelt werden. Außerdem kam in diesem Sammelgebiet auch *D. reticulatus* vor.

### *B. burgdorferi*

Die DNA von *B. burgdorferi* wurde in allen analysierten Sammelgebieten nachgewiesen. Die höchste Prävalenz konnte 2010 im Sammelgebiet Marzahn mit 30 % positiver *Ixodes-ricinus*-Zecken nachgewiesen werden. Michendorf lag im mittleren Bereich mit 20 % positiver Zecken. Das Schlusslicht bildete der Bucher Forst mit 18 %. Je älter die Zecke war, desto höher war die Prävalenz der Borrelien. Larven zeigten die geringste Prävalenz, die bei den Nymphen gesteigert war und schließlich bei den adulten Zecken ihren Höhepunkt erreichte. Im Vergleich der zwei Sammelzeiträume wurde 2010 bei Borrelien eine klare Steigerung von 13,7 % positiver Zecken 2009 auf 22,7 % 2010 beobachtet. Das galt aber nur für die Gesamtprävalenz in den untersuchten Gebieten. Dabei muss beachtet werden, dass 2010 Marzahn mit in die untersuchten Gebiete einbezogen wurde, der Teufelssee, Frohnau und der Wannsee aber herausgefallen sind. Vergleicht man die einzelnen Sammelgebiete, stellt man fest, dass die Prävalenz in Buch von 2009 auf 2010 gefallen und gleichzeitig in der Michendorfer Heide gestiegen ist. 2010 waren Borrelien die Krankheitserreger, die am zweithäufigsten in den Zecken gefunden wurden.

### *Rickettsia* spp.

Genau wie Borrelien wurden Rickettsien in allen untersuchten Gebieten nachgewiesen. Wie bei den Borrelien war der Bucher Forst 2010 das am geringsten belastete Gebiet. Für Rickettsien war die Michendorfer Heide das Sammelgebiet mit der höchsten Prävalenz

(40 %), gefolgt von Marzahn mit einer Prävalenz von 22 % positiver Zecken. In Buch fand sich mit 15% die niedrigste Prävalenz. Wie bei den Borrelien steigerte sich die Prävalenz der Rickettsien mit zunehmendem Alter der Zecken. Rickettsien waren das Pathogen, das von den untersuchten Pathogenen die höchste Prävalenz in allen untersuchten Gebieten zeigte.

#### *Anaplasma phagocytophilum*

*Anaplasma phagocytophilum* konnte im Bucher Forst und in der Michendorfer Heide nachgewiesen werden. In dem 2010 zum ersten Mal untersuchten Sammelgebiet Marzahn wurden trotz zahlreich gesammelter Zecken keine Exemplare gefunden, die DNA von *Anaplasma phagocytophilum* enthielten. Die Prävalenz dieses Pathogens war in Buch mit 4 % doppelt so hoch wie in der Michendorfer Heide. Für *Anaplasma* konnten keine positiven Larven gefunden werden. Anders als bei Borrelien und Rickettsien waren für *Anaplasma* nicht die ältesten respektive nicht das höchste Entwicklungsstadium am höchsten belastet. Für *Anaplasma* waren die Nymphen 2010 mit 4 % am höchsten belastet. Im Jahresvergleich zeigte sich kaum eine Veränderung in der Prävalenz von *Anaplasma*.

#### *Babesia* spp.

2010 zeigte sich die höchste Belastung mit Babesien in Marzahn. Die zweithöchste Prävalenz zeigte sich in der Michendorfer Heide und die niedrigste ähnlich wie bei den anderen Krankheitserregern im Bucher Forst. Die unterschiedlichen Zeckenstadien verfügten erneut über unterschiedliche Prävalenzen. Das Bild, das sich für *Babesia* zeigte, war ähnlich wie das bei *Rickettsia*. Die höchste Prävalenz zeigten die Nymphen, wobei gleichzeitig keine der untersuchten Larven positiv für Babesien getestet wurde. Eine adulte Zecke wurde positiv auf Babesien-DNA getestet. Die Prävalenz im gesamten untersuchten Gebiet war mit 2,7 % im Jahr 2010 etwas geringer als 2008/2009 mit 4 % (Tab. C.7 und Tab. C.8).

Tab. C.8: Übersicht der Pathogenbelastung: Die Pathogenbelastung wurde durch PCR-Untersuchungen von Ixodes-ricinus-Zecken ermittelt, die an den verschiedenen Sammelstellen in Berlin und Brandenburg 2010 gesammelt wurden. Bei dieser Untersuchung wurde auf die Untersuchung der Sammelgebiete Spandau und Teufelssee verzichtet, weil in beiden Sammelgebieten eine geringere Anzahl als 100 Zecken gefunden wurden und deswegen keine statistisch relevante Aussage getroffen werden konnte.

| Pathogen                  | pos/total<br>Larven | pos/total<br>Nymphen | pos/total<br>Imago | Total percentage<br>(%) |
|---------------------------|---------------------|----------------------|--------------------|-------------------------|
| <i>Bucher Forst</i>       |                     |                      |                    |                         |
| <i>Anaplasma</i>          | 0/24                | 1/70                 | 1/6                | <b>2</b>                |
| <i>Borrelia</i>           | 1/24                | 13/70                | 4/6                | <b>18</b>               |
| <i>Rickettsia</i>         | 1/24                | 12/70                | 2/6                | <b>15</b>               |
| <i>Babesia</i>            | 0/24                | 1/70                 | 0/6                | <b>1</b>                |
| <i>Marzahn</i>            |                     |                      |                    |                         |
| <i>Anaplasma</i>          | 0/2                 | 0/89                 | 0/9                | <b>0</b>                |
| <i>Borrelia</i>           | 1/2                 | 20/89                | 9/9                | <b>30</b>               |
| <i>Rickettsia</i>         | 2/2                 | 17/89                | 3/9                | <b>22</b>               |
| <i>Babesia</i>            | 0/2                 | 4/89                 | 0/9                | <b>4</b>                |
| <i>Michendorfer Heide</i> |                     |                      |                    |                         |
| <i>Anaplasma</i>          | 0/4                 | 4/78                 | 0/18               | <b>4</b>                |
| <i>Borrelia</i>           | 0/4                 | 16/78                | 4/18               | <b>20</b>               |
| <i>Rickettsia</i>         | 0/4                 | 33/78                | 7/18               | <b>40</b>               |
| <i>Babesia</i>            | 0/4                 | 2/78                 | 1/18               | <b>3</b>                |
| <i>Gesamt</i>             |                     |                      |                    |                         |
| <i>Anaplasma</i>          | 0/30 (0%)           | 4/237 (1,7%)         | 1/33               | <b>5/300(1,7%)</b>      |
| <i>Borrelia</i>           | 2/30 (6,7%)         | 49/237 (20,7%)       | 17/33 (51,5%)      | <b>68/300 (22,7%)</b>   |
| <i>Rickettsia</i>         | 3/30 (10%)          | 62/237 (26,2%)       | 12/33 (36%)        | <b>77/300 (25,7%)</b>   |
| <i>Babesia</i>            | 0/30                | 7/237                | 1/33               | <b>8/300 (2,7)</b>      |

Vergleicht man mehrere Gebiete im Hinblick auf das Risiko, sich mit Lyme-Borreliose zu infizieren, ist die Zahl unter gleichen Bedingungen gesammelter Borrelien-positiver Nymphen wichtig (s. u.). Diese Zahl konnte nicht genau ermittelt werden, weil es nicht möglich war, alle gefundenen Nymphen auf Borrelien DNA zu untersuchen. Deswegen werden hier die Zahlen der gesammelten Nymphen und die Prävalenz in Bezug auf Borrelien aufgelistet.

Tab. C.9: Anzahl gesammelter *I. ricinus*-Nymphen und die Prävalenz Borrelien-positiver Nymphen

| Gebiet             | Gesamtzahl gesammelter Nymphen | Prävalenz [%] | Anzahl Nymphen × Prävalenz/100 |
|--------------------|--------------------------------|---------------|--------------------------------|
| Bucher Forst       | 408                            | 23,4          | 95,5                           |
| Marzahn            | 172                            | 22,7          | 39                             |
| Michendorfer Heide | 168                            | 13,3          | 22,3                           |
| Frohnau            | 101                            | 5,9           | 6                              |
| Wannsee            | 87                             | 23,7          | 20,6                           |
| Teufelssee         | 45                             | 5             | 2,25                           |

### C.4.3 Prävalenz der Pathogene in *Dermacentor reticulatus*

Die Feststellung der Prävalenz von Krankheitserregern in *Dermacentor reticulatus* unterschied sich von der Datenerhebung bei Zecken der Spezies *Ixodes ricinus* insofern, als dass für diese Untersuchungen nur das Sammelgebiet Michendorfer Heide betrachtet wurde. Nur dort wurden *Dermacentor-reticulatus*-Zecken in ausreichender Zahl gefunden, um statistisch relevante Daten zu erhalten. Außerdem konnten von *Dermacentor reticulatus* nur adulte Tiere untersucht werden, da von dieser Zeckenart keine Larven und Nymphen in der Vegetation nach einem geeigneten Wirt suchen. Generell war bei der Belastung mit Pathogenen kein Zusammenhang mit dem Zeckengeschlecht auszumachen. Beide Geschlechter waren etwa in gleichem Maß mit den Krankheitserregern infiziert. Das Pathogen mit der höchsten Prävalenz in *Dermacentor reticulatus* waren Bakterien der Gattung *Rickettsia*. Die niedrigste Prävalenz zeigten die Anaplasmen. Borrelien und Babesien lagen dazwischen. Im Vergleich zwischen den Jahren zeigte sich für Rickettsien kaum eine Schwankung der Prävalenz. Die Zahl der Anaplasmen-positiven Zecken verdoppelte sich von 2008/2009. Die Anzahl positiver Zecken für Borrelien-DNA verzehnte sich sogar von 2008 auf 2009. Im Vergleich zu *Ixodes-ricinus*-Zecken ist vor allem die höhere Belastung mit Rickettsien auffällig. Auch Babesien zeigten eine deutlich höhere Prävalenz in der Spezies *Dermacentor reticulatus* als bei *I. ricinus*. Die Prävalenz für *Anaplasma* lag bei *D. reticulatus* höher. Dagegen scheint die Prävalenz von Borrelien in *Dermacentor reticulatus* niedriger zu sein (Tab. C.11).

Abb. C.7: Prävalenz der untersuchten Pathogene in den unterschiedlichen Entwicklungsstadien der Ixodes ricinus-Zecken.

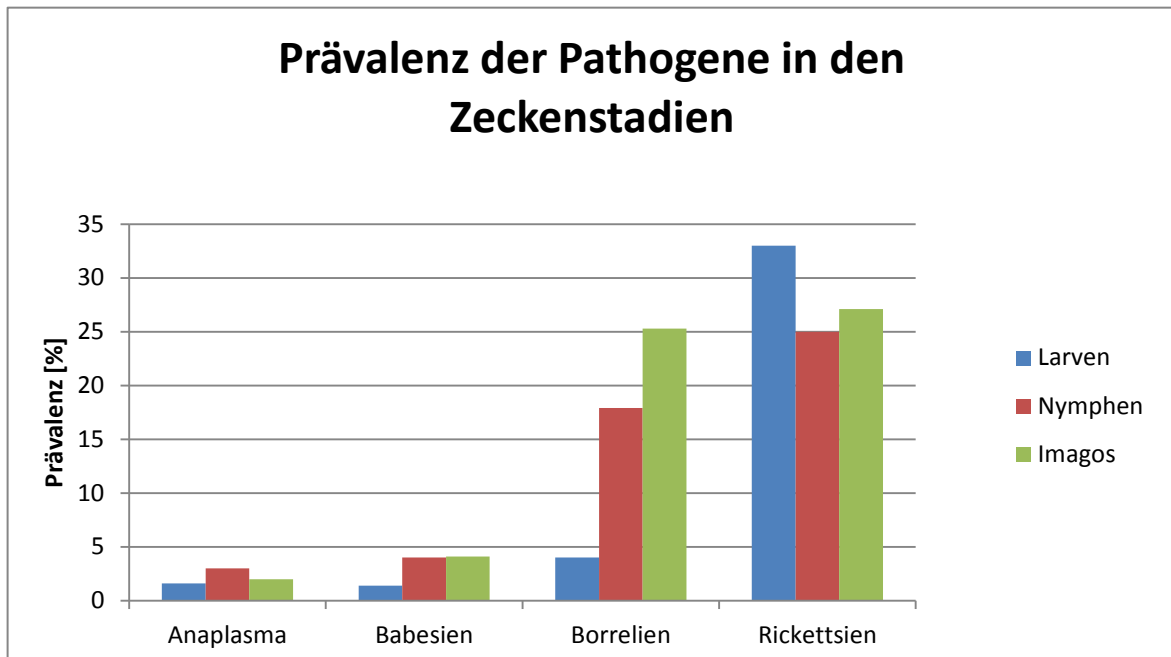


Abb.C.8: Prävalenz der unterschiedlichen Pathogene im Jahresverlauf in in Nymphen von Ixodes ricinus

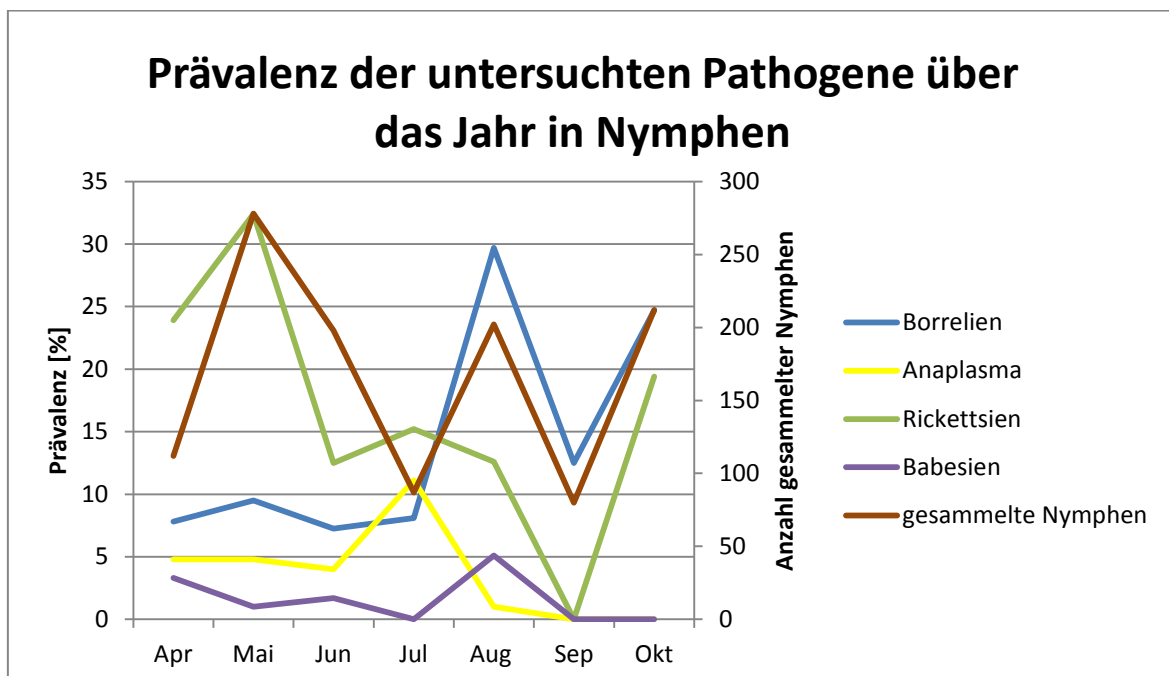




Abb. C.9: Geschlechtsspezifische Unterschiede in der Prävalenz der untersuchten Pathogene in adulten *I. ricinus*-Zecken

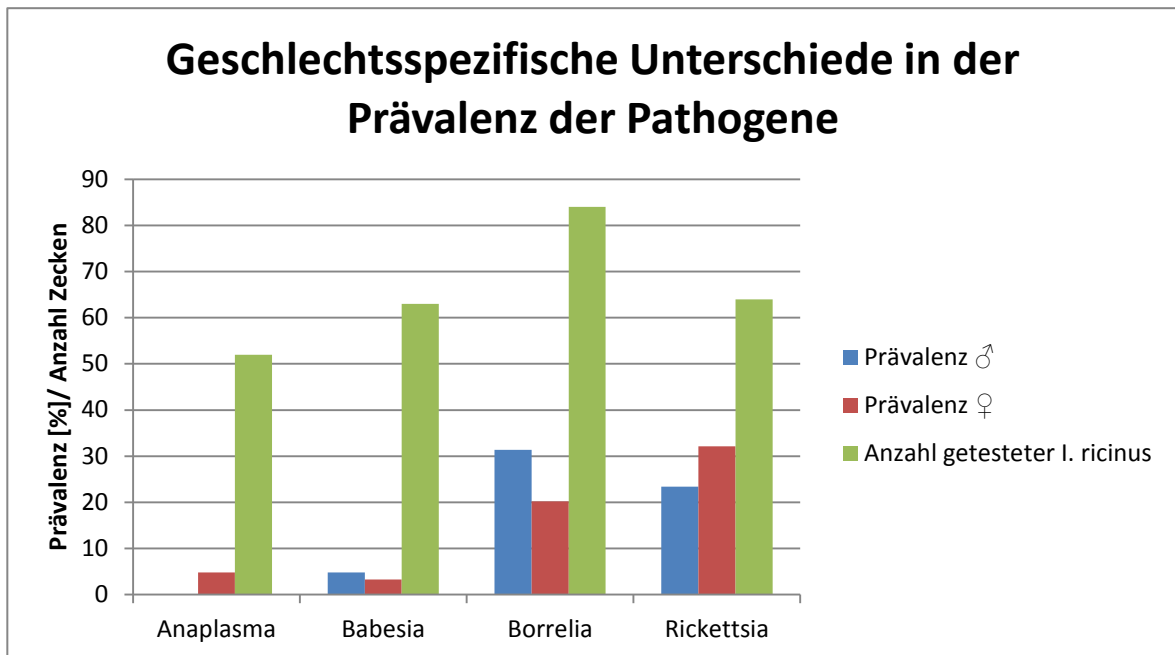
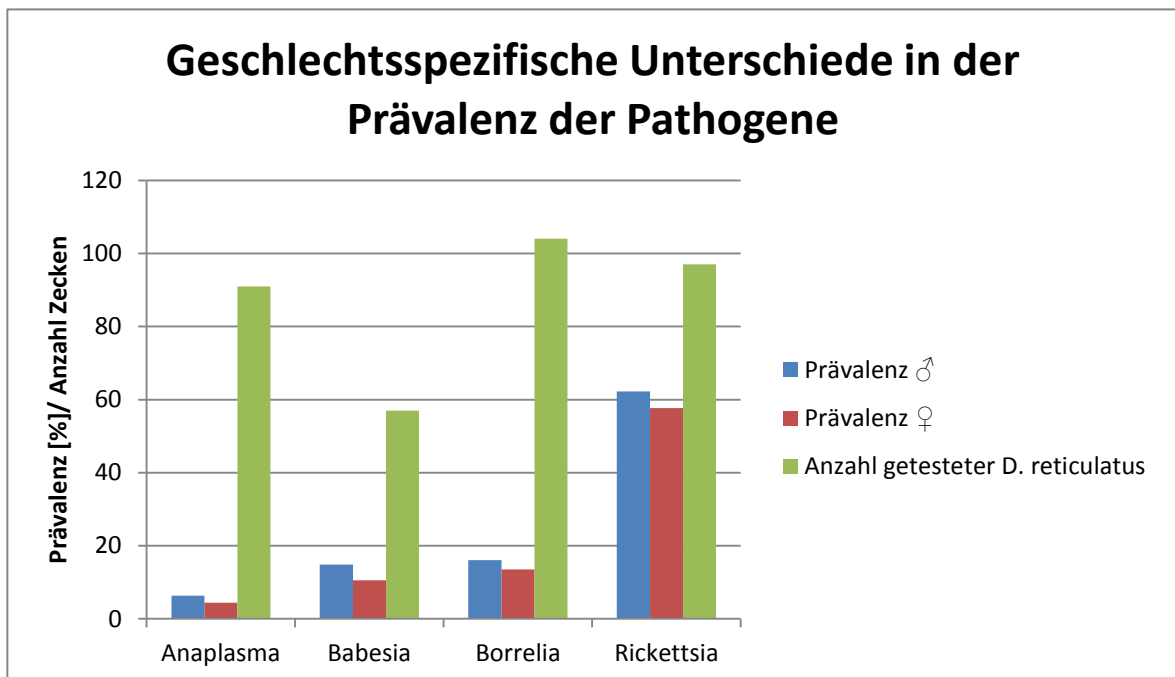


Abb. C.10: Geschlechtsspezifische Unterschiede in der Prävalenz der untersuchten Pathogen in *D. reticulatus*



Tab. C.10: Vorkommen von durch Zecken-übertragenen Pathogenen in *Dermacentor reticulatus* Imagos, die 2008-2010 in der Michendorfer Heide gesammelt wurden. Die Gesamtzahl gesammelter *Dermacentor-reticulatus*-Zecken war 2008/2009 143 (82 ♀ und 61 ♂). 2010 wurden 104 (54 ♀ und 50 ♂) Zecken gesammelt. Jeweils 100 von ihnen wurden mit PCR auf die unterschiedlichen Pathogene untersucht.

| Pathogen          | Anzahl positiver Zecken<br>2008/2009 | Anzahl positiver Zecken<br>2010 | Gesamtprävalenz |
|-------------------|--------------------------------------|---------------------------------|-----------------|
| <i>Anaplasma</i>  | 3                                    | 6                               | <b>4,50%</b>    |
| <i>Borrelia</i>   | 2                                    | 27                              | <b>14,50%</b>   |
| <i>Rickettsia</i> | 59                                   | 61                              | <b>60%</b>      |
| <i>Babesia</i>    | 14                                   | 3                               | <b>8,50%</b>    |

#### C.4.4 Gefundene Koinfektionen in *I. ricinus*

Tab. C.11: Gefundene Koinfektionen: Anzahl der gefundenen Zecken mit den jeweils genannten Kombinationen von Pathogenen

| Pathogenkombination                          | Anzahl gefundener<br>Zecken |
|--|-----------------------------|
| <i>Borrelia-Anaplasma</i>                    | 3                           |
| <i>Borrelia-Rickettsia</i>                   | 31                          |
| <i>Borrelia-Babesia</i>                      | 4                           |
| <i>Anaplasma-Rickettsia</i>                  | 3                           |
| <i>Anaplasma-Babesia</i>                     | 0                           |
| <i>Rickettsia -Babesia</i>                   | 8                           |
| <i>Borrelia-Anaplasma-Babesia-Rickettsia</i> | 0                           |
| <i>Borrelia-Anaplasma-Rickettsia</i>         | 1                           |
| <i>Borrelia-Anaplasma-Babesia</i>            | 1                           |

Tab. C.12: Prävalenz der untersuchten Pathogene in Abhängigkeit von der Sammelmethode bei allen getesteten *I. ricinus*.

| Pathogen          | Prävalenz Flaggung<br>[%] | Prävalenz<br>Dragging [%] |
|-------------------|---------------------------|---------------------------|
| <i>Anaplasma</i>  | 2,2                       | 3,5                       |
| <i>Babesia</i>    | 3,3                       | 3,2                       |
| <i>Borrelia</i>   | 15,6                      | 16                        |
| <i>Rickettsia</i> | 22,6                      | 30,7                      |

### C.4.5 Gefundene Koinfektionen in *Dermacentor reticulatus*

Tab. C.13: In *Dermacentor reticulatus* gefundene Koinfektionen

| Pathogenkombination  | Anzahl gefundener Zecken |
|--|--------------------------|
| <i>Borrelia burgdorferi</i><br><i>Anaplasma phagocytophilum</i>  | 3                        |
| <i>Borrelia burgdorferi</i><br><i>Rickettsia</i> spp.  | 15                       |
| <i>Borrelia burgdorferi</i><br><i>Babesia</i> spp.   | 1                        |
| <i>Anaplasma phagocytophilum</i><br><i>Rickettsia</i> spp.   | 2                        |
| <i>Anaplasma phagocytophilum</i><br><i>Babesia</i> spp.  | 1                        |
| <i>Rickettsia</i> spp.<br><i>Babesia</i> spp.  | 8                        |
| <i>Borrelia burgdorferi</i><br><i>Anaplasma phagocytophilum</i><br><i>Babesia</i> spp.<br><i>Rickettsia</i> spp. | 1                        |
| <i>Borrelia burgdorferi</i><br><i>Anaplasma phagocytophilum</i><br><i>Rickettsia</i> spp.                        | 0                        |
| <i>Borrelia burgdorferi</i><br><i>Anaplasma phagocytophilum</i><br><i>Babesia</i> spp.                           | 1                        |

## C.5 Phylogenetische Einordnung der gefundenen Pathogene

Zur Bestätigung der durch die Verwendung des rapidStripe *Borrelia* Stripe Assay erhaltenen Ergebnisse wurde eine nested PCR durchgeführt (Richter et al. 2012). Dadurch konnten einerseits die Ergebnisse des Kits bestätigt werden und andererseits konnte das erhaltene Amplikon zur Bestimmung der Genotypen sequenziert werden. Ziel der verwendeten PCR war ein Fragment der DNA, das die 16S rRNA codiert. Der Vorteil dieser Methode war, dass mit diesem Genabschnitt klassischerweise die Bakterienart definiert wird (Madigan et al. 2012 [erschieden 2011], S. 362–366). Um die Ergebnisse zu validieren, wurde zusätzlich zur Analyse mit dem Blast-Algorithmus eine phylogenetische

Analyse durchgeführt. Ähnlich wurde bei der Bestimmung der Rickettsienspezies vorgegangen. Die Rickettsienspezies wurde auf der Basis der Sequenz des Gens, das für das „Outer-membran Protein B“ (*ompB*) codiert, durchgeführt. Wie von Raoult beschrieben, können auf der Basis der Sequenz dieses Gens alle hier zu erwartenden Rickettsien sowohl mit der maximum-likelihood als auch mit der neighbour-joining Methode gut differenziert werden (Roux und Raoult 2000).

### **C.5.1 Gefundene Genotypen von *Borrelia burgdorferi***

Für die Untersuchung der Genotypen der Borrelien wurden nur Proben aus dem Jahr 2010 benutzt. In diesem Jahr wurden 95 *Ixodes-ricinus*-Zecken und *D. reticulatus* positiv mit dem kommerziellen Kit von innuscreen auf Borrelien-DNA getestet. Alle positiv getesteten Proben wurden mit der PCR nach Richter untersucht. Bei 31 (33 %) Proben war die Qualität des Amplikons ausreichend, um es zu sequenzieren. Die gefundenen Sequenzen wurden mit bekannten Sequenzen mit dem ClustalW-Algorithmus „aligned“. Unter Verwendung der neighbour-joining Methode wurde ein phylogenetischer Stammbaum erstellt, bei dem die evolutionären Abstände mittels der Tamura-Nei Methode berechnet wurden (Abb. C.11). Die Muster der Infektionen von *D. reticulatus* und *Ixodes ricinus* unterschieden sich deutlich. Während für *D. reticulatus* nur Infektionen mit *Borrelia afzelii* nachgewiesen werden konnten, wurde in Zecken der Spezies *I. ricinus* die DNA von *Borrelia afzelii* und *Borrelia garinii* gefunden. Das galt unabhängig von den untersuchten Sammelgebieten.



Abb. C.11: Phylogenetische Einordnung der gefundenen Borrelienproben auf der Basis eines Nukleotidabschnitts, des Gens, das die 16S rRNA codiert. Der Stammbaum wurde mit MEGA5 erstellt. Er wurde unter Verwendung der neighbour-joining Methode hergeleitet. Die evolutionären Abstände wurden auf der Basis der Tamura-Nei Methode errechnet. Die Basis der Berechnung bildeten 495 Nukleotidpositionen. In die Berechnung des Stammbaums wurden 72 Nukleotidsequenzen eingeschlossen. Der Bootstrapping wurde mit 1000 Wiederholungen durchgeführt.



*Dermacentor reticulatus*: ●

*Ixodes ricinus* Nympe, Larve: ■

*Ixodes ricinus* Imago: □

Abb. C.12: Phylogenetische Einordnung der gefundenen Rickettsienproben auf der Basis eines Nukleotidabschnitts, des Gens, das das outer membran protein B codiert. Der Stammbaum wurde mit MEGA5 erstellt. Er wurde unter Verwendung der neighbour-joining Methode hergeleitet. Die evolutionären Abstände wurden auf der Basis der Tamura-Nei Methode errechnet. Die Basis der Berechnung bildeten 116 Nukleotidpositionen. In die Berechnung des Stammbaums wurden 122 Nukleotidsequenzen eingeschlossen.

### C.5.2 Gefundene Rickettsienarten

Ähnlich wie die auf Borrelien positiven DNA-Proben wurden auch die mit dem Kit von innuscreen auf Rickettsien positiv getesteten DNA-Proben mit einer unabhängigen PCR nachgetestet. Von den 2010 positiv auf Rickettsien getesteten 140 Proben konnte von 80 (57 %) ein Amplifikat erhalten werden, dessen Qualität zur Sequenzierung ausreichte. Entsprechend der Methode bei den Borrelien wurde auch hier ein phylogenetischer Stammbaum erstellt

### C.5.3 Gefundene Anaplasma-DNA

Das kommerzielle Kit von innuscreen war spezifisch für *Anaplasma phagocytophilum*. Deswegen wurde in dieser Studie davon ausgegangen, dass explizit *Anaplasma phagocytophilum* detektiert wurde. Aus diesem Grund wurden keine weiteren phylogenetischen Untersuchungen durchgeführt.

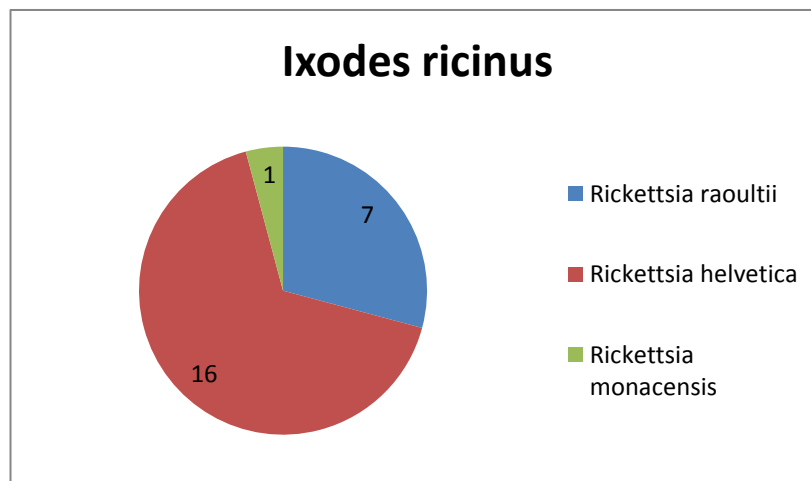


Abbildung C.13: Aufgrund der Sequenzierung eines Fragments des *ompB*-Gens in *I. ricinus* nachgewiesene Rickettsienarten.

### C.5.4 Vergleich der verwendeten kommerziellen Kits mit herkömmlichen PCR-Methoden

In dieser Arbeit wurden vier verschiedene Kits zum Nachweis Pathogen-spezifischer DNA aus Zecken isolierter DNA verwendet. Sie dienen zum Nachweis von Anaplasmen-, Babesien-, Borrelien und Rickettsien-spezifischer DNA. Mit dem ursprünglichen rapidStripe Anaplasma Stripe Assay wurde DNA aus 402 Zecken untersucht. Von diesen 402 wurden 80 (20 %) mit dem Kit positiv getestet. Das Kit wurde aufgrund dieses

Ergebnisses modifiziert und die Proben wurden erneut untersucht (Zur Erläuterung dieses Ergebnisses siehe D.3.1).

Im Verlauf dieser Arbeit wurden 45 Proben mit dem rapidStripe Babesia Stripe Assay positiv auf Erbmaterial von *Babesia* spp. getestet. Alle diese Proben wurden mit der von Casati veröffentlichten PCR (Casati et al. 2006) getestet. Mit dieser PCR wurde keine der Proben positiv getestet. Mit dem Borrelien-Kit „rapidStripe Borrelia Stripe Assay“ wurden 2010 114 Proben positiv getestet. Diese positiven Ergebnisse konnten mit der von Richter veröffentlichten PCR bestätigt werden (Richter et al. 2003). Bei 35 Proben war die Qualität des Amplifikat so gut, dass mittels Sequenzierung und Sequenzanalyse der Genotyp der Borrelien bestimmt werden konnte. Außerdem wurden 2010 mit dem Kit rapidStripe Rickettsia Assay 143 für Rickettsien positive DNA Proben gefunden werden. Das positive Ergebnis dieser Proben konnte mit der von Raoult veröffentlichten PCR (Roux und Raoult 2000) bestätigt werden. Die Qualität von 76 der positiven Proben war ausreichend, um mit Hilfe von Sequenzierung und Sequenzanalyse den positiven Proben eine Rickettsienart zuzuordnen.



## D. Diskussion

### D.1 Betrachtungen zu den Zeckenfundzahlen in dieser Arbeit

#### D.1.1 Zeckendichte nach Sammelgebiet

Das Ziel dieser Arbeit war es, die Quantität der Zecken in möglichst repräsentativ ausgewählten Sammelgebieten im Raum Berlin zu bestimmen. Durch die Sammlung von Zecken über den Zeitraum von zwei Jahren in verschiedenen Sammelgebieten wurde ein Überblick über die Zeckendichte in diesen Gebieten erlangt. Allein auf der Basis der Zahl gesammelter Zecken kann man vermuten, dass es Unterschiede in den einzelnen Gebieten gibt. Wenn man die über den ganzen Zeitraum untersuchten Gebiete betrachtet, weist der Bucher Forst die höchste Anzahl gesammelter Zecken auf. Dieses stimmt mit der Beobachtung überein, dass die Anzahl der gesammelten Zecken pro Sammelaktion im Bucher Forst signifikant höher war, als der Durchschnitt der untersuchten Gebiete. Eine signifikante Abweichung vom Durchschnitt der pro Sammelaktion gesammelter Zecken ist – wenn auch trivial – in die andere Richtung für die beiden innerstädtischen Sammelgebiete Rehberge und Hasenheide festgestellt worden. Bei den anderen Sammelgebieten wurden auch Unterschiede in der Anzahl der gefundenen Zecken festgestellt. Diese konnten aber nicht signifikant vom Durchschnitt der gesammelten Zecken unterschieden werden. Vergleiche dazu Tab. C.3. und Abb. C.2.

Verglichen mit anderen Gebieten Deutschlands zeigt der Bucher Forst im Hinblick auf *I. ricinus* eine sehr hohe Zeckendichte (Tab. C.4). Das gilt für 2008/2009 und 2010. Eine hohe Zeckendichte zeigt die Michendorfer Heide. Dabei ist aber zu berücksichtigen, dass die Klassifizierung der Zeckenhäufigkeit ausschließlich auf der Basis von *I. ricinus* zustande gekommen ist. Bezieht man *D. reticulatus* ein, müsste man dieses Gebiet sicher der Kategorie „sehr hohe Zeckenhäufigkeit“ zuordnen. Eine hohe Zeckenhäufigkeit zeigte auch das Sammelgebiet Marzahn. Bei diesem Sammelgebiet ist wichtig, dass die Einordnung in die Kategorie nur auf der Basis des Jahres 2010 beruht und deswegen ungenauer als die Einordnung der Gebiete ist, die schon 2008 und 2009 beobachtet wurden. Die Sammelgebiete Frohnau, Wannsee und Teufelssee zeigen eine mittlere Zeckenaktivität. Die Sammelgebiete Rehberge, Hasenheide, Spandau fallen in die

Kategorie „sehr niedrige Zeckenhäufigkeit“ (Schwarz et al. 2009). Obwohl die Zeckenaktivität in den einzelnen Sammelgebieten deutlich unterschiedlich waren, konnte zwischen den Sammelgebieten kein bedeutender Unterschied in den Temperatur- und Luftfeuchtigkeitsverhältnissen festgestellt werden. Deswegen spricht einiges dafür, dass die Unterschiede in der Zeckenaktivität auf die unterschiedliche Verfügbarkeit der Wirtstiere (Léger et al. 2012) und der vorgefundenen Vegetation zurückzuführen ist (Schwarz et al. 2009). Diese Faktoren könnten auch für die Stadienzusammensetzung der einzelnen Zeckenpopulationen verantwortlich sein. Aus den gefundenen Daten spricht einiges dafür, dass man Zecken als Indikator für die Gefährdung durch die von ihnen übertragenen Krankheiten benutzen kann. Einerseits gibt es deutliche Unterschiede zwischen den Sammelgebieten, sodass die einzelnen Sammelgebiete ein unterschiedliches Gefahrenpotential aufweisen. Diese Unterschiede blieben außerdem über den betrachteten Zeitraum weitestgehend konstant. Andererseits kann man aus der Untersuchung der einzelnen Sammelgebiete keinen Schluss für ganz Berlin ziehen. Diese Problematik verstärkt sich noch, wenn man die beobachtete Zeckendichte in Bezug auf die einzelnen Sammelpunkte betrachtet. Siehe D.1.2 Zeckendichte nach Sammelpunkten.

### **D.1.2 Zeckendichte nach Sammelpunkten**

Auffällig war, dass das Vorkommen der Zecken sehr stark in den drei ausgewählten Sammelpunkten der einzelnen Sammelgebiete schwankte (Abb. C.2).

Würde man nur einen Sammelpunkt pro Sammelgebiet betrachten, würde man die einzelnen Sammelgebiete anders einordnen. Unter Umständen könnte man sogar das Vorkommen einer Zeckenart in einem Sammelgebiet übersehen, wie das Beispiel Michendorfer Heide zeigte. Im Fall des Sammelgebietes Michendorfer Heide hätte man, wenn man die Feuerschneise (Grasfläche) als Sammelpunkt nicht berücksichtigen würde, das große Vorkommen von *D. reticulatus* unter Umständen nicht nachweisen können. Hätte man am Wannsee nur den Sammelpunkt „Restaurant“ (Wald) untersucht, wäre das gesamte Gebiet der Kategorie „sehr hohes Zeckenvorkommen“ zuzuordnen gewesen. Diese Befunde zeigen, wie wichtig die sorgfältige Auswahl der Sammelgebiete ist, da sich die Zeckenpopulation an Orten, die nur wenige hundert Meter voneinander entfernt sind, sehr stark unterscheiden könne.

Diese Unterschiede innerhalb geographisch eng beieinanderliegender Plätze zeigte sich schon in vorherigen Untersuchungen (Dobson et al. 2011), (Wielinga et al. 2006), (Tijssen-Klasen et al. 2010), (Schwarz et al. 2009), (Knap et al. 2009) (Kalsbeek 1996). Die einzelnen Sammelpunkte innerhalb der Sammelgebiete zeigten auch charakteristische Zusammensetzungen der vorkommenden Zeckenstadien (Abb. C.6). Die einzelnen Zeckenstadien zeigen eine unterschiedliche Toleranz gegenüber Trockenheit und eine unterschiedliche Präferenz bei den Temperaturen (Hillyard 1996, S. 47). Deswegen finden sich in der Laubstreu des Waldes mehr Larven als auf dem Weg und auf der von allen Seiten beschienenen Grasfläche. Die Präferenz der einzelnen Zeckenstadien für unterschiedliche Habitate und die unterschiedliche Belastung der einzelnen Habitate mit Zecken aller Stadien ist bekannt, bemerkenswert ist aber, dass diese Unterschiede z. B. im Bucher Forst oder in Frohnau auf weniger als einem Quadratkilometer so groß sind, dass die Gebiete bei Einzelbetrachtung der Sammelpunkte in der Klassifizierung des Risikos, sich mit durch Zecken übertragenen Krankheiten zu infizieren, in unterschiedliche Risikokategorien eingeordnet werden müssten. Entscheidend für eine verlässliche Aussage über das Zeckenvorkommen in einem Sammelgebiet ist das Auswählen geeigneter Sammelpunkte. Im Allgemeinen werden nach Randolph bei der Untersuchung der Zeckenpopulationen eines Gebietes Flächen von 100 m<sup>2</sup> untersucht. Nach den Ergebnissen dieser Arbeit birgt dieses Vorgehen eine Unsicherheit, da 900 m von dieser Fläche entfernt völlig andere Verhältnisse herrschen können.

### D.1.3 Aktivitätsmuster nach Jahreszeit

Auch in dieser Studie konnte das typische schon beschriebene (Dobson et al. 2011b), (Randolph), (Knap et al. 2009), (Schwarz et al. 2009), (Reye et al. 2010), (Kalsbeek und Frandsen 1996) bimodale Aktivitätsmuster beobachtet werden. Demzufolge gab es einen Höhepunkt der Zeckenaktivität im Frühjahr (ungefähr März bis Juni) und einen im Herbst (ungefähr August bis Oktober). Dieses Muster unterschied sich aber zwischen den beiden Zeckenarten *I. ricinus* und *D. reticulatus*. Die Aktivität von *D. reticulatus* setzte deutlich früher im Jahr ein, als die Aktivität von *I. ricinus*. Gleichzeitig zeigte *D. reticulatus* am Ende des Jahres eine deutlich längere und höhere Aktivität als *I. ricinus*. Dieser Unterschied ist durch die unterschiedlichen Anforderungen an die abiotischen Faktoren wie Temperatur und Luftfeuchtigkeit der Zecken zu erklären (Abb. C.3,

Abb. C.4). Da das Auftreten von *D. reticulatus* in so großer Zahl ein relativ neues Phänomen ist (Dautel et al. 2006), ist für die Zukunft ein Einfluss auf die Population von *I. ricinus* und der durch Zecken-übertragenen Pathogene zu erwarten (Léger et al. 2012). Die Unterschiede der saisonalen Aktivität zwischen den einzelnen Sammelgebieten war nicht so groß. Vergleiche Abb. C.3 und

Abb. C.4. In den beiden Abbildungen kann man eine Parallelität bei der Aktivität von *I. ricinus* erkennen. Auffällig ist, dass im Oktober 2010 die Zeckenaktivität im Bucher Forst schon beendet war, in der Michendorfer Heide dagegen einen Hochpunkt erreichte. Im Bucher Forst war zu dem Zeitpunkt der Sammelort „Wiese“ vollkommen überschwemmt und der Rest der Sammelorte von Wasserpfützen übersät. In diesem Fall haben andere abiotische Faktoren als Temperatur und Luftfeuchtigkeit eine Rolle gespielt. Offensichtlich wurde durch die unterschiedliche Niederschlagsverteilung innerhalb Berlins eine Verfälschung des Ergebnisses verursacht.

#### **D.1.4 Einfluss der Fangmethode**

Das in anderen Studien gefundene Mengenverhältnis der Adulten, Nymphen und Larven lag bei ungefähr 1:10:100 (Dobson et al. 2011a), (Barandika et al. 2010). In dieser Untersuchung wurde insgesamt in Verhältnis von 1:6:3 gefunden. Die Sammelmethode hatten offensichtlich einen Einfluss auf die vorwiegend gesammelten Zeckenstadien. Das zeigt sich an den unterschiedlichen Verhältnissen der Zeckenstadien, die jeweils mit den einzelnen Methoden gesammelt wurden. Das Verhältnis beim Flagging lag bei 1:5:2 und beim Dragging bei 1:7:6. Tack stellt die Theorie auf, dass bei einem dichten Bodenbewuchs der Schlitten beim Dragging nicht die Bodenschicht erreichen kann und deswegen mit dieser Methode die sich im Bodentreu aufhaltenden Larven schlechter erreicht und gesammelt werden, als die sich in höheren Schichten aufhaltenden Nymphen und Imagos (Tack et al. 2011). Ähnlich argumentiert Gray (Gray 1985). Außerdem repräsentieren für ihn die relativ kurzen Sammelzeiten nicht die wirklichen Verhältnisse, und die Wetterbedingungen verursachen einen großen Bias bei der Durchführung von Dragging und Flagging. Der generell geringere Anteil der Larven kann auch mit lokal eng begrenztem Vorkommen der Larven erklärt werden. Weil die Larven nicht homogen in einem Sammelgebiet verteilt sind, wird im Fall eines Larvenfundes generell sehr große Zahl von Larven gesammelt. Aber für das Finden von Larven war es grundsätzlich nötig mit dem Sammelgerät genau eine solche Stelle mit hohem Larvenvorkommen zu

untersuchen. Das sorgfältige Absuchen der Tücher dauerte außerdem teils Stunden, aber nichtsdestoweniger war es nicht möglich, alle Larven von den Tüchern abzulesen, weil nach Einbruch der Dunkelheit diese kaum noch zu erkennen waren. Hinzu kam, dass mit den verwendeten Fanggeräten bevorzugt Nymphen und adulte Zecken gesammelt wurden, was mit der Aufenthaltshöhe der einzelnen Stadien zusammenhängen könnte, da mit dem Dragging die sehr bodennahen Schichten untersucht wurden, das Flagging aber auch die höher gelegene Strauchschicht erreichte. Larven traten darüber hinaus hauptsächlich im Juni und Ende August auf. Zu diesem Zeitpunkt wurden sehr große Zahlen gefangen, die auf den Tüchern gut auffielen. In anderen Monaten wurden nur vereinzelt Larven gefangen. Trotz größter Anstrengung ist es verständlich, dass einzelne Larven übersehen werden können. Nymphen halten sich in mittlerer Höhe in der Vegetation auf, so dass der Großteil der Nymphen mit der Flagging-Methode gefangen wurde. Die adulten Zecken wurden ebenfalls hauptsächlich mit der Flagging-Methode gesammelt (58,9 %). Larven halten sich insbesondere die erste Zeit nach dem Schlüpfen sehr nah am Boden auf. Demnach wurde der Hauptteil der Larven (73,8 %) mit der Dragging-Methode gesammelt. Im Zusammenhang mit den Fangmethoden war ein weiterer wichtiger Aspekt, dass 73,8 % der *D.-reticulatus*-Zecken mit der Flagging Methode gesammelt wurde. In den Sammelgebieten Marzahn, Teufelssee und Wannsee wäre in dieser Studie ohne das Suchen mit beiden Methoden kein Vorkommen von *D. reticulatus* nachgewiesen worden. Das bedeutete einen starken möglichen Bias im Hinblick auf die gefundenen Arten. Eine weitere wichtige Schlussfolgerung aus dieser Arbeit ist somit, dass in Studien zum Vorkommen von Zecken die Auswahl der Sammelmethode das Ergebnis stark beeinflussen kann und die Fangmethode entsprechend der gewünschten Aussage sorgfältig ausgewählt werden muss. 78,7 % der gefundenen *D.-reticulatus*-Zecken wurden mit der Flagging-Methode gesammelt. Die beiden Methoden wurden parallel durchgeführt, so dass keine Verfälschung der Ergebnisse zu erwarten ist. Wenn man Studien zur Zeckenpopulation durchführt, muss man immer prüfen, ob man auch die bestmögliche Sammelmethode benutzt.

### **D.1.5 Quantität gefundener Arten**

Ein weiteres Ziel der Studie war es, das Artenspektrum der Zecken in den untersuchten Gebieten zu bestimmen. Auch hier zeigten sich Unterschiede innerhalb der untersuchten Gebiete. In allen untersuchten Gebieten mit Ausnahme der Sammelgebiete Rehberge und

Hasenheide konnte das Vorkommen von *I. ricinus* aller Entwicklungsstufen nachgewiesen werden. *D. reticulatus* konnte ebenfalls in fast allen Sammelgebieten nachgewiesen werden. Das größte Vorkommen dieser Zeckenart befand sich im am südlichsten gelegenen Sammelgebiet Michendorfer Heide. In diesem Sammelgebiet war *D. reticulatus* die vorherrschende Zeckenart. Die Gesamtzahl der gesammelten Exemplare überstieg die Zahl gesammelter *I. ricinus*. In relativer räumlicher Nähe im Sammelgebiet Wannsee wurde die zweitgrößte Zahl *D. reticulatus* gefangen. Ansonsten wurde keine nennenswerte Anzahl von *D. reticulatus* gefunden. Aber das Vorkommen dieser Zeckenart wurde mit dem Sammeln einzelner Exemplare in den Sammelgebieten Teufelssee und Marzahn nachgewiesen. Während die Anzahl *D.-reticulatus*-Zecken am Teufelssee tatsächlich gering erschien, weil in der gesamten Projektzeit über mehrere Jahre nur ein Exemplar dieser Art gefunden wurde, ist die Lage in Marzahn unklarer, da hier nur über ein Jahr gesammelt wurde und eventuell nicht die aktivste Zeit dieser Zecken getroffen wurde, sodass die *D.-reticulatus*-Dichte dort niedriger erscheinen könnte, als sie tatsächlich ist. In den nördlichsten Sammelgebieten Bucher Fost und Frohnau wurden keine *D. reticulatus* gefunden. Die Zeckenart *Haemaphysalis concinna* wurde von uns und unseren Kooperationspartnern an drei verschiedenen Sammelstellen in der Nähe von Brieskow-Finkenheerd in ca. 98 Kilometer Entfernung von Berlin gefunden. Insgesamt wurden von dieser Zeckenart mehr als 1000 Individuen aller Entwicklungsstufen zusammengetragen. Die vorherrschenden Entwicklungsstufen waren Larven und Nymphen. Die große Anzahl der gefundenen *Haemaphysalis concinna* und das Vorkommen von Larven und Nymphen zeigt, dass die Zeckenart nicht nur sporadisch vorkam, sondern dass sich offensichtlich eine Population etabliert hat, die in der Lage ist eigenständig zu existieren. Dieses hat möglicherweise Einfluss auf die schon bestehende Zeckenpopulation und die durch die verschiedenen Zeckenarten übertragenen Pathogene (Léger et al. 2012). Da *Haemaphysalis concinna* vor allem im mesophilen Schlehengebüsch (*Carpino betuli-Prunion spinosae*) und im Pappelwald (*Populo tremulae-Quercetum petraeae*) gefunden wurde, sollte bei Vorhandensein dieser Pflanzengesellschaften die Möglichkeit des Vorkommens dieser Zeckenart in Betracht gezogen werden. Weitere Untersuchungen sind notwendig, die Verbreitung dieser Zeckenart genauer zu charakterisieren.

## D.1.6 Risikoabschätzung anhand der Zahl gesammelter Zecken und ihrer Stadien

Die Anzahl Zecken, die unter gleichen Bedingungen in einem Gebiet gesammelt werden, kann als Maß benutzt werden, das Risiko abzuschätzen, in einem Gebiet von einer Zecke gestochen zu werden und sich mit einer durch Zecken übertragenen Krankheit zu infizieren. Viele Autoren benutzen diese Methode, um ein System zu entwickeln, Gebiete im Hinblick auf die Gefährdung durch von Zecken übertragene Krankheiten zu klassifizieren (Schulze et al. 1991), (Capelli et al. 2012), (Zeman 1998).

Damit ein Naturherd des FSME-Virus entsteht, ist eine Charakteristik im Vorkommen der Zecken wichtig. Larven und Nymphen müssen im Frühjahr synchron aktiv sein (s. u.). Andere Pathogene verbreiten sich jedoch auch, wenn diese Korrelation nicht vorliegt. Im Fall der Borreliose ist eine Korrelation zwischen der Anzahl gefundener Borrelien-tragender Nymphen und der Inzidenz der Lyme-Borreliose beim Menschen gefunden worden (Beytout et al. 2007), (Giardina et al. 2000), (Hubálek et al. 2003), (Stafford et al. 1998). Es ist wahrscheinlich, dass diese Korrelation auch für andere durch Zecken übertragene Pathogene gilt, da Nymphen wegen ihrer relativ geringen Größe und ihrer Potenz alle hier angesprochenen Erreger zu übertragen, als Zeckenstadium gilt, das beim Menschen am häufigsten an der Übertragung von Krankheitserregern beteiligt ist. Wegen ihrer geringen Größe fallen sie beim Saugakt nicht sehr auf und im Gegensatz zu den Larven haben sie die Möglichkeit, an fast allen Körperstellen zu stechen. Die erste Voraussetzung für die Übertragung einer durch Zecken übertragenen Krankheit ist das Vorkommen einer großen Zahl von Zecken (Nymphen). Wie aus Tab. C.4 zu entnehmen ist, gibt es im Berliner Raum in natürlichen Biotopen, also keiner Parkanlage, bis auf Spandau mindestens eine mittlere Zeckenhäufigkeit. Die Parkanlagen Hasenheide und Rehberge unterliegen einer gärtnerischen Pflege, sodass z. B. das Gras immer kurz und das Vorkommen potenzieller Wirte wie Mäuse oder Ratten gering gehalten werden. In einigen Sammelgebieten gibt es sogar eine hohe oder sehr hohe Zeckenhäufigkeit, wobei man immer beachten muss, dass es lokal sehr hohe Zeckenhäufigkeiten geben kann, die durch die jeweiligen ökologischen Faktoren hervorgerufen werden.

### **D.1.7 Eine Infektion mit dem FSME- Virus in Berlin ist unwahrscheinlich**

Bei der Beurteilung des Risikos sich mit einer durch Zecken übertragenen Krankheit zu infizieren muss man berücksichtigen, dass es eine Beziehung zwischen der Art des Pathogen und der Risikoabschätzung gibt. Die Übertragung des Pathogen auf nachfolgende Generationen der Zecken beeinflusst das Risiko. Ein Beispiel hierfür ist das FSME-Virus, dessen Verbreitung drastisch abnimmt, wenn Nymphen und Larven nicht gleichzeitig im Frühling auftreten (s. u.).

Für die unterschiedliche Verteilung der Infektionen in Deutschland mit dem FSME-Virus liefert das Konzept des Naturherdes eine Erklärung. Definitionsgemäß ist der Naturherd ein Gebiet, in dem FSME-Viren zwischen infizierten, vorwiegend kleinen Säugern und Zecken zirkulieren. Dazu sind bestimmte botanische, zoologische und ökologische Bedingungen Voraussetzung (Satz 2006, S. 72–89); (Korenberg 1976), (Korenberg und Kovalevskii 1999).

Für die Aufrechterhaltung eines Naturherdes scheint es mehrere Bedingungen zu geben. Den größten Einfluss hat wahrscheinlich die Weitergabe des FSME-Virus von älteren auf jüngere Zeckengenerationen. Die Weitergabe erfolgt in der Regel von Nymphen oder adulten Tieren auf die Larven. Dafür gibt es prinzipiell drei Wege. Bei der systemischen Weitergabe wird ein Wirtstier von einer infizierten Zecke mit dem Virus infiziert. Im Verlauf der Infektion bildet sich eine Virämie aus. Saugt eine weitere Zecke während dieser Virämie an dem infizierten Tier Blut, kann so das Virus auf die Zecke übertragen werden. Ein zweiter Weg zur Weitergabe des Virus an eine jüngere Zeckengeneration findet ohne systemische Infektion des Wirbeltiers statt. Beim sogenannten Cofeeding werden die Viren von einer infizierten Zecke in den von ihr erzeugten feeding-pool abgegeben. Die Viren werden von den Langerhans'schen dendritischen Zellen aufgenommen und zu den lokalen Lymphknoten transportiert. Dort werden sie während der Antigenpräsentation auf kutane T-Lymphozyten übertragen. Sobald eine andere Zecke in lokaler Nähe saugt, wird der infizierte T-Lymphozyt von ihr aufgenommen und die Zecke ist infiziert. Eine transovarielle Übertragung des Virus ist ebenfalls möglich, aber findet selten statt. Von allen drei Übertragungsmöglichkeiten ist das Cofeeding die effektivste, weswegen angenommen wird, dass ein Naturherd sich nur ausprägen und aktiv sein kann, wenn die Möglichkeit des Cofeedings besteht. Dieses Cofeeding findet aber nur



statt, wenn (infizierte) Nymphen gleichzeitig mit der folgenden Larvengeneration aktiv auf Wirtssuche sind. Im gesamten Gebiet Berlin scheint es aber so, dass der große Teil der Larven etwa einen Monat – im Juni - nach den Nymphen – im Mai- aktiv ist (Abb. C.5).

Dieses Modell könnte eine Erklärung dafür geben, warum Naturherde, die jahrelang nicht durch FSME-Fälle auffielen, wieder aktiv werden. Das Virus zirkuliert auch bei ungünstigen Verhältnissen für das Cofeeding durch die systemische und transovariable Übertragung weiter, ohne aber hohe Fallzahlen zu verursachen, da die Viruslast hierfür zu gering ist. Treten aber günstigere Verhältnisse für das Cofeeding ein, kann der Naturherd wieder in Erscheinung treten.

## D.2 Pathogenbelastung der Zecken

Ähnlich wie von der Anzahl (s. o.) der vorgefundenen Zecken (Nymphen) hängt das individuelle Risiko, sich mit einer durch Zecken übertragenen Krankheit zu infizieren, von der Prävalenz des jeweiligen Pathogens in den Zecken ab (Randolph 2009). Die Prävalenz hängt wie oben erläutert von dem Übertragungsweg des Pathogens auf die nächste Zeckengeneration ab.

### D.2.1 Unterschiede der Prävalenz bei den untersuchten Pathogenen

#### *B. burgdorferi*

Die Möglichkeit sich mit *B. burgdorferi* zu infizieren ist aufgrund der hohen Prävalenz dieses Pathogens in ganz Berlin hoch. Nach dieser Untersuchung besteht wenigstens die Möglichkeit, sich auch durch einen Stich von *D. reticulatus* anzustecken. Eine ausgeprägte geschlechtsspezifische Prävalenz dieses Pathogens bestand weder bei *I. ricinus* noch bei *D. reticulatus*. Da bei beiden Zeckenarten das männliche Geschlecht eine höhere Prävalenz aufwies, ist eine Tendenz zu erkennen. Diese Tendenz müsste aber durch höhere Zahlen untersuchter Zecken belegt werden. Eine Korrelation der Prävalenz mit der Sammelmethode bestand nicht. Diese Möglichkeit hätte bestanden, wenn man aufgrund der Infizierung einer Zecke mit Borrelien eine Verhaltensänderung erwartet. Da aber bei der Sammlung von Zecken in der Natur keine idealisierten Bedingungen wie im Labor

vorliegen, kommen noch eine große Anzahl andere Faktoren wie zum Beispiel der Bewuchs der Sammelfläche in Frage, die das Verhalten ändern könnten. Im jahreszeitlichen Verlauf zeigt die Prävalenz von Borrelien in Nymphen zwei Gipfel im Frühjahr und im Herbst (Abb.C.8) Dieser Verlauf ist weitgehend parallel zu der Höhe der Zeckenzahlen und lässt sich eventuell durch die höhere Zahl kompetenter Wirte zu dieser Zeit und die statistisch höhere Wahrscheinlichkeit an infizierten Wirten zu saugen erklären. Zusätzlich ist die Chance höher, beim sogenannten „Cofeeding“ auf andere Zecken zu treffen, die das Pathogen in sich tragen.

### *Rickettsia* spp.

Die Pathogene zeigen teils große Unterschiede in der Prävalenz. Wenn man die Unterschiede zwischen den Pathogenen betrachtet, sind die Rickettsien die Pathogene mit der höchsten Prävalenz. Das gilt sowohl für *I. ricinus* als auch für *D. reticulatus*. Bei diesen Zeckenarten gibt es jedoch deutliche Unterschiede bei den Rickettsienarten (s. u.). Trotz der hohen Belastung der Zecken mit Rickettsien spielen die durch sie hervorgerufenen Krankheiten in Berlin und Deutschland kaum eine Rolle. Betrachtet man die Anzahl der Borreliosefälle pro Jahr (Müller et al. 2012), muss man von einer großen Zahl von Zeckenstichen in Deutschland ausgehen, bei denen auch Rickettsien auf die gestochenen Personen übertragen werden. Ein Teil dieser Rickettsieninfektionen verläuft wahrscheinlich inapparent, aber bei der großen Zahl von Zeckenstichen ist es wahrscheinlich, dass auch schwere Verläufe von Rickettsiosen vorkommen, die nicht erkannt werden oder durch eine empirische Antibiotikatherapie ohne Diagnose behandelt und geheilt werden. 2009 wurde ein erster Fall in Deutschland erworbener Tick-borne lymphadenopathy (TIBOLA) diagnostiziert (Rieg et al. 2011). Obwohl bei diesem Fall nicht ganz klar war, welche Rickettsienart durch welche Zeckenart übertragen wurde, sind solche Fälle auch in Berlin möglich. *D. reticulatus* ist wegen der hohen Prävalenz dieses Pathogens in dieser Zeckenart ein potentiell wichtiger Überträger von *R. raoultii*. Dieses Bakterium kann ebenfalls TIBOLA auslösen (Parola et al. 2009). Darüber hinaus haben wir *R. raoultii* auch in *I. ricinus* nachgewiesen. Das bedeutet, dass *Rickettsia raoultii* potenziell auch von *Ixodes ricinus* übertragen werden kann. Die Situation wird durch eine schwere Erkrankung einer Patientin an einer Mittelmeerfleckfieber-ähnlichen Erkrankung in Polen verschärft, da diese Patientin wahrscheinlich mit *Rickettsia raoultii* infiziert war (Switaj et al. 2012). Geschlechtsspezifische Unterschiede in der Prävalenz von Rickettsien sind aus dieser Arbeit nicht abzuleiten. Zwar zeigt die Prävalenz der Rickettsien in *I. ricinus*

eine leicht höhere Prävalenz in Weibchen (Abb.C.9). Bei *D. reticulatus* stellt sich der Sachverhalt aber genau umgekehrt dar (Abb.C.10) Zusätzlich ist der Unterschied jeweils gering. Ein signifikanter Zusammenhang zwischen Sammelmethode und Prävalenz des Pathogens liegt auch bei Rickettsien nicht vor. Im jahreszeitlichen Verlauf der Prävalenz (Abb.C.8) scheinen ähnliche Verhältnisse wie bei Borrelien vorzuliegen. Es liegen innerhalb des Jahres zwei Gipfel vor. Im Mai und im Juli. Die Gründe hierfür könnten ähnlich wie bei den Borrelien sein Allerdings ist der zweite Gipfel der Höhe der Prävalenz schon im Juli, also einen Monat früher als der Gipfel für die Anzahl der gesammelten Zecken. Das deutet daraufhin, dass die Verhältnisse komplexer sind und die Entwicklung der Prävalenz nicht nur von dem einen Faktor Zeckendichte abhängt.

#### *Anaplasma phagocytophilum*

Die Chance sich mit *Anaplasma phagocytophilum* zu infizieren ist geringer als sich mit Borrelien oder Rickettsien zu infizieren, weil die Prävalenz dieses Pathogens in allen Gebieten am geringsten war. Dieses galt für beide Untersuchungszeiträume Wegen der geringen Anzahl positiver Zecken sind die weiteren Zahlen statistisch am wenigsten abgesichert. Trotzdem zeigte sich, dass es wohl keinen geschlechtsspezifischen Unterschied in der Höhe der Prävalenz gibt. Auch die Höhe der Prävalenz bei mit der „Flagging“ Methode gesammelten Zecken unterscheidet sich kaum von der Höhe der Prävalenz von Zecken, die mit der „Dragging“ Methode gesammelt wurden. Im jahreszeitlichen Verlauf der Prävalenz zeigt sich nur ein Maximum der Prävalenz im Juli. Der Verlauf der Höhe der Prävalenz über das Jahr unterscheidet sich also von den anderen Pathogenen. Eine mögliche Erklärung hierfür könnte die geringe Anzahl positiver Zecken sein.

#### *Babesia* spp.

Babesien zeigten eine relativ geringe Prävalenz in Zecken, Ein geschlechtsspezifischer Zusammenhang konnte in dieser Untersuchung nicht festgestellt werden. Die Entwicklung der Höhe der Prävalenz über das Jahr zeigte einen Gipfel im August zu dem Zeitpunkt wenn der zweite Gipfel bei der Anzahl gesammelter Zecken vorlag. Es muss aber bedacht werden, dass aufgrund der geringen Anzahl positiver Zecken ein großer Bias vorliegen kann.

## D.2.2 Quantität der Zecken und Prävalenz der Pathogene

Es wurde zwar bei den meisten Untersuchungen keine Korrelation zwischen der Gesamtzahl gefundener Zecken und der Inzidenz der Lyme-Borreliose beim Menschen gefunden, aber trotzdem ist es wichtig, die gesamte Zeckenpopulation zu untersuchen, da die Infektionsrate der Zecken für einige durch Zecken übertragene Krankheiten von den Entwicklungen in der Zeckenpopulation abhängen kann. So wird angenommen, dass eine große Zeckenpopulation die Übertragung der unterschiedlichen Pathogene zwischen den Zecken erleichtert. Das würde zu einer höheren Prävalenz des jeweiligen Pathogens in der Zeckenpopulation führen. Außerdem sind alle Stadien der Zecken an der Aufrechterhaltung des Vektor-Pathogen-Wirt-Kreislaufes beteiligt. Auch wenn die Rolle der Larven bei der Übertragung der Pathogene gering und umstritten ist, sollte man sie bei Untersuchungen nicht völlig vernachlässigen. Immerhin ist eine Übertragung der Lyme-Borreliose bei einem Larvenstich durch eine infizierte Larve wahrscheinlicher, als bei einer Nymphe oder einem adultem Tier (Hügli et al. 2009). In den von uns untersuchten Sammelgebieten zeigte das Sammelgebiet Bucher Forst die höchste Belastung mit Zecken aller Entwicklungsstufen. Eine hohe Belastung wies auch der Wannsee auf. Michendorf hatte eine niedrigere Belastung mit *Ixodes ricinus*, aber in diesem Gebiet trat neben *Ixodes ricinus* auch *Dermacentor reticulatus* in hohem Maß auf. Frohnau zeigte eine mittlere Belastung mit *Ixodes-ricinus*-Zecken. In den beiden Sammelgebieten im Zentrum von Berlin konnten keine Zecken nachgewiesen werden. Von den beiden 2010 hinzugekommenen Sammelgebieten zeigte Spandau nur eine sehr geringe Zeckenbelastung. Marzahn dagegen war hoch mit Zecken belastet. Stellt man die Erhebung der Gesamtzahl gesammelter Zecken zur Abschätzung des Risikos, sich mit Borreliose zu infizieren, der Erhebung der Anzahl infizierter Nymphen gegenüber, würden sich die Verhältnisse in Berlin ändern. Diese Daten wurden in dieser Arbeit nicht in der Form erhoben, weil nicht alle gesammelten Nymphen auf Borreliose untersucht werden konnten. Es wurde jeweils nur die Anzahl Nymphen pro Sammelgebiet untersucht, wie dem Prozentsatz der Nymphen an der Gesamtheit gesammelter Zecken in dem jeweiligen Sammelgebiet entsprachen. Aber an der Anzahl gesammelter Nymphen und der gefundenen Prävalenz für Borrelien kann man diesen Schlüsselrisikofaktor (The ecology of infectious disease: Effects of host diversity and community composition on Lyme disease risk) für das Risiko, sich mit Lyme-Borreliose zu infizieren, abschätzen.

### D.2.3 Charakteristika der Infektionsmuster der Zeckenstadien bei *I. ricinus*

Prinzipiell ist die Infektion der einzelnen Zeckenstadien auf unterschiedliche Weise möglich. Die transovarielle Infektion setzt voraus, dass die Pathogene die Eierstöcke der Zecken besiedeln und dabei die Entwicklung der Eier nicht so stark stören, dass die Eier zerstört werden. Daraus folgt, dass eine große Zahl der Larven positiv für das Pathogen ist. Dieses ist wahrscheinlich für Rickettsien der Fall. 33 % der getesteten Larven waren positiv für *Rickettsia* spp (Tab. C.7 und Tab. C.8). Nach der ersten Blutmahlzeit der Zecken macht die Zecke eine Metamorphose zur Nymphe durch, bei der ihre Organe und die Gewebe vollständig umgebaut werden. Dieses hat zur Folge, dass die Prävalenz zum nächsten Stadium abnimmt (Satz 2010, S. 107). Genau dieses Phänomen konnten wir in dieser Studie bei den Rickettsieninfektionen beobachten. Die Prävalenz von Nymphen für Rickettsien ist mit 25 % deutlich niedriger als die Prävalenz der Larven. Der erneute Anstieg bei den adulten Tieren kann mit den anderen Infektionswegen der Zecken erklärt werden. Auf die hohe Zahl der Rickettsien-infizierten Nymphen kommen noch die Infektionen hinzu, die durch systemische und nicht-systemische Übertragung hervorgerufen werden. Die Metamorphose von der Nymphe zum adulten Tier könnte auch weniger gravierende Umbauvorgänge beinhalten, als die Metamorphose von Larve zur Nymphe, und deswegen könnten bei dieser Metamorphose weniger Bakterien eliminiert werden, als bei der ersten Metamorphose. Das Bild der Prävalenz von Rickettsien in den verschiedenen Entwicklungsstufen zeigt, dass die transovarielle Übertragung für diesen Krankheitserreger wichtig ist, aber auch die systemische und nicht-systemische Übertragung eine Rolle spielen könnte. Für die Anaplasmen sieht das Bild anders aus. Für diesen Krankheitserreger spielt die transovarielle Übertragung kaum eine Rolle. Der Anteil der positiven Larven ist mit 2 % sehr gering. Er steigt für die Nymphen an und fällt dann wieder leicht für die adulten Tiere ab. Die Prävalenz von *Anaplasma phagocytophilum* ist in *I. ricinus* insgesamt gering, sodass man eine Übertragung dieses Krankheitserregers nur während einer Bakteriämie eines Wirtstieres annehmen könnte. Dieses ist ein relativ seltener und kurzer Zeitabschnitt im Infektionsverlauf eines Wirtstieres. Außerdem müssen zufällig während dieser Phase eine oder mehrere Zecken an dem Wirtstier Blut saugen. Dieses könnte eine Erklärung sein, warum die Prävalenz von *Anaplasma* so gering war. Es könnte aber auch ein Problem mit der Sensitivität der Nachweismethode eine Rolle spielen. Dagegen spricht aber, dass die Prävalenz zu den adulten Tieren wieder abfällt.

Wegen der Größe der adulten Tiere ist der Gehalt an Krankheitserregern in ihnen im Allgemeinen höher. Ähnliches wie für *Anaplasma* für die Übertragung der Krankheitserreger auf die Zecken gesagtes gilt für die Babesien. Wenngleich für die Babesien eine transovarielle Übertragung nicht nur experimentell bewiesen, sondern auch Voraussetzung für den Entwicklungszyklus ist, ist der Anteil der Babesien-positiven Larven sehr gering. Wahrscheinlich durch systemische und/oder nicht-systemische Übertragung steigt der Anteil bei den Nymphen an und bleibt bei den adulten Tieren konstant. Bei diesem Pathogen spielen alle drei Übertragungswege eine Rolle.

Dieses gilt auch für die Borrelien, wo ebenfalls eine transovarielle Übertragung stattfindet (Satz 2010, S. 115). Danach steigt die Prävalenz der Zecken mit dem Lebensalter der Zecken an, so dass schließlich bei den adulten Tieren die höchste Prävalenz vorliegt. Das ist durch die Möglichkeit bedingt, dass sich die Zecken bei den Saugakten sowohl durch systemische Übertragung, als auch durch nicht-systemische Infektion anstecken können.

## **D.2.4 Besonderheiten der gefundenen Pathogen**

### **D.2.4.1 *Dermacentor reticulatus* ist ausschließlich mit *Rickettsia raoultii* belastet**

Ein sehr großer Teil der *Dermacentor-reticulatus*-Zecken war mit Rickettsien belastet. Die Pathogenität der unterschiedlichen Rickettsienarten ist unterschiedlich. So verursacht *Rickettsia conorii* das Mittelmeerfleckfieber, das durchaus lebensbedrohlich sein kann. In dieser Studie wurde in *D. reticulatus* ausschließlich *Rickettsia raoultii* gefunden. Diese Rickettsienart verursacht wahrscheinlich weniger schwere Krankheitsbilder. Der Fund einer so großen Zahl belasteter Zecken sollte aber zu erhöhter Aufmerksamkeit führen, weil Symptome eventuell verursachter Krankheiten wenig bekannt sind.

### **D.2.4.2 *Rickettsia raoultii* wurde in Deutschland zum ersten Mal auch in *Ixodes ricinus* gefunden**

*R. raoultii* ist als Pathogen noch nicht lange bekannt. Es wurde beschrieben, dass *I. ricinus*-Zecken in Polen mit *R. raoultii* belastet waren. Für Deutschland war diese Möglichkeit bis jetzt unklar. In dieser Studie lag der Anteil der mit *Rickettsia raoultii* infizierten *I. ricinus* an den Rickettsien-positiven *I. ricinus* bei 10,6 %. Der Großteil dieser mit *R. raoultii* infizierten *I. ricinus* wurde in der Michendorfer Heide gefunden. Nur eine *I.*

*ricinus* Zecke aus dem Bucher Forst war mit *R. raoultii* belastet. *Rickettsia raoultii* kam in *I. ricinus* in dieser Arbeit also vornehmlich in einem Gebiet vor, in dem *I. ricinus* und *D. reticulatus* parallel vorkamen. Dieses könnte ein Hinweis sein, dass *R. raoultii* in Gebieten, in denen beide Zeckenarten vorkommen, vermehrt durch Cofeeding von *D. reticulatus* auf *I. ricinus* übertragen wird. Dieser Aspekt könnte auch deswegen an Relevanz gewinnen, da es Hinweise gibt, dass *Rickettsia raoultii* schwerere Krankheitsverläufe verursachen könnte, als bisher angenommen (Switaj et al. 2012).

Insgesamt wurden drei Arten Rickettsien in *I. ricinus* gefunden: *Rickettsia helvetica*, *Rickettsia raoultii* und *Rickettsia monacensis*. Letzterem sollte besonderes Augenmerk geschenkt werden, da *Rickettsia monacensis* Erreger einer mediterranen spotted fever like disease ist, die gefährlich ist und mit den herkömmlichen Tests zum Nachweis von mediterranem spotted fever nicht nachgewiesen werden kann. Aber auch bei den anderen Rickettsienarten ist das ausgelöste Krankheitsbild bei den behandelnden Ärzten im Allgemeinen nicht geläufig.

### **D.2.5 Es wurden Borrelien auch in *Dermacentor reticulatus* gefunden**

Wir haben in 14,5 % der *D.-reticulatus*-Zecken mit dem kommerziellen Kit DNA von Borrelien nachgewiesen. In 15 Zecken konnte dieses Ergebnis mit einer PCR bestätigt werden, die ein anderes Targetgen hat, als die PCR, die in dem kommerziellen Kit angewandt wird. Das Amplifikat konnte nachfolgend wie in der Literatur beschrieben sequenziert und der Genotyp der gefundenen Borrelien bestimmt werden (Richter et al. 2012). Bei *Dermacentor reticulatus* wurde von uns ausschließlich *Borrelia afzelii* gefunden. Da in den von uns untersuchten *I. ricinus* ein nicht unerheblicher Teil die DNA von *B. garinii* enthalten war, ist dieses ein weiteres Indiz dafür, dass keine Kontamination mit Fremd-DNA von *I. ricinus* vorlag, weil bei dieser Kontamination auch zu einem gewissen Prozentsatz mit DNA von *B. garinii* kontaminiert worden wäre. Vielmehr spricht dieser Befund dafür, dass die bevorzugten Wirtstiere der *Dermacentor*-Larven und -Nymphen kleine Wirbeltiere sind, in deren Bauten die ausschließlich endophil lebenden Larven und Nymphen zu finden sind. *Borrelia garinii* ist im Gegensatz dazu ein Genotyp von *Borrelia burgdorferi*, der vermehrt bei Vögeln zu finden ist. Dieses schließt eine Kontamination aus. Darüber hinaus wurden weitgehende Maßnahmen getroffen, um eine Kontamination zu verhindern. So fanden Extraktion der Proben und Durchführung der

PCR und der Nachweis des Amplifikats grundsätzlich in unterschiedlichen Räumen statt. Außerdem wurden gleichzeitig immer nur Zecken eines Sammelgebiets extrahiert. Dasselbe galt für Zecken einer Art. Es wurden also nie Zecken unterschiedlicher Arten gleichzeitig extrahiert, was etwa die Kontamination von aus *D. reticulatus* extrahierter DNA durch aus *I. ricinus* extrahierter DNA verhindern sollte.

## D.2.6 Unterschiede in der Pathogenlast unterschiedlicher Zeckenarten

In dieser Arbeit wurden die Zeckenarten *I. ricinus*, *D. reticulatus* und *Haemaphysalis concinna* untersucht. In *I. ricinus* und *D. reticulatus* konnten alle vier in der Arbeit berücksichtigten Pathogene nachgewiesen werden. In *Haemaphysalis concinna* konnte nur in einer Zecke Rickettsien-DNA mit dem kommerziellen Kit nachgewiesen werden. Leider konnte dieser Befund mit einer herkömmlichen PCR nicht bestätigt werden. Sicherlich hat der große Anteil Larven an der Probe eine Bedeutung bei diesem Befund, aber es scheint so, dass diese Zeckenart für Borrelien und Babesien nicht sehr kompetent ist. Dieses wird auch durch die Literatur bestätigt. Zu *Anaplasma* liegen so gut wie keine Daten vor. Ein weiterer Faktor, der die geringe Prävalenz von Pathogenen in dieser Zeckenart beeinflussen könnte, war der Zustand der Zecken. Ein großer Teil der Exemplare war zum Zeitpunkt der DNA Extrahierung tot oder in sehr schlechtem Zustand, weil die Zecken wochen- bis monatelang im Kühlschrank bei 4°C gelagert wurden. Diese Umstände könnten eine wichtige Ursache für die niedrige Prävalenz von Pathogenen in dieser Zeckenart gewesen sein.

In *D. reticulatus* wurden zwar alle vier gesuchten Pathogene nachgewiesen, aber es wurden deutlich weniger Borrelien in dieser Zeckenart als in *I. ricinus* gefunden und in den meisten Veröffentlichungen zu Untersuchungen zu diesem Thema wurden in *D. reticulatus* keine Borrelien gefunden. Die von uns in *D. reticulatus* gefundenen Borrelien waren vom Genotyp *Borrelia afzelii*, der humanpathogen ist. Dieser Befund steht im Gegensatz zu den Befunden von Matuschka (Richter et al. 2002). Die Prävalenz von *Anaplasma phagocytophilum* war in *D. reticulatus* mit 4,5 % niedrig, aber höher als in *I. ricinus* mit 1,7 %. Für dieses Pathogen scheint *D. reticulatus* die bessere Kompatibilität zu besitzen. Das gilt besonders auch für die Rickettsien, die in *Dermacentor* mehr als doppelt so häufig vorkommen, als in *I. ricinus*. Eine höhere Prävalenz zeigen auch die Babesien, die zwar „nur“ eine Prävalenz von 8,5 % in *Dermacentor* besaßen, aber damit auch weit über der



Prävalenz in den *I. ricinus* lagen. Insgesamt gesehen scheint *D. reticulatus* kein guter Vektor für die klassische durch Zecken übertragene Krankheit Borreliose zu sein, aber die Wichtigkeit dieser Zecke könnte durch ihre verstärkte Ausbreitung und der von ihnen übertragenen Krankheitserreger, die noch wenig bekannt sind, steigen. In dieser Arbeit konnte kein signifikanter geschlechtsspezifischer Unterschied bei der Pathogenbelastung für die Zeckenarten *D. reticulatus* und *I. ricinus* festgestellt werden (Abb. C.9 und Abb. C.10).

## **D.3 Gebrauch der verwendeten Kits zum Nachweis der Pathogene**

### **D.3.1 rapidStripe Anaplasma Stripe Assay**

Dieses Kit lieferte als Ergebnis bei den untersuchten Proben zunächst eine Prävalenz von 20 % positiver Zecken für diesen Krankheitserreger. Im Vergleich zu der ansonsten in Deutschland beobachteten Prävalenzrate von 1 bis 4,5 % (Franke et al. 2011), (Schicht et al. 2011), (Hartelt et al. 2004) erschien diese Rate sehr hoch. Aus diesem Grund wurde die Herstellerfirma kontaktiert. Dabei stellte sich heraus, dass das Nachweissystem der Lateral Flow Stripes eine Schwäche besitzt. Werden Primer und Sonde so konstruiert, dass die Sequenzen aneinandergrenzen, oder sogar überlappen, dann kommt es zwangsläufig in einem gewissen Prozentsatz zu Primer-Primer oder Primer-Sonde Wechselwirkungen. Das praktische Resultat war, dass die Streifen einen hohen Hintergrund zeigten, sodass man positive und negative Proben kaum unterscheiden konnte. In diesem Fall war es möglich, die Primer und die Sonde so zu verändern, dass keine Wechselwirkung mehr stattfand. Problematisch wird es, wenn die Sonde oder die Primer lang sein müssen, da in diesem Fall Matrixwechselwirkungen auftreten, was zwangsläufig immer zu einem hohen Hintergrund führt.

### **D.3.2 rapidStripe Babesia Stripe Assay**

Die von uns mit diesem Kit positiv getesteten Proben konnten nicht mit der herkömmlichen PCR von Casati (Casati et al. 2006) bestätigt werden. Wahrscheinlich lag das an der hohen Sensitivität des Kits, die durch die herkömmliche PCR nicht erreicht

wurde. Nichtsdestoweniger sollten weitere Untersuchungen folgen, um die gefundenen Ergebnisse in Bezug auf die Babesien zu evaluieren.

### **D.3.3 rapidStripe Borrelia Stripe Assay**

Die Ergebnisse konnten mit der von uns gewählten Referenz-PCR von Richter weitgehend bestätigt werden (Richter et al. 2003). Außerdem ähneln die gefundenen Prävalenzen in Berlin den bisher in Deutschland beobachteten Prävalenzen.

### **D.3.4 rapidStripe Rickettsia Stripe Assay**

Ähnlich wie für das Borrelien-Kit konnten die positiven Ergebnisse mit diesem Kit mit einer herkömmlichen PCR (Roux und Raoult 2000) weitgehend bestätigt werden.

## **D.4 Schlussfolgerungen aus der Studie in Bezug auf den Gebrauch von Zecken als Risikomarker**

### **D.4.1 Das Beobachten von Zeckenpopulationen ist wichtig**

Wie schon durch zahlreiche Veröffentlichungen belegt, besteht eine Korrelation zwischen der Anzahl Borrelien-positiver Nymphen und der Inzidenz der Borreliose bei Menschen. Auf dieser Korrelation basierend kann man das Risiko für einzelne Gebiete, sich mit Borreliose zu infizieren, abschätzen. Die Situation bei anderen Pathogenen ist anders und komplex, da nicht nur die Zeckendichte, sondern auch die Prävalenz des Pathogens und der Übertragungsweg von Zecke zu Zecke berücksichtigt werden muss. Aber bei der Untersuchung von Zecken fallen Besonderheiten im Hinblick auf das Pathogenspektrum eher auf, als wenn die Beobachtung durch erkrankte Menschen gemacht werden müssten. Gute Beispiele sind die humane granulocytäre Anaplasrose, die in den USA als „emerging disease“ gilt. Durch die Beobachtung von Zecken weiß man, dass uns diese Gefahr in Europa auch droht. Dasselbe gilt für die Babesiose. Durch das Aufspüren potenzieller Pathogene in Zecken können Vorbereitungen für das Auftreten von Krankheiten getroffen werden.

#### **D.4.2 Um ein Sammelgebiet beurteilen zu können, muss eine sehr große Fläche abgesucht werden**

Nach dem Konzept der Naturherde und den in dieser Untersuchung gefundenen Ergebnissen ist es so, dass die Größe der Zeckenpopulation auf kleinstem Raum stark variieren kann. Dasselbe gilt für die Prävalenz der unterschiedlichen Pathogene. Um verlässliche Aussagen machen zu können, muss man also große Gebiete und eine große Zahl von Zecken untersuchen. Das ist ein Nachteil beim Nachweis von Krankheitserregern direkt im Vektor.

#### **D.4.3 Krankheitsfälle von Menschen als Indikator sind problematisch**

In Berlin und den Neuen Bundesländern besteht eine Meldepflicht für Borreliose. Für das Jahr 2008 wurden von den Ärzten im Raum Berlin 109 Fälle von Neuinfektionen an die Gesundheitsämter (KH - AS - JBf) gemeldet. Gleichzeitig wurden ca. 3.700 Fälle von Borreliosebehandlungen von den Ärzten abgerechnet (Mehr Fälle von Borreliose in Berlin 2009). Trotz des Bewusstseins der Problematik von Sekundärdaten der Krankenkassen zeigen diese Daten eindrucksvoll, dass dieses System nicht effizient arbeitet und die Daten von gemeldeten Fällen durch Daten aus anderen Quellen ergänzt werden müssen. Ärzte können nur diagnostizieren, was sie kennen. Anaplasmosen, Babesiosen und Rickettsiosen sind weitgehend unbekannt und werden deswegen von den Ärzten erst spät in Betracht gezogen.

## Zusammenfassung

Durch Zecken übertragene Pathogene sind für verschiedene Krankheiten bei Menschen und dem Nutztierbestand verantwortlich. Gelegentlich hat eine Infektion mit durch Zecken übertragenen Krankheiten schwerwiegende gesundheitliche Folgen. Es ist deswegen für das Gesundheitssystem eines Landes wichtig, das Risikopotential von durch Zecken übertragenen Infektionen zu analysieren. Dieses erhöht die Aufmerksamkeit und ermöglicht das Einleiten von Kontrollmaßnahmen. In Deutschland beschränkt sich die Überwachung der von Zecken übertragenen Krankheiten im Regelfall auf die FSME, während andere Krankheitserreger vernachlässigt werden. Es sind nur lückenhafte Informationen über die Prävalenz des FSMEV in Zecken und die Verbreitung der verschiedenen Zeckenarten in Deutschland verfügbar. Hinzu kommt, dass bei Durchführung solcher Studien diese sich auf den südlichen und westlichen Teils Deutschlands fokussieren. Vergleichbar gibt es über die Verteilung verschiedener Zeckenspezies und den in ihnen vorkommenden Pathogenen im Bereich von Berlin wenige Informationen. In dieser Arbeit wurden Larven, Nymphen und ausgewachsene Zecken in neun repräsentativen Sammelgebieten im Bereich von Berlin in einem monatlichen Turnus über 28 Monate gesammelt. Von den Sammelaktionen waren lediglich Monate ausgenommen, in denen eine geschlossene Schneedecke eine Sammlung verhindert, oder die Temperaturen so deutlich unter 0 °C lagen, dass keine Zeckenaktivität zu erwarten war. Auf der Gesamtzahl der gesammelten Zecken basierend wurden die Bezirke Berlins, in denen die Sammlungen durchgeführt wurden, in Kategorien der Zeckenhäufigkeit eingeteilt. Zusätzlich wurde die aus den Zecken isolierte DNA auf das Vorkommen verschiedener durch Zecken übertragener Pathogene (*Borrelia burgdorferi* sensu lato, *Rickettsia* spp., *Babesia* spp., und *Anaplasma phagocytophilum*) untersucht. Dazu wurden neu für diesen Zweck entwickelte kommerzielle Kits verwendet. Die Ergebnisse wurden mit bereits veröffentlichten molekularbiologischen Methoden validiert. Das Ergebnis stellt nützliche Daten zur Abschätzung des Vorkommens von Zecken im Bereich von Berlin dar und bietet die Möglichkeit, das Risiko, sich mit durch Zecken übertragene Pathogene in Berlin zu infizieren, zu quantifizieren. Durch das Sammeln von Larven wurde eine Erklärungsmöglichkeit geliefert, warum Berlin nicht zu den Risikogebieten für FSME zählt. Durch den Nachweis von humanpathogenen Borrelien in *Dermacentor reticulatus* wurde der Verdacht erhärtet, dass auch *Dermacentor reticulatus* eine Infektionsquelle für Borrelien sein kann. Das Finden zahlreicher Rickettsienarten verdeutlicht, dass Erkrankungen, die durch diese Bakteriengattung hervorgerufen werden, in den Fokus der Aufmerksamkeit gerückt werden sollten. Zum ersten Mal wurde in Deutschland *Rickettsia raoultii* auch in *Ixodes ricinus* gefunden. Der Nachweis von Babesien und *Anaplasma*

*phagocytophilum* in Zecken belegt, dass im Berliner Raum mit bei Menschen auftretenden Babesiosen und Humaner Granulocytärer Anaplasiose gerechnet werden muss. Von *Haemaphysalis concinna* wurde in der Nähe von Brieskow-Finkenheerd eine stabile Population gefunden, wobei zu der Frage, ob diese Zeckenspezies Pathogene übertragen kann, weiterer Forschungsbedarf besteht.

## Summary

Tick-borne pathogens are responsible for several human and livestock diseases with occasionally severe consequences. Therefore, it is relevant for the public health system of a country to analyse the potential risk for tick-borne infections to increase the awareness and introduce control measures.

In Germany surveillance of tick-borne diseases is usually limited to tick-borne encephalitis (TBE) virus, while other important pathogens are omitted. Patchy information on TBE incidence and tick distribution in the country is available, with most of the studies focused on areas in the Southern and Western part of Germany. Likewise, little is known about the distribution of tick species and the harboured pathogens in the area of Berlin. In this study we collected larvae, nymphs and adult ticks in seven representative sampling sites around Berlin in a monthly planned routine over 28 months. Only month with snow cover or sub-zero temperatures when no tick activity was expected were excluded. Based on the total number of collected ticks the different boroughs where ticks were collected were attributed to classes of tick densities followed by the additional analysis of the presence of different tick-borne pathogens (*Borrelia burgdorferi* sensu lato, *Rickettsia* spp., *Babesia* spp., and *Anaplasma phagocytophilum*) in the collected ticks, using new commercially available assays for this purpose. The results of these investigations were validated with investigations done with conventional molecularbiological methods. The results presented provide valuable data for the estimation of the presence of ticks and the risk of infection by tick-borne pathogens in the Berlin area. By broadening the collection to the larval stage, it was possible to find a possible explanation why Berlin does not belong to TBE risk areas. The detection of borrelia pathogenic for humans in *D. reticulatus* supports the idea that *D. reticulatus* could be a source of borrelia infections in humans. The detection of a lot of rickettsia species illustrates that diseases caused by rickettsia should be taken into account and physicians should display increased alertness to these diseases. To our knowledge this is the first time *Rickettsia raoultii* has been revealed in *I. ricinus* in Germany. The confirmation of *Babesia* and *Anaplasma phagocytophilum* in ticks collected around Berlin demonstrates that the appearance of babesiosis and human granulocytic anaplasmosis in this area has to be also considered. In the area of Brieskow-Finkenheerd *Haemaphysalis concinna* appeared as an established population with a high number of ticks of all stages. To identify the possible transmission of human pathogens by *Haemaphysalis concinna* further investigations are needed.

## Lebenslauf

Der Lebenslauf ist in der Online-Version

aus Gründen des Datenschutzes nicht  
enthalten

---



## Abkürzungsverzeichnis

|              |   |
|--------------|---|
| Abb.         | Abbildung   |
| aqua bidest. | destilliertes Wasser  |
| aqua mol.    | molekularbiologisches Wasser  |
| BLAST        | Basic Local Alignment Search Tools  |
| BSK II       | Barbour-Stoenner-Kelly-II-Medium  |
| Bp           | Basenpaare  |
| bzw.         | beziehungsweise   |
| Da           | Dalton  |
| DANN         | Desoxyribonukleinsäure  |
| engl.        | englisch  |
| dNTP         | Desoxynukleosidtriphosphat  |
| ELISA        | enzyme linked immunoabsorbent assay (engl. für enzymgekoppelter Immunadsorptionstest) |
| et al.       | et alii (lat. und andere)   |
| FSME         | Frühsommer-Meningoencephalitis  |
| FSMEV        | Frühsommer-Meningoencephalitis-Virus  |
| FUB          | Freie Universität Berlin  |
| G            | Gramm   |
| °C           | Grad Celsius  |
| HUB          | Humboldt Universität Berlin   |
| I            | Imago   |
| IFT          | Immunfluoreszenztest  |
| IgG          | Immunoglobulin G  |
| IgM          | Immunoglobulin M  |
| L            | Liter   |
| lat.         | lateinisch  |
| M            | molar   |
| M            | Meter   |
| M            | milli-  |
| N°           | Anzahl  |
| N            | Nymphe  |
| NCBI         | National Centers for Biotechnology Information  |
| Omp          | Outer membrane protein (engl. für Äußeres Membranprotein)                             |

|            |   |
|------------|---|
| RKI        | Robert Koch-Institut  |
| RNA        | Ribonukleinsäure  |
| rRNA       | ribosomale Ribonukleinsäure   |
| RT-PCR     | Reverse Transcription<br>Polymerase Chain Reaction                                  |
| Tab.       | Tabelle   |
| <i>Taq</i> | <i>Thermus aquaticus</i>  |
| TIBOLA     | tick-borne lymphadenopathy<br>(engl.: durch Zecken verursachte<br>Lymphadenopathie) |
| v. Chr.    | vor Christus  |
| ZNS        | Zentrales Nervensystem  |

## Publikationen und Konferenzen

### Publikationen:

- Kiffner Christian, Vor Torsten, Hagedorn Peter, Niedrig Matthias, Rühle Ferdinand (2012): Determinants of tick-borne encephalitis virus antibody presence in roe deer (*Capreolus capreolus*) sera. In: *Med. Vet. Entomol.* 26 (1), S 18-25.
- Donoso-Mantke, Oliver, Domingo Cristina, Radonic Alexandar, Hagedorn Peter, Achazi Katharina, and Niedrig Matthias (2011): Tick-borne Encephalitis virus S. 271-282, In: *Molecular Detection of Human Viral Pathogens*. Boca Raton FL: Taylor & Francis Group; CRC Press.
- Kiffner, Christian; Vor, Torsten; Hagedorn, Peter; Niedrig, Matthias; Rühle, Ferdinand (2011): Factors affecting patterns of tick parasitism on forest rodents in tick-borne encephalitis risk areas, Germany. In: *Parasitol. Res.* 108 (2), S. 323–335.
- Kiffner, Christian; Zucchini, Walter; Schomaker, Philipp; Vor, Torsten; Hagedorn, Peter; Niedrig, Matthias; Rühle, Ferdinand (2010): Determinants of tick-borne encephalitis in counties of southern Germany, 2001-2008. In: *Int. J. Health. Geogr.* 9, S. 42.
- Vor, Torsten; Kiffner, Christian; Hagedorn, Peter; Niedrig, Matthias; Rühle, Ferdinand (2010): Tick burden on European roe deer (*Capreolus capreolus*). In: *Exp. Appl. Acarol.* 51 (4), S. 405–417.
- Müller, Daniel; Hagedorn, Peter; Brast, Sabine; Heusipp, Gerhard; Bielaszewska, Martina; Friedrich, Alexander W. et al. (2006): Rapid identification and differentiation of clinical isolates of enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC), atypical EPEC, and Shiga toxin-producing *Escherichia coli* by a one-step multiplex PCR method. In: *J. Clin. Microbiol.* 44 (7), S. 2626–2629.

### Konferenzen und Posterpräsentationen:

- “Tick-Borne Diseases”, Friedrich-Loeffler-Institut, National Reference Laboratory for Q-Fever in co-operation with the National Research Platform for Zoonoses (Berlin, 21.-22.6.2012)
- “International Jena Symposium on Tick-born diseases 2009”, Friedrich-Loeffler-Institut und Friedrich-Schiller Universität Jena (Weimar, 19.-21. März 2009)

- “International Jena Symposium on Tick-borne diseases 2011”, Friedrich-Loeffler-Institut und Friedrich-Schiller Universität Jena (Weimar 24.-26. März 2011)
- „Eden international conference 2010”, EDEN [Integrated Project of the 6th FP (2004-2009) funded by the European Commission under the Research DG, Environment Directorate, priority 6.3: Global Change and Ecosystems Contract number: GOCE-CT-2003-010284 EDEN] (Montpellier 10.-12. Mai 2010)
- “National Symposium on Zoonoses Research 2010”, National Research Platform for Zoonoses (Berlin 7.-8.-Oktober 2010)

## E. Anhang

### E.1 Genaue Pflanzensoziologie der Sammelgebiete

#### E.1.1 Bucher Forst

Sammelstelle 1 „Wald“: Für die erste Sammelstelle im Bucher Forst wurde eine Eichenforstgesellschaft ausgewählt, die mit mehr als 30 % Buche durchsetzt war. Nach dem Umweltatlas Berlin fand man dort mittel bis ziemlich arm nährstoffversorgte Böden. Bei den vorkommenden Eichen handelte es sich um Stiel- und Traubeneiche (*Quercus robur* bzw. *Quercus petraea*).

Die Strauchschicht wurde zu 60 % aus Eberesche (*Sorbus aucuparia*) und 40 % Hainbuchensträuchen (*Carpinus betulus*) gebildet.

In der Krautschicht fand man Vertreter der *Anemone-nemorosa*-Gruppe wie Buschwindröschen (*Anemone nemorosa*), Große Sternmiere (*Stellaria holostea*), Flattergras (*Milium effusum*) oder Hain-Rispengras (*Poa nemoralis*), was auf einen frischen, schwach sauren Boden schließen ließ (Hofmeister 1997).

Sammelstelle 2 „Wiese“: Bei der Sammelstelle 2 handelte es sich um eine nährstoffreiche Feuchtwiese verarmter Ausprägung. Vorherrschende Grasart war die Waldbinse (*Scirpus sylvaticus*), die Bestandteil der Mädesüß- (*Filipendula ulmaria*)-Gruppe ist. Weitere in der Vegetationsaufnahme erfasste Pflanzen dieser Gruppe waren das Mädesüß (*Filipendula ulmaria*), das Gemeine Rispengras (*Poa trivialis*) und der Kriechende Hahnenfuß (*Ranunculus repens*).



Abb. E.1: Die Sammelstellen im Sammelgebiet Bucher Forst. A: Sammelstelle Wald, B: Sammelstelle Wiese, C: Sammelstelle Waldweg

Sammelstelle 3 „Waldweg“: Bei der Sammelstelle 3 „Waldweg“ im Bucher Forst handelte es sich um einen Waldweg in einem Kiefernforst mit mehreren Laubholzarten in etwa

gleichen Anteilen. Nach dem Umweltatlas Berlin handelte es sich um einen Spättraubenkirschen-Kiefernforst. Die vorherrschende Baum- bzw. Strauchart waren die Späte Traubenkirsche (*Prunus serotina*) und die Waldkiefer (*Pinus sylvestris*). Auf dem Waldweg fand sich keine ausgeprägte Krautschicht.

### E.1.2 Frohnau

Sammelstelle 1 „Wald“: Bei der Sammelstelle 1 in Frohnau handelte es sich nach der Biotopklassifizierung des Umweltatlas Berlin um einen Eichenforst mit Stiel- und Traubeneiche (*Quercus robur* bzw. *Quercus petraea*). In der Strauchschicht kamen zahlreiche Traubenkirschen (*Prunus padus*) vor.

Sammelstelle 2 „Mauerweg“: Bei der Sammelstelle 2 handelte es sich um den Mauerweg. Er ist in einen Eichenforst eingebettet. Eine Besonderheit der Sammelstelle waren die künstlich angelegten humusfreien Sandflächen mit Silbergrasfluren (*Corynephorion canescentis*).

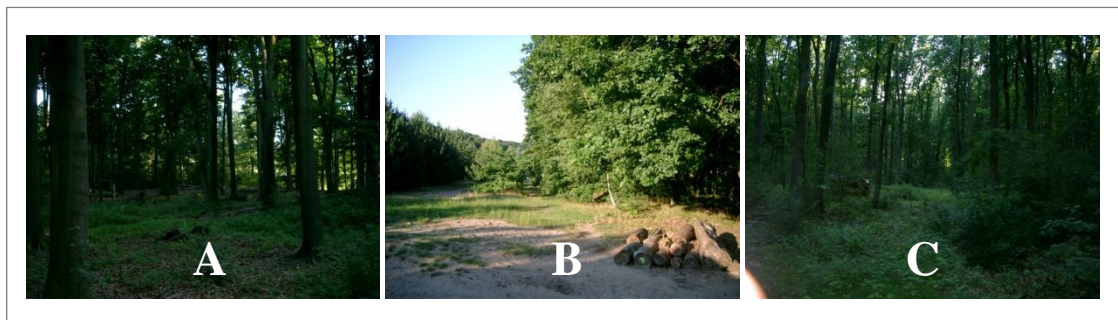


Abb. E.2: Die Sammelstellen im Sammelgebiet Frohnau. A: Sammelstelle Wald, B: Sammelstelle Feuerschneise, C: Sammelstelle Waldweg

Sammelstelle 3 „Waldweg“: Der Waldweg lag in einem Kiefernforst mit Eiche (10-30 %), Stiel- und Traubeneichen (*Quercus petraea* bzw. *Quercus pedunculata*). In der Strauchschicht herrschten Heidelbeeren (*Vaccinium myrtillus*) und Eberesche (*Sorbus aucuparia*) vor. Die Kraut- und Bodenschicht wurde neben der Heidelbeere (*Vaccinium myrtillus*) durch vereinzelt Grünstengelmoos (*Scleropodium purum*), Besen-Gabelzahnmoos (*Dicranum scoparium*) und Zypressen-Schlafmoos (*Hypnum cupressiforme*) gebildet. Diese Moose sind charakteristisch für die Heidelbeeren- (*Vaccinium myrtillus*)-Gruppe. Die Gruppe ist auf sauren, mittel- bis ziemlich arm nährstoffversorgtem Boden zu finden.

### E.1.3 Rehberge

Die Rehberge waren ein Beispiel einer Parkanlage mit alten mehrschichtigen Gehölzbeständen mit heimischen und nicht heimischen Baumarten sowie gärtnerisch gestaltete Freiflächen.

Sammelstelle 1 „Kastanienbäume“: Zum Zeitpunkt des Sammelns 2008-2009 war Sammelstelle 1 „Kastanienbäume“ eine sehr lichte Stelle unter mehreren Rosskastanienbäumen (*Aesculus hippocastanum*, 70 %), die mit einer alten und mehreren jungen Trauben-Eichen (*Quercus petraea*, 20 %) durchsetzt waren. Zusätzlich kamen noch Hainbuchenbäume (*Carpinus betulus*, 10 %) vor. Die Strauchschicht wurde durch niedrige Hainbuchen (*Carpinus betulus*) gebildet. Die Krautschicht bestand aus Flattergras (*Milium effusum*), Weißem Straußgras (*Agrostis stolonifera*), Wiesen-Löwenzahn (*Taraxacum officinale*) und Spitzwegerich (*Plantago lanceolata*). Vereinzelt kam Pfennigkraut (*Lysimachia nummularia*) vor.

Sammelstelle 2 „Weg“: Die Sammelstelle verlief parallel zu einer Hainbuchenhecke (*Carpinus betulus*). Eine Strauchschicht war nicht vorhanden. Die Krautschicht entsprach der der Sammelstelle 1. Zusätzlich befand sich neben dem Weg eine Stelle von etwa 10x5 m, die zahlreich mit Weg-Disteln (*Carduus acanthoides*) bewachsen war, so dass man von einer wärmeliebenden Eseldistel-Gesellschaft (Verband *Onopordion acanthii*) sprechen konnte, zumal auch verstreut die Hundezunge (*Cynoglossum officinale*) gefunden wurde.

Sammelstelle 3 „Liegewiese“: Auf der Liegewiese kamen vereinzelte Bäume, nämlich Trauben-Eichen (*Quercus petraea*), Eschen (*Fraxinus excelsior*), Rot-Buchen (*Fagus sylvatica*) und Europäische Lärchen (*Larix decidua*) vor. Eine Strauch- und Krautschicht war nicht vorhanden, da die Fläche gemäß ihrem Zweck häufig und sehr kurz gemäht wurde.



Abb. E.3: Die Sammelstellen im Sammelgebiet Rehberge. A: Liegewiese, B: Sammelstelle Kastanienbäume. Auf Bild B ist der Weg zu sehen, der im weiteren Verlauf in die Sammelstelle Weg übergeht.



### E.1.4 Hasenheide

Ähnlich wie bei den Rehbergen handelte es sich bei der Hasenheide um eine gärtnerisch gestaltete Parkanlage mit Rasen- und Baumbestandsflächen.

Sammelstelle 1 „Hundeauslaufplatz“: Bei dieser Sammelstelle handelte es sich um einen Hundeauslaufplatz der hauptsächlich mit einjährigem Rispengras (*Poa annua*) bewachsen war. Bei Regenwetter staute sich das Wasser regelmäßig unter den Bäumen und bildete eine kleine Wasserfläche. Die Baumschicht wurde hauptsächlich aus Eichen (*Quercus robur*) gebildet. Drei alte ca. 150 Jahre und fünf junge ca. 80 Jahre alte Bäume bildeten einen lockeren Verband. Dazwischen standen ein etwa 100 Jahre alter Bergahorn (*Acer pseudoplatanus*) und eine junge Buche (ca. 20 Jahre), die man schon der Strauchschicht zuordnen könnte. In dieser kamen außerdem drei Sträucher Schwarzer Holunder (*Sambucus nigra*), mehrere Sträucher Gewöhnliche Schneebeere (*Symphoricarpos albus*) und weißem Hartriegel (*Cornus alba*) vor. Die Krautschicht wurde hauptsächlich aus einjährigem Rispengras (*Poa annua*), Breit-Wegerich (*Plantago major*) und Vogel-Knöterich (*Polygonum aviculare*) gebildet. Großer Brennnessel (*Urtica dioica*) und Purpurrote Taubnessel (*Lamium purpureum*) waren vor allem in der durch die Sträucher gebildeten Umrandung des Hundeauslaufplatzes zu finden. Im zentralen Bereich lag eine Tritt-Gesellschaft (*Plantaginetea majoris*) vor.

Sammelstelle 2 „Liegewiese 1“: Bei dieser Sammelstelle handelt es sich um eine Liegewiese, die ausschließlich mit einer sehr kurz gehaltenen Kulturrasensmischung bewachsen war. Vereinzelt wurde die Rasenfläche von Bäumen unterbrochen. Bei den Bäumen handelte es sich um Stiel-Eichen (*Quercus robur*), Schwarz- Erlen (*Alnus glutinosa*) und Eschen (*Fraxinus excelsior*). Die Liegewiese wurde wöchentlich gemäht. Die Wiese wurde von einem Gürtel aus Sträuchern (Schwarzer Holunder (*Sambucus nigra*), Gewöhnliche Schneebeere (*Symphoricarpos albus*), Eberesche (*Sorbus acuparia*) und weißem Hartriegel (*Cornus alba*)) umgeben, in dem auch zahlreiche Große Brennnesseln (*Urtica dioica*) wuchsen.



Abb. E.4: Die Sammelstellen im Sammelgebiet Hasenheide. A: Sammelstelle Hundeauslaufplatz, B: Sammelstelle Liegewiese 1, C: Sammelstelle Liegewiese 2 In diesem Sammelgebiet konnte keine mit einem Waldweg vergleichbare Sammelstelle gefunden werden, weswegen auf zwei verschiedenen Liegewiesen gesammelt wurde.



Die Situation ist für Sammelstelle 3 „Liegewiese 2“ ähnlich.

### E.1.5 Michendorfer Heide

Die Michendorfer Heide wurde als Beispiel eines Heidekraut-Kiefernforst mit bodensauren nährstoffarmen Sandböden ausgewählt.

Sammelstelle 1 „Wald“: Hier herrschen in der Baumschicht Kiefern (*Pinus sylvestris*) vor, vereinzelt erreichen auch Sandbirken (*Betula pendula*) die Baumschicht, wobei diese vor allem als junge Bäume innerhalb der Strauchschicht stehen. Trotzdem herrschen hier aber aufgeforstete junge Kiefern und junge Eichen vor, die vereinzelt von Heidelbeeren (*Vaccinium myrtillus*) durchsetzt sind. In der Schicht der Waldbodenpflanzen herrscht Heidekraut (*Calluna vulgaris*) vor. Darüber hinaus kommt Schaf-Schwingel (*Festuca ovina*), Kleiner Sauerampfer (*Rumex acetosella*), Kleines Habichtskraut (*Hieracium aurantiacum*) und Weißmoos (*Leucobryum glaucum*) vor. Alle sind typische Vertreter der *Calluna vulgaris*-Gruppe. Der Gruppe entsprechend wurden auch Flechten der Gattung *Cladonia* (C.) gefunden. Das Vorkommen dieser Gruppe zeigt nährstoff- und basenarme, meist sandige podsolierte Böden an, die häufig austrocknen.

Sammelstelle 2 „Feuerschneise“: Es gibt keine Strauch- oder Baumschicht. Es herrschen größere Flächen vor, die mit Heidekraut (*Calluna vulgaris*) bewachsen sind. Daneben findet man Gräser, u. a. die Flatterbinse (*Juncus effusus*) und Gräser der Schaf-Schwingel Gruppe (*Festuca ovina* agg.).

Sammelstelle 3 „Weg“: Der Weg führte durch den oben beschriebenen Wald und zeigte deswegen eine ähnliche Zusammensetzung der Vegetation.



Abb. E.5: Die Sammelstellen im Sammelgebiet Michendorfer Heide: Sammelstelle Wald, B: Sammelstelle Feuerschneise, C: Sammelstelle Waldweg

### E.1.6 Wannsee

Sammelstelle 1 „Waldweg“: An dieser Stelle fand sich ein Kiefernforst, der mit Eiche und Birke (Der Anteil der Birke (*Betula pendula*) betrug weniger als 10 %) durchsetzt war. Die Strauchschicht wurde durch Eberesche (*Sorbus aucuparia*) gebildet. Die Krautschicht war stark durch eine dicke Schicht von Kiefernadeln, die eine geschlossene Decke bildeten, eingeschränkt. An einigen Stellen setzten sich Horste von Drahtschmielen (*Deschampsia flexuosa*) durch.

Sammelstelle 2 „Wald“ (Gaststätte): Die Sammelstelle „Gaststätte“ lag in einem Hainrispen-Winterlinden-Hainbuchenwald. Die Baumschicht wurde durch Hainbuchen (*Carpinus betulus*) und Winterlinden (*Tilia cordata*) bestimmt. Nach unseren eigenen Beobachtungen wurde die Strauchschicht durch Brombeeren (*Rubus fruticosus*) gebildet. In der Krautschicht herrschte das Hain-Rispengras (*Poa nemoralis*) vor. Vereinzelt kamen Buschwindröschen (*Anemone nemorosa*) vor. Es wurden auch Maiglöckchen (*Convallaria majalis*), Leberblümchen (*Hepatica nobilis*) und Lerchensporn (*Corydalis intermedia*) gefunden.

Sammelstelle 3 „Grasfläche“: Eichenforst mit Kiefer (>30 %) Da gärtnerisch gepflegt, fehlt eine Strauch- bzw. Krautschicht fast vollständig.



Abb. E.6: Die Sammelstellen im Sammelgebiet Wannsee. A: Sammelstelle Wald (Gaststätte), B: Sammelstelle Weg (Wiese), C: Sammelstelle Waldweg

### E.1.7 Spandau

Sammelstelle 1 „Wald“: Der Berliner Umweltatlas gab hier einen Kiefernforst mit mehreren Laubholzarten in etwa gleichen Anteilen an. Eigenen Untersuchungen zufolge lagen etwa zu jeweils 50 % Eiche und Buche vor. Kiefern waren nur sehr vereinzelt zu finden. In der wenig ausgeprägten Strauchschicht kamen vereinzelt junge Ahornbäume vor. Der Boden war mit einer geschlossenen Schicht aus vermodernden Laubblättern bedeckt, so dass sich keine Waldbodenpflanzen entwickeln konnten.

Sammelstelle 2 „Mauerweg“: Wie auch schon auf dem Mauerweg in Frohnau haben wir hier silbergrasreiche Pionierfluren beobachtet. An vereinzelt Stellen kamen Kiefernbaume vor.

Sammelstelle 3 „Weg“: Nach dem Umweltatlas lag der Weg innerhalb junger Aufforstungen von Nadelholz heimischer Baumarten. Eigener Beobachtung nach wurden fast ausschließlich Kiefern (*Pinus silvestris*) zur Aufforstung verwendet. Die Bäume standen so eng, dass sich keine eigene Strauch- und Krautschicht ausbilden konnte.

### E.1.8 Teufelssee

Sammelstelle 1 „Wald“: Bei dem Wald handelte es sich um einen Kiefernforst mit den Nebenbaumarten Stiel- und Traubeneiche (10-30 %) Die Strauchschicht wird durch junge Birken (*Betula pendula*), Ebereschen und Späte Traubenkirsche gebildet Die Krautschicht wurde durch eine starke Vermoosung geprägt Weißmoos (*Leucobryum glaucum*), Rotstängelmoos (*Pleurozium schreberi*) und Heide-Schlaafmoos (*Hypnum jutlandicum*).

Sammelstelle 2 „Weg“: Der Waldweg im Sammelgebiet Teufelssee lag in einen Kiefernforst mit 10-30 % Eichenanteil. Dieser Wald wuchs auf ziemlich arm bis armen nährstoffversorgten Böden. Die Strauch- und Krautschicht entsprach den an der Sammelstelle 1 beobachteten.

Sammelstelle 3 „Spielplatz“: Der Spielplatz war in einem Eichenforst angelegt worden, der einen Kiefernanteil von mehr als 30 % beinhaltete. Dieser Wald wuchs auf kräftig nährstoffversorgten Böden. Ein Bestandteil des Spielplatzes waren gärtnerisch gestaltete Rasenflächen, die häufig und kurz gemäht wurden. Deswegen hatte sich weder eine Strauch- noch eine Krautschicht ausgebildet.



Abb. E.7: Die Sammelstellen im Sammelgebiet Teufelssee. A: Sammelstelle Wald, B: Sammelstelle Spielplatz, C: Sammelstelle Waldweg

### E.1.9 Marzahn

Sammelstelle 1 „Wald“: Laut Umweltatlas lag an dieser Sammelstelle ein Kiefernforst mit den Nebenbaumarten Eichen, Robinien und Birke (*Betula pendula*) (Der Anteil der Birken betrug ca. 30 %) vor. Bei den Vegetationsaufnahmen wurden in der Strauchschicht Gewöhnliche und Späte Traubenkirschen (*Prunus padus* und *Prunus serotina*) gefunden. Darüber hinaus wurden vereinzelt Ebereschen (*Sorbus aucuparia*) erfasst. Der Forst war so dicht, dass kaum Waldbodenpflanzen gediehen. Vereinzelt wurden Buschwindröschen (*Anemone nemorosa*) und andere Bodenpflanzen der *Anemone-nemorosa*-Gruppe gefunden.

Sammelstelle 2 „Weg“: Wie Sammelstelle 1, aber mit stärker ausgebildeter Krautschicht mit Waldbodenpflanzen der *Anemone-nemorosa*-Gruppe. Im einzelnen wurden Buschwindröschen (*Anemone nemorosa*), Kleinblütiges Springkraut (*Imatiens parviflora*), Mauerlattich (*Mycelis muralis*) und Hain-Rispengras (*Poa nemoralis*) gefunden.

Sammelstelle 3 „Bauschutt“: Diese Sammelstelle befand sich auf aufgeschüttetem Erdaushub und Bauschutt ohne Bäume und Sträucher. Es handelte sich um eine typische ausdauernde Ruderalgesellschaft: *Tanaceto-Artemisietum* mit umfangreichen Beständen von Rainfarn (*Tanacetum vulgare*), Gewöhnlichem Beifuß (*Artemisia vulgaris*) und Glatthafer (*Arrhenatherum elatius*). Vereinzelt kamen auch die Gewöhnliche Quecke (*Elytrigia repens*) und Kanadisches Berufkraut (*Conyza canadensis*) vor.

### E.1.10 Brieskow-Finkenheerd

Brieskow-Finkenheerd stellte unter den Sammelgebieten eine Besonderheit dar, weil die dort gesammelten Zecken in Kooperation mit unserem Projektpartner Dr. med. Thomas Talaska gesammelt wurden. Weil die Aufenthalte im Vergleich mit den anderen Sammelgebieten diesem Sammelgebiet nicht so häufig waren, konnte eine so intensive Vegetationsaufnahme wie an den anderen Standorten nicht durchgeführt werden. Dennoch wurden die Pflanzengesellschaften anhand des Bestimmungsschlüssels nach Schubert bestimmt (Schubert et al. 2010, S. 119–125).

Sammelstelle 1 „Larvennest“: Die Sammelstelle zeichnete sich durch Bewuchs mit Schlehe (*Prunus spinosa*), Sanddorn (*Hippophae rhamnoides*), Hasel (*Corylus avellana*) und Hainbuche (*Carpinus betulus*) aus. Dieser Bewuchs ist charakteristisch für die Klasse der mesophilen Schlehen-Gebüsche (*Carpino betuli-Prunion spinosae*). Da an allen Sammelstellen in Brieskow-Finkenheerd Bergbau betrieben wurde, handelte es sich bei allen Sammelstellen um Folgestadien in der Sukzession nach dem Abschluss des Bergbaus.

Sammelstelle 2 „Sandberg“: An diesem Standort war die Sukzession noch nicht weit fortgeschritten, wie an Sammelstelle 1. Teilweise finden sich frisch aufgeschüttete Erdhügel, auf denen jeglicher Bewuchs fehlt. An den abgesammelten Stellen lag aber eine Pioniergesellschaft vor, und vereinzelt fand sich in den Randbereichen auch Schlehen- und Sanddornbüsche (*Prunus spinosa*) und (*Hippophae rhamnoides*).

Sammelstelle 3 „Pappelwald“: Diese Sammelstelle stellte den Ort mit der am weitesten fortgeschrittenen Sukzession dar. Es lag ein Bestand von ca. 20 Jahre alten Zitter-Pappeln (*Populus tremula*) vor. Aufgrund des Vorhandenseins der Klassencharakterart Traubeneiche (*Quercus petraea*) und der Trennungsarten Siebenstern (*Trientalis europaea*) und Zitter-Pappel (*Populus tremula*) konnte man die Sammelstelle als klassischen Zitterpappel-Traubeneichenwald (*Populo tremulae-Quercetum petraeae*) bezeichnen.



Abb. E.8: Die wichtigste Sammelstellen im Sammelgebiet Brieskow-Finkenheerd. A: Larvennest. Hier wurde der überwiegende Teil der Larven und Nymphen der Spezies *Haemaphysalis concinna* gefunden.



## Abbildungsverzeichnis

|                   |   |            |
|-------------------|---|------------|
| <i>Abb. A.1:</i>  | <i>Schematische Darstellung einer Schildzecke .....</i>   | <i>7</i>   |
| <i>Abb. A.2:</i>  | <i>Taxonomische Einordnung der Zecken in das hierarchische System der Organismen .....</i>                        | <i>8</i>   |
| <i>Abb. C.1:</i>  | <i>Übersicht der für diese Arbeit untersuchten Gebiete. ....</i>  | <i>49</i>  |
| <i>Abb. C.2:</i>  | <i>Anzahl der gesammelten I. ricinus nach Sammelgebiet und Sammelpunkt. ....</i>                                  | <i>54</i>  |
| <i>Abb. C.3:</i>  | <i>Anzahl gesammelter Zecken in Abhängigkeit von Temperatur und Luftfeuchtigkeit Michendorf.<br/>.....</i>        | <i>57</i>  |
| <i>Abb. C.4:</i>  | <i>Anzahl gesammelter Zecken in Abhängigkeit von Temperatur und Luftfeuchtigkeit Buch .....</i>                   | <i>58</i>  |
| <i>Abb. C.5:</i>  | <i>Anzahl gefundener Larven und Nymphen von I. ricinus in Ahängigkeit des Sammelmonats ....</i>                   | <i>59</i>  |
| <i>Abb. C.6:</i>  | <i>Prozentualer Anteil der unterschiedlichen Entwicklungsstadien an den jeweiligen<br/>Sammelpunkten. ....</i>    | <i>59</i>  |
| <i>Abb. C.7:</i>  | <i>Prävalenz der untersuchten Pathogene in den unterschiedlichen Entwicklungsstadien von I.<br/>ricinus. ....</i> | <i>68</i>  |
| <i>Abb.C.8:</i>   | <i>Prävalenzen der unterschiedlichen Pathogene im Jahresverlauf .....</i>   | <i>68</i>  |
| <i>Abb. C.9:</i>  | <i>Geschlechtsspezifische Unterschiede der Prävalenzen in I. ricinus .....</i>                                    | <i>69</i>  |
| <i>Abb. C.10:</i> | <i>Geschlechtsspezifische Unterschiede der Prävalenzen in D. reticulatus.....</i>                                 | <i>69</i>  |
| <i>Abb. C.11:</i> | <i>Phylogenetische Einordnung der gefundenen Borrelienproben .....</i>  | <i>73</i>  |
| <i>Abb. C.12:</i> | <i>Phylogenetische Einordnung der gefundenen Rickettsienproben . ....</i>   | <i>74</i>  |
| <i>Abb. C.13:</i> | <i>In I. ricinus nachgewiesene Rickettsienarten. ....</i>   | <i>75</i>  |
| <i>Abb. E.1:</i>  | <i>Die Sammelstellen im Sammelgebiet Bucher Forst. ....</i>   | <i>105</i> |
| <i>Abb. E.2:</i>  | <i>Die Sammelstellen im Sammelgebiet Frohnau. ....</i>  | <i>106</i> |
| <i>Abb. E.3:</i>  | <i>Die Sammelstellen im Sammelgebiet Rehberge. . ....</i>   | <i>107</i> |
| <i>Abb. E.4:</i>  | <i>Die Sammelstellen im Sammelgebiet Hasenheide. ....</i>   | <i>108</i> |
| <i>Abb. E.5:</i>  | <i>Die Sammelstellen im Sammelgebiet Michendorfer Heide .....</i>   | <i>109</i> |
| <i>Abb. E.6:</i>  | <i>Die Sammelstellen im Sammelgebiet Wannsee. ....</i>  | <i>110</i> |
| <i>Abb. E.7:</i>  | <i>Die Sammelstellen im Sammelgebiet Teufelssee. ....</i>   | <i>111</i> |
| <i>Abb. E.8:</i>  | <i>Die wichtigste Sammelstellen im Sammelgebiet Brieskow-Finkenheerd. ....</i>                                    | <i>113</i> |

## Tabellenverzeichnis

|            |  |    |
|------------|--|----|
| Tab. A.1:  | Übersicht der verschiedenen Borreliengenotypen.....  | 13 |
| Tab. A.2:  | Übersicht der verschiedenen Rickettsienarten .....   | 15 |
| Tab. A.3:  | Übersicht möglicher Labordiagnostikmethoden .....  | 29 |
| Tab. B.1:  | In dieser Arbeit verwendete Geräte .....   | 32 |
| Tab. B.2:  | In dieser Arbeit verwendete Materialien .....  | 33 |
| Tab. B.3:  | Pflanzensoziologische Einordnung der Sammelgebiete und der Sammelpunkte .....                      | 37 |
| Tab. B.4:  | Verwendete Primer zum Nachweis der unterschiedlichen Pathogene.....                                | 43 |
| Tab. B.5:  | Pipettierschema Erreger-PCR.....   | 44 |
| Tab. B.6:  | Cyclerprogramm Erreger-PCR. ....   | 44 |
| Tab. B.7:  | Pipettierschema Erreger-nested PCR.....  | 44 |
| Tab. B.8:  | Cyclerprogramm Erreger-nested PCR. ....  | 44 |
| Tab. B.9:  | Sequenzierungsansatz.....  | 46 |
| Tab. B.10: | Cyclerprogramme der Sequenzierungsreaktion.....  | 45 |
| Tab. C.1:  | Anzahl gesammelter <i>H. concinna</i> 2010 .....   | 51 |
| Tab. C.2:  | Anzahl gesammelter <i>I. ricinus</i> 2008- 2009 . ....   | 51 |
| Tab. C.3:  | Anzahl gesammelter <i>I. ricinus</i> 2010 .....  | 52 |
| Tab. C.4:  | Anzahl gesammelter <i>I.ricinus</i> in der Summe von 2008 bis Ende 2010. ....                      | 53 |
| Tab. C.5:  | Klassifizierung der Zeckenhäufigkeit nach Schwarz. ....  | 54 |
| Tab. C.6:  | Anzahl gesammelter Zecken nach Sammelgebiet für <i>D. reticulatus</i> 2008-2009.....               | 55 |
| Tab. C.7:  | Anzahl gesammelter Zecken nach Sammelgebiet für <i>D. reticulatus</i> 2010 .....                   | 55 |
| Tab. C.8:  | Übersicht der Pathogenbelastung in <i>I. ricinus</i> 2008/2009 .....                               | 63 |
| Tab. C.9:  | Übersicht der Pathogenbelastung; in <i>I. ricinus</i> 2010 .....                                   | 66 |
| Tab. C.10: | Anzahl gesammelter <i>I. ricinus</i> Nymphen und die Prävalenz Borrelien-positiver Nymphen .....   | 67 |
| Tab. C.11: | Pathogene in <i>Dermacentor reticulatus</i> 2008-2010 .....  | 70 |
| Tab. C.12: | In <i>I. ricinus</i> gefundene Koinfektionen.....  | 70 |
| Tab. C.13: | Prävalenz der untersuchten Pathogene in Abhängigkeit der Sammelmethode.bei <i>I. ricinus</i> ..... | 70 |
| Tab. C.14: | In <i>Dermacentor reticulatus</i> gefundene Koinfektionen .....                                    | 71 |



## Literaturverzeichnis

- Anonymus, Mehr Fälle von Borreliose in Berlin (2009). In: *Der Tagesspiegel* 2009, 07.08.2009. Online verfügbar unter <http://www.tagesspiegel.de/berlin/nachrichten/1573564.html>, zuletzt geprüft am 03.03.2013.
- Aichele, Dietmar; Golte-Bechtle, Marianne (1997): *Das neue Was blüht denn da? Wildwachsende Blütenpflanzen Mitteleuropas*. 56. Aufl. Stuttgart: Kosmos.
- Aichele, Dietmar; Schwegler, Heinz-Werner (1999): *Unsere Moos- und Farnpflanzen. Eine Einführung in die Lebensweise, den Bau und das Erkennen heimischer Moose, Farne, Bärlappe und Schachtelhalme*. 11. Aufl. Stuttgart: Franckh-Kosmos.
- Aichele, Dietmar; Schwegler, Heinz-Werner; Hofmann, Reinhild (2011, 2011): *Unsere Gräser. Aktualisierte 12. Aufl. / [Bearb. der 12. Aufl.: Mark Bachofer. Projektleitung der 12. Aufl.: Carsten Vetter]. Hg. v. Mark Bachofer und Carsten Vetter*. Stuttgart: Kosmos.
- Bachofer, Mark; Mayer, Joachim (2008): *Der neue Kosmos-Baumführer. 370 Bäume und Sträucher Mitteleuropas. [Veränderter Nachdr.]*. Stuttgart: Kosmos.
- Baker, Anne S. (2009): Acari in archaeology. In: *Exp Appl Acarol* 49 (1-2), S. 147–160.
- Baldrige, Gerald D.; Scoles, Glen A.; Burkhardt, Nicole Y.; Schloeder, Brian; Kurtti, Timothy J.; Munderloh, Ulrike G. (2009): Transovarial transmission of Francisella-like endosymbionts and Anaplasma phagocytophilum variants in Dermacentor albipictus (Acari: Ixodidae). In: *J. Med. Entomol.* 46 (3), S. 625–632.
- Barandika, Jesús F.; Hurtado, Ana; Juste, Ramón A.; García-Pérez, Ana L. (2010): Seasonal Dynamics of Ixodes ricinus in a 3-Year Period in Northern Spain: First Survey on the Presence of Tick-Borne Encephalitis Virus. In: *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* 10 (10), S. 1027–1035.
- Beytout, J.; George, J.C; Malaval, J.; Garnier, M.; Beytout, M.; Baranton, G. et al. (2007): Lyme Borreliosis Incidence in Two French Departments: Correlation with Infection of Ixodes ricinus Ticks by Borrelia burgdorferi Sensu Lato. In: *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* 7 (4), S. 507–518.
- Bingsohn, Linda; Beckert, Annika; Zehner, Richard; Kuch, Ulrich; Oehme, Rainer; Kraiczy, Peter; Amendt, Jens (2013): Prevalences of tick-borne encephalitis virus and Borrelia burgdorferi sensu lato in Ixodes ricinus populations of the Rhine-Main region, Germany. In: *Ticks Tick Borne Dis.*
- Blamey, Marjorie; Grey-Wilson, Christoph (2008): *Die Kosmos-Enzyklopädie der Blütenpflanzen. Über 2400 Arten*. Stuttgart: Kosmos.
- Botelho-Nevers, Elisabeth; Socolovschi, Cristina; Raoult, Didier; Parola, Philippe (2012): Treatment of Rickettsia spp. infections: a review. In: *Expert Rev Anti Infect Ther* 10 (12), S. 1425–1437.

- Brouqui, P.; Bacellar, F.; Baranton, G.; Birtles, R. J.; Bjoërsdorff, A.; Blanco, JR et al. (2004): Guidelines for the diagnosis of tick-borne bacterial diseases in Europe. In: *Clinical microbiology and infection* 10 (12), S. 1108–1132.
- Capelli, G.; Ravagnan, S.; Montarsi, F.; Ciocchetta, S.; Cazzin, S.; Porcellato, E. et al. (2012): Occurrence and identification of risk areas of Ixodes ricinus-borne pathogens. A cost-effectiveness analysis in north-eastern Italy. In: *Parasites & vectors* 5, S. 61.
- Casati, Simona; Sager, Heinz; Gern, Lise; Piffaretti, Jean-Claude (2006): Presence of potentially pathogenic Babesia sp. for human in Ixodes ricinus in Switzerland. In: *Ann Agric Environ Med* 13 (1), S. 65–70.
- Centers for Disease Control and Prevention: Anaplasma phagocytophilum Infection in Ixodes ricinus, Bavaria, Germany.
- Centers for Disease Control and Prevention: Tick-Borne Encephalitis with Hemorrhagic Syndrome, Novosibirsk Region, Russia, 1999.
- Chapman, Alice S. (2006): Diagnosis and management of tickborne rickettsial diseases. Rocky Mountain spotted fever, ehrlichioses, and anaplasmosis--United States: a practical guide for physicians and other health-care and public health professional. Atlanta, GA: U.S. Dept. of Health and Human Services, Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention.
- Christiansen, Mogens Skytte; Hancke, Verner; Podlech, Dieter (1988): Gräser. Über 180 Süßgräser, Sauergräser u. Binsen Mittel- u. Nordeuropas. 3. Aufl. München u.a: BLV-Verl.-Ges.
- Danielová, Vlasta; Kliegrová, Stanislava; Daniel, Milan; Benes, Cestmír (2008): Influence of climate warming on tickborne encephalitis expansion to higher altitudes over the last decade (1997-2006) in the Highland Region (Czech Republic). In: *Cent. Eur. J. Public Health* 16 (1), S. 4–11.
- Darke, Rick (2010): Enzyklopädie der Gräser. Stuttgart (Hohenheim): Ulmer.
- Dautel, Hans; Dippel, Cornelia; Oehme, Rainer; Hartelt, Kathrin; Schettler, Elvira (2006): Evidence for an increased geographical distribution of Dermacentor reticulatus in Germany and detection of Rickettsia sp. RpA4. In: *International Journal of Medical Microbiology* 296, S. 149–156.
- de la Fuente J; Estrada-Pena, A.; Venzal, J. M.; Kocan, K. M.; Sonenshine, D. E. (2008): Overview: Ticks as vectors of pathogens that cause disease in humans and animals. In: *Frontiers in bioscience* 13, S. 6938–6946.
- Dobler, G.; Wölfel, R. (20090515): Fleckfieber und andere Rickettsiosen. Alte und neu auftretende Infektionen in Deutschland. In: *Deutsches Ärzteblatt* 106 (20), S. M-348. Online verfügbar unter:  
<http://www.aerzteblatt.de/v4/archiv/artikel.asp?src=dimdi&id=64657>.

- Dobler, Gerhard; Gniel, Dieter; Petermann, Robert; Pfeffer, Martin (2012): Epidemiology and distribution of tick-borne encephalitis. In: *Wien Med Wochenschr* 162 (11-12), S. 230–238.
- Dobson, A. D.; Taylor, J. L.; Randolph, S. E. (2011a): Tick (*Ixodes ricinus*) abundance and seasonality at recreational sites in the UK. Hazards in relation to fine-scale habitat types revealed by complementary sampling methods. In: *Ticks and tick-borne diseases* 2 (2), S. 67–74.
- Dobson, Andrew D.M; Taylor, Jennifer L.; Randolph, Sarah E. (2011b): Tick (*Ixodes ricinus*) abundance and seasonality at recreational sites in the UK: Hazards in relation to fine-scale habitat types revealed by complementary sampling methods. In: *Ticks and tick-borne diseases* 2 (2), S. 67–74.
- Domingo, Cristina; Patel, Pranav; Linke, Sonja; Achazi, Katharina; Niedrig, Matthias (2011): Molecular diagnosis of flaviviruses. In: *Future Virology* 6 (9), S. 1059–1074.
- El-Bahnasawy, Mamdouh M.; Khalil, Hazem H. M.; Morsy, Tosson A. (2011): Babesiosis in an Egyptian boy acquired from pet dog, and a general review. In: *J Egypt Soc Parasitol* 41 (1), S. 99–108.
- Földvári, Gábor; Farkas, Róbert; Lakos, András (2005): *Borrelia spielmanii* erythema migrans, Hungary. In: *Emerging Infect. Dis.* 11 (11), S. 1794–1795.
- Fornadel, Christen M.; Smith, Joshua D.; Zawada, Sonya E.; Arias, Jorge R.; Norris, Douglas E. (2013): Detection of *Rickettsia massiliae* in *Rhipicephalus sanguineus* from the Eastern United States. In: *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* 13 (1), S. 67–69.
- Franke, Jan; Hildebrandt, Anke; Meier, Frank; Straube, Eberhard; Dorn, Wolfram (2011): Prevalence of Lyme Disease Agents and Several Emerging Pathogens in Questing Ticks from the German Baltic Coast. In: *Journal of medical entomology* 48 (2), S. 441–444.
- Galuppi, R.; Bonoli, C.; Aureli, S.; Cassini, R.; Marcer, F.; Foley, J. E.; Tampieri, M. P. (2012): Comparison of diagnostic methods to detect piroplasms in asymptomatic cattle. In: *Vet. Parasitol.* 183 (3-4), S. 364–368.
- Gern, L.; Rais, O. (1996): Efficient transmission of *Borrelia burgdorferi* between cofeeding *Ixodes ricinus* ticks (Acari: Ixodidae). In: *J. Med. Entomol.* 33 (1), S. 189–192.
- Giardina, Antonia R.; Schmidt, Kenneth A.; Schaubert, Eric M.; Ostfeld, Richard S. (2000): Modeling the role of songbirds and rodents in the ecology of Lyme disease. In: *Can. J. Zool.* 78 (12), S. 2184–2197.
- Gray, J. S. (1985): A carbon dioxide trap for prolonged sampling of *Ixodes ricinus* L. populations. In: *Experimental & applied acarology* 1 (1), S. 35–44.
- Gritsun, T. S.; Lashkevich, V. A.; Gould, E. A. (2003): Tick-borne encephalitis.
- Hahn, Helmut; Klein, Paul; Vogt, Konstanze (2001): Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie. Mit 158 Tabellen. 4. Aufl. Berlin [u.a.]: Springer.
- Hahn, Helmut; Klein, Paul; Vogt, Konstanze (2001): Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie. Mit 158 Tabellen. 4. Aufl. Berlin [u.a.]: Springer.

- Hartelt, Kathrin; Oehme, Rainer; Frank, Henning; Brockmann, Stefan O.; Hassler, Dieter; Kimmig, Peter (2004): Pathogens and symbionts in ticks: prevalence of *Anaplasma phagocytophilum* (*Ehrlichia* sp.), *Wolbachia* sp., *Rickettsia* sp., and *Babesia* sp. in Southern Germany. In: *Int. J. Med. Microbiol.* 293 Suppl 37, S. 86–92.
- Hildebrandt, A.; Hunfeld, K.-P; Baier, M.; Krumbholz, A.; Sachse, S.; Lorenzen, T. et al. (2007): First confirmed autochthonous case of human *Babesia microti* infection in Europe. In: *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 26 (8), S. 595–601.
- Hildebrandt, A.; Schmidt, K. H.; Wilske, B.; Dorn, W.; Straube, E.; Fingerle, V. (2003): Prevalence of Four Species of *Borrelia burgdorferi* Sensu Lato and Coinfection with *Anaplasma phagocytophila* in *Ixodes ricinus* Ticks in Central Germany. In: *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* 22 (6), S. 364–367.
- Hillyard, P. D. (1996): Ticks of north-west Europe. Shrewsbury: Field Studies Council, for the Linnean Society of London and the Estuarine and Coastal Sciences Association.
- Hofmeister, Heinrich (1997): Lebensraum Wald. Pflanzengesellschaften und ihre Ökologie : mit 8 Tabellen. 4. Aufl. Berlin: Parey.
- Hubálek, Z.; Halouzka, J.; Juricová, Z. (2003): Longitudinal surveillance of the tick *Ixodes ricinus* for borreliae. In: *Medical and veterinary entomology* 17 (1), S. 46–51.
- Hügli, Delphine; Moret, Jacqueline; Rais, Olivier; Moosmann, Yves; Erard, Philippe; Malinverni, Raffaele; Gern, Lise (2009): Tick bites in a Lyme borreliosis highly endemic area in Switzerland. In: *Int. J. Med. Microbiol.* 299 (2), S. 155–160.
- Immler, Rolf M. (1973): Untersuchungen zur Biologie und Oekologie der Zecke *Dermacentor Reticulatus* (Fabricius, 1794) (IXodidae) in einem endemischen Vorkommensgebiet. Zürich: Fotorotar.
- Jongejan, F.; Uilenberg, G. (2004): The global importance of ticks. In: *Parasitology* 129, S. S3-14.
- Kahl, O.; Janetzki, C.; Gray, J. S.; Stein, J.; Bauch, R. J. (1992): Tick infection rates with *Borrelia*: *Ixodes ricinus* versus *Haemaphysalis concinna* and *Dermacentor reticulatus* in two locations in eastern Germany. In: *Med. Vet. Entomol.* 6 (4), S. 363–366.
- Kalsbeek, V.; Frandsen, F. (1996): The seasonal activity of *Ixodes ricinus* ticks in Denmark. In: *Anz. Schadlingskde., Pflanzenschutz, Umweltschutz* 69 (7), S. 160–161.
- Keller, Andreas; Graefen, Angela; Ball, Markus; Matzas, Mark; Boisguerin, Valesca; Maixner, Frank et al. (2012): New insights into the Tyrolean Iceman's origin and phenotype as inferred by whole-genome sequencing. In: *Nat Comms* 3, S. 698.
- KH - AS - JbF: Infektionsepidemiologischer Jahresbericht 2010 - LAGeSo - IC 3.
- Knap, N.; Durmisi, E.; Saksida, A.; Korva, M.; Petrovec, M.; Avsic-Zupanc, T. (2009): Influence of climatic factors on dynamics of questing *Ixodes ricinus* ticks in Slovenia. In: *Veterinary parasitology* 164 (2-4), S. 275–281.
- Korenberg, E. I. (1976): Some contemporary aspects of natural focality and epidemiology of tick-borne encephalitis. In: *Folia Parasitol.* 23 (4), S. 357–366.

- Korenberg, E. I.; Kovalevskii, Y. V. (1999): Main features of tick-borne encephalitis eco-epidemiology in Russia. In: *Zentralbl. Bakteriol.* 289 (5-7), S. 525–539.
- Kremer, Bruno P. (op. 1998): Die Bäume Mitteleuropas. Welches Blatt ist das? 2. Aufl. Stuttgart: Kosmos.
- Landesvermessung und Geobasisinformation Brandenburg (2007): Potsdam - Bornstedt. [Ausg.] ATKIS, 1. Aufl., Grundaktualität 3/2005, einzelne Erg. 9/2005, Berlin: Grundaktualität 7/2005, einzelne Erg. 2006. Potsdam (Topographische Karte, 3544).
- Léger, Elsa; Vourc'h, Gwenaël; Vial, Laurence; Chevillon, Christine; McCoy, Karen D. (2012): Changing distributions of ticks: causes and consequences. In: *Exp. Appl. Acarol.*
- Lin, Leyi; Decker, Catherine F. (2012): Rocky Mountain Spotted Fever. In: *Disease-a-Month* 58 (6), S. 361–369.
- LoGiudice, K. (2003): From the Cover: The ecology of infectious disease: Effects of host diversity and community composition on Lyme disease risk. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences* 100 (2), S. 567–571.
- Lommano, E.; Burri, C.; Maeder, G.; Guerne, M.; Bastic, V.; Patalas, E.; Gern, L. (2012): Prevalence and genotyping of tick-borne encephalitis virus in questing Ixodes ricinus ticks in a new endemic area in western Switzerland. In: *Journal of medical entomology* 49 (1), S. 156–164.
- Lucius, Richard; Loos-Frank, Brigitte (2008): Biologie der Parasiten. 2. Aufl. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag (Springer-Lehrbuch).
- Maina, Alice N.; Knobel, Darryn L.; Jiang, Ju; Halliday, Jo; Feikin, Daniel R.; Cleaveland, Sarah et al. (2012): Rickettsia felis Infection in Febrile Patients, Western Kenya, 2007–2010. In: *Emerg. Infect. Dis.* 18 (2), S. 328–331.
- Masuzawa, T.; Yanagihara, Y.; Fujita, H. (1996): [A case of Lyme borreliosis which was suspected to be caused by Borrelia japonica infection in Shizuoka, Japan]. In: *Kansenshōgaku Zasshi* 70 (3), S. 264–267.
- Massung, R. F.; Levin, M. L.; Munderloh, U. G.; Silverman, D. J.; Lynch, M. J.; Gaywee, J. K.; Kurtti, T. J. (2007): Isolation and Propagation of the Ap-Variant 1 Strain of Anaplasma phagocytophilum in a Tick Cell Line. In: *Journal of clinical microbiology* 45 (7), S. 2138–2143.
- Mayne, Peter J. (2012): Investigation of Borrelia burgdorferi genotypes in Australia obtained from erythema migrans tissue. In: *Clin Cosmet Investig Dermatol* 5, S. 69–78.
- Mázló, M.; Szántó, J. (1978): Morphological demonstration of the virus of tick-borne encephalitis in the human brain. In: *Acta neuropathologica* 43 (3), S. 251–253.
- McDade, J. E.; Shepard, C. C.; Redus, M. A.; Newhouse, V. F.; Smith, J. D. (1980): Evidence of Rickettsia prowazekii infections in the United States. In: *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 29 (2), S. 277–284.
- Modrow, Susanne; Falke, Dietrich; Truyen, Uwe; Schätzl, Hermann (2010): Molekulare Virologie. In: *Molekulare Virologie.*

- Müller, I.; Freitag, M. H.; Poggensee, G.; Scharnetzky, E.; Straube, E.; Schoerner, Ch et al. (2012): Evaluating frequency, diagnostic quality, and cost of Lyme borreliosis testing in Germany: a retrospective model analysis. In: *Clin. Dev. Immunol* 2012, S. 595427.
- Nava, Santiago; Guglielmone, Alberto A.; Mangold, Atilio J. (2009): An overview of systematics and evolution of ticks. In: *Front. Biosci.* 14, S. 2857–2877.
- Niedrig, M.; Klockmann, U.; Lang, W.; Roeder, J.; Burk, S.; Modrow, S.; Pauli, G. (1994): Monoclonal antibodies directed against tick-borne encephalitis virus with neutralizing activity in vivo. In: *Acta virologica* 38 (3), S. 141–149.
- Parola, Philippe; Rovero, Clarisse; Rolain, Jean Marc; Brouqui, Philippe; Davoust, Bernard; Raoult, Didier (2009): Rickettsia slovaca and R. raoultii in Tick - borne Rickettsioses. In: *Emerg. Infect. Dis.* 15 (7), S. 1105–1108.
- Passos, L. M. (2012): In vitro cultivation of Anaplasma marginale and A. phagocytophilum in tick cell lines. A review. In: *Revista brasileira de parasitologia veterinária = Brazilian journal of veterinary parasitology: Órgão Oficial do Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária* 21 (2), S. 81–86.
- Pérez-Osorio, Carlos E.; Zavala-Velázquez, Jorge E.; León, Juan José Arias; Zavala-Castro, Jorge E. (2008): Rickettsia felis as Emergent Global Threat for Humans. In: *Emerg. Infect. Dis.* 14 (7), S. 1019–1023.
- Randolph, S. E. (2009): Tick-borne disease systems emerge from the shadows: the beauty lies in molecular detail, the message in epidemiology. In: *Parasitology* 136 (12), S. 1403.
- Randolph, Sarah: Quantitative Ecology of Ticks as a Basis for Transmission Models of Tick-Borne Pathogens.
- Renvoisé, A.; Delaunay, P.; Blanchouin, E.; Cannavo, I.; Cua, E.; Socolovschi C et al. (2012): Urban family cluster of spotted fever rickettsiosis linked to Rhipicephalus sanguineus infected with Rickettsia conorii subsp. caspia and Rickettsia massiliae. In: *Ticks and tick-borne diseases* 3 (5-6), S. 389–392.
- Reye, A. L.; Hubschen, J. M.; Sausy, A.; Muller, C. P. (2010): Prevalence and Seasonality of Tick-Borne Pathogens in Questing Ixodes ricinus Ticks from Luxembourg. In: *Applied and environmental microbiology* 76 (9), S. 2923–2931.
- Richter, Dania; Allgöwer, Rainer; Matuschka, Franz-Rainer (2002): Co-feeding transmission and its contribution to the perpetuation of the lyme disease spirochete Borrelia afzelii. In: *Emerging Infect. Dis* 8 (12), S. 1421–1425.
- Richter, Dania; Debski, Alina; Hubalek, Zdenek; Matuschka, Franz-Rainer (2012): Absence of Lyme disease spirochetes in larval Ixodes ricinus ticks. In: *Vector Borne Zoonotic Dis.* 12 (1), S. 21–27.
- Richter, Dania; Schlee, Daniela B.; Matuschka, Franz-Rainer (2003): Relapsing fever-like spirochetes infecting European vector tick of Lyme disease agent. In: *Emerging Infect. Dis* 9 (6), S. 697–701.

- Rieg, S.; Schmoldt, S.; Theilacker, C.; With, K. de; Wölfel, S.; Kern, W. V.; Dobler, G. (2011): Tick-borne lymphadenopathy (TIBOLA) acquired in Southwestern Germany. In: *BMC infectious diseases* 11, S. 167.
- Rios, Leonardo; Alvarez, Gonzalo; Blair, Silvia: Serological and parasitological study and report of the first case of human babesiosis in Colombia. In: *Revista da sociedade brasileira de medicina tropical*.
- Robert Koch-Institut (2008): Diagnostik. Unter Mitarbeit von Matthias Niedrig. Hg. v. Konsiliarlaboratorium für Frühsommer-Meningoenzephalitis (FSME). Robert Koch-Institut. Online verfügbar unter [ent/Infekt/NRZ/FSME/fsme\\_node.html;jsessionid=3ECFC83C515AFDC1CAC688E51C59FA73.2\\_cid290](http://www.rki.de/Infekt/NRZ/FSME/fsme_node.html;jsessionid=3ECFC83C515AFDC1CAC688E51C59FA73.2_cid290), zuletzt aktualisiert am 02.01.2008, zuletzt geprüft am 26.02.2013.
- Roux, V.; Raoult, D. (2000): Phylogenetic analysis of members of the genus *Rickettsia* using the gene encoding the outer-membrane protein rOmpB (ompB). In: *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 50 Pt 4, S. 1449–1455.
- Rudenko, N.; Golovchenko, M.; Grubhoffer, L.; Oliver, J. H., JR (2011): Updates on *Borrelia burgdorferi* sensu lato complex with respect to public health. In: *Ticks and tick-borne diseases* 2 (3), S. 123–128.
- Satz, Norbert (2006): Frühsommer-Meningoenzephalitis (FSME). 1. Aufl. Bern: Hans Huber.
- Satz, Norbert (2010): Klinik der Lyme-Borreliose. 3. Aufl. s.l.: Verlag Hans Huber. Online verfügbar unter [http://ebooks.ciando.com/book/index.cfm/bok\\_id/46855](http://ebooks.ciando.com/book/index.cfm/bok_id/46855).
- Schicht, Sabine; Junge, Sonja; Schnieder, Thomas; Strube, Christina (2011): Prevalence of *Anaplasma phagocytophilum* and Coinfection with *Borrelia burgdorferi* Sensu Lato in the Hard Tick *Ixodes ricinus* in the City of Hanover (Germany). In: *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* 11 (12), S. 1595–1597.
- Schmeil, Otto; Fitschen, Jost; Seybold, Siegmund (2011): Die Flora Deutschlands und angrenzender Länder. Ein Buch zum Bestimmen aller wildwachsenden und häufig kultivierten Gefäßpflanzen. 95. Aufl. Wiebelsheim: Quelle & Meyer.
- Schubert, Rudolf; Hilbig, Werner; Klotz, Stefan (2010): Bestimmungsbuch der Pflanzengesellschaften Deutschlands. 2. Aufl. Heidelberg: Spektrum Akad. Verl.
- Schulze, T. L.; Taylor, R. C.; Taylor, G. C.; Bosler, E. M. (1991): Lyme disease. A proposed ecological index to assess areas of risk in the northeastern United States. In: *American J. Public Health* 81 (1991) Nr. 6), S. 714–718.
- Schwarz, Alexandra; Maier, Walter A.; Kistemann, Thomas; Kampen, Helge (2009): Analysis of the distribution of the tick *Ixodes ricinus* L. (Acari: Ixodidae) in a nature reserve of western Germany using Geographic Information Systems. In: *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 212 (1), S. 87–96.
- Senanayake, S. N.; Paparini, A.; Latimer, M.; Andriolo, K.; Dasilva, A. J.; Wilson, H. et al. (2012): First report of human babesiosis in Australia. In: *The Medical journal of Australia* 196 (5), S. 350–352.

- Skrabalo, Z.; Deanovic, Z. (1957): Piroplasmosis in man; report of a case. In: *Doc Med Geogr Trop* 9 (1), S. 11–16.
- Spielman, A. (1976): Human babesiosis on Nantucket Island: transmission by nymphal Ixodes ticks. In: *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 25 (6), S. 784–787.
- Staat Brandenburg (1993): Bernau b. Berlin. 1. Aufl., umfassende Aktualisierung 1991, einzelne Erg. 1993. Potsdam (Topographische Karte, 3347).
- Stafford, K. 3rdC; Cartter, M. L.; Magnarelli; Ertel, S. H.; La Mshar, P. A. (1998): Temporal correlations between tick abundance and prevalence of ticks infected with *Borrelia burgdorferi* and increasing incidence of Lyme disease. In: *Journal of clinical microbiology* 36 (5), S. 1240–1244.
- Stinglwagner, Gerhard; Haseder, Ilse; Erlbeck, Reinhold (2009): Das Kosmos Wald- und Forst-Lexikon. 4. Aufl. Stuttgart: Kosmos.
- Suerbaum, Sebastian; Hahn, Helmut; Burchard, Gerd-Dieter (2012): Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie. 7. Aufl. Berlin Heidelberg: Springer (Springer-Lehrbuch).
- Süss, J.; Schrader, C.; Abel, U.; Voigt, W. P.; Schosser, R. (1999): Annual and seasonal variation of tick-borne encephalitis virus (TBEV) prevalence in ticks in selected hot spot areas in Germany using a nRT-PCR: results from 1997 and 1998. In: *Zentralbl. Bakteriol.* 289 (5-7), S. 564–578.
- Stefanoff, P.; Pfeffer, M.; Hellenbrand, W.; Rogalska, J.; Rühle, F.; Makówka A et al. (2012): Virus Detection in Questing Ticks is not a Sensitive Indicator for Risk Assessment of Tick-Borne Encephalitis in Humans. In: *Zoonoses and Public Health*.
- Switaj, Karolina; Chmielewski, Tomasz; Borkowski, Piotr; Tylewska-Wierzbanowska, Stanisława; Olszynska-Krowicka, Maria (2012): Spotted fever rickettsiosis caused by *Rickettsia raoultii*--case report. In: *Przegl Epidemiol* 66 (2), S. 347–350.
- Tack, Wesley; Madder, Maxime; Frenne, Pieter; Vanhellefont, Margot; Gruwez, Robert; Verheyen, Kris (2011): The effects of sampling method and vegetation type on the estimated abundance of *Ixodes ricinus* ticks in forests. In: *Exp Appl Acarol* 54 (3), S. 285–292.
- Tijssse-Klasen, E.; Fonville, M.; Reimerink, J. H.; Spitzen-van der Sluijs A; Sprong, H. (2010): Role of sand lizards in the ecology of Lyme and other tick-borne diseases in the Netherlands. In: *Parasites & vectors* 3, S. 42.
- Tugwell, P.; Dennis, D. T.; Weinstein, A.; Wells, G.; Shea, B.; Nichol, G. et al. (1997): Laboratory evaluation in the diagnosis of Lyme disease. In: *Annals of internal medicine* 127 (12), S. 1109–1123.
- Vannier, Edouard; Krause, Peter J. (2012): Human babesiosis. In: *N. Engl. J. Med.* 366 (25), S. 2397–2407.



Wielinga, P. R.; Gaasenbeek, C.; Fonville, M.; Boer, A. de; Vries, A. de; Dimmers, W. et al. (2006): Longitudinal Analysis of Tick Densities and *Borrelia*, *Anaplasma*, and *Ehrlichia* Infections of *Ixodes ricinus* Ticks in Different Habitat Areas in The Netherlands. In: *Applied and environmental microbiology* 72 (12), S. 7594–7601.

Wilske, Bettina; Fingerle, Volker; Schulte-Spechtel, Ulrike (2007): Microbiological and serological diagnosis of Lyme borreliosis. In: *FEMS Immunology & Medical Microbiology* 49 (1), S. 13–21.

Wirth, Volkmar; Düll, Ruprecht (2000): Farbatlas Flechten und Moose. Stuttgart (Hohenheim): E. Ulmer.

Zavala-Castro, Jorge E.; Zavala-Velázquez, Jorge E.; del Rosario García, María; León, Juan José Arias; Dzul-Rosado, Karla R. (2009): A Dog Naturally Infected with *Rickettsia akari* in Yucatan, México. In: *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* 9 (3), S. 345–347.

Zeman, P. (1998): *Borrelia*-infection rates in tick and insect vectors accompanying human risk of acquiring Lyme borreliosis in a highly endemic region in Central Europe. In: *Folia Parasitol* 45 (4), S. 319–325.

## Kartenmaterial nach Titel

*Berlin-Buchholz (1999). Normalausg. mit UTM-Koordinaten (bezogen auf WGS 84/ETRS 89), 1. Aufl., umfassende Aktualisierung 1997. Potsdam.*

*Berlin-Marzahn (1996). Normalausg., 1. Aufl., umfassende Aktualisierung 1991, einzelne Erg. 1994. Potsdam.*

*Biotopkartierung Berlin. Grundlagen - Standards - Bewertung (2005). 2., veränd. Aufl., Version 2.1. Berlin: Senatsverwaltung für Stadtentwicklung, Info-Center.*

*Potsdam Nord (2001). Normalausg. mit UTM-Koordinaten (bezogen auf WGS 84/ETRS 89) Bl. 11, 2. Aufl., umfassende Aktualisierung 1997, einzelne Erg. 2000. Potsdam.*

*Rüdersdorf bei Berlin (2007). ATKIS-Ausg., 1. Aufl., Grundaktualität 4/2003, einzelne Erg. 7/2006, Berlin: Grundaktualität 12/2005. Potsdam.*

*Topographische Karte. Deutschland (2001). Normalausg., 1. Aufl., Bl. 13, umfassende Aktualisierung 2000/2001, mit UTM Koordinaten (bezogen auf WGS 84/ETRS 89). Potsdam.*

*Topographische Stadtkarte (1998). 84. Aufl. Potsdam: Landesvermessung und Geobasisinformation Brandenburg.*

*Übersichtskarte Berlin. Flanieren - Spazieren - Wandern ; 20 grüne Hauptwege ; mit vielen Extras: Spielplätze, Badestellen, Schutzgebiete, Gartendenkmale, Berliner Mauerweg ; auf 500 km Berlin und Umgebung erkunden (2008). 1. Aufl. Berlin: piekart.*

*Wandlitz (1998). [Normalausg.], mit UTM-Koordinaten (bezogen auf WGS 84/ETRS 89), 12. Aufl., umfassende Aktualisierung 1994. München.*

## Danksagung

Prof. Dr. Niedrig ermöglichte mir die Anfertigung dieser Doktorarbeit in seiner Arbeitsgruppe, wofür ich mich herzlich bedanke. Zusammen mit Dr. Oliver Donoso Mantke wählten er ein sehr interessantes Thema mit vielen Möglichkeiten aus und beide unterstützten mich bei der Ausführung der Arbeiten, indem sie keinen Zeit- und Arbeitsaufwand scheuten, um neu auftretende Fragen zu diskutieren und Probleme zu lösen. Mit ihren Ideen trugen sie in erheblichem Maß zur Realisierung dieser Arbeit bei. Bei Prof. Mutzel möchte ich mich dafür bedanken, dass er sich trotz seiner hohen Arbeitsbelastung für meine Arbeit interessierte und mich an der Freien Universität Berlin betreute. Es ist außergewöhnlich, dass man angesichts eines so hohen Maßes an Arbeit Ruhe und so viel Freundlichkeit ausstrahlt.

Ferdinand Rühle, Torsten Vor und Christian Kiffner führten mich nicht nur in die Arbeit von Wildbiologen und dem effizienten Zeckensammeln ein, sondern waren ein gutes Team bei der Erkundung der auch für Wein bekannten Gegend um Wald-Michelbach. Michael Ksinsik gebührt eine besondere Erwähnung und besonderen Dank, da er auf langen Autofahrten mit anregenden Diskussionen und Tipps meine Arbeit voranbrachte. Leider kann er sich nicht mehr mit mir über die Beendigung der Arbeit freuen. Hans Dautel arbeitete stets hilfsbereit mit mir zusammen und stellte immer ohne Zögern Zecken aus seiner Zucht zur Verfügung. Vielen Dank! Gleichmaßen gilt mein Dank Dr. Elmara Graser, Dr. Katjana Daskalow und Timo Hillebrand von der Firma AJ Innuscreen, die mir bei Fragen zu den von ihnen entwickelten Testkits zu jeder Zeit mit Rat und Tat zur Verfügung standen. Herr Dr. Thomas Talaska kooperierte mit uns bei der Sammlung von *Haemaphysalis concinna* und tauschte mit uns sein Wissen zu Zeckenarten und den übertragenen Krankheitserregern aus. Dadurch gab er viele Denkanstöße und half mir bei der Planung der Arbeit. Vielen Dank für diese Hilfsbereitschaft!

Herrn PD Dr. Nitsche und den Mitarbeiterinnen im Sequenzierlabor möchte ich für die Kooperation und die geleistete Arbeit herzlich danken.

Allen ehemaligen und aktuellen Mitarbeitern von ZBS 1 danke ich, weil sie als Gemeinschaft erst die Atmosphäre und Voraussetzungen schaffen, die nötig sind, um eine solche Arbeit anzufertigen. Selbst auf die Gefahr hin, dass ich jemanden vergesse möchte ich allen meinen Dank aussprechen: Anette, Anne, Antje, Camille, Chao, Christian, Constanze, Deli, Dia, Doreen, Hewad, Jan, Julia, Kata, Kathleen, Kretschi, Leonid, Marion, Matze, Nadine, Nina, Patricia, Petra Baer und Petra Kreher, Pranav, Regina, Rene, Robby, Sonja, Yin und Sim. Vielen Dank für die schöne Zeit und Eure Hilfe!

Meine Schwester Ruth nahm die Bürde auf sich die Arbeit korrekturzulesen, was bei meinen sprachlichen Qualitäten großen Dank verdient.

Beim Zeckensammeln wurde ich tatkräftig von meinem Vater unterstützt, der die Energie hatte, auch noch die tausendundeinste Larve vom Tuch herunterzusammeln und als Erfolg zu feiern. Ohne seine Motivation wären die monatlichen Sammelaktionen an 23 verschiedenen Sammelstellen nicht möglich gewesen. Vielen Dank für die Opferung von 30 langen Wochenenden und die Geduld meiner Mutter, die in dieser Zeit ihre Wochenenden alleine verbringen musste. Den Ehrenplatz am Ende dieser langen Liste bekommt Cristina, der ich mehr zu verdanken habe, als die Überarbeitung des Layouts dieser Arbeit. Auch wenn sie nicht weiß wie sie es macht, gibt sie mir die Motivation jeden Morgen aufzustehen und mein Bestes zu geben. Vielen Dank für so viel Frieden.

## Erklärung

gem. § 7 Abs. 4 der Promotionsordnung vom 04.09.2007 des Fachbereichs Biologie, Chemie, Pharmazie

Hierdurch versichere ich, dass ich meine Dissertation mit dem Titel

**Untersuchung von Zecken als Marker für die Gefährdung durch von ihnen übertragene Krankheiten**

selbständig ohne unerlaubte Hilfe angefertigt habe;

dass ich meine Dissertation, im Falle der Ablehnung, nur unter Hinweis auf diese Ablehnung für ein anderes Examen verwenden werde.

\_\_\_\_\_  
Datum, Ort

\_\_\_\_\_  
Unterschrift

---