

I. Einleitung

1.1 Das Bakterium *Bartonella henselae*

Die Familie *Bartonellaceae* beinhaltet 15 Spezies, von denen *Bartonella (B.) bacilliformis*, *B. elizabethae*, *B. quintana*, *B. clarridgeiae*, *B. grahamii* und *B. henselae* humanpathogen sind.^{1,2}

Bartonella henselae (B.h.) ist ein feines, leicht gebogenes, langsam wachsendes, gramnegatives Stäbchen, das 1990 entdeckt wurde.^{3, 4} Der Erreger vermehrt sich am besten bei 32-37°C und einem CO₂-Gehalt der Luft von 5%-7% in mit Blut oder mit Hämin und Fildes angereicherten Nährmedien.^{3, 5} Er wächst fakultativ intrazellulär^{6, 7, 8} und ist oxidase-, katalase- und ureasenegativ⁴.

B.h. ist der Erreger der Katzenkratzkrankheit, der Bazillären Angiomatose und der Bazillären Peliose. Weiterhin ist eine *B.-h.*-Erkrankung besonders bei Kindern eine wichtige Differentialdiagnose bei Fieber unklarer Genese.^{9, 10}

1.2 Katzenkratzkrankheit (KKK)

Die weltweit vorkommende KKK ist typischerweise eine gutartige, selbstlimitierende Krankheit, die ohne antibiotische Therapie nach 6 - 12 Wochen abheilt.^{11, 12} Sie beginnt mit dem Eindringen von *B.h.* durch eine Hautläsion. Diese Eintrittsstelle entsteht meistens durch den Kratzer oder Biß einer jungen Katze und zeigt im allgemeinen nach 3–5 Tagen eine 0,2 bis 1,0 cm große Makel, die sich zur Papel und anschließend zur Pustel weiterentwickelt. Ein bis zwei Wochen nach Entstehen der Eintrittsläsion kommt es zu einer lokalen Lymphadenitis.¹³ Besonders häufig schwellen die Lymphknoten des Kopfes, des Nackens oder der oberen Extremitäten auf 1-5 cm Durchmesser an, werden gelegentlich auch größer.^{11, 13, 14, 15} Hauptsächliche Erkrankungssymptome sind bei vielen Patienten erhöhte Körpertemperatur, Übelkeit, Abgeschlagenheit und Kopfschmerzen. Bei etwa 75% der Patienten ist der Krankheitsverlauf milde.¹³ Selten kommt es zu schweren Erkrankungen mit hohem Fieber, Arthralgien, Splenomegalie und eitrigen Einschmelzungen der Lymphknoten.^{13, 15, 16}

5-14% der Fälle verlaufen atypisch.^{14, 17} Sie gehen z.B. mit Augeninfektionen wie dem bereits 1889 beschriebenen Parinaudschen Syndrom¹⁸ oder systemischen Infektionen einher. Eine systemische *B.-h.*-Infektion kann sich bei Menschen z.B. durch lang andauerndes Fieber, Appetitlosigkeit, Arthralgie, Osteolyse¹⁹, Endokarditis²⁰, Meningitis²¹, atypische Pneumonie, Thrombozytopenie, Leber- und Milzabszesse und granulomatöse Hepatitis²² äußern.^{13, 15, 23} Im allgemeinen heilen auch diese Komplikationen folgenlos ab. Neue Studien weisen darauf hin, daß es häufiger als bisher angenommen zu einer generalisierten Manifestation von *B.-h.*-Infektionen kommt, die jedoch wegen ihrer unspezifischen oder atypischen Symptome bzw. eines weitgehend asymptomatischen Verlaufs häufig nicht diagnostiziert wird.^{24, 25}

Lediglich bei schwerem Krankheitsverlauf wird eine antibiotische Therapie mit Azithromycin²⁶, Rifampicin oder Ciprofloxacin²⁷ empfohlen.

Die KKK kann in jedem Alter auftreten, jedoch sind überwiegend junge Patienten betroffen.^{11, 13, 14, 28} In den USA liegt die Inzidenz zwischen 0,77 und 9,3 pro 100000 Einwohner pro Jahr.^{11, 17, 28}

Bereits 1931 beobachteten Debré und Semelaigne das Auftreten einzelner ungewöhnlicher Fälle von Lymphadenitis bei Kindern, die zuvor durch Katzen verletzt wurden.²⁹ Die erste ausführliche Beschreibung der KKK veröffentlichten Debré et al 1950.³⁰

Bis zur Entdeckung von *B.h.* hielt man eine Vielzahl von Mikroorganismen für den Erreger der KKK wie z.B. Chlamydien, Pasteurellen und Herpesviren.^{31, 32, 33} Auch wenn diese inzwischen als wesentliche pathogene Agentien der KKK ausgeschlossen wurden, so gab es doch einzelne Fälle der KKK, die nicht durch *B.h.* verursacht wurden, sondern durch den 1988 isolierten Erreger *Afipia felis*.^{34, 35, 36, 37, 38}

Bis Anfang der 90er Jahre diagnostizierte man die KKK, wenn drei der folgenden vier Kriterien zutrafen: 1) anamnestisch Verletzung durch eine Katze, 2) positiver KKK-Hauttest²⁹, 3) Ausschluß anderer Ursachen der Lymphadenopathie und 4) charakteristische Lymphknotenhistologie.¹⁵

Die Histopathologie der Lymphknoten ist charakterisiert durch nekrotisierende Granulome, Mikroabszesse, unspezifische entzündliche Infiltrate, Follikelhyperplasie und die Proliferation von Arteriolen.^{15, 16, 39} Mittels Warthin-Starry-Silber-Färbung lassen sich die Bakterien darstellen.

Seit der Entdeckung von *B.h.* als Erreger der KKK^{3, 4, 40} konnten diagnostische Methoden entwickelt werden, durch die auch die weniger typisch verlaufenden Erkrankungen erfaßt werden können: 1) Serologie: Antikörper im Blut können mittels Immunfluoreszenztest (IFT)⁴¹, Enzymimmunoassay (EIA)⁴², "enzyme-linked immunosorbent assay" (ELISA)⁴³ und Western Blot⁴⁴ bestimmt werden. 2) Kultur: *B.h.* konnte in Einzelfällen aus Blut oder Organbiopsien angezüchtet werden.⁴⁰ Obwohl an der Verbesserung der Kulturbedingungen gearbeitet wurde, mißlingt der kulturelle Nachweis der Erreger noch immer häufig.^{1, 45} 3) PCR: In Eiter oder befallenen Gewebe kann *B.-h.*-DNS mit 64-100%iger Sensitivität nachgewiesen werden.^{46, 47} Durch Kombination der verschiedenen Methoden werden eine hohe Sensitivität und Spezifität erreicht.^{46, 48}

1.3 Bazilläre Angiomatose (BA) und Bazilläre Peliose (BP)

Die seit 1983 vor allem bei HIV-positiven Patienten beschriebene Bazilläre Angiomatose (BA)^{49, 50} und die Bazilläre Peliose (BP), deren bakterielle Genese seit 1990 bekannt ist⁵¹, sind weitere Manifestationen einer *B.-h.*-Infektion.

Beide Erkrankungen bewirken Gefäßproliferationen, erweiterte Kapillaren und blutgefüllte Kavernen in multiplen Organen. Während die BP hauptsächlich Milz und Leber betrifft, verursacht die BA vor allem kutane oder subkutane Knoten, die einzeln oder multipel auftreten können und zum Teil schmerzhaft sind.⁴⁹ Weiterhin kann sich die BA an Gastrointestinaltrakt, Lymphknoten, Zentralem Nervensystem, Atemtrakt und Skelett manifestieren.^{52, 53, 54, 55} Zusätzlich können BA und BP zu Abgeschlagenheit, Übelkeit, Gewichtsverlust und rezidivierendem Fieber sowie zu weiteren organabhängigen Erkrankungszeichen führen.

Histologisch findet sich typischerweise die Proliferation kleiner Blutgefäße, die häufig von entzündlichen Infiltraten umgeben sind. Das Gefäßendothel weist veränderte Zellformen, Kernatypien, eine erhöhte Mitoserate und gehäufte Zellnekrosen auf. Mittels Warthin-Starry-Färbung oder Immunhistologie lassen sich Bartonellen perivaskulär nachweisen.^{52, 56, 57}

Ebenso wie die KKK werden BA und BP meistens durch Katzenkratzer oder -bisse übertragen. An diesen generalisierten Formen der *B.-h.*-Infektion erkranken hauptsächlich erwachsene immunsupprimierte Personen, vereinzelt jedoch auch Immunkompetente.^{58, 59, 60.}

^{61, 62, 63} Die BA wird nicht ausschließlich durch *B.h.* verursacht, sondern auch durch *B. quintana*, den Erreger des Schützengrabenfiebers.⁶⁴

Vor allem extrakutane Manifestationen können ohne antibiotische Therapie letal verlaufen.^{50, 52, 65} Es sollte daher frühzeitig eine Therapie mit Erythromycin begonnen werden, die im allgemeinen nach wenigen Wochen bis mehreren Monaten zur vollständigen Abheilung führt. Weitere mit Erfolg eingesetzte Antibiotika sind z.B. Doxycyclin, Minocyclin, Tetracyclin, Chloramphenicol und Azithromycin.⁶⁶

Zur Diagnostik von BA und BP können ebenso wie bei der KKK serologische, molekularbiologische, histologische und kulturelle Methoden verwendet werden. Ein Erregernachweis durch Organkulturen gelingt bei diesen Erkrankungen etwas häufiger als bei der KKK.

1.4 *B.-h.*-Infektionen beim Tier

1.4.1 B.-h.-Infektion der Katze

Der natürliche Wirt von *B.h.* ist weltweit die Hauskatze. Bei dieser besteht für gewöhnlich über Wochen bis Jahre eine Bakteriämie ohne klinische Krankheitszeichen.⁶⁷ Die Prävalenz von bakteriämischen Hauskatzen variiert von 8% in der Schweiz⁶⁸ und 12% in Deutschland⁶⁹ über 28% in den USA⁷⁰ und 33% in Österreich⁷¹ bis zu 68% auf den Philippinen⁷². Auch freilebende Raubkatzen weisen Antikörper gegen *B.h.* auf.⁷³ *B.h.* wird am häufigsten durch Kratzer und Bisse von Katzen, die jünger als ein Jahr alt sind und Flöhe haben, übertragen.^{11, 74} Experimentell gelang sowohl der Nachweis von *B.h.* in Flöhen als auch die Infektion von Katzen durch infizierte Flöhe.^{67, 75, 76} Wahrscheinlich sind Katzenflöhe auch an der Übertragung von *B.h.* auf Menschen beteiligt.^{77, 78} Eine sexuelle oder perinatale Übertragung von *B.h.* konnte bisher bei Katzen nicht festgestellt werden.^{79, 80}

In Einzelfällen kommt es auch bei natürlich infizierten immunkompetenten Katzen zu einer Erkrankung durch Bartonellen.⁸¹

1.4.2 *B.-h.-Infektionen bei anderen Tierspezies*

Auch wenn es einzelne Berichte über KKK-Übertragungen durch Hunde gibt^{15, 82}, konnte in einer Studie von Demers et al. kein Hund mit *B.-h.-*Bakteriämie gefunden werden.⁸³

Kitchell et al. berichteten jedoch von einem Hund, der an *B.-h.-*bedingter Peliosis-Hepatis erkrankt war.⁸⁴

Kosoy et al. untersuchten das Blut freilebender Nagetiere. Bei etwa 50% der Tiere konnten sie Bartonellen nachweisen, wobei z.T. eine Nagetierspezies mit mehreren *Bartonella*-Spezies infiziert war. Im Gegensatz zu bakteriämischen Katzen wiesen jedoch nur 1,5% der Nagetiere signifikante serologische IgG-Titer im IFT auf.⁸⁵

In einer Studie von Ellis et al. wurden Ratten unterschiedlicher Kontinente untersucht mit dem Ergebnis, daß Rattenspezies ein entscheidendes Reservoir für Bartonellen darstellen.⁸⁶ Möglicherweise verbreiten sich die Bakterien bei Nagetieren über vertikale Transmission.⁸⁷

Auch die Übertragung von *B.h.* durch Insekten ist vereinzelt beschrieben worden.^{15, 88}

1.4.3 *Tierexperimentelle Untersuchungen*

B.h. führt zu unterschiedlichen Erkrankungen mit einem breiten klinischen Spektrum. Die experimentelle Infektion von Versuchstieren ermöglicht Untersuchungen der Übertragungswege, der Pathogenese, der Abwehrreaktionen des Wirts und der Therapie in vivo. Ein Tiermodell hilft bei der Analyse des Krankheitsverlaufs und kann Hinweise geben auf die Verteilung, Vermehrung und Elimination des Bakteriums in lebenden Organismen. Außerdem lassen sich tierexperimentell Änderungen des Krankheitsverlaufs in Abhängigkeit von Alter und Immunstatus des Wirts sowie Infektionsdosis und Erregerstamm untersuchen. Die wenigen publizierten tierexperimentellen Untersuchungen wurden vorwiegend mit Katzen durchgeführt.

Zum ersten Mal wurden Krankheitszeichen bei experimentell mit *B.h.* infizierten Katzen durch Guptill et al. dokumentiert. Sie fanden bei den intravenös (i.v.) infizierten Tieren kurzzeitige Fieberphasen sowie eine lymphoide Hyperplasie mit Ausbildung sekundärer Keimzentren in Milz und peripheren Lymphknoten. Zusätzlich traten bei einigen Katzen

einzelne Mikroabszesse, Granulome und weitere entzündliche Veränderungen in Milz, peripheren Lymphknoten, Leber, Niere und Herz auf.⁸⁹ Kordick et al. entdeckten bei klinisch gesunden Katzen nach Infektion mit *B.h.* und bzw. oder *B. clarridgeiae* ähnliche histologische Veränderungen. Es kam ebenfalls zu einer Hyperplasie von Lymphknoten und Milz sowie zu lymphatischen Infiltraten des Lebergewebes, der Gallengänge und von Nieren und Myokard. Die Autoren deuteten diese Entdeckungen als Beweis einer chronischen Infektion der Tiere.⁹⁰ O'Reilly et al. injizierten Katzen einen neu isolierten *B.-h.*-Stamm. Innerhalb von 72 Stunden zeigten alle Tiere eine rote, geschwollene Inokulationsstelle und entwickelten Fieber, Lethargie und Bakteriämie. Die Forscher entwickelten daraufhin die These, daß es unterschiedlich virulente *B.-h.*-Stämme gibt.^{91,92}

1.4.4 Problemstellung

Zwar eignet sich die Katze als natürlicher Wirt von *B.h.* für viele tierexperimentelle Untersuchungen. Wesentliche Nachteile sind jedoch der Umstand, daß häufig nur eine geringe Anzahl von Tieren zur Verfügung steht und daß die Haltung der Tiere aufwendiger und teurer als die von kleinen Nagetieren ist.

Grundlegende Erkenntnisse über zahlreiche Infektionskrankheiten wurden durch Experimente mit Mäusen gewonnen. Diese murinen Infektionsmodelle bieten eine gute Vergleichsbasis bei der Erforschung weiterer Krankheiten bakterieller Genese wie der KKK. Für die Arbeit mit Mäusen sprechen weiterhin die zahlreichen etablierten Untersuchungsmethoden zur Erfassung immunologischer Vorgänge im Organismus der Maus.

Noch immer stellt der zuverlässige Nachweis einer *Bartonella*-Infektion sogar für spezialisierte Labore ein Problem dar. Die Isolierung von Bartonellen dient daher nicht nur als diagnostisches Mittel, sondern ist auch wichtig zur Evaluierung der benötigten verbesserten Nachweismethoden und hilft beim Verständnis der Vielfalt und Epidemiologie der Erreger und der von ihnen verursachten Erkrankungen.⁴⁵

Der kulturelle Nachweis von *B.h.* aus menschlichen Organen stellt also noch immer keine zuverlässige diagnostische Methode dar.^{1, 45} PCR-basierte und serologische Methoden zum Nachweis von *B.h.* weisen eine deutlich höhere Sensitivität als die Erreger-Kultur auf.⁴⁵ Ein zusätzliches Problem besteht in der Überwucherung der Kulturen durch andere Bakterien oder

Pilze während des langsamen Wachstums von *B.h.* Aufgrund der hohen Empfindlichkeit von *B.h.* gegen viele Antibiotika würde ein präventives Hinzufügen von antibiotisch bzw. antimykotisch wirkenden Medikamenten die Sensitivität des kulturellen Nachweises weiter vermindern.⁹³ Auch die vorherige antibiotische Behandlung von Patienten beeinflusst die Ergebnisse von *B.-h.*-Blutkulturen signifikant.⁴⁵

Weitere Untersuchungen der Isolierbarkeit von *B.h.* aus dem murinen Organismus könnten daher auch helfen, *B.h.* mit größerem Erfolg aus menschlichen Organen zu kultivieren.

Neue Untersuchungen bei Menschen weisen darauf hin, daß es bei der KKK häufiger als bisher angenommen zu entzündlichen Veränderungen von Leber und Milz kommt.^{24, 25} Ein murines Tiermodell bietet die Möglichkeit, diese noch relativ selten diagnostizierte Komplikation der KKK näher zu untersuchen.

Zuverlässige, einfach durchzuführende serologische Methoden sind besonders gut geeignet, um Infektionskrankheiten rasch, kostengünstig und wenig invasiv zu diagnostizieren. Außerdem sind sie gut zur Beurteilung des Infektionsverlaufs und der Effektivität einer antibiotischen Therapie geeignet.

Seit der Etablierung eines Immunfluoreszenztests (IFT) zum Nachweis von *B.-h.*-Antikörpern durch Regnery et al. 1992⁴¹ ist der serologische Erregernachweis wesentlicher Bestandteil der Diagnostik der KKK. Auch Patienten mit BA und BP produzieren Antikörper gegen *B.h.* Bei diesen ist die Serologie jedoch aufgrund des immunsupprimierten Status eher zur nachträglichen Bestätigung als zur Akut-Diagnostik geeignet.⁴⁵ Zur Zeit werden *B.-h.*-Antikörper mit IFT, Enzymimmunoassay (EIA), "enzyme-linked immunosorbent assay" (ELISA) oder Western blot nachgewiesen.^{41, 42, 43, 44} Die Sensitivität und Spezifität der verschiedenen Testverfahren wird jedoch immer wieder unterschiedlich bewertet.^{44, 94, 95, 96}

Ein weiteres Problem bei der Bestimmung von *B.-h.*-Antikörper-Titern mit IFT und EIA ist die in mehreren Studien ermittelte hohe Seroprävalenz von *B.-h.*-Antikörpern in Kontrollgruppen oder bei Familienangehörigen von KKK-Patienten, bei denen anamnestisch kein Hinweis auf eine stattgefundene KKK vorlag bzw. ein bei einzelnen Kontrollpersonen festgestellter hoher Antikörper-Titer.^{11, 41, 94, 95} Diese Befunde zeigen, wie kompliziert die Festlegung ist, ab welchen Antikörper-Titern von einer aktuellen Erkrankung durch *B.h.* auszugehen ist. Dies ist um so problematischer, da es anscheinend bei Patienten mit KKK

keinen Standard-Verlauf der IgG- und IgM-Antikörperproduktion gibt.⁹⁴ Mit Hilfe eines Maus-Modells könnten die verschiedenen Testverfahren bei Individuen evaluiert werden, die vor Durchführung der Untersuchung garantiert keinen Kontakt zu Bartonellen gehabt haben und alle mit definierten Erregerdosen infiziert wurden. Auch der Verlauf der Bildung der verschiedenen Antikörperklassen ließe sich so detailliert studieren.

Die Untersuchung von Antikörpern gegen *B.h.* in Mäusen könnte die Entwicklung von Impfstoffen forcieren und Erkenntnisse über den Schutz vor Reinfektionen erbringen.^{1, 80, 97} Könnten z.B. Katzen gegen *B.-h.*-Infektionen geimpft werden, würde der wesentliche Übertragungsweg von *B.h.* auf den Menschen ausgeschaltet.

1.4.5 Stand der Forschung

Bisher sind erst sehr wenige Arbeiten veröffentlicht, die sich mit dem Infektionsverlauf in der Maus beschäftigen. Regnath et al. beschrieben 1998 ein Mäuse-Modell, in dem intraperitoneal (i.p.) infizierte C57BL/6-Mäuse über einen Zeitraum von 94 Tagen untersucht wurden. Innerhalb der ersten drei Tage ließen sich Bartonellen aus der Leber anzüchten und innerhalb von sechs Tage aus der Milz. Der Nachweis von *B.-h.*-DNS aus Lebergewebe gelang an allen vier Untersuchungszeitpunkten, d.h. nach 21, 36, 64 und 94 Tagen. In den Lebern wurde weiterhin zwischen dem dritten Tag post infectionem (p.i.) und dem 68. Tag die Ausbildung entzündlicher Infiltrate beobachtet. Diese bestanden hauptsächlich aus CD4⁺ Lymphozyten oder CD11b⁺ Monozyten und geringen Mengen an CD8⁺ Lymphozyten.⁹⁸

In ihrer Arbeit von 1999 mit Balb/c-Mäusen gelang Karem et al. bei i.p. Inokulation einer Dosis von 3 ± 10^8 KBE die Anzüchtung von *B.h.* aus Leber, Milz, Nieren und mesenterialen Lymphknoten bis 24h p.i.. Außerdem ließ sich *B.-h.*-DNS nach i.p. Infektion sechs Stunden bis sieben bzw. sechs Tage p.i. in Leber und mesenterialen Lymphknoten nachweisen, in Nieren und Milz 72 h und sieben Tage p.i. Eine *B.-h.*-spezifische humorale Immunantwort ließ sich bei einmaliger subkutaner (s.c.), intravenöser, oraler oder intranasaler Inokulation ab dem 21. bis zum 52. Tag p.i. nachweisen. In Abhängigkeit vom Infektionsweg konnte die Stimulierung von CD4⁺ T-Zellen sowie die Produktion von IFN- γ und IL-4 festgestellt werden.⁹⁹

Obwohl Menschen hauptsächlich durch Kratz- und Bißverletzungen mit *B.h.* infiziert werden, benutzten die bislang publizierten Untersuchungen an Mäusen Tiere, die i.p. infiziert worden waren.^{98, 99} Karem et al. verglichen zwar zusätzlich in einigen Experimenten intravenösen, intranasalen, oralen und subkutanen Inokulationsweg, ihre molekularbiologischen und histologischen Untersuchungen führten sie jedoch ausschließlich an Mäusen durch, denen die Erreger in den Bauchraum injiziert worden waren.⁹⁹ Bisher gibt es aber weder bei Menschen noch bei Katzen einen Hinweis auf einen derartigen, natürlich vorkommenden Infektionsweg. Die lokalen und systemischen Reaktionen des murinen Immunsystems auf intradermale Injektion von *B.h.*, d.h. eine dem hauptsächlichlichen Übertragungsweg entsprechende Erregerapplikation, wurden noch nicht beschrieben.

Die bereits publizierten Arbeiten lassen weiterhin die Frage offen, warum nach einer *B.-h.-* Infektion die meisten Immungesunden an KKK erkranken, während andere, hauptsächlich Immunsupprimierte, BA und BP entwickeln. Ob der verwendete Erreger-Stamm den Verlauf und die Symptome einer *B.-h.-* Infektion beeinflusst, wurde tierexperimentell bisher kaum untersucht, obwohl sowohl von Menschen als auch von Katzen verschiedene *B.-h.-* Stämme isoliert wurden.^{100, 101, 102, 103} Für die Infektion von Mäusen wurde in der Vergangenheit ausschließlich der *B.-h.-* Stamm Houston-1 (ATCC #49882) genutzt.^{98, 99}

Obwohl es Hinweise für chronische Verläufe von *B.-h.-* Infektionen gibt^{15, 90}, wurden Mäuse bisher maximal über einen Zeitraum von drei Monaten untersucht.

1.4.6 Fragestellung

In dieser Arbeit sollte daher ein murines Infektionsmodell etabliert werden, das es ermöglicht, den Verlauf einer *B.-h.-* Infektion nach intradermaler Erreger-Injektion über einen langen Zeitraum zu untersuchen und das für weitere Untersuchungen des Erregers und der durch ihn verursachten Erkrankungen einfach anzuwenden ist.

Im einzelnen ergaben sich für die vorliegende Arbeit daher folgende Fragestellungen:

Wie ist der Infektionsverlauf nach intradermaler Injektion von *B.h.* bei C57BL/6-Mäusen über einen Zeitraum von 20 Wochen?

- Kommt es zur Persistenz von *B.h.* im murinen Organismus?
 - Über welchen Zeitraum kann *B.h.* mit Hilfe kultureller und molekularbiologischer Methoden in lokalen Lymphknoten sowie Leber und Milz nachwiesen werden?
- Entwickelt die Maus eine immunologische Abwehrreaktion?
 - Kommt es zu einer lokalen Immunantwort?
 - Kann eine systemische Immunantwort nachgewiesen werden?
- Unterscheidet sich der Krankheitsverlauf bei intrakutaner Infektion mit unterschiedlichen *B.-h.*-Stämmen?