

Tierärztliche Hochschule Hannover

**Prävalenz von *Borrelia burgdorferi* sensu lato, *Rickettsia* spp. und
Anaplasma phagocytophilum in Schildzecken (*Ixodes* spp.) aus
dem Stadtgebiet Hannover**

Inaugural-Dissertation
Zur Erlangung des Grades einer
Doktorin der Veterinärmedizin
-Doctor medicinae veterinariae-
(Dr. med. vet.)

Vorgelegt von
Julia Tappe
Hannover

Hannover 2014

Wissenschaftliche Betreuung: Prof. Dr. C. Strube, PhD, Institut für Parasitologie

1. Gutachter: Prof. Dr. C. Strube, PhD, Institut für Parasitologie
2. Gutachter: Prof. Dr. R. Mischke, Klinik für Kleintiere

Tag der mündlichen Prüfung: 20.11.2014

Meinem Mann,
in Liebe

A) Teile dieser Arbeit wurden bereits auf folgenden Tagungen vorgestellt:

Julia Tappe, Thomas Schnieder, Christina Strube (2012)

Prävalenz von *Borrelia* spp, *Rickettsia* spp. und *Anaplasma phagocytophilum* in *Ixodes ricinus* im Stadtgebiet Hannover

Tagungsband der DVG Fachgruppe „Parasitologie und parasitäre Krankheiten“

Hannover, 02.-04.07.2012

B) Abstracts zu Teilen dieser Arbeit wurden bereits in folgenden Journalen veröffentlicht:

Julia Tappe, Thomas Schnieder, Christina Strube (2012)

Prävalenz von *Borrelia* spp., *Rickettsia* spp. und *Anaplasma phagocytophilum* in *Ixodes ricinus* im Stadtgebiet Hannover

Tierärztliche Praxis Ausgabe K Kleintiere Heimtiere 40 (4), A31

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
2	Publikationen	4
2.1	<i>Anaplasma phagocytophilum</i> - und <i>Rickettsia</i> spp.-Infektionen in Schildzecken (<i>Ixodes ricinus</i>) im Stadtgebiet Hannover	4
2.2	<i>Borrelia burgdorferi</i> s.l.-Infektionen in Schildzecken (<i>Ixodes ricinus</i>) im Stadtgebiet Hannover.....	4
3	Zusammenfassung der Ergebnisse	5
3.1	Probenmaterial	5
3.2	Detektion von <i>A. phagocytophilum</i> in <i>I. ricinus</i>	5
3.3	Detektion von <i>Rickettsia</i> spp. in <i>I. ricinus</i>	9
3.4	Detektion von <i>Borrelia burgdorferi</i> s.l. in <i>I. ricinus</i>	13
3.5	Genospeziesidentifizierung von <i>B. burgdorferi</i> s.l.	17
3.6	Koinfektionen mit <i>B. burgdorferi</i> s.l. und Mikroorganismen der Ordnung Rickettsiales	21
3.7	Vergleich der Infektionszahlen aus 2010 mit dem Jahr 2005.....	23
4	Übergreifende Diskussion	24
5	Zusammenfassung	30
6	Summary	32
7	Literaturverzeichnis	34
8	Anhang	40
8.1	Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen	40
8.2	Abbildungs- und Tabellenverzeichnis	41

1 Einleitung

Die Schildzecke *Ixodes ricinus* (Linneé 1758), welche in Europa die am häufigsten vorkommende Zeckenart ist, fungiert für eine Vielzahl von human- und tierpathogenen Erregern als Vektor. Neben Viren wie dem Erreger der Frühsommer-Meningoenzephalitis und Protozoen wie Babesien, sind *I. ricinus*-Zecken vor allem wegen ihrer Übertragung bakterieller Zoonoseerreger bekannt. Zu den wichtigsten Vertretern dieser Gruppe gehören in Europa *Anaplasma phagocytophilum*, *Rickettsia* spp. sowie verschiedene Genospezies des *Borrelia burgdorferi* sensu lato (s.l.)-Komplexes. Während *A. phagocytophilum* und *Rickettsia* spp. der Gruppe Gram-negativer, obligat intrazellulärer α -Proteobakterien der Ordnung Rickettsiales angehören, sind Borrelien Gram-negative, mikroaerophile, zur Familie der Spirochaetaceae (Spirochäten) gehörende Mikroorganismen.

A. phagocytophilum verursacht beim Menschen die humane granulozytäre Anaplasmosenose (HGA). Diese Erkrankung, bei der vor allem Granulozyten und Monozyten, aber auch Endothelzellen und myeloide Zellen von den pathogenen Erregern infiltriert werden, zeichnet sich durch eher unspezifische, grippeartige Symptome wie Fieber, Kopfschmerzen, Muskelschmerzen und allgemeinem Unwohlsein aus. Bei Wiederkäuern führt eine Infektion vor allem zu ökonomischen Verlusten durch Reduktion der Milchproduktion, verminderte Gewichtszunahme und Aborte. Auch Hunde und Pferde können an Anaplasmosenose erkranken, hier werden Symptome wie Fieber, Apathie, Lahmheit, Anämie, Thrombozytopenie und Leukopenie beschrieben. Kleine Säugetiere, wie verschiedene Mausarten oder auch Igel, Schafe und Rehwild dienen *A. phagocytophilum* als Reservoirwirte.

Verschiedene Rickettsienarten sind als Erreger von Fleckfieber bekannt. In Deutschland konnten in *I. ricinus* bisher vor allem *R. helvetica* und *R. monacensis* nachgewiesen werden, jedoch gibt es laut SIMSER et al. (2002) und DOBLER u. WÖLFEL (2009) auch Nachweise über *R. massiliae* und *R. felis*.

R. helvetica kann beim Menschen die so genannte „Sommergrippe“ („summer flu“) verursachen, eine grippeähnliche, fiebrige Erkrankung mit Kopf- und Muskelschmerzen, die

in schweren Verläufen aber auch zu Meningitis und Perimyokarditis führen kann. Im Gegensatz zum klassischen Fleckfieber verläuft diese Erkrankung jedoch meist ohne charakteristischen Hautausschlag. *R. monacensis* und *R. massiliae* hingegen verursachen die klassische Form des Fleckfiebers mit Fieber, Kopfschmerzen, fleckigem Hautausschlag und dunkler Verschorfung an der Einstichstelle. *R. felis* ist der Erreger des Floh-Fleckfiebers, welches zusätzlich zu einer fieberhaften Allgemeininfektion zu einem masernähnlichen Hautausschlag führt. Zecken dienen *Rickettsia* spp. sowohl als Haupt- wie auch als Reservoirwirt, weiterhin werden nach DOBLER et al. (2008) auch kleine Nagetiere als Reservoirwirte vermutet.

Die Lyme-Borreliose, eine von verschiedenen *Borrelia*-Genospezies des *B. burgdorferi* s.l.-Komplexes ausgelöste Erkrankung, ist eine der beim Menschen am häufigsten auftretende von Arthropoden übertragene Krankheit der nördlichen Hemisphäre, deren Vorkommen in den letzten 20 Jahren rapide zugenommen hat. Zurzeit werden dem *B. burgdorferi*-Komplex weltweit 19 verschiedene Genospezies zugeordnet. Bisher wurden in Europa 11 Genospezies des Komplexes nachgewiesen: *B. burgdorferi* sensu stricto (s.s.), *B. afzelii*, *B. bavariensis*, *B. bissettii*, *B. garinii*, *B. lusitaniae*, *B. spielmanii*, *B. valaisiana*, *B. kurtenbachii* (ehemals zu *B. bissettii* zugehörig), *B. finlandensis* und *B. carolinensis* (HILDEBRANDT et al. 2003; COLLARES-PEREIRA et al. 2004; FINGERLE et al. 2008; MARGOS et al. 2009; RUDENKO et al. 2009; COTTE et al. 2010; CASJENS et al. 2011; SKUBALLA et al. 2012 u. RICHTER et al. 2013). Alle genannten Spezies mit Ausnahme von *B. finlandensis* und *B. carolinensis* werden mit den mannigfaltigen Formen der Lyme-Borreliose in Zusammenhang gebracht, wie zum Beispiel Erythema migrans, Acrodermatitis chronica atrophicans, Lyme arthritis und Neuroborreliose. Europaweit sind viele Reservoirwirte für *B. burgdorferi* s.l. bekannt, wie beispielsweise kleine Nagetiere, Igel, Eichhörnchen, Eidechsen und viele Vogelarten.

Aufgrund der Häufigkeit von *I. ricinus* in Deutschland und der damit verbundenen Gefährdung für die Gesundheit von Menschen und Tieren durch beim Saugakt übertragbare Krankheitserreger, ist eine kontinuierliche Erhebung von Infektionsraten der Zecken eine Grundvoraussetzung zur Einschätzung des vorhandenen Infektionsrisikos für Mensch und

Tier. Die vorliegende Studie dient als Folgestudie zu einer Datenerhebung von 2005, bei der Hannoversche Zecken auf das Vorkommen der drei beschriebenen Erreger analysiert wurden. Hierfür wurden im Jahr 2010 an 10 verschiedenen Standorten innerhalb der Stadtgrenzen Hannovers insgesamt 2100 Zecken der Spezies *I. ricinus* mit der Flaggmethode gesammelt und anschließend mittels Sonden-basierter quantitativer Real-time PCR auf eine Infektion mit *A. phagocytophilum*, *Rickettsia* spp. und *B. burgdorferi* s.l. hin untersucht. Zusätzlich wurden *Rickettsia*- bzw. *B. burgdorferi* s.l.-positive Proben einer Artbestimmung unterzogen. Die *Rickettsia*-spezies wurde mit Hilfe der Pyrosequenzierung bestimmt, während zur Determination der *Borrelia*-Genospezies der *Reverse Line Blot* (RLB) mit anschließender Sanger-Sequenzierung zur Abgrenzung von *B. garinii* und *B. bavariensis* verwendet wurde. Die erhaltenen Ergebnisse wurden zur Auswertung mit den Daten von 2005 verglichen, um die Entwicklung von Infektionszahlen in Zecken (Stagnation, Anstieg oder Verminderung) beurteilen zu können.

2 Publikationen

2.1 *Anaplasma phagocytophilum*- und *Rickettsia* spp.-Infektionen in Schildzecken (*Ixodes ricinus*) im Stadtgebiet Hannover

TAPPE, J. u. C. STRUBE (2013):

Anaplasma phagocytophilum and *Rickettsia* spp. infections in hard ticks (*Ixodes ricinus*) in the city of Hanover (Germany): Revisited.

Ticks Tick Borne Dis. 4, 432-438

doi: 10.1016/j.ttbdis.2013.04.009. Epub 2013 Jul 6

2.2 *Borrelia burgdorferi* s.l.-Infektionen in Schildzecken (*Ixodes ricinus*) im Stadtgebiet Hannover

TAPPE, J., D. JORDAN, E. JANECEK, V. FINGERLE u. C. STRUBE (2014):

Revisited: *Borrelia burgdorferi* sensu lato infections in hard ticks (*Ixodes ricinus*) in the city of Hanover (Germany).

Parasit. Vectors 7, 441

doi: 10.1186/1756-3305-7-441

3 Zusammenfassung der Ergebnisse

3.1 Probenmaterial

Im Jahr 2010 wurden von April bis Oktober 2100 Zecken mittels Flaggenmethode an 10 gleichmäßig im Stadtgebiet Hannover gelegenen Orten gesammelt. Diese Orte waren im Norden Hannovers Mecklenheide und Große Heide, im Osten Misburger Wald und Annateiche, im Süden Seelhorster Wald und Ricklinger Teiche, im Westen Bornumer Holz und Georgengarten und im Zentrum Eilenriede (nahe der Musikhochschule) und Maschpark. Pro Monat und Ort wurden jeweils 30 Zecken geflaggt. Die gesammelten Zecken konnten allesamt der Spezies *I. ricinus* zugeordnet werden und wurden als 372 Adulte, von denen 196 Männchen und 176 Weibchen waren, sowie 1697 Nymphen und 31 Larven differenziert.

3.2 Detektion von *A. phagocytophilum* in *I. ricinus*

Bei der Untersuchung des Probenmaterials auf *A. phagocytophilum* mittels Sonden-basierter quantitativer Real-time PCR (qPCR) ergab sich eine Gesamtprävalenz von 4,5 % (91/2100 Zecken). Männchen zeigten einen Befall von 5,6 % (11/196) und in Weibchen betrug die Infektionsrate 3,4 % (6/176), wodurch sich für Adulte eine Gesamtprävalenzrate von 4,6 % (17/372) ergab. Nymphen waren zu 4,5 % (76/1697) und Larven zu 3,2 % (1/31) mit *A. phagocytophilum* infiziert. Statistische Analysen ergaben keine signifikanten Unterschiede zwischen den Infektionsraten der einzelnen Stadien. Im Jahresverlauf zeigten die Untersuchungen eine vergleichsweise höhere Infektionszahl im Mai (6,0 %; 18/210) und im September (9,7 %; 29/210), wodurch entsprechend statistisch signifikante Unterschiede zwischen September und den Monaten April ($p < 0,001$), Juni ($p = 0,001$) und Juli ($p = 0,001$) resultierten. Die Auswertung der einzelnen Sammelorte ergab keine signifikanten Unterschiede. Eine Übersicht über die Infektionsraten der einzelnen Stadien ist in Tabelle 1 dargestellt. Abbildung 1 zeigt die saisonale Verteilung infizierter Zecken inklusive statistisch signifikanter Unterschiede, während Tabelle 2 die Verteilungsmuster an den einzelnen Sammelorte auflistet.

Tab. 1: Verteilung *A. phagocytophilum*-positiver *I. ricinus*-Zecken im Jahr 2010

	April	Mai	Juni	Juli	August	September	Oktober	Total
Adulte	3/89	4/48	1/39	3/41	0/56	5/52	1/47	17/372
(%)	(3,4)	(8,3)	(2,6)	(7,3)	(0,0)	(9,6)	(2,1)	(4,6)
Männchen	3/57	3/29	0/19	2/24	0/24	3/25	0/18	11/196
(%)	(5,3)	(10,3)	(0,0)	(8,3)	(0,0)	(12,0)	(0,0)	(5,6)
Weibchen	0/32	1/19	1/20	1/17	0/32	2/27	1/29	6/176
(%)	(0,0)	(5,3)	(5)	(5,9)	(0,0)	(7,4)	(3,4)	(3,4)
Nymphen	4/201	14/248	7/261	6/259	12/244	24/241	9/243	76/1697
(%)	(2,0)	(5,6)	(2,7)	(2,3)	(4,9)	(9,9)	(3,7)	(4,5)
Larven	1/10	0/4	0/0	0/0	0/0	0/7	0/10	1/31
(%)	(10,0)	(0,0)	n.e.*	n.e.*	n.e.*	(0,0)	(0,0)	(3,2)
Total	8/300	18/300	8/300	9/300	12/300	29/300	10/300	94/2100
(%)	(2,7)	(6,0)	(2,7)	(3,0)	(4,0)	(9,7)	(3,0)	(4,5)

*n.e.: nicht ermittelbar

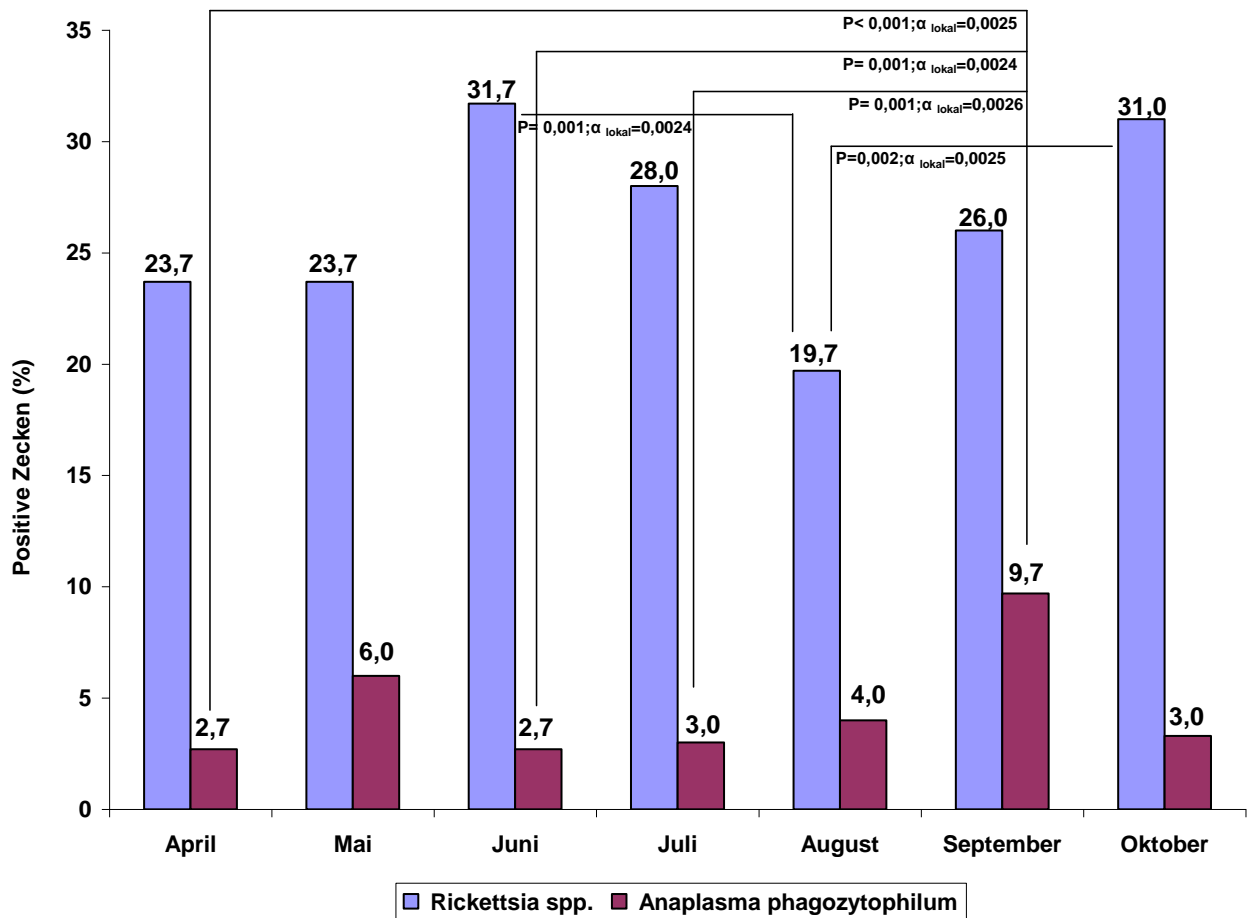


Abb. 1: Saisonale Infektionsraten von *A. phagocytophilum* und *Rickettsia* spp. im Jahr 2010

Tab. 2: Verteilung *A. phagocytophilum*-positiver *I. ricinus* an den verschiedenen Sammelorten in Hannover

	Mecklen- heide	Große Heide	Misburger Wald	Anna- teiche	Seelhorster Wald	Ricklinger Teiche	Bornumer Holz	Georgen- garten	Eilenriede	Maschpark
Adulte	0/21	0/22	9/35	2/27	1/42	4/46	5/44	2/53	0/36	1/46
(%)	(0,0)	(0,0)	(25,7)	(14,8)	(2,4)	(8,7)	(11,4)	(8,7)	(0,0)	(2,2)
Männchen	0/12	0/6	2/17	2/16	0/19	3/28	1/21	2/27	0/26	1/24
(%)	(0,0)	(0,0)	(11,8)	(12,5)	(0,0)	(10,7)	(4,8)	(7,4)	(0,0)	(4,2)
Weibchen	0/9	0/16	7/18	0/11	1/23	1/18	4/23	0/26	0/10	0/22
(%)	(0,0)	(0,0)	(38,9)	(0,0)	(4,3)	(5,6)	(17,4)	(0,0)	(0,0)	(0,0)
Nymphen	6/186	4/182	0/170	4/182	8/168	2/161	9/148	11/148	9/171	16/164
(%)	(3,2)	(2,2)	(0,0)	(2,3)	(4,8)	(1,2)	(6,1)	(7,4)	(5,3)	(9,8)
Larven	0/3	0/6	0/5	0/1	0/0	0/1	0/1	1/9	0/3	0/0
(%)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	n.e.*	(0,0)	(0,0)	(11,1)	(0,0)	n.e.*
Total	6/210	4/210	9/210	6/210	9/210	6/210	14/210	14/210	9/210	17/210
(%)	(2,9)	(1,9)	(4,3)	(2,9)	(4,3)	(2,9)	(6,7)	(6,7)	(4,3)	(8,1)

*n.e.: nicht ermittelbar

3.3 Detektion von *Rickettsia* spp. in *I. ricinus*

Die Untersuchung der gesammelten Zecken auf *Rickettsia* spp. mittels qPCR ergab eine Gesamtprävalenz von 26,2 % (551/2100). Männchen zeigten eine Prävalenzrate von 28,6 % (56/196) und in Weibchen betrug die Infektionsrate 32,4 % (57/176), wodurch sich für Adulte eine Gesamtprävalenzrate von 30,4 % (113/372) ergab. Nymphen waren zu 25,5 % (433/1697) und Larven zu 16,1 % (5/31) mit *Rickettsia* spp. infiziert. Statistische Analysen ergaben keine signifikanten Unterschiede zwischen den Infektionsraten der einzelnen Stadien. Im Jahresverlauf ergaben die Untersuchungen zwei Infektionshöhepunkte (*peaks*). Der erste war im Juni mit 31,7 % (95/300) positiven Zecken zu verzeichnen, gefolgt von einem Abfall der Infektionsraten auf ein Minimum von 19,7 % (58/300) im August, woran sich ein erneuter Anstieg auf das zweite Infektionsmaximum im Oktober mit 31,0 % (93/300) positiven Zecken anschloss. Hieraus ergaben sich entsprechend statistisch signifikante Unterschiede zwischen den Monaten Juni und August ($p=0,001$) sowie zwischen August und Oktober ($p=0,002$). Die Auswertung der einzelnen Sammelorte ergab signifikante Unterschiede zwischen den Orten „Maschpark“ mit der höchsten Prävalenzrate von 36,2 % (76/210) und „Georgengarten“ ($p<0,001$), in dem die niedrigste Infektionsrate mit 19,5 % (41/210) gefunden wurde. Weitere signifikante Unterschiede ergaben sich außerdem zwischen „Eilenriede“ (33,8 %; 71/210) und „Georgengarten“ ($p=0,001$), „Mecklenheide“ (20,5 %; 43/210) und „Maschpark“ ($p<0,001$) sowie „Bornumer Holz“ (20,5 %; 43/210) und „Maschpark“ ($p<0,001$). Eine Übersicht über die Infektionsraten der einzelnen Stadien ist in Tabelle 3 dargestellt. Tabelle 4 zeigt die Verteilungsmuster an den einzelnen Sammelorten.

Tab. 3: Verteilung *Rickettsia* spp.-positiver *I. ricinus*-Zecken im Jahr 2010

	April	Mai	Juni	Juli	August	September	Oktober	Total
Adulte	22/89	16/48	13/39	15/41	15/56	13/52	19/47	113/372
(%)	(24,7)	(33,3)	(33,3)	(36,6)	(26,8)	(25,0)	(40,4)	(30,4)
Männchen	14/57	12/29	5/19	9/24	6/24	4/25	6/18	56/196
(%)	(24,6)	(41,4)	(26,3)	(37,5)	(25,0)	(16,0)	(33,3)	(28,6)
Weibchen	8/32	4/19	8/20	6/17	9/32	9/27	13/29	57/176
(%)	(25,0)	(21,2)	(40,0)	(35,6)	(28,1)	(33,3)	(44,8)	(32,4)
Nymphen	48/201	53/248	82/261	69/259	44/244	64/241	73/243	433/1697
(%)	(23,9)	(21,4)	(31,4)	(26,6)	(18,0)	(26,6)	(30,0)	(25,5)
Larven	1/10	2/4	0/0	0/0	0/0	1/7	1/10	5/31
(%)	(10,0)	(50,0)	n.e.*	n.e.*	n.e.*	(14,3)	(10,0)	(16,1)
Total	71/300	71/300	95/300	84/300	59/300	78/300	93/300	551/2100
(%)	(23,7)	(23,7)	(31,7)	(28,0)	(19,7)	(26,0)	(31,0)	(26,2)

*n.e.: nicht ermittelbar

Tab. 4: Verteilung *Rickettsia* spp.-positiver *I. ricinus* an den verschiedenen Sammelorten in Hannover

	Mecklen- heide	Große Heide	Misburger Wald	Anna- teiche	Seelhorster Wald	Ricklinger Teiche	Bornumer Holz	Georgen- garten	Eilenriede	Maschpark
Adulte (%)	5/21 (23,8)	9/22 (40,9)	0/35 (0,0)	10/27 (37,0)	8/42 (19,0)	12/46 (26,1)	9/44 (20,5)	9/53 (16,9)	18/36 (50,0)	21/46 (45,7)
Männchen (%)	2/12 (16,7)	3/6 (50,0)	0/17 (0,0)	5/16 (31,3)	3/19 (15,8)	8/28 (28,6)	5/21 (23,8)	2/27 (7,4)	13/26 (50,0)	9/24 (37,5)
Weibchen (%)	3/9 (33,3)	6/16 (37,5)	0/18 (0,0)	5/11 (45,5)	5/23 (21,7)	4/18 (22,2)	4/23 (17,4)	7/26 (26,9)	5/10 (50,0)	12/22 (54,5)
Nymphen (%)	38/186 (20,4)	39/182 (21,4)	57/170 (33,5)	49/182 (26,9)	49/168 (29,2)	42/161 (26,1)	34/148 (22,9)	29/148 (19,6)	53/171 (30,9)	55/164 (33,5)
Larven (%)	0/3 (0,0)	0/6 (0,0)	2/5 (40,0)	0/1 (0,0)	0/0 n.e.*	0/1 (0,0)	0/1 (0,0)	3/9 (33,3)	0/3 (0,0)	0/0 n.e.*
Total (%)	43/210 (20,5)	48/210 (22,9)	59/210 (28,1)	59/210 (28,1)	57/210 (27,1)	54/210 (25,7)	43/210 (20,5)	41/210 (19,5)	71/210 (33,8)	76/210 (36,2)

*n.e.=nicht ermittelbar

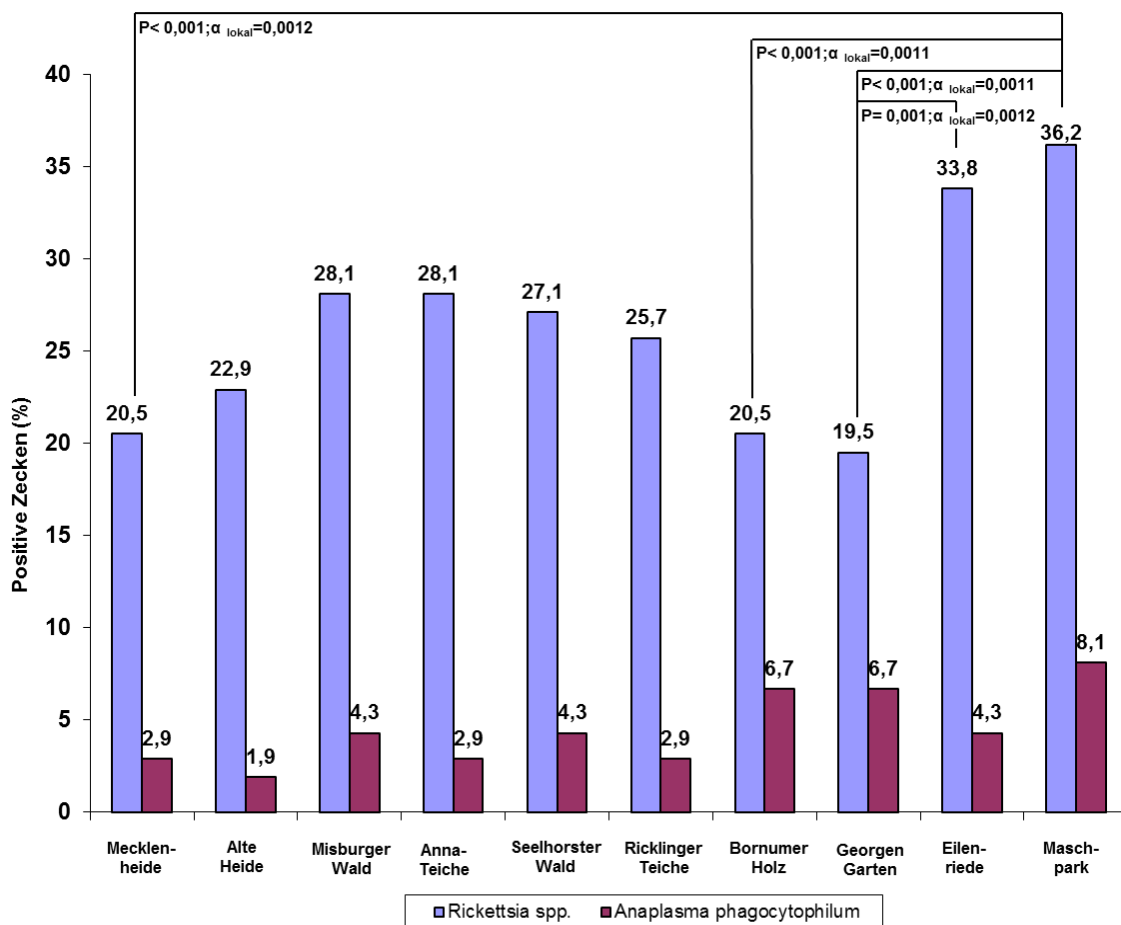


Abb. 2: Lokale Infektionsraten von *A. phagocytophilum* und *Rickettsia* spp.

Alle *Rickettsia* spp.-positiven Proben wurden im weiteren Verlauf zur Speziesidentifizierung mittels Real-time Pyrosequenzierung untersucht. Hierbei wurde ausschließlich *Rickettsia helvetica* detektiert.

Abhängig von der in der vorangegangenen qPCR detektierten Rickettsien-Kopienzahl des untersuchten *gltA*-Genabschnittes wurden unterschiedliche Identifizierungserfolge erreicht. Proben mit $\geq 10^7$ Kopien zeigten eine Detektionsrate von 100 % (17/17), bei $\geq 10^6$ Kopien lag diese bei 88,9 % (48/54). Kopienzahlen von $\geq 10^5$ ergaben eine Detektionsrate von 79,1 % (19/24), $\geq 10^4$ Kopien konnten zu 72,6 % (53/75) zugeordnet werden. Bei $\geq 10^3$ Kopien wurden 79,2 % (57/72) der Proben erfolgreich detektiert, bei $\geq 10^2$ 58 % (29/50), bei $\geq 10^1$ 36,7 % (25/68) und bei ≤ 10 Kopien war in 42,6 % (20/47) der Fälle die Spezieszuordnung erfolgreich.

3.4 Detektion von *Borrelia burgdorferi* s.l. in *I. ricinus*

Durch die qPCR und folgende Untersuchung mittels *Reverse Line Blot* (RLB) konnten 35 der untersuchten Proben lediglich als fraglich *Borrelia* spp.-positiv bewertet werden, diese wurden jedoch in allen folgenden Berechnungen als positive Zecken gewertet. Insgesamt zeigten 22,7 % (476/2100) der im Jahr 2010 in Hannover gesammelten *I. ricinus*-Zecken eine Infektion mit Erregern des *B. burgdorferi* s.l.-Komplexes. Männchen waren zu 29,6 % (58/196) infiziert und Weibchen zu 37,5 % (66/176), woraus eine Infektionsrate von 33,3 % (124/372) für adulte Stadien resultierte. In den Nymphen fand sich eine Prävalenzrate von 20,3 % (344/11697), während 25,8 % (8/31) der Larven mit *B. burgdorferi* s.l. infiziert waren. Hieraus resultierten entsprechend statistisch signifikante Unterschiede zwischen adulten Stadien und Nymphen ($p < 0,001$; $\alpha_{loc} = 0,017$), Männchen und Nymphen ($p < 0,001$; $\alpha_{loc} = 0,008$) sowie zwischen Weibchen und Nymphen ($p = 0,003$; $\alpha_{loc} = 0,01$). Eine Übersicht über die Infektionsraten einzelner Stadien mit *B. burgdorferi* s.l. im Sammelzeitraum 2010 wird in Tabelle 5 gezeigt, während Tabelle 6 die Infektionsraten an den verschiedenen Sammelorten dargestellt.

Im Jahresverlauf konnten wiederum zwei Infektionspeaks festgestellt werden, nämlich ein erster im Juni [25,3 % (76/300)] bzw. Juli [28 % (83/300)], und ein zweiter im Oktober [32,7 % (98/300)] welcher zugleich den Infektionshöchstwert des Jahres darstellt. Im Mai wurden mit 17,7 % (53/300) die niedrigsten Infektionsraten gefunden. Entsprechend konnten statistisch signifikante Unterschiede zwischen Oktober und den Monaten April, Mai und August gefunden werden. Dies wird in Abbildung 3 visualisiert. Auch bezüglich der Sammelorte konnten statistische Unterschiede festgestellt werden, was in Abbildung 4 dargestellt ist. Die höchsten Borrelieninfektionsraten in den gesammelten Zecken wurden im „Misburger Wald“ [32,9 % (69/210)] nachgewiesen, gefolgt von „Mecklenheide“ [30 % (63/210)]. Die geringsten Infektionsraten zeigten sich im „Bornumer Holz“ [16,2 % (34/210)], „Maschpark“ [16,2 % (34/210)] und „Annateiche“ [16,7 % (35/210)]. Als Konsequenz ergaben sich statistisch signifikante Unterschiede zwischen „Misburger Wald“ einerseits und „Bornumer Holz“ ($p < 0,001$), „Maschpark“ ($p < 0,001$) bzw. „Annateiche“ ($p < 0,001$) andererseits sowie zwischen „Mecklenheide“ und „Bornumer Holz“ ($p = 0,001$) bzw. „Maschpark“ ($p = 0,001$).

Tab. 5: Verteilung *Borrelia* spp.-positiver *I. ricinus*-Zecken im Jahr 2010 (Die Anzahl der jeweils fraglich-positiven Zecken ist kursiv dargestellt)

	April	Mai	Juni	Juli	August	September	Oktober	Total
Adulte	30/89	12/48	15/39	12/41	17/56	14/52	24/47	124/372
(%)	(33,7)	(25,0)	(38,5)	(36,6)	(29,3)	(26,9)	(51,1)	(33,3)
<i>fraglich</i>	<i>1</i>	<i>0</i>	<i>2</i>	<i>0</i>	<i>1</i>	<i>0</i>	<i>2</i>	<i>6</i>
Adulte Männchen	15/57	6/29	8/19	7/24	7/24	6/25	9/18	58/196
(%)	(26,3)	(20,7)	(42,1)	(37,5)	(29,2)	(24,0)	(50,0)	(29,6)
<i>fraglich</i>	<i>1</i>	<i>0</i>	<i>1</i>	<i>0</i>	<i>0</i>	<i>0</i>	<i>0</i>	<i>2</i>
Adulte Weibchen	15/32	6/19	7/20	5/17	10/32	8/27	15/29	66/176
(%)	(46,8)	(31,6)	(35,0)	(35,6)	(31,3)	(29,6)	(51,7)	(37,5)
<i>fraglich</i>	<i>0</i>	<i>0</i>	<i>1</i>	<i>0</i>	<i>1</i>	<i>0</i>	<i>1</i>	<i>3</i>
Nymphen	27/201	41/248	61/261	47/259	46/244	52/241	70/243	344/1697
(%)	(13,4)	(16,5)	(23,4)	(26,6)	(18,9)	(21,6)	(28,8)	(20,3)
<i>fraglich</i>	<i>2</i>	<i>4</i>	<i>4</i>	<i>2</i>	<i>1</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>20</i>
Larven	3/10	0/4	0/0	0/0	0/0	1/7	4/10	8/31
(%)	(30,0)	(0,0)	n.e.*	n.e.*	n.e.*	(14,3)	(40,0)	(25,8)
<i>fraglich</i>	<i>2</i>	<i>0</i>	<i>n.e.*</i>	<i>n.e.*</i>	<i>n.e.*</i>	<i>0</i>	<i>2</i>	<i>4</i>
Total	60/300	53/300	76/300	59/300	63/300	67/300	98/300	476/210
(%)	(20,0)	(17,7)	(25,3)	(28,0)	(21,0)	(22,3)	(32,7)	(22,7)
<i>fraglich</i>	<i>5</i>	<i>4</i>	<i>6</i>	<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>7</i>	<i>29</i>

*n.e.: nicht ermittelbar

Tab. 6: Verteilung *Borrelia burgdorferi* s.l.-positiver *I. ricinus* im Jahr 2010 (Die Anzahl der jeweils fraglich-positiven Zecken ist kursiv dargestellt)

	Mecklen- heide	Große Heide	Misburger Wald	Annateiche	Seelhorster Wald	Ricklinger Teiche	Bornumer Holz	Georgen- garten	Eilenriede	Maschpark
Adulte	6/21	9/22	12/35	10/27	20/42	18/46	14/44	19/53	8/36	8/46
(%)	(28,6)	(40,9)	(34,3)	(37,0)	(47,6)	(39,1)	(31,8)	(35,8)	(22,2)	(17,4)
<i>fraglich</i>	<i>0</i>	<i>1</i>	<i>2</i>	<i>0</i>	<i>0</i>	<i>1</i>	<i>1</i>	<i>0</i>	<i>0</i>	<i>0</i>
Männchen	2/12	2/6	7/17	4/16	7/19	11/28	5/21	10/27	6/26	4/24
(%)	(16,7)	(33,3)	(41,2)	(25,0)	(36,8)	(39,3)	(23,8)	(37,0)	(23,1)	(16,7)
<i>fraglich</i>	<i>0</i>	<i>0</i>	<i>1</i>	<i>0</i>	<i>0</i>	<i>1</i>	<i>0</i>	<i>0</i>	<i>0</i>	<i>0</i>
Weibchen	4/9	7/16	5/18	6/11	13/23	7/18	9/23	9/26	2/10	4/22
(%)	(44,4)	(43,8)	(27,8)	(54,5)	(56,5)	(38,9)	(39,1)	(34,6)	(20,0)	(18,2)
<i>fraglich</i>	<i>0</i>	<i>1</i>	<i>1</i>	<i>0</i>	<i>0</i>	<i>0</i>	<i>1</i>	<i>0</i>	<i>0</i>	<i>0</i>
Nymphen	57/186	36/182	56/170	25/182	32/168	26/161	20/148	30/148	36/171	26/164
(%)	(30,6)	(19,8)	(32,9)	(13,7)	(19,0)	(16,1)	(13,5)	(20,3)	(21,1)	(15,9)
<i>fraglich</i>	<i>4</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>3</i>	<i>3</i>	<i>2</i>	<i>1</i>	<i>2</i>
Larven	0/3	3/6	1/5	0/1	0/0	1/1	0/1	1/9	2/3	0/0
(%)	(0,0)	(50,0)	(20,0)	(0,0)	n.e.*	(100)	(0,0)	(11,1)	(66,7)	n.e.*
<i>fraglich</i>	<i>0</i>	<i>1</i>	<i>1</i>	<i>0</i>	<i>0</i>	<i>1</i>	<i>0</i>	<i>0</i>	<i>2</i>	<i>0</i>
Total	63/210	48/210	69/210	35/210	52/210	45/210	34/210	50/210	46/210	34/210
(%)	(30,0)	(22,9)	(32,9)	(16,7)	(24,8)	(21,4)	(16,2)	(23,8)	(21,9)	(16,2)
<i>fraglich</i>	<i>4</i>	<i>4</i>	<i>6</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>5</i>	<i>4</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>2</i>

*n.e.: nicht ermittelbar

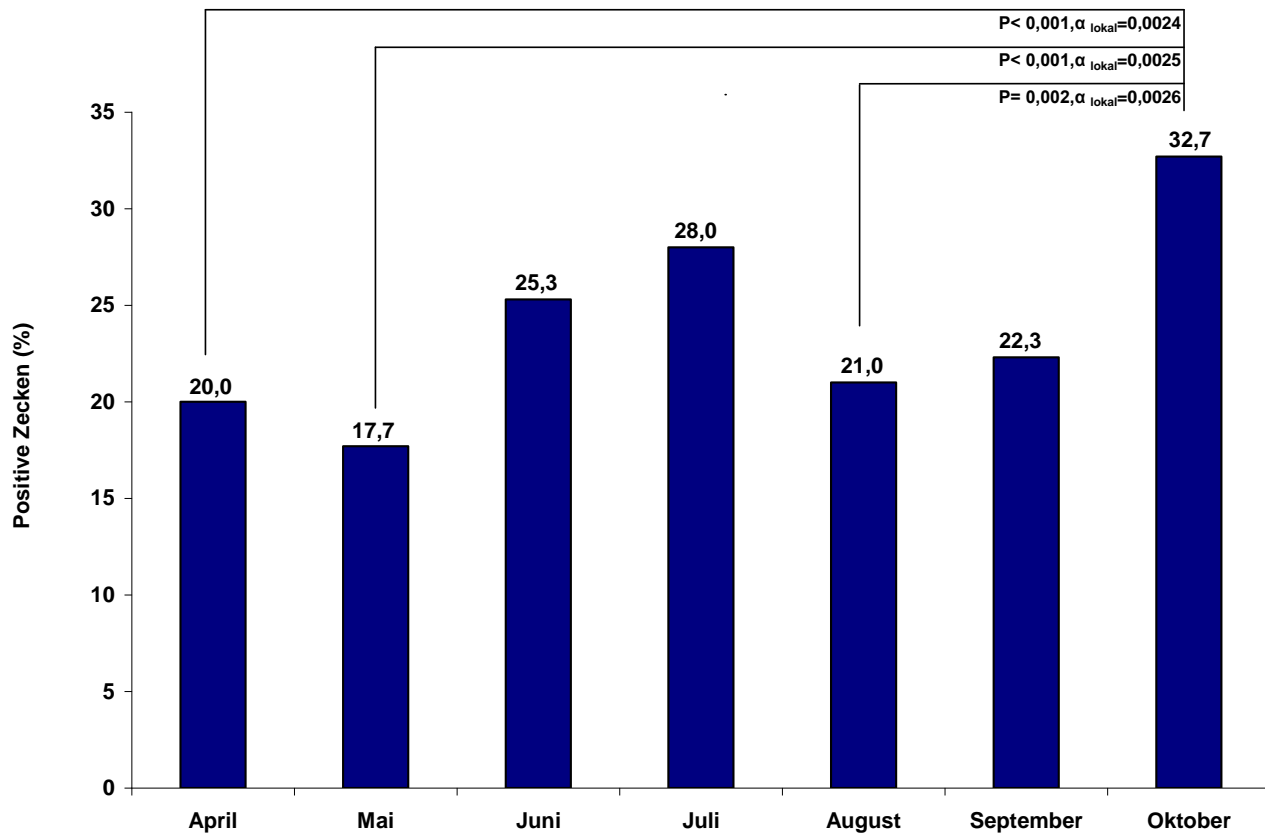


Abb. 3: Saisonales Vorkommen *B. burgdorferi* s.l.-positiver Zecken im Jahr 2010

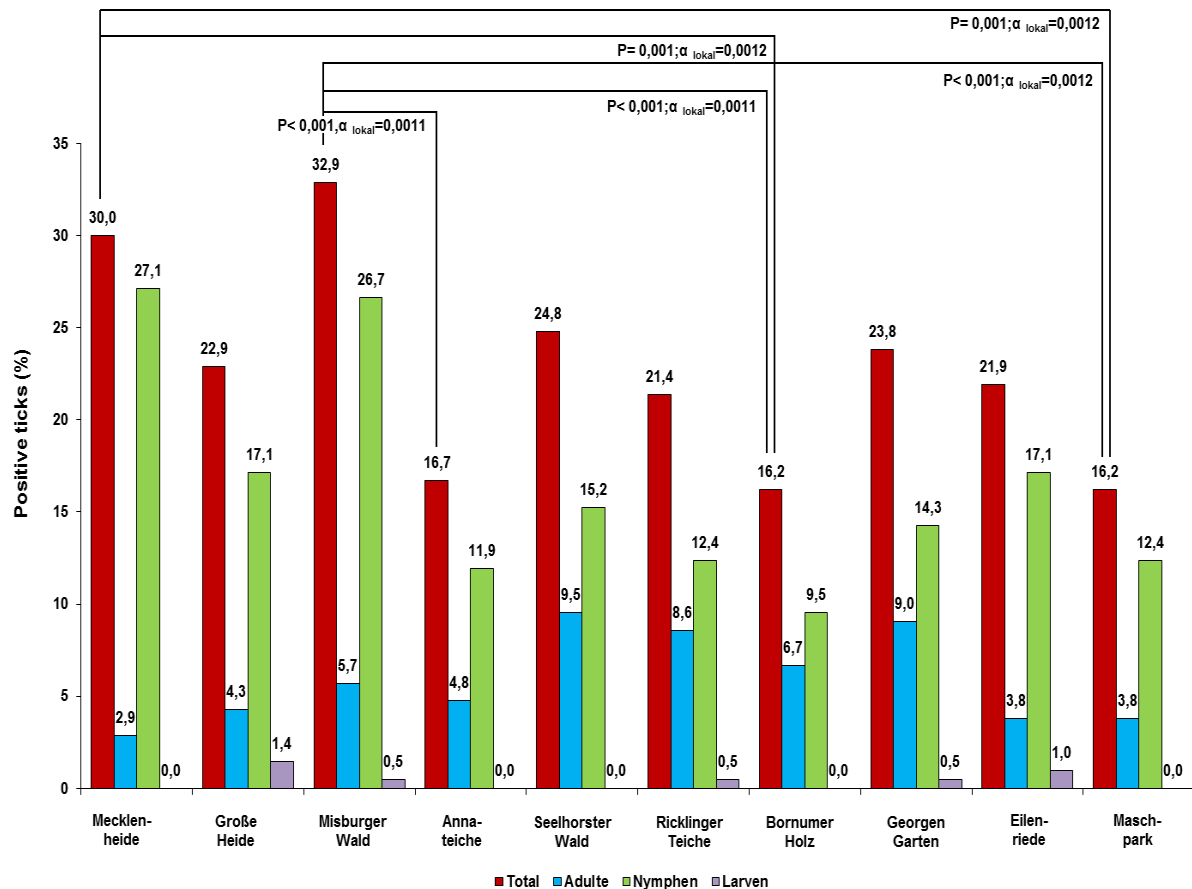


Abb. 4: Lokale und stadienspezifische Verteilung *B. burgdorferi* s.l.-positiver *I. ricinus* im Jahr 2010

3.5 Genospeziesidentifizierung von *B. burgdorferi* s.l.

Die Identifikation der jeweiligen Genospezies des *B. burgdorferi* s.l.-Komplexes in den infizierten Zecken erfolgte mit Hilfe des RLB. Diese Daten wurden von Frau Daniela Jordan im Rahmen ihrer Masterarbeit erhoben und sind Bestandteil der entsprechenden Masterthese mit dem Titel „Differenzierung von *B. burgdorferi* sensu lato-Genospezies in *Ixodes ricinus* im Raum Hannover und Hamburg und Untersuchungen zur transovariellen Übertragung von pathogenen Mikroorganismen“ (JORDAN 2013). Da diese Daten Eingang in die zur vorliegenden Dissertationsschrift gehörige Publikation „Revisited: *Borrelia burgdorferi* sensu

lato infections in hard ticks (*Ixodes ricinus*) in the city of Hanover (Germany)” (TAPPE et al. 2014) gefunden haben, sollen sie hier der Vollständigkeit halber aufgeführt werden.

Bei 65,5 % (312/476) der positiven Zecken gelang mittels RLB der Nachweis der Zugehörigkeit zum *B. burgdorferi* s.l.-Komplex. Darunter waren 39 Männchen, 40 Weibchen, 232 Nymphen und eine Larve. Bei 282 (59,2 %) der 476 positiv-getesteten Zecken gelang zudem die eigentliche Genospeziesdifferenzierung. Abhängig von der in der vorangegangenen qPCR detektierten Kopienzahl des untersuchten Genabschnittes (5S-23S *intergenic spacer region*) wurden unterschiedliche Detektionsraten erreicht. Proben mit $\geq 10^4$ Kopien zeigten eine Detektionsrate von 77,8 % (7/9), bei $\geq 10^3$ Kopien lag der Detektionserfolg bei 95,7 % (44/46). Kopienzahlen von $\geq 10^2$ ergaben eine Detektionsrate von 88,9 % (96/108), bei $\geq 10^1$ Kopien konnten 74,2 % (66/89) und bei ≤ 10 Kopien 44,2 % (99/224) erfolgreich zugeordnet werden.

Die am häufigsten durch den RLB nachgewiesene *B. burgdorferi* s.l.-Genospezies war *B. afzelii* mit 30,9 %, (147/476), unterteilt in 101 Monoinfektionen und 46 Mehrfachinfektionen, gefolgt von *B. garinii* inklusive *B. bavariensis* (im Folgenden „*B. garinii* / *B. bavariensis*“ genannt). Diese beiden Genospezies werden im RLB gemeinsam von der *B. garinii*-Sonde detektiert und eine *B. bavariensis*-spezifische Sonde, die bei gleichzeitigem Einsatz zur Differenzierung dieser beiden Genospezies beitragen könnte, existiert bislang nicht. Insgesamt wurden 11,3 % (54/476) der Zecken als mit *B. garinii* / *B. bavariensis* infiziert bestimmt, zusammengesetzt aus 29 Monoinfektionen und 27 Mehrfachinfektionen. Die dritthäufigste Genospezies war *B. spielmanii* [10,9 % (52/476)], zusammengesetzt aus 22 Monoinfektionen und 30 Mehrfachinfektionen. Des Weiteren wurden *B. burgdorferi* s.s. [9,9 % (47/476); 25 Mono- und 22 Mehrfachinfektionen], *B. valaisiana* [9,7 % (46/476); 30 Mono- und 16 Mehrfachinfektionen], *B. bissettii* [2,1 % (10/476); 2 Mono- und 8 Mehrfachinfektionen] und *B. lusitaniae* [1,1 % (5/476); 2 Mono- und 3 Mehrfachinfektionen) detektiert. Von den 54 *B. garinii* / *B. bavariensis*-positiven Proben wurden 44 zusätzlich mittels Sanger-Sequenzierung weiter differenziert. Hierbei ergab sich für *B. bavariensis* eine Detektionsquote von 18,2 % (8/44), während 45,5 % (20/44) der Zeckenproben *B. garinii* aufwiesen. Die verbleibenden 7 Proben (15,9 %) konnten nicht weiter differenziert werden. Bei 20,5 % (9/44) der sequenzierten Zeckenproben konnten andere Borrelien-Genospezies als *B. garinii* bzw. *B. bavariensis* nachgewiesen werden (*B. afzelii*, *B. burgdorferi* s.s., *B.*

spielmanii und *B. valaisiana*). Insgesamt gab es eine Vielzahl von multiplen Borrelieninfektionen, wobei Doppelinfektionen am häufigsten zu verzeichnen waren, jedoch auch Dreifachinfektionen und eine Vierfachinfektion festgestellt wurden. Eine Übersicht über die Verteilung der Mono- und Mehrfachinfektionen wird in Tabelle 7 gegeben.

Tab. 7: Mono- und Mehrfachinfektionen mit verschiedenen Borrelien-Genospezies in den positiv befundenen Zecken

Infektionen Total	Anzahl infizierter Zecken	Mono-infektionen	Anzahl infizierter Zecken	Doppel-infektionen	Anzahl infizierter Zecken	Dreifach-/ Vierfach-infektionen	Anzahl infizierter Zecken
Baf	147 (30,9 %)	Baf	101 (21,2 %)	Baf + Bbi	2 (0,4 %)	Baf + Bga/Bba + Bsp	2 (0,4 %)
Bva	46 (9,7 %)	Bva	30 (6,3 %)	Baf + Bga/Bba	11 (2,3 %)	Baf + Bsp + Bss	1 (0,2 %)
Bss	47 (9,9 %)	Bss	25 (5,3 %)	Baf + Blu	2 (0,4 %)	Baf + Bss + Bva	1 (0,2 %)
Bga/Bba	54 (11,3 %)	Bga/Bba	29 (6,1 %)	Baf + Bsp	12 (2,5 %)	Bbi + Bga/Bba + Bsp	1 (0,2 %)
Bsp	52 (1,9 %)	Bsp	22 (4,6 %)	Baf + Bss	10 (2,1 %)	Bga/Bba + Bsp + Bss	1 (0,2 %)
Blu	5 (1,1 %)	Blu	2 (0,4 %)	Baf + Bva	4 (0,8 %)	Baf + Bga/Bba + Bsp + Bss	1 (0,2 %)
Bbi	10 (2,1 %)	Bbi	2 (0,4 %)	Bga/Bba + Bbi	1 (0,2 %)		
		Keine Genospezies nachweisbar	194 (40,8 %)	Bga/Bba + Bsp	3 (0,6 %)		
				Bga/Bba + Bss	1 (0,2 %)		
				Bga/Bba + Bva	4 (0,8 %)		
				Bsp + Bbi	2 (0,4 %)		
				Bsp + Blu	1 (0,2 %)		
				Bsp + Bss	3 (0,6 %)		
				Bsp + Bva	3 (0,6 %)		
				Bss + Bbi	1 (0,2 %)		
				Bss + Bva	3 (0,6 %)		
				Bva + Bbi	1 (0,2 %)		

Baf=*B. afzelii*; Bva=*B. valaisiana*; Bss=*B. burgdorferi* s.s.; Bga/Bba=*B. garinii* / *bavariensis*; Bsp=*B. spielmanii*; Blu=*B. lusitaniae*; Bbi=*B. bissettii*.

3.6 Koinfektionen mit *B. burgdorferi* s.l. und Mikroorganismen der Ordnung Rickettsiales

Bei 7,8 % (163/2100) des Probenmaterials wurde eine Koinfektion von *B. burgdorferi* s.l. mit Mikroorganismen der Ordnung Rickettsiales gefunden. Hierbei ergaben die Untersuchungen eine Koinfektionsrate mit Rickettsien von 7,3 % (153/2100), in 0,3 % (7/2100) der Zecken konnte eine Koinfektion mit *A. phagocytophilum* nachgewiesen werden und in 0,1 % (3/2100) der Proben wurde eine Infektion mit allen drei Pathogenen detektiert. Hierbei zeigten adulte Stadien (43/372; 11,6 %) eine statistisch signifikant ($p=0,005$; $\alpha_{loc}=0,01$) höhere Koinfektionsrate mit Rickettsiales als Nymphen (120/1697; 7,1 %). Auch bezüglich der Koinfektion mit *Rickettsia* spp. zeigten adulte *B. burgdorferi* s.l.-positive Stadien (42/372; 11,3 %) eine signifikant ($p=0,002$; $\alpha_{loc}=0,01$) höhere Koinfektionsrate als Nymphen (111/1697; 6,5 %).

Des Weiteren wiesen 0,8 % (17/2100) der untersuchten Zecken (2 adulte Männchen und 15 Nymphen) eine Doppelinfektion mit *R. helvetica* und *A. phagocytophilum* auf. In Larven wurde keine Koinfektion detektiert.

Eine Übersicht der Koinfektionen bezüglich *B. burgdorferi* s.l.-positiver Zecken ist in Tabelle 8 dargestellt.

Tab. 8: Koinfektion mit *B. burgdorferi* s.l. und Rickettsiales-Arten

	Anzahl gesammelter Zecken	Anzahl <i>B. burgdorferi</i> s.l.-positive Zecken	Koinfektionen gesamt	<i>Rickettsia</i> spp.-Koinfektionen	<i>A. phagocytophilum</i> -Koinfektionen	Koinfektionen mit <i>Rickettsia</i> spp. und <i>A. phagocytophilum</i>
Adulte	372	124 (33,3 %)	43 (11,6 %)	42 (11,3 %)	1 (0,3 %)	0 (n.e.*)
Männchen	196	58 (29,6 %)	22 (11,2 %)	22 (11,2 %)	0 (n.e.*)	0 (n.e.*)
Weibchen	176	66 (37,5 %)	21 (11,9 %)	20 (11,4 %)	1 (0,6 %)	0 (n.e.*)
Nymphen	1697	344 (20,3 %)	120 (7,1 %)	111 (6,5 %)	6 (0,4 %)	3 (0,2 %)
Larven	31	8 (25,8 %)	0 (n.e.*)	0 (n.e.*)	0 (n.e.*)	0 (n.e.*)
Alle Stadien	2100	476 (22,7 %)	163 (7,8 %)	153 (7,3 %)	7 (0,3 %)	3 (0,1 %)

*n.e.: nicht ermittelbar

3.7 Vergleich der Infektionszahlen aus 2010 mit dem Jahr 2005

Beim Vergleich der Infektionszahlen *A. phagocytophilum*-infizierter Zecken mit Daten aus dem Jahr 2005 ist ein statistisch signifikanter Anstieg ($p=0,008$; Power: 0,762) infizierter Nymphen von 2,3 % im Jahr 2005 (SCHICHT et al. 2011) auf 4,5 % im Jahr 2010 festzustellen. Rickettsieninfektionen in *I. ricinus* hingegen zeigten einen statistisch signifikanten ($p=0,049$; Power: 0,491) Rückgang der Infektionen in Weibchen. Hier sank die Infektionsrate von 41,8 % im Jahr 2005 (SCHICHT et al. 2012) auf 32,4 % im Jahr 2010. Die Anzahl von *B. burgdorferi* s.l.-Infektionen zeigte bei Adulten und Nymphen keine statistisch signifikanten Veränderungen. Sie betrug in adulten Zecken 35,5 % im Jahr 2005 und 33,3 % in 2010, die Anzahl infizierter Männchen lag im Jahr 2005 bei 32,8 % und im Jahr 2010 bei 29,6 %, Weibchen waren dabei zu 38,2 % und 37,5 % infiziert. Die Nymphen waren zu 18,9 % im Jahr 2005 und zu 20,3 % im Jahr 2010 infiziert.

Borrelieninfektionen in Larven hingegen stiegen statistisch signifikant ($p=0,002$) von 3,3 % auf 25,8 % an. Bezüglich der detektierten *Borrelia*-Genospezies ist festzustellen, dass im Jahr 2005 *B. garinii* / *B. bavariensis* am häufigsten detektiert werden konnte, gefolgt von *B. afzelii* und *B. spielmanii*. Im Jahr 2010 war *B. afzelii* die am häufigsten detektierte Spezies, gefolgt von *B. garinii* / *B. bavariensis* und *B. spielmanii*.

Betrachtet man die Koinfektionsraten der untersuchten Zecken im Jahr 2005 und 2010, so betrug die Zahl der mit *Rickettsia* spp.- und *A. phagocytophilum*-infizierten Zecken 2,8 % und 1 %. Die Zahl *B. burgdorferi* s.l.- und *Rickettsia* spp.-koinfizierter Zecken lag bei 9,2 % im Jahr 2005 und 7,3 % im Jahr 2010. Koinfektionen mit Borrelien und Anaplasmen wurden im Jahr 2005 bei 0,9 %, im Jahr 2010 bei 0,3 % der Zecken detektiert. Infektionen mit allen drei Pathogenen lagen 2005 bei 1,3% und 2010 bei 0,1 %.

4 Übergreifende Diskussion

Die Schildzecke *I. ricinus* spielt eine bedeutende Rolle als Überträger von Human- und Tierpathogenen wie z.B. Mikroorganismen der Ordnung Rickettsiales (*A. phagocytophilum* und *Rickettsia* spp.) und gilt als Hauptüberträger des Erregers der sog. Lyme-Borreliose, welche Spirochäten des *Borrelia burgdorferi* s.l.-Komplexes sind. Deutschlandweit liegen bereits Daten aus Studien vor, die die Infektionsraten von Zecken mit den genannten Erregern behandeln, um ein potentiell Infektionsrisiko für den Menschen besser einschätzbar zu machen. Hierbei werden für *A. phagocytophilum* Prävalenzwerte von 0 % in Thüringen (FRANKE et al. 2010) bis zu 8,7 % in Leipzig (SILAGHI et al. 2012) genannt. Bei *Rickettsia* spp. reichen die Infektionsraten von 4,1 % in Thüringen (FRANKE et al. 2010) bis zu 33-34 % in Hannover (STRUBE et al. 2011 u. SCHICHT et al. 2012) bzw. bis zu 52,1 % in Hamburg (MAY u. STRUBE 2014). Für *Borrelia burgdorferi* s.l. werden Prävalenzen von 3,1 % an der Ostsee (FRANKE et al. 2011) bis hin zu 27,0 % in Thüringen (HILDEBRANDT et al. 2010b) und 36,2 % in Bayern (FINGERLE et al. 1999) berichtet. Die vorliegende Doktorarbeit dient als Folgestudie zu einer Erhebung aus dem Jahr 2005, bei welcher Hannoversche Zecken auf Infektionen mit *A. phagocytophilum*, *Rickettsia* spp. und *Borrelia burgdorferi* s.l. getestet wurden. Hierbei ist jedoch zu beachten, dass im Jahr 2005 nach STRUBE et al. (2010) 43,3 % (433/1000) der untersuchten Zecken Adulte waren, während 2010 lediglich 17,7 % (372/2100) der geflaggten Zecken dem adulten Stadium zugehörig waren. Daher ist ein Gesamtvergleich der Prävalenzdaten nur bedingt aussagekräftig.

Insgesamt ergaben die Untersuchungen des Probenmaterials aus dem Jahr 2010 eine Gesamtprävalenzrate von 4,5 % *A. phagocytophilum*-infizierter Zecken. Adulte Stadien waren dabei zu 4,6 % infiziert, Männchen zu 5,6 %, Weibchen zu 3,4 % und Nymphen zu 4,5%. Unerwarteter Weise konnte bei einer der 31 Larven (3,2 %) eine Infektion mit *A. phagocytophilum* nachgewiesen werden, obwohl laut RIKIHISA (2011) für Zecken eine transovarielle Übertragung dieses Erregers bisher nicht beschrieben wird. Diese Infektion resultiert wahrscheinlich aus einer unterbrochenen Blutmahlzeit mit nicht vollzogener Weiterentwicklung zum Nymphenstadium.

Im Jahresvergleich ist anzumerken, dass die im Jahr 2005 untersuchte Zeckenpopulation in Hannover eine statistisch signifikant höhere Belastung mit *A. phagocytophilum* in Adulten (4,1 %) als in Nymphen (2,3 %) aufwies (SCHICHT et al. 2011). In der vorliegenden Studie konnten jedoch keine statistisch relevanten Unterschiede zwischen den Stadien festgestellt werden. Beim Vergleich der Infektionsraten einzelner Stadien beider Untersuchungsjahre ergab sich ein statistisch signifikanter ($p=0,008$) Anstieg infizierter Nymphen. Dieses vermehrte Auftreten infizierter *I. ricinus*-Nymphen kann durch verschiedene Faktoren verursacht worden sein. So können Faktoren wie mikroklimatische Veränderungen, das Vorhandensein von passenden Reservoirwirten oder auch Veränderung der Vegetation während der Jahre eine Rolle spielen. Nach ROSS u. LEVIN (2004) beeinflusst auch *A. phagocytophilum* als Erreger selbst die Entwicklung von Zeckenpopulationen. Weiterhin kann durch andauernde klimatische Veränderungen die Übertragung und das Vorhandensein pathogener Erreger in Wirten beeinflusst werden. GRAY et al. (2009) konnte in einer Studie einen positiven Zusammenhang zwischen dem vermehrten Vorkommen von Zeckenübertragenen Krankheiten und klimatisch milden Wintern und warmen, feuchten Sommern nachweisen.

Die Untersuchung der im Jahr 2010 in Hannover gesammelten *I. ricinus* auf das Vorhandensein von *Rickettsia* spp. ergab eine Gesamtprävalenz von 26,2 %. Die Speziesidentifikation resultierte im ausschließlichen Nachweis von *R. helvetica* (48,6 %). Dies ist vergleichbar mit anderen Studien, in denen *R. helvetica* ebenfalls als die dominant vorkommende Rickettsienart beschrieben wird (SILAGHI et al. 2008; HILDEBRANDT et al. 2010a u. SCHICHT et al. 2012). Die höchste Infektionsrate von 30,4 % wurde in adulten Zecken detektiert, unterteilt in 32,4 % positive Weibchen und 28,6 % positive Männchen. Weiterhin zeigten Nymphen eine Prävalenzrate von 25,5 % und Larven von 16,6 %. Vergleicht man die Prävalenzdaten *Rickettsia* spp.-infizierter Zeckenstadien aus dem Jahr 2010 mit denen von 2005, ist ein signifikanter ($p=0,049$) Rückgang der Infektionen in *I. ricinus*-Weibchen von 41,8 % im Jahr 2005 (SCHICHT et al. 2012) auf 32,4 % im Jahr 2010 festzustellen. Bei diesem Ergebnis ist jedoch zu beachten, dass die Teststärke (Power) gering war und daher die getroffene Aussage mit Vorsicht zu betrachten ist. Weiterhin ist anzumerken, dass im Jahr 2005 bezüglich der *Rickettsia* spp.-Infektionen sowohl zwischen den adulten Stadien (36,5 %) und Nymphen (28,6 %) als auch zwischen adulten Weibchen

(41,8 %) und adulten Männchen (31,4 %) statistisch relevante Unterschiede bestanden (SCHICHT et al. 2012). Im Gegensatz dazu konnten im Jahr 2010 keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Stadien nachgewiesen werden.

Die Untersuchung der gesammelten Zecken auf Erreger des *B. burgdorferi* s.l.-Komplexes ergab eine Gesamtinfektionsrate von 22,7 %, wobei sich statistisch signifikante Unterschiede zwischen adulten Zecken (33,3 %) und Nymphen (20,3 %) ergaben. Diese durchaus zu erwartende höchste Belastung von adulten Stadien, die nach STRUBE et al. (2010) sowohl im Jahr 2005 in Hannover, als auch in weiteren Studien nachgewiesen werden konnte (HILDEBRANDT et al. 2003; HILDEBRANDT et al. 2010b u. STRUBE et al. 2010), ist durch die benötigten Blutmahlzeiten der Zecke zur Entwicklung von der Larve zum adulten Tier mit entsprechender häufigerer Möglichkeit einer Infektion durch das potenziell infizierte Wirtstier zu erklären. Im Jahresvergleich blieb die Anzahl *B. burgdorferi* s.l. infizierter adulter Stadien mit 35,5 % (2005) und 33,3 % (2010) nahezu gleich. Ein signifikanter Anstieg ($p=0,002$) von Borrelieninfektionen wurde bei den untersuchten Larven festgestellt. Hier stieg die Infektionsrate von 3,3 % im Jahr 2005 auf 25,8 % im Jahr 2010. Allerdings ist bei diesem Ergebnis die geringe Anzahl von gefundenen Larven im Jahr 2010 zu beachten, so dass dieser Anstieg in weiteren Studien zu überprüfen wäre. Als Erklärung für einen starken Infektionsanstieg in Larven kann eine unterbrochene Blutmahlzeit dienen, so dass im Folgenden keine Weiterentwicklung zur Nymphe stattfinden konnte (STRUBE et al. 2010). Da es allerdings eher unwahrscheinlich erscheint, dass ein Viertel der gesammelten Larven bei der Blutmahlzeit unterbrochen wurde, muss die Möglichkeit einer transovariellen Infektion in Betracht gezogen werden, obwohl diese bislang als eher ineffizient beschrieben ist (GERN et al. 1997 u. NEFEDOVA et al. 2004). Eine weitere Möglichkeit ist eine Infektion der Larven mit *B. miyamotoi*, was im weiteren Verlauf der Diskussion aufgegriffen werden soll. Es gilt allerdings zu beachten, dass lediglich bei einer der acht in der qPCR positiv-getesteten Larven auch im RLB *B. burgdorferi* s.l. nachgewiesen wurde. Insgesamt wurden durch den RLB 65,5 % (312/476) der in der qPCR positiv-getesteten Zecken dem *B. burgdorferi* s.l.-Komplex zugewiesen und bei 59,2 % (282/476) der Proben konnte die Genospezies bestimmt werden. Eine mögliche Erklärung für diese geringere Detektionsstärke des RLB ist eine generelle höhere Sensitivität der qPCR. Bei den 30 Zecken, bei denen zwar eine Zugehörigkeit zum *B. burgdorferi* s.l.-Komplex nachgewiesen werden konnte, aber eine

Genospeziesdifferenzierung fehlschlug, kann eine höhere Sensitivität der SL2-Sonde, die den *B. burgdorferi* s.l.-Komplex an sich nachweist, im Vergleich zu den Genospezies-spezifischen Sonden als Erklärung dienen. Außerdem existieren keine Genospezies-spezifischen Sonden, um die in Europa weiterhin vorkommenden Genospezies *B. kurtenbachii*, *B. carolinensis* und *B. finlandensis* zu detektieren. Eine weitere Erklärung für die fehlgeschlagene Speziesidentifikation ist eine vorliegende Infektion der Zecken mit *B. miyamotoi*. Diese Borrelienspezies wird der Gruppe der Rückfallfieber-verursachenden Krankheitserreger zugeordnet, ist aber sowohl antigenetisch als auch phylogenetisch dem *B. burgdorferi* s.l.-Komplex eng verwandt und ergibt in der qPCR, in der Primer für die 5S-23S *intergenic spacer region* eingesetzt werden, ebenfalls Amplifikate. Im Gegensatz zu *B. burgdorferi* s.l. ist für *B. miyamotoi* eine effektive transovarielle Übertragung nachgewiesen (RICHTER et al. 2012, ROLLEND et al. 2013), was auch die in der qPCR positiv detektierten Larven erklären könnte.

Bezüglich der Saisonalität konnten bei *A. phagocytophilum* statistisch signifikante Unterschiede zwischen den Monaten mit geringeren Infektionszahlen, nämlich April (2,7%), Juni (2,7%) und August (3,0%) einerseits und September als Monat mit der höchsten Prävalenzrate (9,7%) andererseits festgestellt werden. Vergleicht man die Ergebnisse des Jahres 2010 mit denen aus 2005, ist festzustellen, dass die höchste Infektionsrate mit *A. phagocytophilum* im Jahr 2005 im Juli / August auftrat. Diese Verschiebung um einen Monat ist durch unterschiedliches Verhalten der Zecken und ihrer Wirte im vorangegangenen Winter und Frühling infolge klimatisch unterschiedlicher Bedingungen zu erklären (ANDERSON 1988; GERN et al. 1998 u. SÜSS et al. 2008). Ähnlich wie bei *A. phagocytophilum* konnten auch für *Rickettsia* spp. saisonale Schwankungen festgestellt werden. Es ergaben sich zwei Infektionspeaks, ein erster im Juni (31,7 %) und ein weiterer im Oktober (31,0 %). Zusätzlich zu den saisonalen Fluktuationen konnten für *Rickettsia* spp. auch lokal statistisch signifikante Unterschiede nachgewiesen werden. Die im Zentrum Hannovers gelegenen Sammelorte „Maschpark“ und „Eilenriede“ wiesen dabei die höchsten Prävalenzen von 36,2 % und 33,8 % auf, während im „Georgengarten“ nur 19,5 % der gesammelten Zecken mit *Rickettsia* spp. infiziert waren. Das saisonale Auftreten von Borrelien in *I. ricinus* in Hannover im Jahr 2010 unterliegt ähnlichen Schwankungen wie das von *A. phagocytophilum* und *Rickettsia* spp. mit

einem Infektionshöhepunkt im Juni (25,3%) / Juli (28,0%) und einem weiteren im Oktober (32,7%). Des Weiteren gibt es bei *B. burgdorferi* s.l. ebenfalls lokale Prävalenzunterschiede, hier reicht die Infektionsspanne von 16,2 % im „Maschpark“ bis 32,9 % im „Misburger Wald“. Die ermittelten saisonalen Schwankungen der untersuchten Pathogene in *I. ricinus* können durch klimatische Bedingungen, wie einen heißen, trockenen Sommer ausgelöst worden sein. Außerdem sind die saisonalen Infektionsraten der Zecken den natürlichen saisonalen Schwankungen der Zeckenpopulation angegliedert. Diese unterliegen biologischen und klimatischen Faktoren, wie z.B. Temperatur, Luftfeuchtigkeit oder Verfügbarkeit von Wirtstieren und beeinflussen somit auch das Vorkommen von pathogenen Erregern in Zecken (GARDINER u. GETTINBY 1983; MEJLON u. JAENSON 1993; SÜSS et al. 2008 u. STANEK 2009). Lokale Fluktuationen der untersuchten Pathogene lassen sich durch unterschiedlich hohes Vorkommen und Verfügbarkeit infizierter Reservoirwirte wie kleinen Nagetieren erklären.

Die in der vorliegenden Arbeit ermittelte Verteilung verschiedener Borreliengenospezies in *I. ricinus* ist mit den Ergebnissen anderer Studien vergleichbar, in denen *B. afzelii* ebenfalls als die häufigste genannt wird (PICHON et al. 2006; VÖGERL et al. 2012 u. BINGSOHN et al. 2013). Auch *B. garinii* / *B. bavariensis* und *B. spielmanii* wurden in diversen Studien als häufig vorkommende Genospezies erwähnt (HILDEBRANDT et al. 2003; FINGERLE et al. 2008 u. BINGSOHN et al. 2013). Vergleicht man die Borreliengenospeziesverteilung des Jahres 2005 mit der von 2010 ergibt sich ein ähnliches Bild. In beiden Studien konnten *B. afzelii*, *B. garinii* / *B. bavariensis* und *B. spielmanii* als die am häufigsten detektierten Genospezies ermittelt werden. Des Weiteren war in beiden Studien *B. afzelii* die am häufigsten solitär vorkommende Borreliengenospezies. *B. spielmanii* war öfter in multiplen Infektionen nachzuweisen als in Monoinfektionen und *B. afzelii* und *B. spielmanii* ergaben eine sehr häufig vorkommende Erregerkombination (STRUBE et al. 2010).

Die in dieser Arbeit gefundene Vielzahl von Kombinationen der unterschiedlichen Borreliengenospezies in *I. ricinus* lässt sich durch die entwicklungsbedingt stattfindenden Blutmahlzeiten an mehreren mit unterschiedlichen Erregern infizierten Wirtstieren erklären. Weiterhin besteht die Möglichkeit einer Infektion eines Wirtstieres mit mehr als einer Borreliengenospezies und entsprechender Aufnahme während des Saugaktes durch die Zecke.

Nicht zuletzt muss der Aspekt des *co-feeding* in Betracht gezogen werden, bei dem es beim Saugakt mehrerer Zecken an einem Wirtstier über den Blutpool, aus dem die Zecken ihre Nahrung aufnehmen, zu Erregerübertragung von Zecke zu Zecke kommen kann. Die in dieser Studie festgestellten Mehrfachinfektionen unter Beteiligung von *B. afzelii* und *B. garinii* / *B. bavariensis* wurden bereits im Jahr 2005 von PICHON et al. (2005) beschrieben. Auch die Kombination von *B. afzelii* und *B. burgdorferi* s.s. wurde in vorherigen Studien detektiert und unter anderem nach HUMAIR u. GERN (1998) in Eichhörnchen nachgewiesen.

Die Evaluierung der Koinfektionsraten *B. burgdorferi*-positiver Zecken mit Rickettsiales-Arten bestätigten die von SCHICHT et al. (2012) beschriebene Beobachtung einer statistisch signifikant höheren Infektionsrate von adulten Stadien im Vergleich zu den Nymphen. Das Auftreten von Koinfektionen in *I. ricinus* mit zwei oder sogar drei der untersuchten Pathogene erklärt sich, wie oben beschrieben, ebenfalls durch eine Infektion der Wirtstiere mit verschiedenen Erregern bzw. durch Saugakte der Zecke an verschiedenen Wirtstieren, welche mit unterschiedlichen Pathogenen infiziert sind.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass zwischen den Jahren 2005 (Vorstudie) und 2010 (eigene Daten) ein statistisch signifikanter Anstieg von *A. phagocytophilum* in hannoverschen *I. ricinus* zu verzeichnen war, während die Infektionsrate hannoverscher Zecken mit *Rickettsia* spp. in diesem Zeitraum statistisch signifikant gesunken ist. Bezüglich der *B. burgdorferi* s.l.-Infektionen ist ein statistisch signifikanter Anstieg infizierter Larven detektiert worden, die Zahl infizierter Nymphen und Adulten blieb in diesem Zeitraum jedoch nahezu konstant. Ob dieser doch erhebliche Anstieg infizierter Larven nur ein Einzelfall oder ein Hinweis auf vermehrte transovarielle Transmission aufgrund unbekannter Faktoren ist, muss durch weiterführende Untersuchungen geprüft werden. Insgesamt verdeutlichen die in dieser Studie evaluierten Daten, dass regelmäßige Prävalenzerhebungen Zecken-übertragener Erreger auch in Zukunft fortgeführt werden sollten, um das von ihnen ausgehende Gesundheitsrisiko für Menschen und Tiere einschätzen und beurteilen zu können. Um dies umzusetzen, ist für das Jahr 2015 eine weitere Folgestudie geplant.

5 Zusammenfassung

Julia Tappe (2014)

Prävalenz von *Borrelia burgdorferi* sensu lato, *Rickettsia* spp. und *Anaplasma phagocytophilum* in Schildzecken (*Ixodes* spp.) aus dem Stadtgebiet Hannover

Zecken dienen als Vektor für viele verschiedene human- und tierpathogene Erreger und stellen somit eine potentielle Gefahr für die öffentliche Gesundheit dar. Die vorliegende Studie fungiert als Folgestudie zu einer Untersuchung aus dem Jahr 2005 zur Ermittlung des Vorkommens von *A. phagocytophilum*, *Rickettsia* spp. und *B. burgdorferi* sensu lato (s.l.) in Zecken der Gattung *Ixodes* aus dem Stadtgebiet Hannover. Hierzu wurden im Jahr 2010 an 10 verschiedenen Orten Hannovers insgesamt 2100 Zecken zu Untersuchungszwecken gesammelt, welche sämtlich der Art *I. ricinus* zugeordnet werden konnten.

Die Gesamtprävalenzrate von *A. phagocytophilum* in den untersuchten *I. ricinus* im Jahr 2010 lag bei 4,5 %. Adulte Stadien zeigten hier eine Infektionsrate von 4,6%, wobei Männchen zu 5,6 % infiziert waren und Weibchen zu 3,4 %. Des Weiteren wurden bei 4,5 % der Nymphen und 3,2 % der Larven *A. phagocytophilum* detektiert. Die statistische Auswertung ergab weder signifikanten Unterschiede bezüglich der Stadien noch bezüglich der Sammelorte, es konnten jedoch signifikante saisonale Unterschiede nachgewiesen werden. Die Infektionsrate mit *Rickettsia* spp. lag insgesamt bei 26,2 %, wobei 30,4 %, der adulten Stadien (28,6 % der Männchen und 32,4 % der Weibchen) 25,5 % der Nymphen und 16,1 % der Larven infiziert waren. Statistisch signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Stadien ließen sich auch hier nicht nachweisen, jedoch zeigten sich sowohl saisonal als auch lokal statistisch relevante Unterschiede. Ein Vergleich der Infektionszahlen der mit Mikroorganismen der Ordnung Rickettsiales-infizierten *I. ricinus* in Hannover ergab einen signifikanten Anstieg der *A. phagocytophilum*-infizierten Nymphen von 2,3 % im Jahr 2005 auf 4,5 % im Jahr 2010, sowie einen signifikanten Rückgang *Rickettsia* spp.-infizierter Weibchen von 41,8 % im Jahr 2005 auf 31,8 % im Jahr 2010.

Insgesamt konnte in 22,7 % der untersuchten Zecken eine *B. burgdorferi* s.l.-Infektion nachgewiesen werden, wobei 29,6 % der untersuchten Männchen sowie 37,5 % der Weibchen

und damit 33,3% der adulten Zecken positiv waren. Weiterhin waren 20,3 % der Nymphen und 25,8 % der Larven infiziert. Es konnten statistisch signifikante Unterschiede zwischen adulten Stadien und Nymphen, zwischen Männchen und Nymphen als auch zwischen Weibchen und Nymphen festgestellt werden, ebenso waren signifikante saisonale und lokale Unterschiede nachweisbar. In 59,2 % der *B. burgdorferi* s.l.-positiven Proben konnte eine Genospeziesdifferenzierung erfolgreich durchgeführt werden, wobei *B. afzelii* mit 30,9 % die am häufigsten detektierte Genospezies war, gefolgt von *B. garinii* (inklusive *B. bavariensis*, 11,3%) und *B. spielmanii* (10,9%). *B. burgdorferi* sensu stricto, *B. bissettii*, *B. valaisiana* sowie *B. lusitaniae* wurden ebenfalls nachgewiesen. Weiterhin konnten neben Zweifach- und Dreifachinfektionen auch eine Vierfachinfektion detektiert werden.

Im Vergleich mit Prävalenzwerten aus der Vorstudie von 2005 ist ein statistisch signifikanter Anstieg von *B. burgdorferi* s.l.-positiv getesteten Larven (2005: 3,3 %; 2010: 25,8 %) zu verzeichnen. Die Untersuchung auf Koinfektionen mit Borrelien und Mikroorganismen der Ordnung Rickettsiales ergab statistisch relevante Unterschiede zwischen adulten Zecken (11,3 %) und Nymphen (6,5 %). Im Jahresvergleich veränderten sich die *B. burgdorferi* s.l. / *Rickettsia* spp.-Koinfektionen nicht signifikant, im Jahr 2005 lagen sie bei 9,1 % und im Jahr 2010 bei 7,3 %. Koinfektionen *B. burgdorferi* s.l.-positiver Zecken mit *A. phagocytophilum* stellten sich ohne signifikante Veränderungen dar (0,9 % im Jahr 2005 bzw. 0,3 % im Jahr 2010). Entsprechend waren auch Infektionen mit allen drei Erregern mit 1,3 % positiven Zecken im Jahr 2005 und 0,1 % im Jahr 2010 nicht signifikant verändert. Regelmäßige Prävalenzerhebungen von durch Zecken übertragenen Erregern sind notwendig, um das von ihnen ausgehende Gesundheitsrisiko für Menschen und Tiere einschätzen und beurteilen zu können. Um dem nachzukommen, wird eine weitere Folgestudie im April 2015 beginnen.

6 Summary

Julia Tappe (2014)

Prevalence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato, *Rickettsia* spp. and *Anaplasma phagocytophilum* in hard ticks (*Ixodes* spp.) in the city of Hanover, Germany

Ticks serve as vectors for a number of human and animal pathogenic organisms and therefore, pose a risk for public health. The present study investigated the prevalence of *A. phagocytophilum*, *Rickettsia* spp. and *B. burgdorferi* sensu lato (s.l.) in *Ixodes* spp. ticks collected in Hanover, Northern Germany, and serves as fifth-year follow-up study for data comparison with 2005. For this reason, 2100 ticks were collected in the year 2010 at 10 different sampling sites in the city of Hanover. After species differentiation, all ticks were identified as *I. ricinus*.

The total infection rate with *A. phagocytophilum* in *I. ricinus* was 4.5%. Male adults showed an infection rate of 5.6%, female adults of 3.4%, resulting in a total infection rate for adults of 4.6%. Nymphs showed an infection rate of 4.5% and larvae of 3.2%. Statistically significant differences were observed for seasonal distribution. The total infection rate of ticks with *Rickettsia* spp. was found to be 26.2%. Concerning different developmental tick stages, 30.4% adults, subdivided into 28.6% males and 32.4% females, 25.5% nymphs and 16.1% larvae were infected. Analysis of seasonal distribution as well as distribution at different sampling sites revealed statistically significant differences. When comparing obtained data of Rickettsiales infections in ticks with a previous study, a statistically significant increase of *A. phagocytophilum*-infected nymphs from 2.3% in 2005 to 4.5% in 2010 was observed, whereas a significant decrease from 41.8% in 2005 to 31.8% in 2010 was determined for *Rickettsia* spp.-infected female ticks.

Overall, 22.7% of collected ticks were tested positive for *B. burgdorferi* s.l. infections. Thereby, 33.3% of adult ticks (29.6% males and 37.5% females) 20.3% nymphs and 25.8% larvae were infected. Statistically significant differences concerning developmental stages were observed between adults and nymphs, adult males and nymphs and between adult

females and nymphs. Significant differences concerning seasonal fluctuations as well as distribution at different sampling sites were also observed. Genospecies identification was successful in 59.2% of *B. burgdorferi* s.l.-infected ticks with *B. afzelii* being the most frequently detected genospecies (30.9%), followed by *B. garinii* (including *B. bavariensis*, 11.3%) and *B. spielmanii* (10.9%). *B. burgdorferi* sensu stricto, *B. bissettii*, *B. valaisiana* and *B. lusitaniae* could also be identified appearing as mono and multiple infections. Coinfections with Rickettsiales revealed a statistically significant difference between adults (11.3%) and nymphs (6.5%).

Comparing infection rates of Hanoverian ticks over the years, a significant increase of *B. burgdorferi* s.l.-infected larvae from 3.3% in 2005 to 25.8% in 2010 was observed. Coinfections with *B. burgdorferi* s.l. and *Rickettsia* spp. as well as *B. burgdorferi* s.l. and *A. phagocytophilum* were comparable between the years (9.1% as well as 0.9% in 2005 and 7.3% as well as 0.3% in 2010). Triple infections containing all mentioned pathogens did not differ significantly between years (1.3% in 2005 and 0.1% in 2010). The obtained results underline the need for frequent prevalence assessments of tick-borne pathogens to estimate and monitor the current infection risk for humans as well as for domestic animals. Thus, a further fifths-year-follow-up study is starting in April 2015.

7 Literaturverzeichnis

ANDERSON, J. F. (1988):

Mammalian and avian reservoirs for *Borrelia burgdorferi*.

Ann. N. Y. Acad. Sci. 539, 180-191

BINGSOHN, L., A. BECKERT, R. ZEHNER, U. KUCH, R. ÖHME, P. KRAICZY u. J. AMENDT (2013):

Prevalences of tick-borne encephalitis virus and *Borrelia burgdorferi* sensu lato in *Ixodes ricinus* populations of the Rhine-Main region, Germany.

Ticks Tick Borne Dis. 4, 207-213

CASJENS, S. R., C. M. FRASER-LIGGETT, E. F. MONGODIN, W. G. QIU, J. J. DUNN, B. J. LUFT u. S. E. SCHUTZER (2011):

Whole genome sequence of an unusual *Borrelia burgdorferi* sensu lato isolate.

J. Bacteriol. 193, 1489-1490

COLLARES-PEREIRA, M., S. COUCEIRO, I. FRANCA, K. KURTENBACH, S. M. SCHÄFER, L. VITORINO, L. GONÇALVES, S. BAPTISTA, M. L. VIEIRA u. C. CUNHA (2004):

First isolation of *Borrelia lusitaniae* from a human patient.

J. Clin. Microbiol. 42, 1316-1318

COTTE, V., S. BONNET, M. COTE u. M. VAYSSIER-TAUSSAT (2010):

Prevalence of five pathogenic agents in questing *Ixodes ricinus* ticks from western France.

Vector Borne Zoonotic Dis. 10, 723-730

DOBLER, G., S. ESSBAUER, R. TERZIOGLU, A. THOMAS u. R. WÖLFEL (2008):

Prevalence of tick-borne encephalitis virus and rickettsiae in ticks of the district Burgenland, Austria.

Wien. Klin. Wochenschr. 120, 45-48

DOBLER, G. u. R. WÖLFEL (2009):

Typhus and other rickettsioses: emerging infections in Germany.

Dtsch. Arztebl. Int. 106, 348-354

FINGERLE, V., U. G. MUNDERLOH, G. LIEGL u. B. WILSKE (1999):

Coexistence of ehrlichiae of the phagocytophila group with *Borrelia burgdorferi* in *Ixodes ricinus* from Southern Germany.

Med. Microbiol. Immunol. 188, 145-149

FINGERLE, V., U. C. SCHULTE-SPECHTEL, E. RUZIC-SABLJIC, S. LEONHARD, H. HOFMANN, K. WEBER, K. PFISTER, F. STRLE u. B. WILSKE (2008):

Epidemiological aspects and molecular characterization of *Borrelia burgdorferi* s.l. from southern Germany with special respect to the new species *Borrelia spielmanii* sp. nov.
Int. J. Med. Microbiol. 298, 279-290

FRANKE, J., J. FRITZSCH, H. TOMASO, E. STRAUBE, W. DORN u. A. HILDEBRANDT (2010):
Coexistence of pathogens in host-seeking and feeding ticks within a single natural habitat in Central Germany.
Appl. Environ. Microbiol. 76, 6829-6836

FRANKE, J., A. HILDEBRANDT, F. MEIER, E. STRAUBE u. W. DORN (2011):
Prevalence of Lyme disease agents and several emerging pathogens in questing ticks from the German Baltic coast.
J. Med. Entomol. 48, 441-444

GARDINER, W. P. u. G. GETTINBY (1983):
A weather-based prediction model for the life-cycle of the sheep tick, *Ixodes ricinus* L.
Vet. Parasitol. 13, 77-84

GERN, L., A. ESTRADA-PENA, F. FRANDSEN, J. S. GRAY, T. G. JAENSON, F. JONGEJAN, O. KAHL, E. KORENBERG, R. MEHL u. P. A. NUTTALL (1998):
European reservoir hosts of *Borrelia burgdorferi* sensu lato.
Zentralbl. Bakteriol. 287, 196-204

GERN, L., E. ROUVINEZ, L. N. TOUTOUNGI u. E. GODFROID (1997):
Transmission cycles of *Borrelia burgdorferi* sensu lato involving *Ixodes ricinus* and/or *I. hexagonus* ticks and the European hedgehog, *Erinaceus europaeus*, in suburban and urban areas in Switzerland.
Folia Parasitol. (Praha) 44, 309-314

GRAY, J. S., H. DAUTEL, A. ESTRADA-PENA, O. KAHL u. E. LINDGREN (2009):
Effects of climate change on ticks and tick-borne diseases in Europe.
Interdiscip. Perspect. Infect. Dis. 593232
HARTELT, K., R. ÖHME, H. FRANK, S. O. BROCKMANN, D. HASSLER u. P. KIMMIG (2004):
Pathogens and symbionts in ticks: prevalence of *Anaplasma phagocytophilum* (*Ehrlichia* sp.), *Wolbachia* sp., *Rickettsia* sp., and *Babesia* sp. in Southern Germany.
Int. J. Med. Microbiol. 293 Suppl 37, 86-92

HILDEBRANDT, A., A. KRAMER, S. SACHSE u. E. STRAUBE (2010a):
Detection of *Rickettsia* spp. and *Anaplasma phagocytophilum* in *Ixodes ricinus* ticks in a region of Middle Germany (Thuringia).
Ticks Tick Borne Dis. 1, 52-56

HILDEBRANDT, A., K. PAULIKS, S. SACHSE u. E. STRAUBE (2010b):
Coexistence of *Borrelia* spp. and *Babesia* spp. in *Ixodes ricinus* ticks in Middle Germany.
Vector Borne Zoonotic Dis. 10, 831-837

HILDEBRANDT, A., K. H. SCHMIDT, B. WILSKE, W. DORN, E. STRAUBE u. V. FINGERLE (2003):

Prevalence of four species of *Borrelia burgdorferi* sensu lato and coinfection with *Anaplasma phagocytophila* in *Ixodes ricinus* ticks in central Germany.

Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 22, 364-367

HUMAIR, P. F. u. L. GERN (1998):

Relationship between *Borrelia burgdorferi* sensu lato species, red squirrels (*Sciurus vulgaris*) and *Ixodes ricinus* in enzootic areas in Switzerland.

Acta Trop. 69, 213-227

JORDAN, D. (2013):

Differenzierung von *B. burgdorferi* sensu lato-Genospezies in *Ixodes ricinus* im Raum Hannover und Hamburg und Untersuchungen zur transovariellen Übertragung von pathogen Mikroorganismen.

Masterthese, Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover

MARGOS, G., S. A. VOLLMER, M. CORNET, M. GARNIER, V. FINGERLE, B. WILSKE, A. BORMANE, L. VITORINO, M. COLLARES-PEREIRA, M. DRANCOURT u. K. KURTENBACH (2009):

A new *Borrelia* species defined by multilocus sequence analysis of housekeeping genes.

Appl. Environ. Microbiol. 75, 5410-5416

MAY, K, C. STRUBE (2014)

Prevalence of Rickettsiales (*Anaplasma phagocytophilum* and *Rickettsia* spp.) in hard ticks (*Ixodes ricinus*) in the city of Hamburg, Germany.

Parasitol. Res. 113 (&), 2169-2175

MEJLON, H. A. u. T. G. JAENSON (1993):

Seasonal prevalence of *Borrelia burgdorferi* in *Ixodes ricinus* in different vegetation types in Sweden.

Scand. J. Infect. Dis. 25, 449-456

NEFEDOVA, V. V., E. I. KORENBERG, N. B. GORELOVA u. Y. V. KOVALEVSKII (2004):

Studies on the transovarial transmission of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in the taiga tick *Ixodes persulcatus*.

Folia Parasitol. (Praha) 51, 67-71

PICHON, B., O. KAHL, B. HAMMER u. J. S. GRAY (2006):

Pathogens and host DNA in *Ixodes ricinus* nymphal ticks from a German forest.

Vector Borne Zoonotic Dis. 6, 382-387

PICHON, B., M. ROGERS, D. EGAN u. J. GRAY (2005):

Blood-meal analysis for the identification of reservoir hosts of tick-borne pathogens in Ireland.

Vector Borne Zoonotic Dis. 5, 172-180

RICHTER, D., A. DEBSKI, Z. HUBALEK u. F. R. MATUSCHKA (2012):
Absence of Lyme disease spirochetes in larval *Ixodes ricinus* ticks.
Vector Borne Zoonotic Dis. 12, 21-27

RICHTER, D., B. SCHRODER, N. K. HARTMANN u. F. R. MATUSCHKA (2013):
Spatial stratification of various Lyme disease spirochetes in a Central European site.
FEMS Microbiol. Ecol. 83, 738-744

RIKIHISA, Y. (2011):
Mechanisms of obligatory intracellular infection with *Anaplasma phagocytophilum*.
Clin. Microbiol. Rev. 24, 469-489

ROLLEND, L., D. FISH u. J. E. CHILDS (2013):
Transovarial transmission of *Borrelia* spirochetes by *Ixodes scapularis*: a summary of the
literature and recent observations.
Ticks Tick Borne Dis. 4, 46-51

ROSS, D. E. u. M. L. LEVIN (2004):
Effects of *Anaplasma phagocytophilum* infection on the molting success of *Ixodes scapularis*
(Acari: Ixodidae) larvae.
J. Med. Entomol. 41, 476-483

RUDENKO, N., M. GOLOVCHENKO, D. RŮŽEK, N. PISKUNOVÁ, N. MALLÁTOVÁ u.
L. GRUBHOFFER (2009):
Molecular detection of *Borrelia bissettii* DNA in serum samples from patients in the Czech
Republic with suspected borreliosis.
FEMS Microbiol. Lett. 292, 274-281

SCHICHT, S., S. JUNGE, T. SCHNIEDER u. C. STRUBE (2011):
Prevalence of *Anaplasma phagocytophilum* and coinfection with *Borrelia burgdorferi* sensu
lato in the hard tick *Ixodes ricinus* in the city of Hanover (Germany).
Vector Borne Zoonotic Dis. 11, 1595-1597

SCHICHT, S., T. SCHNIEDER u. C. STRUBE (2012):
Rickettsia spp. and coinfections with other pathogenic microorganisms in hard ticks from
northern Germany.
J. Med. Entomol. 49, 766-771

SILAGHI, C., J. GILLES, M. HÖHLE, V. FINGERLE, F. T. JUST u. K. PFISTER (2008a):
Anaplasma phagocytophilum infection in *Ixodes ricinus*, Bavaria, Germany.
Emerg. Infect. Dis. 14, 972-974

SILAGHI, C., J. GILLES, M. HÖHLE, I. PRADEL, F. T. JUST, V. FINGERLE, H.
KUCHENHOFF u. K. PFISTER (2008b):

Prevalence of spotted fever group rickettsiae in *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae) in southern Germany.

J. Med. Entomol. 45, 948-955

SILAGHI, C., D. WOLL, D. HAMEL, K. PFISTER, M. MAHLING u. M. PFEFFER (2012): *Babesia* spp. and *Anaplasma phagocytophilum* in questing ticks, ticks parasitizing rodents and the parasitized rodents - Analyzing the host-pathogen-vector interface in a metropolitan area. Parasit. Vectors 5, 191

SIMSER, J. A., A. T. PALMER, V. FINGERLE, B. WILSKE, T. J. KURTTI u. U. G. MUNDERLOH (2002):

Rickettsia monacensis sp. nov., a spotted fever group *Rickettsia*, from ticks (*Ixodes ricinus*) collected in a European city park.

Appl. Environ. Microbiol. 68, 4559-4566

SKUBALLA, J., T. PETNEY, M. PFAFFLE, R. OEHME, K. HARTELT, V. FINGERLE, P. KIMMIG u. H. TARASCHEWSKI (2012):

Occurrence of different *Borrelia burgdorferi* sensu lato genospecies including *B. afzelii*, *B. bavariensis* and *B. spielmanii* in hedgehogs (*Erinaceus* spp.) in Europe.

Ticks Tick Borne Dis. 3, 8-13

STANEK, G. (2009):

Pandora's Box: pathogens in *Ixodes ricinus* ticks in Central Europe.

Wien. Klin. Wochenschr. 121, 673-683

STRUBE, C., V. M. MONTENEGRO, C. EPE, E. ECKELT u. T. SCHNIEDER (2010):

Establishment of a minor groove binder-probe based quantitative real time PCR to detect *Borrelia burgdorferi* sensu lato and differentiation of *Borrelia spielmanii* by *ospA*-specific conventional PCR.

Parasit. Vectors 3, 69

STRUBE, C., S. SCHICHT u. T. SCHNIEDER (2011):

Borrelia burgdorferi sensu lato and *Rickettsia* spp. infections in hard ticks (*Ixodes ricinus*) in the region of Hanover (Germany).

Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr. 124, 512-517

SÜSS, J., C. KLAUS, F. W. GERSTENGARBE u. P. C. WERNER (2008):

What makes ticks tick? Climate change, ticks, and tick-borne diseases.

J. Travel. Med. 15, 39-45

VÖGERL, M., D. ZUBRIKOVÁ u. K. PFISTER (2012):

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

Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr. 125, 401-406

WODECKA, B. (2007):

Significance of red deer (*Cervus elaphus*) in the ecology of *Borrelia burgdorferi* sensu lato.

Wiad. Parazytol. 53, 231-237

WÖLFEL, R., R. TERZIOGLU, J. KIESSLING, S. WILHELM, S. ESSBAUER, M. PFEFFER u. G. DOBLER (2006):

Rickettsia spp. in *Ixodes ricinus* ticks in Bavaria, Germany.

Ann. N. Y. Acad. Sci. 1078, 509-511

8 Anhang

8.1 Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen

Abb.	Abbildung
bzw.	beziehungsweise
et al.	lateinisch: <i>et alii</i> = und andere
n.e.	nicht ermittelbar
qPCR	quantitative Real-time PCR (Polymerasekettenreaktion)
RLB	Reverse Line Blot
Real-time	“Echtzeit”
s.l.	sensu lato
s.s.	sensu stricto
spp.	Spezies (Arten)
Tab.	Tabelle
u.	und

8.2 Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

Abb. 1: Saisonale Infektionsraten von *A. phagocytophilum* und *Rickettsia* spp. im Jahr 2010.....**Fehler! Textmarke nicht definiert.**

Abb. 2: Lokale Infektionsraten von *A. phagocytophilum* und *Rickettsia* spp.**Fehler! Textmarke nicht definiert.**

Abb. 3: Saisonales Vorkommen *B. burgdorferi* s.l.-positiver Zecken im Jahr 2010**Fehler! Textmarke nicht definiert.**

Abb. 4: Lokale und stadienspezifische Verteilung *B. burgdorferi* s.l.-positiver *I. ricinus* im Jahr 2010.....**Fehler! Textmarke nicht definiert.**

Tab. 1: Verteilung *A. phagocytophilum*-positiver *I. ricinus*-Zecken im Jahr 2010 6

Tab. 2: Verteilung *A. phagocytophilum*-positiver *I. ricinus* an den verschiedenen Sammelorten in Hannover 8

Tab. 3: Verteilung *Rickettsia* spp.-positiver *I. ricinus*-Zecken im Jahr 2010 10

Tab. 4: Verteilung *Rickettsia* spp.-positiver *I. ricinus* an den verschiedenen Sammelorten in Hannover 11

Tab. 5: Verteilung *Borrelia* spp.-positiver *I. ricinus*-Zecken im Jahr 2010..... 14

Tab. 6: Verteilung *Borrelia burgdorferi* s.l.-positiver *I. ricinus* im Jahr 2010..... 15

Tab. 7: Mono- und Mehrfachinfektionen mit verschiedenen Borrelien-Genospezies in den positiv befundenen Zecken..... 20

Tab. 8: Koinfektion mit *B. burgdorferi* s.l. und Rickettsiales-Arten 22

Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die Dissertation „Prävalenz von *Borrelia burgdorferi* sensu lato, *Rickettsia* spp. und *Anaplasma phagocytophilum* in Schildzecken (*Ixodes* spp.) aus dem Stadtgebiet Hannover“ selbstständig verfasst habe.

Bei der Anfertigung wurde folgende Hilfe Dritter in Anspruch genommen:

Die Reverse Line Blots wurden von Frau Daniela Jordan als Teil ihrer Masterarbeit durchgeführt.

Ich habe keine entgeltliche Hilfe von Vermittlungs- bzw. Beratungsdiensten (Promotionsberater oder anderer Personen) in Anspruch genommen. Niemand hat von mir unmittelbar oder mittelbar entgeltliche Leistungen für Arbeiten erhalten, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen.

Ich habe die Dissertation an folgender Institution angefertigt:

Institut für Parasitologie, Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover

Die Dissertation wurde bisher nicht für eine Prüfung oder Promotion oder für einen ähnlichen Zweck zur Beurteilung eingereicht.

Ich versichere, dass ich die vorstehenden Angaben nach bestem Wissen vollständig und der Wahrheit entsprechend gemacht habe.

Danksagung

Ganz besonderer Dank gilt Frau Prof. Dr. Christina Strube, PhD, die mir diese Doktorarbeit in meinem doch sehr speziellen Zeitrahmen ermöglicht hat und immer bereit war, sich meinen Sorgen und Fragen zu widmen.

Großen Dank auch Frau Sabine Schicht, PhD, die mir eine Millionen Dinge erklären konnte, geduldig jede noch so merkwürdige Frage beantwortet hat und meinen Kekskonsum klaglos ertragen hat.

Weiterhin möchte ich Frau Elisabeth Janecek dafür danken, dass sie mir immer das „alles wird gut“ Gefühl gegeben hat und nie an meinen kruden Sätzen verzweifelt ist.

Frau Daniela Jordan möchte ich für ihre Hilfe im Umgang mit gewissen Computerprogrammen danken, ich hätte sonst am Ende wahrscheinlich noch aufgegeben.

Vielen Dank auch an das restliche Team der Parasitologie, die alle jederzeit gerne bereit waren, mir mit Rat und Tat zur Seite zu stehen.