



Abschlußbericht zur im Jahr 2004
durchgeführten Studie

**“Epidemiologische Aspekte zecken-
übertragener Erkrankungen in Bayern:
Lyme-Borreliose”**

im Rahmen der “Gesundheitsinitiative: Bayern aktiv”

Abschlußbericht zur im Jahr 2004 durchgeführten Studie
**“Epidemiologische Aspekte zeckenübertragener Erkrankungen in Bayern:
Lyme-Borreliose”**
im Rahmen der “Gesundheitsinitiative: Bayern aktiv”

Projektleitung

Dr. med. Volker Fingerle und Prof. Dr. med. Bettina Wilske

Max von Pettenkofer-Institut, LMU München

Nationales Referenzzentrum für Borrelien

Pettenkofer-Strasse 9a, 80336 München

Tel: 089 5160- 5242; FAX: 089 5160-4757;

Email: Fingerle@m3401.mpk.med.uni-muenchen.de

Bettina.Wilske@mvp-bak.med.uni-muenchen.de"

Kooperationspartner

Dr. Ulrich Busch

Bayerisches Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit

Dr. Sandra Essbauer

Institut für medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenmedizin, WHO-Labor für Pockenviren, LMU

Dr. Martin Herrmann

BAD Arbeitsmedizinischer Dienst des Bayerischen Staatsforstes

Dr. Andreas König

Fachgebiet Wildbiologie und Wildtiermanagement, Wissenschaftszentrum Weihenstephan, TUM

Dr. Sarah Leonhard, Prof. Dr. Pfister

Institut für vergleichende Tropenmedizin, LMU Munich

Dr. Ulrike Stocker

Bayerisches Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit

1. Zusammenfassung

Im Rahmen dieser Studie wurden in mehreren Regionen Bayerns Daten zur Prävalenz verschiedener *Borrelia burgdorferi* Spezies und Typen in (I) nüchternen *Ixodes ricinus*, in (II) angesogenen vom Menschen entfernten Zecken einschließlich der Inzidenz der Lyme-Borreliose nach Zeckenstich sowie in (III) Zecken und Gewebe von Jagdwild erhoben. Solche Daten bieten eine wichtige Basis für die individuelle Risikoabschätzung und für das Verhalten nach einem Zeckenstich aus einer bestimmten Region, für die Entwicklung und Evaluierung diagnostischer Testsysteme und die Entwicklung von Impfstoffen und Impfstrategien.

Für den Studienteil „Prävalenz von *Borrelia burgdorferi* s.l. in nüchternen *Ixodes ricinus* aus verschiedenen Gebieten Bayerns“ wurden 1194 Zecken (977 Adulte und 217 Nymphen) aus 6 verschiedenen Gebieten Bayerns untersucht. Wie auch in der vorangehenden Studie konnten wieder alle für Europa beschriebenen relevanten Spezies und OspA-Typen nachgewiesen werden. Adulte Zecken waren signifikant häufiger borrelieninfiziert als Nymphen. Im Vergleich der Gebiete lag die Infektionsrate der adulten Zecken zwischen 22,5% und 37,2%, die der Nymphen zwischen 6,4% und 9,4%. Es fanden sich Hinweise auf eine fokale Prävalenz bestimmter Spezies bzw. OspA-Typen, wobei besonders erwähnenswert der häufige Nachweis der neuen Genospezies A14S (18% der infizierten Zecken) im Englischen Garten, einem viel besuchten Naherholungsgebiet in der Stadt München ist. Da auch alle unsere Genospezies A14S-Isolate von Patienten (s.a. Punkt 4.1) aus dem Münchner Raum stammen, spricht diese Konstellation für einen Genospezies A14S Fokus in München. In einem Gebiet wurde die Entwicklung der Zeckeninfektionsrate und der Häufigkeit der verschiedenen Borrelientypen von 2003 auf 2004 untersucht. Während die Infektionsrate weitgehend konstant blieb, fanden sich deutliche Verschiebungen in der Häufigkeit der verschiedenen Borrelientypen.

Im Teilprojekt „Inzidenz der Lyme-Borreliose nach Zeckenstich“ wurden die Ergebnisse des Vorjahres weitgehend bestätigt. Beide Jahre zusammengefasst wurden 25 borrelieninfizierte Zecken von auswertbaren Teilnehmern entfernt und in lediglich einem Fall konnte ein Erythema migrans gefunden werden. Wenn bei positiver Zecke eine antibiotische Therapie durchgeführt worden wäre, wären insgesamt 25 antibiotische Interventionen notwendig gewesen um ein Erythema migrans zu verhindern. Gleichzeitig wurden nach 104 Stichen (nur von auswertbaren Teilnehmern) von negativen Zecken 2 Erythema migrans diagnostiziert. Andere Manifestationen der Lyme-Borreliose wurden auch im Nachbeobachtungszeitraum von 3-24 Monaten nicht berichtet. Nach diesen Ergebnissen ist die Untersuchung angesogener Zecken auf Borrelien somit weder geeignet eine Infektion sicher vorherzusagen, noch eine Infektion sicher auszuschließen.

Für das Teilprojekt „Prävalenz von *Borrelia burgdorferi* im Jagdwild“ wurden Hautbiopsien von 60 Rehen, 7 Rehkitzten, 43 mal Rotwild und 16 Wildschweinen (Schwarzwild), sowie 294 von diesen Tieren abgesammelte Zecken untersucht. Bei Rehen waren nur in 2 Hautbiopsien und einer von 117 Zecken Borrelien nachweisbar. Nach diesen Ergebnissen kommen Rehe als effektive Borrelienwirte nicht in Frage. Der seltene Nachweis von Borrelien aus von Rehen entfernten Zecken spricht sogar dafür, dass das Saugen an Rehen die Borrelienprävalenz in *Ixodes ricinus* reduziert. Überraschenderweise waren bei 2 Rehkitzten und in 10 von 30 von Rehkitzten entfernten Zecken *Borrelia garinii* OspA-Typ4 nachweisbar. Diese Daten weisen darauf hin, dass das Rehkitz ein wichtiger Borrelienwirt mit besondere Bedeutung für *Borrelia garinii* OspA-Typ4 sein könnte. Bei Rotwild waren in 4 Hautbiopsien (9%) und 5 Zecken (6%) Borrelien nachweisbar, bis auf 2 Zecken immer *Borrelia burgdorferi* s.s.. Bei 4 Wildschweinen (25%) waren in den Hautbiopsien jeweils andere Borrelientypen nachweisbar.

2. Einleitung

Die Lyme-Borreliose ist die häufigste durch Zecken übertragene Erkrankung in der westlichen Hemisphäre mit geschätzten 50.000 –100.000 Neuerkrankungen pro Jahr allein in der BRD (Huppertz 1999). Die Erkrankung wird von mindestens 4 verschiedenen *Borrelia*-Spezies des *Borrelia burgdorferi* sensu lato Komplexes hervorgerufen. Weiterhin lassen sich die humanpathogenen Borrelien noch in eine Vielzahl von Subtypen unterteilen Die wichtigsten Manifestationen dieser Multisystemerkrankung betreffen die Haut (Erythema migrans und Acrodermatitis chronica atrophicans), das Nervensystem (Bannwarth Syndrom und chronische Borrelienzephalomyelitis), die großen Gelenke (Lyme Arthritis) und das Herz (Lyme Karditis). Trotzdem stehen epidemiologische Daten aus Deutschland zur Prävalenz und lokalen Dynamik verschiedener *Borrelia burgdorferi* Spezies und Subspezies in der Zecke *Ixodes ricinus* nur punktuell zur Verfügung. Solche Daten sind allerdings die Voraussetzung für eine Risikoabschätzung bzw. für Empfehlungen zum Verhalten nach Zeckenstich, aber auch für die Entwicklung und Evaluierung diagnostischer Testsysteme und die Entwicklung von Impfstoffen und Impfstrategien.

3. Material und Methoden

3.1 Sammeln von nüchternen Zecken.

Zecken (Nymphen und adulte *Ixodes ricinus*) wurden in Grafrath (Mischwald mit viel Unterholz), Schöffelding (Nadelwald mit Übergang zu Feuchtwiese), Traunstein 2 (Überwiegend Nadelwald mit viel Unterholz), in Passau (Mischwald), im Englischen Garten (Naherholungsgebiet mit lockeren Laub-Mischwaldbeständen Umgeben von Wiesen) und in den Isarauen / München (Laubwald mit vielen Birken) durch Abflagen der niedrigen Vegetation mit weißen aufgerauhten Baumwolltüchern gesammelt. Die Zecken wurden bis zur Verarbeitung in einem 50 ml Plastikgefäß mit feuchtem Filterpapier bei +2°C bis +8°C gelagert.

3.2 Materialien und Zecken von Jagdwild.

Aus den Gebieten Ebersberg, Königswiesen, Waldhausen, Harkirchen, Starnberg und Berg wurden von Jagdwild (Rehe, Rotwild, Wildschweine) ein Hautstück vom Ohr und vom Tier entfernte Zecken in sterilen 50 ml Plastikgefäßen ohne weitere Zusatzstoffe eingesandt. Zu jedem Tier wurde ein Fragebogen zu Abschubort und Zeitpunkt, erlegte Spezies und ggf. Besonderheiten - wie z.B. Erkrankung oder Alter des Tieres – ausgefüllt. Bis zur Verarbeitung - Hautstücke spätestens am nächsten Tag, Zecken innerhalb einer Woche nach Materialeingang – wurden die Materialien bei +2°C bis +8°C gelagert.

3.3 Verarbeitung der Materialien, DNA Extraktion und Polymerase Kettenreaktion (PCR)

Verarbeitung der Materialien, DNA-Extraktion und PCR wurden wie in Michel et al. (Med. Microbiol. Immunol. 193219-226.) beschrieben durchgeführt. Die Zecken wurden einzeln in 1 ml Eppendorf Reaktionsgefäßen zerquetscht, Hautstücke wurden mit einer sterilen Schere zerkleinert und anschließend in einer sterilen Porzellanschale zermörsert. Die DNA wurde nach Proteinase K Verdau (über Nacht) mittels High Pure PCR Template Preparation Kit extrahiert. Die PCR (Zielgen *ospA*) wurde im seminested Format durchgeführt (Tab. 1).

Tabelle 1. Primer für die Amplifikation des *ospA* Gens

Primer	Amplifikation	Sequenz	Position
V1a (forward)	primary	5'- GGG AAT AGG TCT AAT ATT AGC - 3'	18-38
V1b (forward)	primary	5'- GGG GAT AGG TCT AAT ATT AGC - 3'	18-38
V3a (forward)	nested	5'- GCC TTA ATA GCA TGT AAG C - 3'	37-55
V3b (forward)	nested	5'-GCC TTA ATA GCA TGC AAG C - 3'	37-55
R2 (reverse)	both	5'- CAT AAA TTC TCC TTA TTT TAA AGC 3'	832-855
R37 (reverse)	both	5'- CCT TAT TTT AAA GCG GC - 3'	829-845

3.4 Spezifizierung der Amplifikate mittels verbesserter Restriktionsfragment Längen

Polymorphismus Analyse

Zur Spezifizierung der Amplifikate und Analyse der OspA-Subtypen wurden die Amplifikate mit sechs verschiedenen Restriktionsenzymen verdaut. Der daraus resultierenden

RestriktionsFragment Längen Polymorphismus (RFLP) ermöglicht die Zuordnung der Amplifikate zu den verschiedenen Spezies und OspA-Typen (Tabelle 2). Auch Infektionen einer Zecke mit verschiedenen *Borrelia*-Spezies sind so eindeutig erkennbar.

Tabelle 2. RFLP Muster für verschiedene *B. burgdorferi* s.l. Spezies und OspA-Typen

Strain	species	OspA-Type	Predicted RFLP pattern (bp)					
			<i>SspI</i>	<i>SfiI</i>	<i>BglII</i>	<i>Kpn21</i>	<i>HindIII</i>	<i>XbaI</i>
PKa2	<i>B. burgdorferi</i> s.s.	1	534/264	798	798	798	654/144	*
CA 8	<i>B. burgdorferi</i> s.s.	1	534/264	798	798	429/369	654/144	*
PKo	<i>B. afzelii</i>	2	798	537/261	798	798	798	*
PBr	<i>B. garinii</i>	3	801	801	758/43	429/372	801	*
PBi	<i>B. garinii</i>	4	798	798	556/242	798	798	*
PHei	<i>B. garinii</i>	5	798	798	798	549/195/54	654/144	*
TN	<i>B. garinii</i>	6	801	801	801	429/252/177	585/144/72	606/122/73
PRef	<i>B. garinii</i>	7	801	801	758/43	428/372	657/144	*
PKi	<i>B. garinii</i>	8	801	801	801	429/252/177	585/144/72	725/76
VS116	<i>B. valasiana</i> subgroup I	-	801	801	801	801	465/336	798
NE231	<i>B. valasiana</i> subgroup II	-	798	798	665/133	798	665/133	556/242
A14S	<i>Borrelia</i> A14S	-	798	798	665/133	798	665/133	798

* noch nicht getestet

Im Rahmen der Studie war aufgefallen, dass mit dem bislang verwendeten Protokoll keine Unterscheidung zwischen den *Borrelia garinii* OspA-Typen 6 und 8, sowie *Borrelia valaisiana* Subgruppe II und der neuen Genospezies A14S möglich war. Um diese Differenzierung zu ermöglichen wurde zusätzlich ein Verdau mit dem Restriktionsenzym XbaI (Tabelle 2) in das Protokoll aufgenommen.

In unklaren Fällen wurden die Amplifikate kloniert und sequenziert.

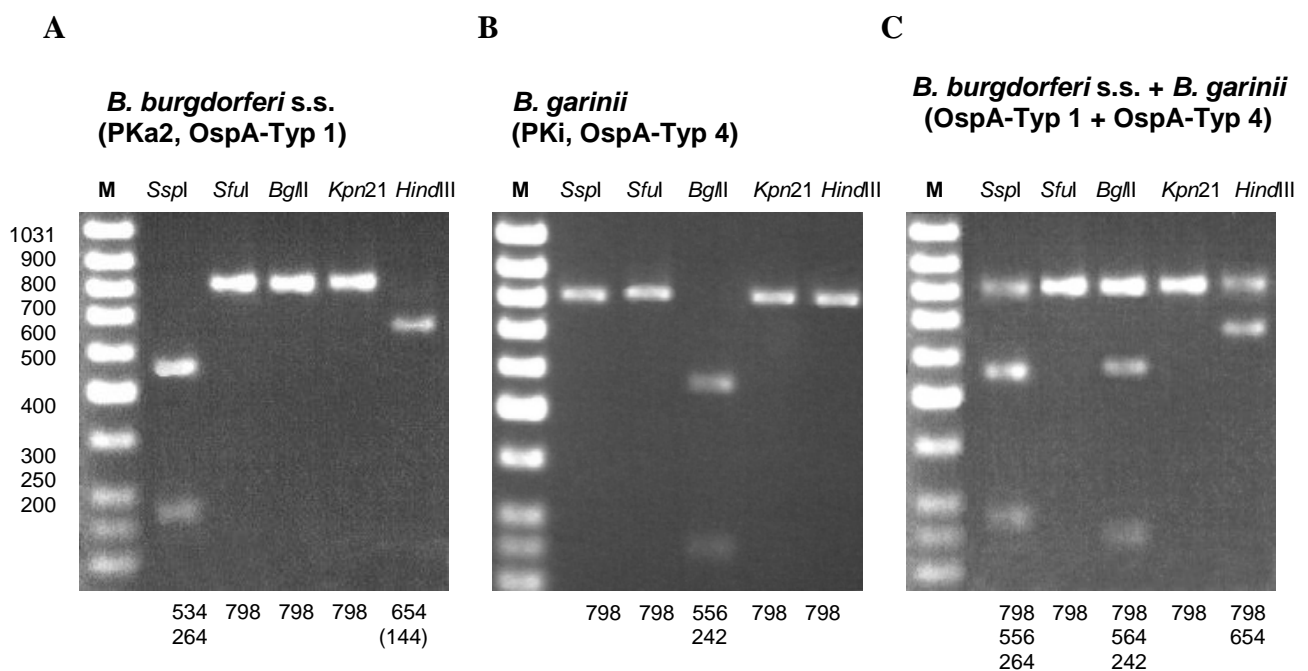


Abbildung 1: Beispielhafte Darstellung einer RFLP

Spuren (senkrecht): Spur 1 (M) entspricht dem Molekulargewichtsmarker, Spuren 2-6 Verdau mit den über der Spur angegebenen Restriktionsenzymen. In A und B sind unterschiedliche Restriktionsmuster einzelner Borrelientypen dargestellt, in C das bei einer Mischinfektion mit den in A und B dargestellten Typen resultierende Restriktionsmuster.

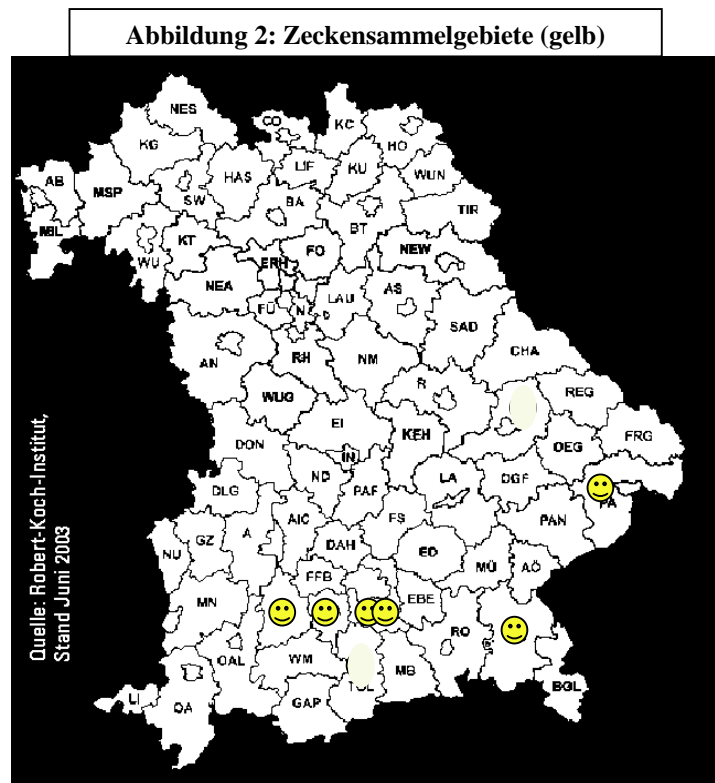
3.5 Inzidenz der Lyme-Borreliose nach Zeckenstich.

Von Menschen entfernte Zecken wurden mittels PCR (s. Punkt 3.3) auf Borrelien untersucht. Von den gestochenen Personen wurde zum Zeitpunkt des Zeckenstiches und 6-12 Wochen nach dem Stich Serum auf Antikörper gegen *Borrelia burgdorferi* untersucht. Zum Zeitpunkt des Zeckenstiches und 2-9 Monate später wurde von den Teilnehmern ein Fragebogen ausgefüllt (Anlage 1) mit Angaben zu: Alter, Geschlecht, Beruf, aktuelle Symptome, aktuell oder früher an einer Lyme-Borreliose erkrankt, Anzahl der Zeckenstiche pro Jahr. In Einzelfällen wurde eine telefonische Nacherfassung durchgeführt.

4. Ergebnisse

4.1 Prävalenz von *Borrelia burgdorferi* s.l. in nüchternen *Ixodes ricinus* aus verschiedenen Gebieten Bayerns

Für diesen Studienarm wurden 1194 Zecken (977 Adulte und 217 Nymphen) aus 6



verschiedenen Gebieten Bayerns untersucht (Tabelle 3, Abbildung 1). Insgesamt waren 337 (28,2%) infiziert. Adulte Zecken waren wie bei der Vorjahresuntersuchung mit 32,7% signifikant häufiger borrelieninfiziert als Nymphen, die nur zu 8,3% infiziert waren. Die Infektionsrate der adulten Zecken lag im Gebietsvergleich zwischen 22,5% (Traunstein) und 37,2% (Englischer Garten), die der Nymphen zwischen 6,4% (Traunstein) und 9,4% (Schöffelding). Während im Studienjahr 2003 über alle Gebiete mehr als 50% der nachgewiesenen Borrelien der Spezies *Borrelia garinii* angehörten, waren in 2004 die Spezies *Borrelia burgdorferi* s.s., *Borrelia afzelii* und *Borrelia garinii* vergleichbar häufig nachweisbar. Der Grund für diesen Unterschied ist in der Hinzunahme neuer Gebiete mit geringerer *Borrelia garinii* Prävalenz zu suchen. Besonders hervorzuheben ist der Nachweis der neuen Genospezies A14S in 8% aller untersuchten Zecken, während diese Genospezies im Vorjahr in keiner nüchternen Zecke nachweisbar war.

Tabelle 3: Prävalenz von *Borrelia burgdorferi* s.l. Spezies in *Ixodes ricinus* aus verschiedenen Sammelgebieten in 2004

		n	pos ¹ (%)	pos ²	davon				
					B. bur. s.s. ³ (%)	B. afzelii (%)	B. garinii (%)	B. val. ⁴ (%)	Genosp. A14S (%)
Schöffelding	Adulte	109	28 (25,7)	34	8 (23,5)	3 (8,8)	19 (55,9)	4 (11,8)	0 (0,0)
	Nymphen	61	6 (9,8)	7	1 (14,3)	0 (0,0)	6 (85,7)	0 (0,0)	0 (0,0)
	gesamt	170	34 (20,0)	41	9 (22,0)	3 (7,3)	25(61,0)	4 (9,8)	0 (0,0)
Grafrath	Adulte	105	39 (37,1)	42	4 (9,5)	15 (35,7)	9(21,4)	9 (21,4)	5 (11,9)
	Nymphen	94	8 (8,5)	8	1 (12,5)	6 (75,0)	1(12,5)	0 (0,0)	0 (0,0)
	gesamt	199	47 (23,6)	50	5 (10,0)	21 (42,0)	10(20,0)	9 (18,0)	5 (10,0)
Traunstein	Adulte	138	31 (22,5)	32	8 (25,0)	7 (21,9)	13(40,6)	2 (6,3)	2 (6,3)
	Nymphen	62	4 (6,5)	4	0 (0,0)	2 (50,0)	2(50,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
	gesamt	200	35 (17,5)	36	8 (22,2)	9 (25,0)	15(41,7)	2 (5,6)	2 (5,6)
Englischer Garten	Adulte	207	77 (37,2)	78	12 (15,4)	30 (38,5)	9 (11,5)	13 (16,7)	14 (17,9)
Isar Auen	Adulte	207	74 (35,7)	75	23 (30,7)	15 (20,0)	23 (30,7)	11 (14,7)	3 (4,0)
Passau	Adulte	211	70 (33,2)	73	21 (28,8)	14 (19,2)	15 (20,7)	19 (26,0)	4 (5,5)
Gesamt	Adulte	977	319 (32,7)	334	76 (22,8)	84 (25,1)	88(26,3)	58 (17,4)	28 (8,4)
	Nymphen	217	18 (8,3)	19	2 (10,5)	8 (42,1)	9(47,4)	0 (0,0)	0 (0,0)
	Gesamt	1194	337 (28,2)	353	78 (22,1)	92 (26,1)	97(27,5)	58 (16,4)	28 (7,9)

¹: Anzahl der borrelieninfizierten Zecken, ²: Anzahl der in den infizierten Zecken gefundenen Spezies einschließlich Mehrfachinfektionen, ³: *Borrelia burgdorferi* s.s., ⁴: *Borrelia valaisiana*.

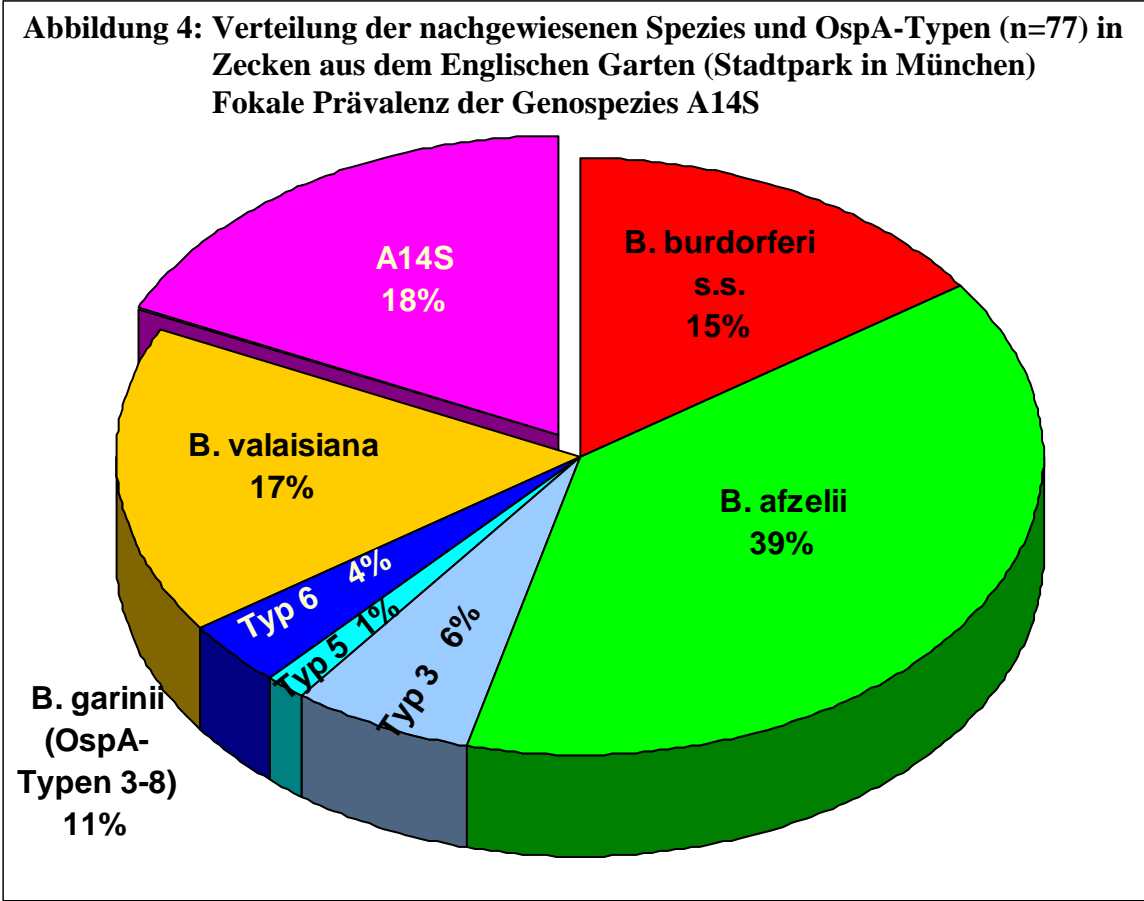
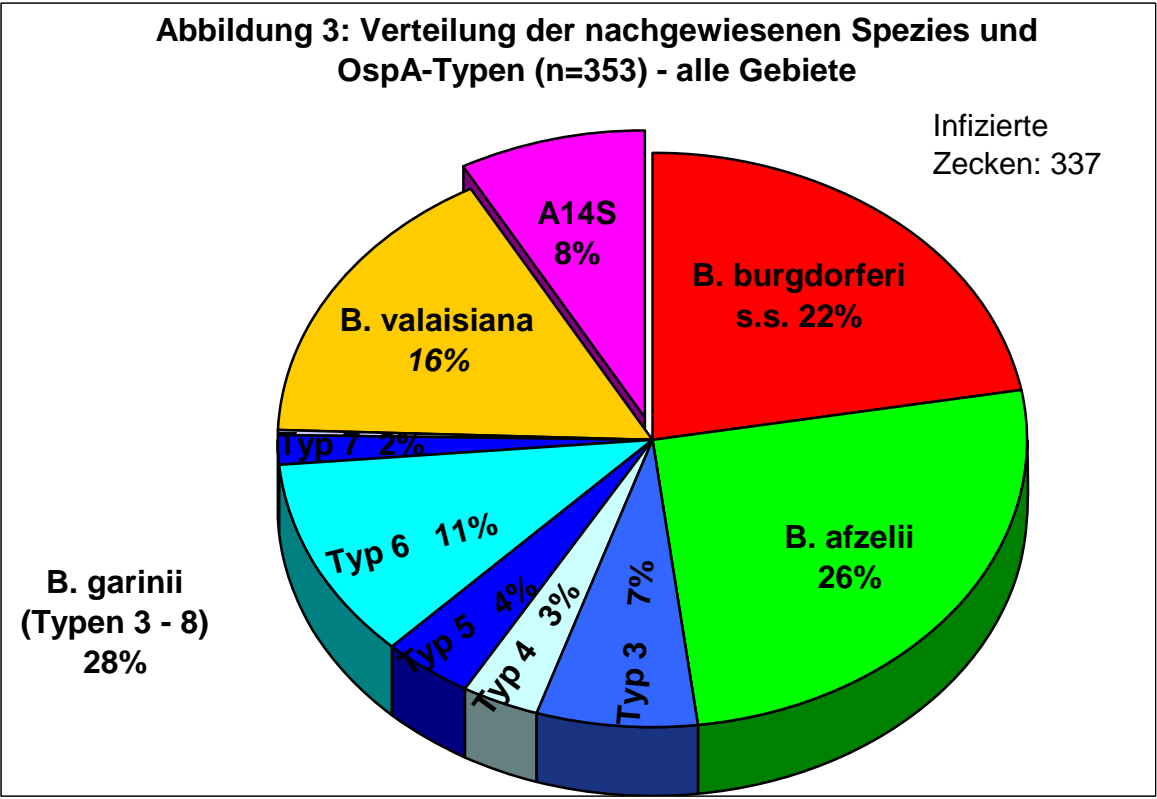
Tabelle 4: Prävalenz der Borrelia garinii OspA-Typen in infizierten Ixodes ricinus aus verschiedenen Sammelgebieten in 2004

		B. garinii	B. garinii OspA-Typen					
		gesamt	Typ 3 (%)	Typ 4 (%)	Typ 5 (%)	Typ 6(%)	Typ 7 (%)	Typ 8 (%)
Schöffel- ding	Adulte	19 (55,9)	1 (2,9)	2 (5,9)	3 (8,8)	10 (29,4)	3 (8,8)	0 (0,0)
	Nymphen	6 (85,7)	1 (14,3)	3 (42,9)	1 (14,3)	0 (0,0)	1 (14,3)	0 (0,0)
	gesamt	25 (61,0)	2 (4,9)	5 (12,2)	4 (9,8)	10 (24,4)	4 (9,8)	0 (0,0)
Grafrath	Adulte	9 (21,4)	2 (4,8)	2 (4,8)	3 (7,1)	2 (4,8)	0 (0,0)	0 (0,0)
	Nymphen	1 (12,5)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (12,5)	0 (0,0)	0 (0,0)
	gesamt	10 (20,0)	2 (4,0)	2 (4,0)	3 (6,0)	3 (6,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
Traun- stein	Adulte	13 (40,6)	2 (6,3)	3 (9,4)	0 (0,0)	6 (18,8)	2 (6,3)	0 (0,0)
	Nymphen	2 (50,0)	0 (0,0)	1 (25,0)	0 (0,0)	1 (25,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
	gesamt	15 (41,7)	2 (5,6)	4 (11,1)	0 (0,0)	7 (19,4)	2 (5,6)	0 (0,0)
Englischer Garten	Adulte	9 (11,5)	5 (6,4)	0 (0,0)	1 (1,3)	3 (3,8)	0 (0,0)	0 (0,0)
Isar Auen	Adulte	23 (30,7)	5 (6,7)	1 (1,3)	4 (5,3)	12 (16,0)	0 (0,0)	1 (1,3)
Passau	Adulte	15 (20,7)	8 (11,0)	0 (0,0)	2 (2,7)	5 (6,8)	0 (0,0)	0 (0,0)
Gesamt	Adulte	88 (26,3)	23 (6,9)	8 (2,4)	13 (3,9)	38 (11,4)	5 (1,5)	1 (0,3)
	Nymphen	9 (47,4)	1 (5,3)	4 (21,1)	1 (5,3)	2 (10,5)	1 (5,3)	0 (0,0)
	Gesamt	97 (27,5)	24 (6,8)	12 (3,4)	14 (4,0)	40 (11,3)	6 (1,7)	1 (0,3)

Das Vorkommen der verschiedenen Borrelientypen zeigte erhebliche Unterschiede in den verschiedenen Gebieten (Tabellen 3 und 4, Abbildungen 3 und 4). Hinweise auf eine fokale Prävalenz bestimmter Spezies bzw. OspA-Typen fanden sich im Sammelgebiet Schöffelding mit Prävalenz der Borrelia garinii OspA-Typen 4 und 6 (wobei in diesem Gebiet auffallend selten Borrelia afzelii nachweisbar war), sowie in Grafrath und im Englischen Garten mit einer Häufung von jeweils Borrelia afzelii. Die fokale Prävalenz des OspA-Typs 4 ist dabei von besonderem Interesse, da dieser Typ häufig aus Liquor von Patienten mit Neuroborreliose nachgewiesen wurde – in einer eigenen aktuellen Studie waren 22% von 72 Liquorisolaten OspA-Typ 4 - dagegen eher selten aus Zecken. Möglicherweise handelt es sich hier um einen Subtyp mit höherer Pathogenität.

Besonders erwähnenswert ist der häufige Nachweis der neuen Genospezies A14S im Englischen Garten (Abbildung 4), einem viel besuchten Naherholungsgebiet in der Stadt München. Diese Genospezies haben wir mittlerweile bei vier Erythema migrans Fällen

anzüchten könne, wobei alle vier Fälle aus dem Münchner Raum stammten. Diese Konstellation spricht für einen A14S Fokus in München.



Auffällige Unterschiede zeigten sich auch bei Betrachtung der Borrelienspezies bezogen auf die Zeckenstadien (Tabelle 3, 4, Abbildung 5): *Borrelia valaisiana* und die Genospezies A14S waren ausschließlich in adulten Zecken nachweisbar, während Nymphen relativ häufiger mit *Borrelia afzelii* und *Borrelia garinii* OspA-Typ4 infiziert waren. Dieser Befund deutet auf unterschiedliche Reservoirs für die verschiedenen Borrelien-Spezies und Subtypen hin, da die verschiedenen Zeckenstadien unterschiedliche Wirte bevorzugen. Zum Beispiel sind Mäuse häufig von Nymphen und Larven befallen, während adulte Zecken praktisch nicht an Mäusen saugen.

Doppelinfectionen fanden sich in 4,8% aller infizierten Zecken (Vorjahr 9%). Auch in diesem Jahr konnte eine von anderer Seite diskutierte Dominanz bestimmter Spezies bei Mehrfachinfektionen nicht festgestellt werden. Die an den Mehrfachinfektionen beteiligten Spezies entsprachen im Wesentlichen der Verteilung der Spezies in den einzelnen Gebieten.

Abbildung 5: Relative Häufigkeit der Spezies und OspA-Typen in Nymphen (blaue Balken) und adulten (gelbe Balken) Zecken

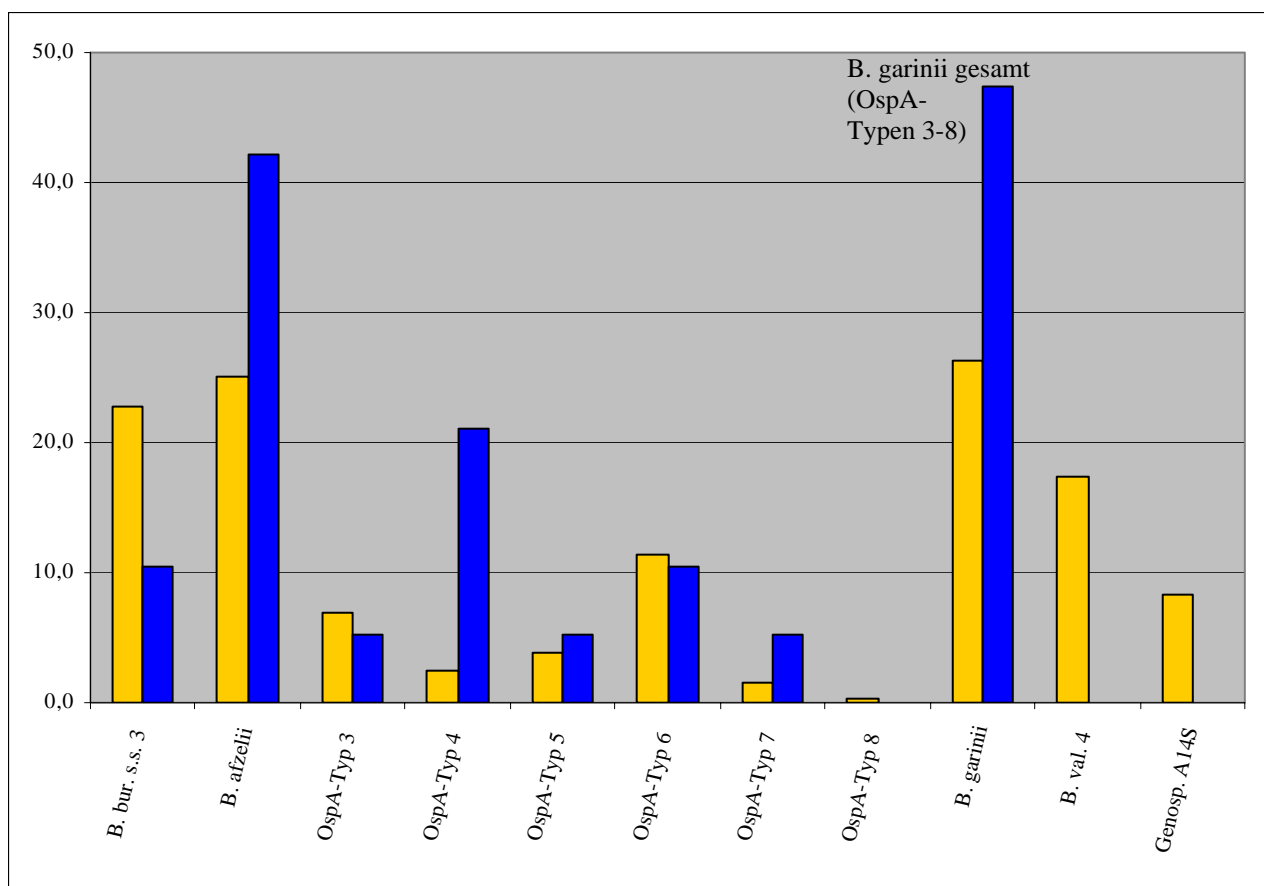
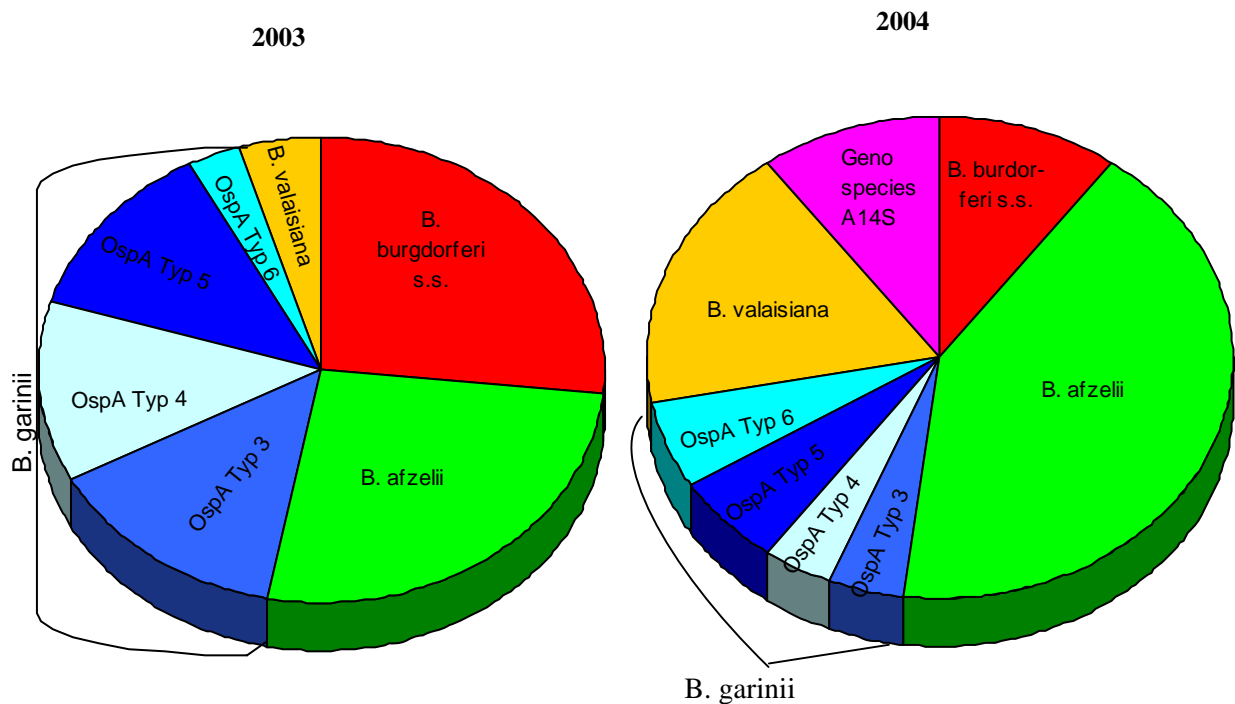


Abbildung 6: Häufigkeit von *Borrelia burgdorferi* Spezies und OspA-Typen im Sammelgebiet Grafrath in den Jahren 2003 und 2004



Vom Sammelgebiet Grafrath konnten die Ergebnisse aus dem Jahr 2003 mit 2004 verglichen werden. Für die Infektionsrate der adulten Zecken mit Borrelien fanden sich keine Unterschiede, sie war in beiden Jahren bei 37%. Bei Nymphen fand sich ein Rückgang der Infektionsrate von 42% auf 9%, wobei im Jahr 2003 aber nur 12 Nymphen untersucht werden konnten. Deutliche Unterschiede zwischen den Jahren zeigte die Verteilung der Spezies und Subtypen (Abbildung 6): In 2004 fanden wir eine Zunahme von *Borrelia afzelii* und *Borrelia valaisiana*. Erstmals konnten wir auch die neue Genospezies A14S nachweisen.

Zusammenfassend ist zu dem Studienteil „Prävalenz von *Borrelia burgdorferi* s.l. in nüchternen *Ixodes ricinus* aus verschiedenen Gebieten Bayerns“ festzuhalten, dass wir Unterschiede zwischen den Gebieten aber auch innerhalb eines Gebietes bezogen auf 2 verschiedene Jahre feststellen konnten. Allerdings haben wir für diese Befunde bislang keine Erklärungsmöglichkeit, da die Einflussfaktoren auf die Veränderungen der Spezies und Subtyp Prävalenz weitgehend unbekannt sind. In Frage kommen z.B. klimatische Faktoren, Veränderung der Wirtstierpopulation oder zivilisationsbedingte Einflussfaktoren.

4.2. Inzidenz der Lyme-Borreliose nach Zeckenstich

Hier standen zwei Fragestellungen im Vordergrund: (a) Wie häufig kommt es nach Zeckenstich zu einer Lyme-Borreliose und (b) ist der Nachweis von *Borrelia burgdorferi* aus der vom Menschen entfernten Zecke geeignet, eine Infektion vorherzusagen.

Im Rahmen dieses Teilprojektes wurden 57 von insgesamt 43 Personen entfernte Zecken und 79 Seren von 55 Personen untersucht. Bei 42 der 55 Probanden konnten 3-12 Monate nach dem Zeckenstich telefonisch oder mittels Fragebogen Daten zum Verlauf erhoben werden. Von 4 Personen mit je einem Zeckenstich standen keine Daten zum Verlauf zur Verfügung.

Eine Infektion mit *Borrelia burgdorferi* wurde bei 9 (16%) der angesogenen Zecken nachgewiesen: 4 mal *Borrelia garinii*, 3 mal *Borrelia afzelii*, 1 mal *Borrelia burgdorferi* s.s. und 1 mal *Borrelia valaisiana*. Diese Zecken stammten von insgesamt 9 Studienteilnehmern. Von 8 der Teilnehmer standen 4 bis 9 Monate nach dem Zeckenstich erhobene Daten zur Verfügung: Danach haben 7 Personen keine Symptome einer Lyme-Borreliose entwickelt während ein Teilnehmer an einer Lyme-Borreliose erkrankte: Er wurde von einer weiblichen *Ixodes ricinus* Zecke gestochen in der wir *Borrelia garinii* OspA-Typ 5 nachweisen konnten. Er entwickelte daraufhin ein Erythema migrans das unter antibiotischer Therapie (2 Wochen Doxycyclin) rasch und ohne weitere Folgen abheilte.

Auch bei den von einer in der PCR negativen Zecke gestochenen Personen (n=39 auswertbar) konnte ein Erythema migrans diagnostiziert werden. Diese Person wurde im Verlauf von etwa 6 Wochen von 4 Zecken über dem linken Schulterblatt gestochen. Nur zwei dieser Zecken wurden untersucht, in beiden Fällen konnten keine Borrelien nachgewiesen werden. Etwa 3 Wochen nach dem letzten Stich entwickelte sich ein Erythema migrans ohne weitere Symptome, das unter adäquater Therapie mit Doxycyclin innerhalb einer Woche abheilte.

Wenn man die Ergebnisse von 2003 und 2004 zusammenfasst, wurden 25 Borrelien-infizierte Zecken von den auswertbaren Teilnehmern entfernt und in lediglich einem Fall konnte eine Manifestation der Lyme-Borreliose, ein Erythema migrans, gefunden werden. Unter der Vorstellung dass diese Untersuchung nur dann sinnvoll ist wenn eine Konsequenz aus dem Ergebnis gezogen wird, d.h. bei positiver Zecke eine antibiotische Therapie durchgeführt wird, wären insgesamt 25 antibiotische Interventionen notwendig gewesen um ein Erythema migrans zu verhindern. Gleichzeitig wurde nach 104 Stichen (nur auswertbare Teilnehmer) von PCR-negativen Zecken 2 mal ein Erythema migrans diagnostiziert. Somit ist die Untersuchung angesogener Zecken auf Borrelien weder geeignet eine Infektion sicher vorherzusagen, noch eine Infektion sicher auszuschließen.

4.3. Prävalenz von *Borrelia burgdorferi* in Zecken und Materialien von Jagdwild

Borrelia burgdorferi s.l. überlebt in der Natur in einem komplexen Vektor-Wirt Zyklus. Da Borrelien nur ausnahmsweise transovariell übertragen werden, ist *Ixodes ricinus* in diesem

Zyklus hauptsächlich als Vektor anzusehen. Zur Fragestellung, welche Wirtstiere den Zyklus unterhalten stehen aus Deutschland nur wenige Daten zur Verfügung. Da Jagdwild wahrscheinlich einen erheblichen Beitrag zum Unterhalt der Zeckenpopulation leistet, haben wir Materialien und Zecken von Jagdwild mittels PCR auf *Borrelia burgdorferi* s.l. untersucht, um Anhaltspunkte für eine mögliche Vektorkompetenz der verschiedenen Tiere zu bekommen. Für dieses Teilprojekte wurden untersucht: Hautbiopsien (Tabelle 5) von 60 Rehen, 7 Rehkitzen, 43 mal Rotwild und 16 Wildschweinen (Schwarzwild), sowie 294 von diesen Tieren abgesammelte Zecken.

Tabelle 5: Prävalenz von *Borrelia burgdorferi* s.l. in Materialien von Jagdwild

Wild	Anzahl	Haut positiv n (%)	nachgewiesene OspA-Typen*	untersuchte Zecken	positiv (%)	nachgewiesene OspA-Typen*
Rehe	60	2 (3,3)	1, 3	172	1 (0,6%)	2
Rehkitze	7	2 (28,6)	4, 4	30	10 (33,3%)	Alle Typ 4
Rotwild	43	4 (9,3)	1, 1, 1, 1/4	88	5 (5,7%)	1, 1, 1, 3, 3/4
Wildschweine	16	4 (25,0)	1, 4, 6, 6/5	4	0	

*: 1 entspricht *Borrelia burgdorferi* s.s., 2 entspricht *Borrelia afzelii*, 3-8 entspricht *Borrelia garinii*

Bei Rehen waren lediglich in 2 Hautbiopsien (3,3%) Borrelien nachweisbar: 1 mal *Borrelia burgdorferi* s.s., 1 mal *Borrelia garinii* OspA-Typ 3. Dieses Ergebnis bestätigt den Befund der Studie von 2003, in der in Hautbiopsien von 14 Rehen in keinem Fall eine Borrelieninfektion nachgewiesen werden konnte. In den 172 von Rehen entfernten Nymphen und adulten Zecken konnte nur in einer (0,6%) eine Infektion und zwar mit *Borrelia afzelii* nachgewiesen werden. Der Erwartungswert für die Borrelien-Prävalenz liegt für nüchterne Zecken bei etwa 10% (Nymphen) - 20% (adulte Zecken). Beim Saugen an für Borrelien wirtskompetenten Tieren ist sogar von einer noch höheren Prävalenz in den Zecken auszugehen, da sich die Borrelien im Verlauf des Saugaktes vermehren und damit die Sensitivität für den Borreliennachweis steigt. Eine mögliche Ursache für die niedrige Borrelienprävalenz in saugenden Zecken wäre eine Inhibition der PCR durch Substanzen wie Hämoglobin oder das Skutum der Zecke. Eine relevante Inhibition konnte für die durchgeführten Untersuchungen durch entsprechende Kontrollen ausgeschlossen werden. Zusammengefasst sprechen diese Befunde gegen eine relevante Wirtskompetenz von Rehen für *Borrelia burgdorferi* s.l.. Im Gegenteil deuten die Befunde sogar darauf hin, dass durch das Saugen an adulten Rehen Borrelien aus der Zecke eliminiert werden könnten.

Überraschende Befunde dagegen ergab die Untersuchung der 7 Rehkitze (Tabelle 6). In 2 der 7 untersuchten Biopsien waren Borrelien nachweisbar, in beiden Fällen *Borrelia garinii* OspA-Typ4. Von diesen beiden Rehen wurden 9 Zecken untersucht, 3 davon waren mit *Borrelia garinii* OspA-Typ4 infiziert. Von den fünf PCR-negativen Rehkitzen wurden weitere

Tabelle 6: Prävalenz von *B. burgdorferi* s.l. in Hautbiopsien und Zecken von Rehkitzen

	Ergebnis PCR aus Haut	Anzahl untersuchter Zecken	Positive Zecken	<i>B. garinii</i> OspA-Typ 4
Rehkitz 1	OspA-Typ4	7	3 (42,9%)	3
Rehkitz 2	OspA-Typ4	2	0	
Rehkitz 3	negativ	5	4 (80%)	4
Rehkitz 4	negativ	3	3 (100%)	3
Rehkitz 5	negativ	1	0	
Rehkitz 6	negativ	3	0	
Rehkitz 7	negativ	9	0	
Gesamt	2	30	10 (33,3%)	10

21 Zecken untersucht: Davon waren sieben Zecken (33,3%) von drei Rehkitzen mit *Borrelia garinii* OspA-Typ4 infiziert, ein Hinweis darauf, dass die Übertragung dieses Borrelientyps vom Wirt Rehkitz auf den Vektor Zecke effizient funktioniert. Auch wenn die Anzahl der untersuchten Tiere klein ist, weisen die Daten darauf hin, dass das Rehkitz ein wichtiger Borrelienwirt mit besondere Bedeutung für *Borrelia garinii* OspA-Typ4 sein könnte.

Von 43 Biopsien von Rotwild waren in 4 (9,3%) Borrelien nachweisbar. Interessanterweise immer *Borrelia burgdorferi* s.s., in einem Fall zusammen mit einer *Borrelia garinii* OspA-Typ 4. Lediglich in 5 (5,7%) der 88 von Rotwild entfernten Zecken waren Borrelien nachweisbar: 3 mal *Borrelia burgdorferi* s.s. (zwei dieser Zecken waren von Rotwild mit positiver Haut-PCR), 1 mal OspA-Typ 3 und 1 mal eine Mischinfektion mit *Borrelia garinii* OspA-Typ3 und Typ4.

Höhere Infektionsraten waren bei Wildschweinen nachzuweisen: In 4 von 16 (25%) Biopsien waren Borrelien vorhanden: je einmal *Borrelia burgdorferi* s.s., *Borrelia garinii* OspA-Typ4,

OspA-Typ6 sowie eine OspA-Typ5/Typ6 Mischinfektion. Da Schwarzwild nur im Dezember gejagt wurde, standen nur 4 Zecken – alle ohne Borrelieninfektion – zur Verfügung.

Die in dieser Studie erhobenen Daten haben wichtige Implikationen für die zur Zeit wieder aktuelle Impfstoffentwicklung auf Basis des Oberflächenproteins OspA und auch für gebietsbezogene zukünftige Impfeempfehlungen. Sie können auch eine gute Grundlage für die Planung und Durchführung entsprechender Impfstudien darstellen und könnten in Zukunft eine wertvolle Hilfe für die Einschätzung des individuellen lokalen Infektionsrisikos bieten. Allerdings muss betont werden, dass das Wissen über die Entwicklung der Infektionsraten der Zecken mit *Borrelia burgdorferi* s.l. oder die Dynamik der einzelnen Borrelien-Spezies und – Subtypen noch sehr begrenzt ist. Die mit dieser Studie erhobenen Daten haben deshalb zunächst nur den Charakter einer Momentaufnahme: Sie ermöglichen eine aktuelle Einschätzung des lokalen Infektionsrisikos, gestatten aber noch keine belastbaren Rückschlüsse über das zukünftige Gefährdungspotential in einzelnen Gebieten. Hier ist noch viel Forschungsarbeit notwendig, speziell auch um die Einflussfaktoren – wie z.B. klimatische Verhältnisse, Wirtstiere oder zivilisatorisch bedingte Veränderungen – genauer zu definieren.

5. Öffentlichkeitsarbeit

Eine wichtige Aufgabe des Nationalen Referenzzentrums für Borrelien ist die Öffentlichkeitsarbeit und Beratung von Fachkreisen und des Bürgers zum Thema Lyme-Borreliose. Im Durchschnitt bearbeiten wir etwa 20-30 Anrufe zum Thema Lyme-Borreliose pro Tag. Die in dieser Studie erhobenen Daten fließen regelmäßig in unsere Beratungstätigkeit mit ein. Insbesondere die Ergebnisse der Studienteile „Inzidenz der Lyme-Borreliose nach Zeckenstich“ und „Prävalenz von *Borrelia burgdorferi* s.l. in nüchternen *Ixodes ricinus* aus verschiedenen Gebieten Bayerns“ werden regelmäßig als Beratungsgrundlage angeführt.

Darüber hinaus wurden zumindest Teile der Studie bei mehr als 20 Fortbildungsveranstaltungen oder wissenschaftlichen Kongressen in 2004 und 2005 präsentiert (siehe Anlage). Die Ergebnisse der Studie wurden auch bei einem Kurs für Angewandte Epidemiologie (Berlin und Stuttgart) des Robert Koch Institutes im November 2005 dargestellt und diskutiert.

6. Die wichtigsten Ergebnisse der Studie

1. Die Untersuchungen an nüchternen Zecken zeigen, dass in Bayern mit dem Vorkommen aller humanmedizinisch bedeutsamen Borrelienspezies und Subtypen zu rechnen ist. Dabei kann zum Einen selbst in eng begrenzten Gebieten eine große Vielfalt von Spezies und Subtypen vorkommen. Zum Anderen gibt es auch Regionen, in denen ein bestimmter Borrelientyp dominiert, wie in Bad Tölz, wo in vielen Zecken der oft bei Neuroborreliose anzüchtbare *B. garinii* OspA-Typ 4 nachzuweisen war. Von besonderem Interesse ist der Befund, dass die erst kürzlich identifizierte neue Genospezies A14S ein fokales Verbreitungsmuster aufweist: Besonders häufig fand sich diese Genospezies im Englischen Garten in München und, Bemerkenswerterweise, stammen auch alle vier bei uns bislang angezüchteten A14S Stämme von Patienten aus dem Raum München.

2. Nach den Ergebnissen des Studienteiles „Inzidenz der Lyme-Borreliose nach Zeckenstich“ ist die Untersuchung der vom Menschen entfernten Zecke auf Borrelien nicht sinnvoll. Diese Untersuchung erlaubt weder, eine Infektion mit genügender Sicherheit vorherzusagen, noch mit genügender Sicherheit auszuschließen. Es gilt auch weiterhin: Die Zecke soll mit einem geeigneten Instrument (z.B. spitze Pinzette) möglichst dicht über der Haut gefasst und entfernt werden. Die Stichstelle sollte dann desinfiziert und anschließend beobachtet werden, ob eine Wanderröte auftritt, die dann entsprechend antibiotisch behandelt werden muss. Auch wenn andere Erkrankungssymptome wie z.B. Gelenkschwellungen oder Gesichtslähmungen auftreten, muss der behandelnde Arzt über den Zeckenstich informiert werden.

3. Das Teilprojekt „Prävalenz von *Borrelia burgdorferi* im Jagdwild“ hatte zum Ziel, mögliche Wirtstiere für *B. burgdorferi* zu identifizieren. Rehe und Rotwild sind nach den vorliegenden Ergebnissen keine für *B. burgdorferi* geeigneten Wirte. Die Daten weisen sogar darauf hin, dass durch das Saugen an Rehen Borrelien aus den Zecken eliminiert werden könnten, Rehe somit den Vektor-Wirt Zyklus unterbrechen könnten. Trotzdem ist darauf hinzuweisen, dass das Reh ein wichtiger Wirt für die Zecke selbst ist und maßgeblich an der Aufrechterhaltung der Zeckenpopulationsdichte beteiligt ist. Dagegen könnten Rehkitze speziell für den *Borrelia garinii* OspA-Typ4, der besonders häufig bei Neuroborreliose isoliert wurde, als Wirtstier dienen. Interessanterweise waren aus den wenigen Hautbiopsien von Wildschweinen in 25% unterschiedliche Borrelientypen nachweisbar. Möglicherweise ist das Wildschwein ein effizienter Wirt für verschiedene Borrelientypen.

Die vorliegenden Ergebnisse sind ein wichtiger Baustein auf dem Weg zu einem besseren Verständnis insbesondere der epidemiologischen Verhältnisse im Themenbereich Lyme-

Borreliose. Allerdings bleiben weiterhin noch viele Fragen offen und die vorliegenden Ergebnisse müssen noch durch weitere Studien abgesichert werden.

Anlage 1: Fragebogen zur Studie „Inzidenz der Lyme-Borreliose nach Zeckenstich“

Name: _____

Geburtsdatum: _____

Beruf: _____

An welcher Körperstelle wurden Sie gestochen? _____

Wurde bei Ihnen nach dem aktuellen Zeckenstich eine Lyme-Borreliose festgestellt? ja nein

Wenn ja, Diagnose durch: _____

Wenn ja, Dauer der Beschwerden ca. von – bis: _____

Wenn ja, Beschwerden an: Haut Nervensystem Gelenken

sonstige Symptome _____

Haben Sie nach dem aktuellen Zeckenstich Medikamente erhalten? ja nein

Wenn bekannt, welches Medikament:

Wenn ja, wie lange:

Wurde bei Ihnen früher schon eine Lyme-Borreliose festgestellt? ja nein

Wenn ja, Diagnose durch: _____

Wenn ja, Beschwerden an: Haut Nervensystem Gelenken

Wenn ja, Dauer der Beschwerden ca. von – bis: _____

Wie häufig haben Sie Zeckenstiche? Bitte schätzen Sie:

- Weniger als 1 Stich pro Jahr
- Etwa 1 Stich pro Jahr
- 1-10 Stiche pro Jahr
- Mehr als 10 Stiche pro Jahr

Nochmals ganz herzlichen Dank für Ihre Teilnahme!

Anlage 2: Publikationen und Beiträge zur Öffentlichkeitsarbeit bei denen Ergebnisse aus der vorliegenden Studie verwendet wurden

2004

Fingerle, V.; Wilske, B. Entfernte Zecken ins Labor schicken? Der Allgemeinarzt: 15933

Fingerle, V.; Michel, H.; Schulte-Spechtel, U.; Goettner, G.; Hizo-Teufel, C.; Hofmann, H.; Weber, K.; Wilske, B. A14S - a new *Borrelia burgdorferi* s.l. genospecies as relevant cause of human disease. 2004. Int. J. Med. Microbiol. Wissenschaftliches Programm 56. DGHM-Tagung 26. - 29. September 2004 in Münster.: 294S1207 IKP004

Fingerle, V. Epidemiologie, Klinik, Diagnostik und Therapie der Lyme-Borreliose. 2004. in: Loeffler Institut für Medizinische Mikrobiologie (FLI) (eds.) Institutsseminar, 12.02.04 Greifswald,

Fingerle, V. Epidemiologie und mikrobiologische Diagnostik der Lyme-Borreliose: zwischen Mythen und Fakten. 2004. in: von Mutius, E.; Reichholf, J. H.; Ziegler, H. (eds.) Bayerische Akademie der Wissenschaften. Kommission für Ökologie. Zur Ökologie von Infektionskrankheiten: Borreliose, FSME und Fuchsbandwurm am 11. Oktober, im Nordostflügel der Residenz. München ,

Fingerle, V.; Wilske B. Umstrittene Verfahren in der Diagnostik der Lyme-Borreliose: LTT, Antigennachweis und VCS. 2004. Int. J. Med. Microbiol. Wissenschaftliches Programm 56. DGHM-Tagung 26. - 29. September 2004 in Münster.: 294S145 QMV001

Fingerle, V.; Wilske, B. Activities of the National Reference Center for *Borreliae*. 2004. Int. J. Med. Microbiol. Wissenschaftliches Programm 56. DGHM-Tagung 26. - 29. September 2004 in Münster.: 294S1129 RFV001

Fingerle, V. Lyme-Borreliose: Epidemiologie und Diagnostik. 2004. in: Mikrogen GmbH (eds.) Workshop: Neue Aspekte in der Borrelien-Diagnostik, am 27.10.04. Frankfurt,

Fingerle, V. Volksseuche Lyme Borreliose? Pathogenitische und (differential) diagnostische Aspekte. 2004. in: Reischl, U. (eds.) Seminarraum des Instituts für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene am 21.10.04. 17.00 Uhr. Regensburg,

Fingerle, V. Umstrittene Verfahren in der Diagnostik der Lyme-Borreliose. 2004. in: Nationales Referenzzentrum für Borrelien und Konsiliarlabor für Ehrlichia. (eds.) Lyme-Borreliose: Diagnose, Differentialdiagnose und Therapie. Eine interdisziplinäre Fortbildung. Fortbildungsveranstaltung des Max von Pettenkofer-Instituts. Mittwoch, 30. Juni 2004, 18.00 - 20.30 Uhr. München,

Fingerle, V. Labordiagnostik der Lyme-Borreliose. 2004. DiaSorin Deutschland GmbH, Regionales Diagnostisches Forum am 16. Juni 2004 in Dresden.:

Fingerle, V. Mikrobiologische Diagnostik der Borreliose. 2004. in: Erbguth, F.; Niklewski, G. (eds.) Neuropsychiatrisches Symposium, Neurologische und Psychiatrische Aspekte der Neuroborreliose am Mittwoch, 21.01.04. Nürnberg, (2004).

2005

V. Fingerle and B. Wilske. 2005. Activities of the National Reference Center for *Borreliae* in 2004 (Vortrag). Anonymous. Anonymous. (Biospektrum Tagungsband zum 2. Gemeinsamen Kongress der DGHM und VAAM in Göttingen, 25. - 28. 9. 2005.):175 RKV004, .

V. Fingerle. Aktuelle Diagnostik der Lyme-Borreliose (Vortrag). 2005. Fortbildungsveranstaltung für Laborleiter, 6. und 7. April. Anonymous. Dade Behring. Köln, Park Inn Hotel: .

V. Fingerle. Aktuelle Diagnostik der Lyme-Borreliose (Vortrag). 2005. Fortbildungsveranstaltung für Laborleiter, 13. und 14. April. Anonymous. Dade Behring. Wildbad Kreuth, Bildungszentrum: .

- V. Fingerle. Aktuelle Diagnostik der Lyme-Borreliose (Vortrag). 2005. Fortbildungsveranstaltung für Laborleiter, 20. und 21. April. Anonymous. Dade Behring. Göttingen, Hotel Freizeit Inn. .
- V. Fingerle, U. Schulte-Spechtel, G. Göttner, C. Hizo-Teufel, H. Hofmann, K. Pfister, S. Leonhard, K. Weber, and B. Wilske. 2005. Detection of the new *Borrelia burgdorferi* s.l. genospecies A14S from patient material and ticks (Vortrag). J. Süß, O. Kahl, P. Kimmig, W. Dorn, and P. Wutzler. Anonymous. Jena:(VIII International Potsdam Symposium on Tick-borne Diseases, 10 - 12 March, 2005.
- V. Fingerle. Diagnostik der Lyme-Borreliose: zwischen Mythen und Richtlinien (Vortrag). 2005. Anonymous. 25.Bayerisches Chemotherapie-Expertengespräch G78J2. . 07-07-5 A.D.
- V. Fingerle. Epidemiologie und mikrobiologische Diagnostik der Lyme-Borreliose: zwischen Mythen und Fakten. 2005. In: *Zur Ökologie von Infektionskrankheiten*, edited by Rundgespräche der Kommission für Ökologie, München:Verlag Dr. Friedrich Pfeil, , p. 29-42.
- V. Fingerle. Epidemiologie, Diagnose und Therapie der Lyme-Borreliose (Vortrag). 2005. Anonymous. Anonymous. (Gemeinschaftspraxis für Labormedizin, Dr. rer. nat. G. Lodderstaedt, Nürnberg am 21.09.05.), .
- V. Fingerle. Lyme-Borreliose: Eine überdiagnostizierte Infektion? 2005. Deutsche Gesellschaft für Wehrmedizin und Wehrpharmazie e.V.(VdSO) - Bereichsgruppe Rheinland-Pfalz - Symposium mit Industrieausstellung in Koblenz am 10.September 2005 im Bundeswehrzentral Krankenhaus. Zöller L and Güttler N. .
- V. Fingerle. Molecular detection and characterization of *Borrelia* in patients and ticks. 2005. G. Stanek. Anonymous. (10th International Conference on Lyme Borreliosis and Other Tick-borne diseases. September 11-15, 2005 Vienna, Austria - Scientific Programme.):24, .
- V. Fingerle, U. Schulte-Spechtel, G. Göttner, C. Hizo-Teufel, H. Hofmann, S. Leonhard, H. Michel, K. Pfister, K. Weber, and B. Wilske. 2005. The new *Borrelia burgdorferi* s.l. genospecies A14S: prevalence in patient material and ticks (Poster). G. Stanek. Anonymous. (10th International Conference on Lyme Borreliosis and Other Tick-borne diseases. September 11-15, 2005 Vienna, Austria - Book of Abstracts.):P 39 S.38, .
- V. Fingerle, U. Schulte-Spechtel, G. Göttner, C. Hizo-Teufel, H. Hofmann, S. Leonhard, K. Pfister, K. Weber, and B. Wilske. 2005. The new *Borrelia burgdorferi* s.l. genospecies A14S: prevalence in patient material and ticks (Poster). Anonymous. Anonymous. (Biospektrum Tagungsband zum 2. Gemeinsamen Kongress der DGHM und VAAM in Göttingen, 25. - 28. 9. 2005.):144 PIP017, .
- M. Timm, Interview mit V. Fingerle. 2005. Im Englischen Garten lauern die meisten Blutsauger. 2000 Münchner stecken sich jedes Jahr mit Borreliose an. Wie gefährlich sind Zecken wirklich? Anonymous. Anonymous. *tz-München* :3, 2005. 05-19-5 A.D.
- B. Wilske. Antigenic heterogeneity of *Borrelia* in Europe: implications for use of recombinant antigens. 2005.. G. Stanek. Anonymous. (10th International Conference on Lyme Borreliosis and Other Tick-borne diseases. September 11-15, 2005 Vienna, Austria - Scientific Programme):24.
- B. Wilske. European guidelines for diagnosis of tick borne diseases (Vortrag). 2005. ESCMID - Scientific. Anonymous. (15th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases(15th ECCMID), April 2 - 5, 2005. Copenhagen, Denmark), .