

## **Zecken und von Zecken übertragene Krankheitserreger**

### **Bericht zur Tagung des Arbeitskreises „Medizinische Arachno-Entomologie“ vom 28.-29.9.2000 in Berlin**

Zur diesjährigen Tagung des AK Medizinische Arachno-Entomologie unter dem Thema „*Zecken und von Zecken übertragene Krankheitserreger*“ trafen sich 51 Parasitologen und Entomologen am 28. und 29. September 2000 im Institut für Parasitologie und Internationale Tiergesundheit der Freien Universität Berlin. Schwerpunkte des Programms waren die Bestimmung, Biologie und Ökologie bedeutender Zeckenarten, aber auch ihre Rolle in der Epidemiologie der FSME, Lyme-Borreliose, Ehrlichiose, des Q-Fiebers und von Piroplasmen. Vorträge zur Entwicklung von Impfstoffen gegen die Lyme-Borreliose, zur Testung von Repellentien und Akariziden sowie zur Bekämpfung von Taubenzecken bereicherten diese Tagung.

Frau Dr. B. HABEDANK (Berlin) stimmte die Teilnehmer durch eine Übersicht zum breiten Vektorpotential der Ixodida auf die Thematik ein und leitete nach systematischen Ausführungen die traditionellen Bestimmungsübungen. Lebende argaside Zecken wurden freundlicherweise von Herrn Prof. I. IGLISCH (UBA, Berlin) zur Verfügung gestellt; ein herzlicher Dank gilt zudem Herrn Dr. J. DUNLOP (Museum für Naturkunde, HU Berlin), der es ermöglichte, eine historische Trockenpräparatesammlung des Museums auszustellen. Dr. A. SCHÖNBERG (BgVV, Berlin) vermittelte einen Überblick über verschiedene Verfahren zum Nachweis von *Borrelia burgdorferi* s.l. in Zecken und gab anschließend Gelegenheit, fixierte Borrelien mittels Fluoreszenzmikroskopie bzw. lebende Borrelien mittels Dunkelfeldmikroskopie selbst zu betrachten. Ixodide Zecken als Vektoren von Piroplasmen waren Schwerpunkt des Vortrages und der Präparationsübungen unter Anleitung von Prof. Dr. E. SCHEIN (Berlin).

Als Eröffnungsvortrag des zweiten Arbeitstages charakterisierte PD Dr. J. SÜSS (BgVV, Berlin) FSME-Risikogebiete in Deutschland, zu denen nach neuen Erkenntnissen auch der Odenwald zählt. PD Dr. O. KAHL (Berlin) sprach zur Biologie der Lyme-Borreliose und ihres Hauptvektors *Ixodes ricinus* und arbeitete deutlich ökologische Beziehungen der *Borrelia burgdorferi* s.l.-Träger, Überträger und die Zirkulationsmechanismen der Erreger im Naturherd heraus. PD Dr. M. SIMON (MPG, Freiburg) erläuterte die Strategien, Probleme und den aktuellen Stand der Impfstoffentwicklung gegen die Lyme-Borreliose. Prof. Dr. R. GOTHE (München) berichtete über Nachweise von *Babesia canis*-Infektionen bei Hunden in Süddeutschland ohne vorherigen Auslandsaufenthalt und präsentierte Studien zur ökologischen Potenz des Vektors *Dermacentor reticulatus* sowie auch der Schafzecke *D. marginatus*. Prof. Dr. P. KIMMIG (Stuttgart) stellte Studienergebnisse des Landes Baden-Württemberg zur Verbreitung der Lyme-Borreliose, FSME und Ehrlichiose der Phagozytophila-Gruppe vor. Die Testungsergebnisse verschiedener Membranen zur alternativen In-vitro-Ernährung ixodider Zecken präsentierte Dipl.-Biol. A. VOLLMER (Tübingen). Dr. H. DAUTEL (Berlin) demonstrierte ein neu entwickeltes und getestetes System zur Detektion von Zeckenrepellentien und zeigte dazu ein beeindruckendes Video. Dr. N. MENCKE (Monheim) erläuterte die wesentlichen Etappen zur Auffindung neuer Verbindungsklassen und Verbindungen zum Screening und der Entwicklung neuerer Akarizide. PD Dr. S. SCHEURER (Berlin) referierte zu Vorkommen, Biologie und Bekämpfung der Taubenzecke *Argas reflexus*. Der Nachweis dieser Lederzecken in bewohnten Gebäuden in ganz Deutschland und gesicherte Fälle von Zeckenstichallergien belegen die Aktualität der Taubenzeckenproblematik.

Ein gemütlicher Abend (28.9.), eine Führung durch das Berliner Aquarium unter der sachkundigen Leitung von Herrn Dr. LANGE (29.9.) sowie auch eine Führung durch den Deutschen Bundestag (30.9.) boten einen kulturellen Rahmen für die diesjährige Tagung, die traditionsgemäß in freundschaftlicher Atmosphäre stattfand.

Das nächste Treffen des AK Medizinische Arachno-Entomologie wird im Herbst des Jahres 2001 an der Universität Bonn zum Thema „Trombiculiden und andere parasitische

Milben“ stattfinden. Die Organisation wird dankenswerterweise Herr Dr. H. KAMPEN übernehmen ([h.kampen@parasit.meb.uni-bonn.de](mailto:h.kampen@parasit.meb.uni-bonn.de)).

B. HABEDANK (Berlin)

## Determination von ixodiden und argasiden Zecken

BIRGIT HABEDANK

*Institut für Parasitologie und Internationale Tiergesundheit, FU Berlin, Königsweg 67, D-14163 Berlin, e-mail: habedank@sporkin.vetmed.fu-berlin.de*

Derzeit gibt es weltweit über 869 beschriebene Spezies und Subspezies der Ixodida, die den Subordnungen Ixodina, Argasina und Nuttalliellina – letztere mit nur einer einzigen beschriebenen Art – zugeordnet werden (Camicas et al., 1998).

In den vergangenen Jahren wurden zur Artdifferenzierung einzelner human- bzw. veterinärmedizinisch bedeutsamer Zecken sowie für systematische und phylogenetische Studien bereits neuere Verfahren, u.a. mittels PCR, Enzym-Elektrophoresen, Gaschromatographie oder Caryotyp-Untersuchungen, etabliert; die Durchführungen sind bisher sehr aufwendig und kostenintensiv. Den Acarologen stehen zur Determination von Zecken nach dem klassischen Verfahren eine Reihe von Monographien sowie von in Zeitschriften publizierten Bestimmungsschlüsseln zur Verfügung, in denen jeweils die Zeckenfauna ausgewählter geographischer Regionen Berücksichtigung findet; ein globales Werk liegt bisher nur für das Genus *Rhipicephalus* von Walker et al. (2000) vor.

Im Rahmen eines Praktikums wurden Übungen zur Bestimmung von bedeutsamen einheimischen und tropischen Zeckenarten der Gattungen *Ixodes*, *Dermacentor*, *Rhipicephalus*, *Haemaphysalis*, *Hyalomma*, *Amblyomma*, *Boophilus* und *Ornithodoros* durchgeführt, zudem standen lebende Larven, Nymphen und Adulte von *Ixodes ricinus*, *Rhipicephalus sanguineus*, *R. appendiculatus*, *Hyalomma anatolicum excavatum*, *Argas reflexus* und *A. persicus* aus Laborzuchten zur Verfügung.

Camicas, J.-L., Hervy, J.-P., Adam, F., Morel P.-C. (1998): The ticks of the world. Nomenclature, described stages, hosts, distribution. Editions del'Ostrom, Paris, 233 S.

Walker, J.B., Keirans, J.E., Horak, I.G. (2000): The genus *Rhipicephalus* (Acari, Ixodidae): A guide to the brown ear ticks of the world. Cambridge University Press, UK, 643 S.

## Zum Nachweis von *Borrelia burgdorferi* s.l. in Zecken

ARNO SCHÖNBERG

Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin, Diedersdorfer Weg 1, D-12277 Berlin, Tel 0188/84122056, Fax 0188/84122000, e-mail: a.schoenberg@bgvv.de

Das infektiöse Agens der Lyme-Disease wurde erst 1981 in den USA durch BURGDORFER entdeckt. Es handelt sich um eine neue Borrelien-Art, die 1984 nach ihrem Entdecker als *Borrelia burgdorferi* beschrieben wurde.

*B. burgdorferi* sensu lato (s.l.) ist ein Oberbegriff für folgende Arten: *B. burgdorferi* sensu stricto (s.s.), *B. garinii*, *B. afzelii*, *B. valaisiana* u.a. Borrelien sind 5-25 µm lang und 0,2 µm dick. Sie besitzen Endoflagellen und sind dadurch beweglich. Die Infektionsraten von *Ixodes ricinus* können bis zu 40 % oder mehr betragen.

Zum Nachweis von *B. burgdorferi* s.l. in der Zecke können folgende Methoden angewandt werden:

1. Dunkelfeldmikroskopie (DF)
2. Indirekter Immunfluoreszenz Test (IFT)
3. Kultur
4. Polymerase-Kettenreaktion (PCR)
5. Reverse line blot (RLB)

Zu 1.: Die Dunkelfeldmikroskopie ist schnell durchführbar, jedoch muss das Präparat sofort durchgesehen werden. Bei größeren Untersuchungszahlen kann pro Tag nur eine begrenzte Anzahl von Zecken untersucht werden.

Zu 2.: Für die indirekte Immunfluoreszenz (IFT) sollte ein polyklonales *Borrelia burgdorferi*-Antiserum verwendet werden. Die dabei einzusetzenden markierten Sekundärantikörper (Konjugat) richten sich nach der Tierart (z.B. Anti-Kaninchen-AK), von dem das Serum gewonnen wurde.

Zu 3.: Die kulturelle Anzucht von Borrelien sollte nur von Speziallaboratorien durchgeführt werden. Sie verlangt spezielle Erfahrung und ist sehr aufwendig. *B. burgdorferi* benötigt zum Wachstum mikroaerophiles Milieu und hat bei 33°C eine Inkubationsdauer von mehreren Wochen. Wegen der langen Generationszeit von Borrelien können vorhandene Begleitkeime zum Absterben der Erreger führen. Bei dem zu verwendenden BSK-Medium oder MKP-Medium sollten Röhren mit Hemmstoffen nicht fehlen, Subkulturen sind anzulegen.

Zu 4.: Mit Hilfe der Polymerase-Kettenreaktion (PCR) kann *B. burgdorferi* s.l. DNA nachgewiesen werden. Häufig wird eine OspA-spezifische Nested-PCR durchgeführt. Bei unseren Untersuchungen erwies sie sich gegenüber der „One Step-PCR“ in gespiktem Probenmaterial um mindestens eine 10er Potenz überlegen. PCR-Produkte können im Southern Blot-Verfahren bestätigt werden.

Zu 5.: Bei der Methode „Reverse line blot“ (RLB) handelt es sich um eine Modifizierung der Methode „Reverse dot blot“. Es wird die DNA-Sequenz der Region zwischen 5S und 23S rRNA mit Hilfe der PCR angereichert und zu membran-gebundenen Oligonucleotiden hybridisiert. Neben einer DNA-Probe, die mit allen Spezies von *B. burgdorferi* s.l. reagiert, gibt es auch DNA-Proben, die eine Spezies-Differenzierung in der Zecke ermöglichen. Nach den Autoren handelt es sich um eine schnelle, leicht durchführbare Methode. (J. Clin. Microbiol. 33; 3091-3095 (1995)).

Wertigkeit der Methoden: Dabei sind folgende Tatsachen zu berücksichtigen:

	Durchführbarkeit	Praktikabilität	Beurteilung	Wertigkeit
DF	+++	++	++	++
IFT	+++	+++	++ (+)	+++
Kultur	+++	+	++ (+)	++

PCR	++ (+)	++	+++	++
-----	--------	----	-----	----

+++ gut; ++ mäßig bis gut; + mäßig

Die Wahl der Methode wird in erster Linie von der Ausrüstung im Labor und von den vorhandenen Erfahrungen der Untersucher bestimmt. Die Immunfluoreszenz halten wir für die Methode, mit der am besten ein Nachweis von *B. burgdorferi* s.l. in der Zecke erfolgen kann.

Nachteilig ist die subjektive Beurteilung der Methode. Andererseits wird dieser Nachteil aber im Vergleich zur Immunfluoreszenz bei anderen Erregern durch die charakteristische Form der Borrelien auf ein Minimum reduziert. Gegenüber der PCR ermöglicht die Fluoreszenz eine semi-quantitative Aussage.

## Entwicklungsstadien von Piroplasmen in Zecken

E. SCHEIN

*Institut für Parasitologie und Internationale Tiergesundheit, Freie Universität Berlin,  
Königsweg 67, D-14163 Berlin*

Schildzecken sind die Überträger von Piroplasmen. Die Zecken nehmen mit der Blutmahlzeit Merozoiten von Babesien und Theilerien auf. In den inneren Organen der Zecke erfolgt dann ein typischer Sporozoa-Entwicklungszyklus mit Gametogonie und Sporogonie, während die Schizogonie (Merogonie) im Vertebraten abläuft.

Der Nachweis der Piroplasmen in ihren Vektoren erfolgt durch Präparation der inneren Organe der Zecke. Dabei befallen die Theilerien hauptsächlich Darm und Speicheldrüse, während die Babesien zusätzlich noch Vermehrungsstadien in allen Zeckenzellen, insbesondere aber in der Hämolymphe, im Ovar und in den Eizellen bilden. Zum Nachweis dieser Entwicklungsstadien muss daher das Entwicklungsstadium und der Ernährungszustand der Zecken berücksichtigt werden. Zum Nachweis der Theilerien eignen sich am besten angesogene Zecken, bei denen die großen Sporonten die Speicheldrüsenalveolen deutlich vergrößern. Hierzu müssen die Speicheldrüsen aus den Zecken in Insektenringerlösung (0,7 % NaCl) unter dem Stereomikroskop präpariert werden und nativ oder nach Feulgen gefärbt werden.

Für den Nachweis der Babesien sind besonders Ausstriche der Hämolymphe bzw. Quetschpräparate der Eier geeignet, in denen sich die Sporokineten als „zigarrenförmige“ Gebilde nach Giemsa-Färbung deutlich darstellen lassen. Hämolymphe erhält man, wenn mit einer feinen Schere ein Bein der Zecke abgetrennt wird. Die ausgetretene Hämolymphe kann dann auf einen Objektträger aufgefangen, fixiert und gefärbt werden. Eine Artdifferenzierung in der Zecke ist durch diesen Nachweis von Entwicklungsstadien nicht oder nur eingeschränkt möglich.

## Die aktuelle epidemiologische Situation der FSME in Deutschland

JOCHEN SÜSS und CHRISTINA SCHRADER

*Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin, Nationales Referenzlabor für durch Zecken übertragene Krankheiten (NRL-ZüK), Diedersdorfer Weg 1, D-12277 Berlin*

Die klassischen und weitgehend bekannten FSME-Risikogebiete in Deutschland liegen in Baden-Württemberg und in Bayern und diese sind unverändert aktiv. Es wurden 1998 in Bayern 28 autochthone Fälle von FSME, 1999 12 und in Baden-Württemberg 1998 107 autochthone Fälle, 1999 67 Fälle registriert. Obwohl die Fallsammlungen noch nicht vollständig abgeschlossen sind, erscheinen diese Zahlen relativ niedrig. So wurden z.B. 1994 die höchsten Fallzahlen der letzten Jahre mit 256 in Baden-Württemberg und 51 in Bayern beobachtet.

Es ist nunmehr auch in Deutschland zu vermuten, was in Österreich seit Jahren sicher ist: Auf Grund des zunehmenden Durchimpfungsgrades der Bevölkerung ist die Aktivität solcher Risikogebiete nicht mehr vollständig über die Sammlung autochthoner FSME-Fälle zu bewerten. Neue epidemiologische Techniken müssen deshalb für diese Bewertung, die Grundlage der Immunprophylaxe ist, herangezogen werden. Wir entwickelten deshalb ein Modell der direkten Virusprävalenzmessung in ungesogenen Zecken, wobei mittels molekularbiologischer Methoden und biostatistischer Berechnungen Prävalenzwerte bestimmt werden.

In den Gebieten Deutschlands, wo in den letzten Jahren die meisten autochthonen Fälle auftraten, wie im Schwarzwald, in der Umgebung von Freiburg i.Br., konnten 1998 und 1999 Virusprävalenzwerte der Gesamtpopulation der Zecken zwischen 0,2 und 1,1 % und in ausgewählten Standorten Bayerns (Umgebung von Passau) in den gleichen Jahren von 0,3 - 2,0 % gemessen werden.

Mit diesem methodischen Rüstzeug und entsprechenden Vergleichswerten ausgestattet, war es 1999 unser Ziel, Aussagen zur FSME-Situation im Odenwald zu gewinnen. Im Gebiet des Odenwaldes konnten von 1991-99 76 Erkrankungsfälle recherchiert werden, von denen sich 42 als autochthon erwiesen. Die Expositionen fanden in 6 Landkreisen des Odenwaldgebietes statt und dort wurden im Mai 1999 1000 ungesogene Zecken (*Ixodes ricinus*, Adulti und Nymphen) gewonnen und mittels nested RT-PCR auf FSME-Virussequenzen untersucht. Dabei ergab sich eine Virusprävalenz aller untersuchter Zeckenstadien von 0,42 % (95%-KI: 0,11 - 1,06 %).

Die Daten der Sammlung autochthoner klinischer Erkrankungsfälle und die gemessene Virusprävalenz in den Zecken führte dazu, den Odenwald zum FSME-Risikogebiet zu erklären.

Ähnliche Studien sind für den Landkreis Birkenfeld in Rheinland-Pfalz durchgeführt worden, da in den letzten Jahren Einzelfälle von FSME beobachtet worden sind. In einer ersten Studie im Jahr 2000, wobei Zecken aus den unmittelbaren Expositionsgebieten aus der Umgebung von Idar-Oberstein zur Untersuchung gelangten, konnten keine positiven Signale in der FSMEV-PCR gefunden werden.

## Ökologie der Lyme-Borreliose und ihres Hauptvektors *Ixodes ricinus*

OLAF KAHL

Freie Universität Berlin

Schildzecken (Acari, Ixodidae) treten weltweit als wichtige Überträger (Vektoren) von Krankheitserregern für Mensch und Tier in Erscheinung. In großen Teilen Europas ist der Gemeine Holzbock, *Ixodes ricinus* (L.), die aus medizinischer Sicht mit Abstand wichtigste Zecke, vor allem als Verbreiter von *Borrelia burgdorferi* sensu lato (Bacteria, Spirochaetaceae), dem Erreger der Lyme-Borreliose, und des Frühsommer-Meningoenzephalitis-Virus (Flaviviridae).

Jedes der drei postembryonalen Entwicklungsstadien von *I. ricinus* (Larve, Nymphe, weiblicher Adultus) nimmt eine umfangreiche Blutmahlzeit auf einem landlebenden Wirbeltier zu sich. Das in Frage kommende Wirtsspektrum ist dabei sehr groß. Zwischen diesen jeweils einige Tage andauernden parasitischen Phasen liegen bis zu 2 Jahre dauernde freilebende Abschnitte, in denen die Blutmahlzeit verdaut wird und die Entwicklung zum darauffolgenden Stadium bzw. beim weiblichen Adultus die Eiablage erfolgt. Die freilebenden Entwicklungsphasen sind gekennzeichnet durch einen extrem sparsamen Umgang mit den aus der letzten vorangegangenen Blutmahlzeit jeweils verfügbaren Energieressourcen, und sie sind auf ein mehr oder weniger konstant feuchtes Mikroklima (>80-85% rel. Luftfeuchte) angewiesen. Dementsprechend ist *I. ricinus* in Mitteleuropa im wesentlichen ein Wald- und Waldrandbewohner. Insbesondere in regenärmeren Gebieten bevorzugt er eindeutig Laub- und Mischwälder (bevorzugt von Eichen und/oder Buchen bestandene Flächen) gegenüber reinen Nadelbaumbeständen. Aber auch in naturnah gestalteten Gärten – insbesondere wenn sie an zeckenbefallene Waldstandorte grenzen – und in Parks kann sich *I. ricinus* ansiedeln und zu einem Problem werden. Während wirtssuchende Zecken von März / April bis Oktober zeitweise exponierte Geländepunkte bis zu etwa 1,20 m Höhe aufsuchen (auf Gräsern, krautartigen Pflanzen etc.) wird ansonsten die dem Boden aufliegende Laubstreu in allen Jahreszeiten als lebensnotwendiges Feuchterefugium genutzt.

Bisher wurden 5 Borrelienarten (sog. Genospezies) in *I. ricinus* nachgewiesen, *B. afzelii*, *B. garinii*, *B. burgdorferi* sensu stricto, *B. valaisiana*, *B. lusitanae*, von denen die drei erstgenannten erwiesenermaßen humanpathogen sind. Die Erregerprävalenz von *B. burgdorferi* sensu lato liegt in ungesogenen *I. ricinus*-Larven bei bis zu etwa 3 %. Mit etwa 10-30 % (gelegentlich > 40 %) ist die Durchseuchung der ungesogenen Nymphen und Adulten erheblich höher. Es ist nicht ungewöhnlich, dass 3 oder sogar 4 Genospezies in Zecken an ein und demselben Standort auftreten, wobei in Mitteleuropa *B. afzelii* und *B. garinii* in der Regel stark dominieren. Während vieles dafür spricht, dass *B. garinii* und *B. valaisiana* in West- und Mitteleuropa von Vögeln auf Zecken übertragen werden, sind die 3 anderen Genospezies in erster Linie Nagerborrelien, obgleich auch Igel (Insectivora) und Hasen (Lagomorpha) als Reservoirwirte nachgewiesen wurden.

## Vaccination strategies for prevention and treatment of Lyme Borreliosis

MARKUS M. SIMON

*Max-Planck-Institut für Immunobiologie, Stübeweg 51, D-79108 Freiburg*

Lyme disease is caused by spirochetes of the *Borrelia (B.) burgdorferi* sensu lato complex, including various species such as *B. burgdorferi* sensu stricto, *B. garinii* and *B. afzelii*, which are transmitted to humans by infected ticks. The infection causes a multisystem illness, mainly leading to cutaneous-, neurologic-, musculoskeletal-, cardiac- and hepatic disorders. The pathobiology of the infection is fraught with a number of serious problems such as limitation of diagnostic tools, unpredictable onset and manifestation of disease symptoms, insufficient immunological control, unreliability of antibiotic therapy as well as heterogeneity and vector- and host-specific gene expression of spirochetes and their potential to persist in the host. Only the disclosure of the genetic and structural basis of these aspects, both with respect to the spirochete and the mammalian host, will allow to design optimal prophylactic and therapeutic regimens for an efficient control of disease and infection.

A prophylactic vaccine based on the exclusively tick-expressed outer surface protein A (Osp A) was shown to induce highly protective antibody responses and to be effective against *Borrelia burgdorferi* strains in the US. This vaccine formula was recently approved for use in humans. The degree of protection against *Borrelia* strains prevalent in Europe, because of their genetic variability, may be somewhat lower. Currently, a three-shot regimen is required to achieve sufficiently high titers of neutralizing antibodies, and the duration of protection is not known. In particular, because OspA is not expressed in the mammalian host, infection will not produce a booster-effect in vaccines. For the same reason, OspA is not suitable as a basis for a therapeutic vaccine. By contrast, OspC, and probably other *Borrelia* surface proteins, are expressed in the vertebrate host. Recent studies in a laboratory model of Lyme disease showed that passive transfer of anti-OspC antibodies induced in normal mice lead to resolution of disease symptoms and eradication of spirochetes in infected animals. These results encourage further efforts into the development of suitable therapeutic regimens to treat established Lyme disease.

## Aktuelles zu *Dermacentor*-Zecken in Deutschland

R. GOTHE

*Institut für Vergleichende Tropenmedizin und Parasitologie, Ludwig-Maximilians-Universität München, Leopoldstr. 5, D-80802 München*

Von den 32 als valid erachteten *Dermacentor* spp. sind 2 Arten mit stabilen Populationen in Deutschland eingebürgert, und zwar *D. marginatus* und *D. reticulatus*. Nach den bisher dokumentierten Fundorten wird Süddeutschland als Siedlungsraum bevorzugt, der aber nur inselartig besetzt ist. Lediglich für *D. reticulatus* wurde ein Vorkommen auch im nordsächsischen Heidegebiet und in der Umgebung von Potsdam berichtet. Es bestehen also große Verbreitungslücken, Enklaven, dieser ditropen, dreiwirtigen Schildzeckenarten in Deutschland, dementsprechend sich 3 Fragen nach dem „warum“ stellen. Die erste Frage, ob das bisher als inselartig dokumentierte Vorkommen lediglich unzureichende Feldstudien anzeigt, ist sicherlich mit einem eindeutigen „ja“ zu beantworten.

Auch die 2. Frage, ob regional geeignete Wirtsarten als Blutspender fehlen, ist eindeutig zu beantworten, aber mit einem „nein“. Die bioökologischen Voraussetzungen für einen Populationsaufbau werden nämlich in allen Regionen Deutschlands stets erfüllt, denn die für Larven und Nymphen als bevorzugte Wirte fungierenden höhlen- und bodenbewohnenden Kleinsäugerarten wie Rötel-, Feld-, Erd-, Gelbhals-, Wald- und Haselmäuse sind ausreichend und ubiquitär präsent wie auch die Vorzugswirte der Adultzecken, Hunde, Schafe, Rinder, Pferde, Rotfüchse, Wildschweine, Rothirsche und Rehe.

Die 3. Frage, inwieweit abiotische Faktoren ein Gedeihen nicht ubiquitär in Deutschland zulassen, ist wiederum eindeutig zu beantworten, und zwar ebenfalls mit einem „nein“. Zu erläutern ist dieses „nein“ dabei insbesondere hinsichtlich der ökologischen Potenz, also der Fähigkeit dieser *Dermacentor* spp. zur Auseinandersetzung mit den abiotischen Faktoren Temperatur und relative Luftfeuchte sowie der Kompetenz zur Balanzierung ihres Wasserhaushaltes.

Untersuchungen zur ökologischen Potenz ergaben, dass Adultzecken beider *Dermacentor* spp. die ökoepidemiologisch effektivsten Stadien sind, die einen breiten Temperatur- und Feuchtebereich über äußerst lange Zeit wirtsungebunden zu überbrücken, ein Überwintern in Deutschland zu gewährleisten und extrem hohe Sättigungsdefizite monatelang zu tolerieren vermögen. Die Balanzierung des Wasserhaushaltes der Adultzecken erfolgt dabei durch die sehr effektive integumentale Wasserretention, das ausgeprägte Rehydratationspotential unter Nutzung von Wasserdampf aus der Atmosphäre und von flüssigem Wasser sowie zusätzlich durch das Körperwasserverluste-vermeidende Verschießen der Tracheen. Schlussfolgernd ist daher zu prognostizieren, dass *D. marginatus* und *D. reticulatus* aufgrund der optimalen Anpassung im Jahresverlauf mit Wirtssuchaktivität der Adultzecken ab Januar bis Mitte Juni und von September bis November sowie der Larven und Nymphen nur von Juni bis August und der überall ausreichenden Verfügbarkeit geeigneter Wirte für alle postembryonalen Stadien sich ubiquitär mit stabilen Populationen in Deutschland einnisten mit Risiken der Entstehung neuer Naturherde von vektorieell an diese Zeckenarten gebundenen human- und tierpathogenen Erregern und dabei insbesondere von *Babesia canis*.



## Epidemiologie zeckenübertragener Infektionen in Südwestdeutschland

P. KIMMIG, R. OEHME, K. HARTELT, S. MOLL, H. BACKE  
Landesgesundheitsamt Baden-Württemberg

Unter den zeckenübertragenen Infektionen, die in Südwestdeutschland auftreten – Lyme-Borreliose, FSME, Q-Fieber, Ehrlichiose und Babesiose – haben die beiden ersteren die größte Bedeutung, die Relevanz der übrigen Infektionen ist bisher wegen der ungenügenden Datenlage nicht ausreichend abzuschätzen.

Zur Gewinnung epidemiologischer Daten wurden 2 unterschiedliche Verfahren eingesetzt:

1. Serologische Untersuchungen an exponierten Personen (Forstbedienstete)
2. Zecken-Untersuchungen auf die verschiedenen Erreger.

Von rund 4000 Forstbediensteten aus ganz Baden-Württemberg (BW) wurden Blutproben entnommen und diese auf Antikörper gegen FSME-Viren, *B. burgdorferi* und Ehrlichien (Phagocytophila-Gruppe) untersucht. Die ermittelten Daten wurden getrennt nach Landkreisen ausgewertet und in eine Karte von BW eingetragen.

Gegen FSME-Viren wurden Prävalenzraten von 0 %->20 % bestimmt. Die höchsten Raten fanden sich im Südwesten Baden-Württembergs, was mit der Häufigkeit der klinischen Fälle korreliert. Werte von 10 bis >20 % wurden aber auch in Landkreisen bestimmt, die aufgrund der Seltenheit bzw. des Fehlens klinischer Fälle *nicht* zu den Risikogebieten zählen, wie etwa der Kreis Ludwigsburg und der Kreis Schwäbisch Hall. Insgesamt zeigen die Ergebnisse, dass FSME-Viren nicht nur in den bisher bekannten Risikogebieten auftreten, sondern dass mit dem Vorkommen dieser Viren in ganz Baden-Württemberg zu rechnen ist.

Die seroepidemiologischen Untersuchungen auf Borrelien ergaben Prävalenzraten von 10 %->40 % in gesamt Baden-Württemberg. Die Borrelien-Hochendemiegebiete decken sich indessen nur zum Teil mit denen der FSME, in anderen Gebieten von BW, etwa im Nordosten, ist keine Korrelation zu erkennen.

Bei den seroepidemiologischen Untersuchungen auf Ehrlichien wurden Prävalenzraten von 5 %->15 % ermittelt. Die Endemiegebiete der Ehrlichiose ziehen sich bandartig von Südwesten zum Nordosten BW, wo offenbar der Schwerpunkt der Verbreitung liegt. Auch hier ist kaum eine Korrelation zu den FSME- bzw. Borrelien-Endemiegebieten zu erkennen. Offenbar sind neben der Verbreitung von Zecken und Nagern noch andere – unbekannte – Faktoren für das Zustandekommen von Naturherden verantwortlich.

Die Zeckenuntersuchungen auf FSME-Viren, Borrelien (*B. burgdorferi* s.l.) und Ehrlichien (Genogruppe *E. phagocytophila*) wurden mit Hilfe der PCR vorgenommen. Bei FSME-Viren und Ehrlichien wurde zur Erzielung einer höheren Sensitivität eine nested PCR eingesetzt.

Die FSME-Bestimmungen erfolgten schwerpunktmäßig im Südwesten und Süden Baden-Württembergs. Hier fanden sich Raten von 0,3 % (Kirchzartener Becken), 1,4 % (Kinzigtal), 2,0 % (Simonswäldertal) und 2,2 % (Elztal). Ähnlich hohe Befallsraten fanden sich auch im Bodenseeraum, so in Bodman (1,2 %) und in Sipplingen (2,3 %). Niedrigere Befallszahlen traten im Stuttgarter Raum auf: Stuttgart Botnang (0,5 %), Ludwigsburg- Großbottwar (0,8 %) und Lb-Bietigheim (0,3 %). Im Kreis Pforzheim lagen die Zahlen zwischen 0-0,5 %.

Gegenüber früheren Untersuchungen, bei denen Zeckendurchsuchungen im Promillebereich bestimmt wurden, liegen diese jetzt vielfach im Prozentbereich, so dass eine ca. 10-fach höhere Infektionsgefahr angenommen werden muss. Im übrigen bestätigen die direkten Virusnachweise die seroepidemiologischen Daten wie etwa im Kreis Ludwigsburg; das Fehlen klinischer Fälle hier ist derzeit nicht interpretierbar.

Zeckenuntersuchungen auf Borrelien wurden in erster Linie im Raum Stuttgart vorgenommen. Die mittlere Borrelien-Befallsrate von Nymphen und Adulten zusammengenommen lag hier bei 15 %. Die Adulten wiesen Befallsraten bis zu 40 % auf, die Nymphen 5-15 %; die Larven zeigten Befallsraten von lediglich 1 %, ein Hinweis darauf, dass die transovarielle Übertragung bei den Borrelien nur eine geringe Rolle spielt. Die hier ermittelten Werte dürften für ganz Mitteleuropa gültig sein. Angesichts einer Transmissionsrate von 25 %, die im Landesgesundheitsamt und der Universität Heidelberg

an ca. 3700 Patienten ermittelt wurde, ist in den Borrelien-Hochendemiegebieten damit zu rechnen, dass jeder 10. Zeckenstich zu einer Infektion führt.

Zeckenuntersuchungen (n= 1400) auf Ehrlichien (Genogruppe *E. phagocytophila*) wurden bisher im Rems-Murr-Kreis (Berglen), in der Oberrheinischen Tiefebene (Lahr) und im Bodenseeraum (Sipplingen) vorgenommen. Die Gesamt-Befallsraten lagen hier mit 3,1 %, 2,7 % bzw. 2,6 % in der gleichen Größenordnung. Die Befallsraten von Nymphen und Adulten stimmten weitgehend überein (2,8 % bzw. 2,3 %). Bei ca. 1 % aller Zecken fanden sich Doppelinfektionen mit Ehrlichien und Borrelien. Die Zecken stammen sämtlich aus Gebieten mit geringerem Ehrlichien-Vorkommen. In den am stärksten betroffenen Gebieten sind noch höhere Werte zu erwarten. Die Bedeutung der Ehrlichien in Europa lässt sich derzeit mangels dokumentierter klinischer Fälle noch nicht abschätzen.

Das Q-Fieber, verursacht durch *Coxiella burnetii* (Rickettsiales) ist seit den 40er Jahren endemisch in Baden-Württemberg, die Erkrankung schien allerdings in neuerer Zeit selten geworden zu sein. Durch aktives Aufsuchen der Q-Fieber Fälle ließ sich indessen 1989 eine Epidemie mit 100 Erkrankten in Freiburg, 1999 eine Epidemie mit 43 Fällen im Raum Rottweil und eine weitere Gruppenerkrankung mit 38 Fällen im Raum Sigmaringen ermitteln, eine hohe Dunkelziffer ist anzunehmen. Als Überträger der Coxiellen fungiert die Schafzecke *Dermacentor marginatus*, die Infektion des Menschen verläuft jedoch überwiegend aerogen über erregerehaltigen Staub. Dieser kann von keimhaltigen Aborten und Fruchthäuten infizierter Schafe stammen; häufiger können diese die Infektion aber auch passiv, über eingetrockneten Zeckenkot verbreiten, ohne selbst erkrankt zu sein. Zur Ermittlung derartiger Übertragungswege wurden Verfahren auf PCR-Basis entwickelt, Coxiellen in adulten *Dermacentor*-Zecken sowie in Zeckenkot nachzuweisen. Dies stellt die Basis für gezielte Gegenmaßnahmen dar, die in Zusammenarbeit von Medizinern und Veterinärmedizinern erarbeitet wurden. Die Verfahren sollen darüberhinaus auch zur Ermittlung aktueller epidemiologischer Q-Fieber-Daten eingesetzt werden.

Epidemiologische Daten zur Babesiose existieren derzeit in Baden-Württemberg nicht. Das bereits vorhandene Material soll dazu genutzt werden, mit den entsprechenden Verfahren (Seroepidemiologie, Zeckenuntersuchungen) die Verbreitung dieser Parasiten zu ermitteln.

## **Untersuchungen zur Fütterung von Zecken (Ixodidae) an Membranen**

A. VOLLMER, M. LIEBIG und J. GRUNEWALD

*Institut für Allgemeine Hygiene und Umwelthygiene der Universität Tübingen, Rümelinstr. 23, D-72072 Tübingen, Tel 07071/2980229, e-mail: andreas.vollmer@uni-tuebingen.de, j.grunewald@uni-tuebingen.de*

Es wurde der Einfluß 12 unterschiedlicher Membrantypen, 4 verschiedener Membrandicken, der Oberflächenbeschaffenheit und der auf die Membran aufgetragenen Attraktanzien auf das Fixierungs- und Saugverhalten von *Ixodes ricinus* und *Amblyomma variegatum* untersucht. Die Fütterungsversuche wurden über einen Zeitraum von maximal 14 Tagen verfolgt, jedoch bei erfolgreicher Blutaufnahme erst nach Repletion beendet.

Die verwendeten Membranen wurden rasterelektronenmikroskopisch auf Unterschiede in ihrer Oberflächenbeschaffenheit untersucht. Leitfähigkeitsmessungen zur Diffusion membrandurchgängiger Ionen wurden in einer selbst entwickelten Diffusionskammer über einen Zeitraum von 6 Stunden gemessen. An einem Messinstrument aus der Textilforschung konnte der Kraftaufwand und die benötigte Wegstrecke zum Penetrieren einer Membran im Modell simuliert werden.

Die Kombination dieser Daten ermöglicht erste Aussagen über die Beschaffenheit und die physiologischen Eigenschaften einer guten Membran für Fütterungen ohne lebenden Wirt.

## Ein Testsystem zur Detektion von Zeckenrepellentien (Acari: Ixodoidea)

H. DAUTEL<sup>1</sup>, O. KAHL<sup>1</sup>, K. SIEMS<sup>2</sup>, M. OPPENRIEDER<sup>1</sup>, L. MÜLLER-KUHRT<sup>2</sup> & M. HILKER<sup>1</sup>

<sup>1</sup> FB Biologie, Chemie, Pharmazie, AG Angewandte Zoologie / Ökologie der Tiere, Freie Universität Berlin, Haderslebener Str. 9, D-12163 Berlin

<sup>2</sup> AnalytiCon Discovery GmbH, Herrmannswerder, Haus 17, D-14473 Berlin

Die Wirtssuche von *Ixodes ricinus*, Hauptüberträger verschiedener *Borrelia* Arten sowie des TBE-Virus in Europa, besteht gewöhnlich aus folgenden Verhaltensschritten: (1) Die Zecke sucht eine exponierte Stelle auf, oft auf der niederen Vegetation, wo sie auf einen vorbeikommenden Wirt wartet. (2) Kündigen chemische oder physikalische Stimuli einen herannahenden Wirt an, so nimmt sie die sog. „Questing“-Position ein, d.h. sie erhebt ihr erstes Beinpaar und ist bereit, auf den Wirt überzuwechseln. (3) Bei Kontakt mit einem vorbeistreifenden Wirt wechselt sie auf diesen über, (4) sucht dort nach einer geeigneten Einstichstelle, (5) sticht ein und versucht sich an der Stichstelle zu etablieren, um ihren mehrtägigen Saugakt zu vollziehen.

Zeckenrepellentien könnten einen oder mehrere der Verhaltensschritte 2-5 beeinflussen. Wir haben einen „Moving-Object-Bioassay“ entwickelt, um die Repellentienwirkung von Testsubstanzen während der Verhaltensschritte (2) und (3) mit *I. ricinus* Nymphen zu untersuchen. Der Versuchsaufbau besteht aus einem warmen (37°C), beweglichen Objekt – eine langsam rotierende Trommel mit einer lokal erhöhten Fläche, die als Kontaktfläche für die Zecke diente –, das für die Zecke wie ein vorbeiziehender Wirt wirkt. Die Wärme der Trommel wirkt als potentieller Wirtsstimulus attraktiv auf die Zecken. Diese werden auf einem Glasstab abgesetzt, dessen Spitze 1,1 mm von der periodisch vorbeiziehenden Kontaktfläche der Trommel entfernt ist.

In Tests mit 600 *I. ricinus* Nymphen aus dem Freiland wechselten etwa 85% der Zecken innerhalb von 2 min. auf die rotierende Trommel. Dabei konnten sich die Zecken stets an der Oberfläche festhalten, unabhängig davon, ob diese aus glattem Metall (Messing) bestand, oder mit rauem Filterpapier bedeckt war (Geschwindigkeit der Oberfläche: 6 cm s<sup>-1</sup>). Auch bei der mit unserem Apparat maximal erreichbaren Höchstgeschwindigkeit von 45 cm s<sup>-1</sup> gelang es der überwiegenden Zahl der Zecken, auf die Trommel zu wechseln. Der Übergang selbst dauerte ≤ 25 ms.

Wurde der Repellent-Wirkstoff DEET (N,N-Diethyl-m-Toluamid) auf die Kontaktfläche der Trommel appliziert, wechselten signifikant weniger Zecken auf diese über. Zusätzlich ließen sich >50 % derjenigen Zecken, die auf die mit DEET behandelte Fläche überwechselten innerhalb weniger Sekunden abfallen. Dies zeigt, dass frisch appliziertes reines DEET sowohl über eine Distanz von wenigen mm als auch bei direktem Kontakt repellierend wirkt.

Der Moving-Object-Bioassay ist ein relativ einfacher Test, der sich sowohl zur Untersuchung des Übergangs der Zecken auf den Wirt als auch zum Screening potentieller Repellentien eignet. Dabei ist es unerheblich, ob die Repellentien in der Gasphase oder via Kontakt-Chemorezeption wirken.

## Screening und Entwicklung neuer Akarizide

N. MENCKE, O. HANSEN und A. TURBERG

Bayer AG, GB-Tiergesundheit, Landwirtschaftszentrum Monheim, D-51368 Leverkusen

Weltweite Marktuntersuchungen haben ergeben, dass der gesamte Tiergesundheitsmarkt im Jahr 1999 auf ca. 13,2 Mrd. Euro geschätzt wird. Die Insektizide und Akarizide sind mit ca. 12 % oder 1,5 Mrd. Euro in ähnlicher Größenordnung wie die Antiinfektiva. Das Marktsegment Ektoparasitizide war gekennzeichnet durch ein überdurchschnittliches Wachstum in den vergangenen Jahren. Überproportional stieg dabei der Marktanteil der Ektoparasitizide auf dem Gebiet der „companion animals“. Ein derartiges Wachstum ist nur durch intensive Forschung zum Auffinden neuer Verbindungen und die Entwicklung neuer Darreichungsformen zu erreichen.

Das biologische Screening zum Auffinden neuer Verbindungsklassen oder Verbindungen lässt sich in drei Hauptsegmente untergliedern. 1. Die in-vitro Untersuchung zum Auffinden von biologisch wirksamen Verbindungen (Primärscreening); 2. Die in-vivo Untersuchung und Optimierung der wirksamen Verbindungen (Sekundärscreening) und 3. Die Suche nach neuen Leitstrukturen mit modernen Roboter-gestützten Labormethoden (HTS/UHTS).

Die drei Teilbereiche der biologischen Forschung lassen sich wie folgt charakterisieren:

### 1. In-vitro Primärscreening

Das in-vitro Primärscreening ist die klassische Methodik zum Auffinden neuer wirksamer Insektizide und Akarizide. Dabei wird der gesamte lebende Organismus des Insekts / Spinnentieres der zu prüfenden Substanz ausgesetzt. Untersucht werden neben dem abtötenden Effekt auch Verhaltensänderungen, Penetration und Metabolismus. Die Vorteile dieses Systems sind, dass immer ein ganzer Organismus mit nahezu allen erreichbaren Targets (Rezeptoren) eingesetzt wird. Dem steht als Nachteil gegenüber, dass die Anzahl der zu prüfenden Substanzen begrenzt ist.

### 2. In-vivo Sekundärscreening

Positive Verbindungen aus dem in-vitro Primärscreening werden an den Zielorganen (Parasiten) und ihren natürlichen Wirten geprüft, zum Beispiel: die Rinderzecke *Boophilus microplus* am Rind. In diesen in-vivo Prüfungen werden wichtige erste Informationen nicht nur zu den chemisch-galenischen Eigenschaften der Verbindung gewonnen, sondern auch die Interaktion Parasit-Wirtstier untersucht. Die hier gewonnenen Ergebnisse sind von Bedeutung für die Bewertung der „Machbarkeit“ einer Entwicklung dieser Verbindung zum Tierarzneimittel. Es ist selbstverständlich, dass diese in-vivo-Prüfungen ihre Grenzen nicht nur in der Laborkapazität, sondern auch im Tierschutzrecht haben.

### 3. High Throughput Screening (HTS)

Dieser heute weltweit in den „Life-Science-Bereichen“ der Industrie im Vordergrund stehende Ansatz der Roboter-gestützten Suche nach neuen Leitstrukturen verfolgt einen vollständig neuen Weg. Die Grundlage für dieses Screening ist, Moleküle oder Strukturen in den Parasiten zu identifizieren, zu isolieren und als Testsysteme in Mikrotiterplatten zur Verfügung zu stellen. Diese „Targets“ werden dann benutzt, um existierende chemische „Substanzbibliotheken“ zu screenen und positive Substanzen darin zu identifizieren. Der Vorteil dieser Methodik ist, dass so eine sehr große Vielfalt von chemischen Verbindungen aus den unterschiedlichsten Quellen auf mögliche Kandidaten mit z.B. insektizider / akarizider Wirksamkeit untersucht werden kann.

## Zur Biologie und Bekämpfung der Taubenzecke, *Argas reflexus* (Fabr.)

St. SCHEURER<sup>1</sup>, H. DAUTEL<sup>2</sup> und J. HERRMANN<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Institut für Tropenmedizin des BBGes, <sup>2</sup> Institut für Angewandte Zoologie der FU Berlin, <sup>3</sup> Umweltbundesamt Berlin

Sowohl von Dachböden, auf denen verwilderte Haustauben nisten, als auch in sanierten Altbauten, vor deren Instandsetzung bei nachgewiesenem Taubenbesatz eine Kontrolle auf möglichen Befall mit *Argas reflexus* hin unterblieb, kann der beim Stich dieser in den menschlichen Siedlungsbereich eingedrungenen Lederzeckenart abgegebene Speichel beim Menschen heftige allergische Reaktionen hervorrufen. Auch wenn Leipzig nach wie vor in der Zahl der mit Taubenzecken befallenen Grundstücke wohl noch an der Spitze liegt, zeigen unsere Arbeiten in Berlin (214 bis zum 15.09.2000 durch die Zusammenarbeit mit den 23 bezirklichen Gesundheitsämtern und einigen Schädlingsbekämpfungsbetrieben bekannt gewordene Gebäude mit nachgewiesenem *A. reflexus*- Befall, die tatsächliche Zahl liegt mit großer Wahrscheinlichkeit wesentlich höher), München, Hannover, Schwarzheide, Potsdam und Porta Westfalica, dass die Taubenzeckenproblematik wesentlich weiter verbreitet ist als offiziell bekannt ist. Diese Tatsachen sind der Hintergrund der vorgestellten Ergebnisse.

Auf der Grundlage umfassender mehrjähriger ökologischer Arbeiten an *A. reflexus* wurden unter Freiland- und Laborbedingungen deren Entwicklungszyklus und dessen Abhängigkeit von abiotischen Faktoren erkannt (u.a. Entwicklungszeit vom Ei bis zum Adultus auf Dachböden in der Regel drei Jahre, Eiablage ca. von Ende Mai/Anfang Juni bis Anfang August, Lebensdauer bis zu 11 Jahre, Hungervermögen 6 Jahre und länger). Darauf aufbauend konnten Bekämpfungsstrategien erarbeitet und erprobt werden, wobei sich als Austreibemittel pyrethrumhaltige Präparate besonders geeignet erwiesen und bei sach- und fachgerechtem Einsatz anfangs Akarizide mit den Wirkstoffen Propoxur (Carbamat) und neuerdings diazinonhaltige Mittel (Organophosphat) in Kombination mit Kieselsäure zu sehr guten Bekämpfungserfolgen führten. Dabei kam es insbesondere während der letzten Jahre darauf an, Bekämpfungsmittel und -verfahren zu entwickeln, durch die ein „Rückbau“ bereits sanierter Grundstücke weitestgehend verhindert und mögliche Innenraumbelastungen durch die Ausbringung der Akarizide minimiert werden.