

Vorkommen von *Ixodes ricinus* und *Borrelia burgdorferi sensu lato* in städtischen Naherholungsgebieten am Beispiel von Basel (Schweiz)

Autor(en): **Cathomas, Flurin**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Mitteilungen der Naturforschenden Gesellschaften beider Basel**

Band (Jahr): **8 (2005)**

PDF erstellt am: **22.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-676719>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Vorkommen von *Ixodes ricinus* und *Borrelia burgdorferi* sensu lato in städtischen Naherholungsgebieten am Beispiel von Basel (Schweiz)*

FLURIN CATHOMAS

Zusammenfassung: Die Schildzecke, *Ixodes ricinus*, überträgt die Lyme-Borreliose, eine Infektionskrankheit, welche Hautkrankheiten, chronische Nervenentzündungen und Gelenkerkrankungen hervorruft. Ziel der vorliegenden Arbeit war die Untersuchung des Zeckenvorkommens in städtischen Naherholungsgebieten, unter Berücksichtigung saisonaler Schwankungen und der Durchseuchung von *I. ricinus* mit Borrelien. Während den Monaten April bis August wurden im Jahr 2003 in sechs Naherholungsgebieten in und um Basel monatlich Zecken gesammelt. Anschliessend wurden sie mittels der Polymerase Kettenreaktion (PCR) auf Borrelien untersucht. Insgesamt wurden 397 Zecken (35 Adulttiere, 172 Nymphen und 190 Larven) in vier der sechs untersuchten Gebieten gefunden. Zwei Gebiete waren zeckenfrei. Die verschiedenen Entwicklungsstadien zeigten eine unterschiedliche saisonale Verteilung: Während Adulttiere und Nymphen vor allem in den Monaten April, Mai und Juni auftraten, konnten Larven überwiegend in den Monaten Juli und August nachgewiesen werden. Borrelien-DNA wurde in 16.8% der Nymphen und in 14.3% der Adulttiere gefunden. In den Larven war keine Borrelien-DNA vorhanden. Die vorliegende Arbeit hat gezeigt, dass Basels Naherholungsgebiete, sofern sie nicht regelmässig gepflegt werden, einen Zeckenbefall aufweisen. In drei von vier Gebieten war *I. ricinus* zudem mit Borrelien infiziert. Diese Resultate zeigen, dass die Gefahr, die von den Zecken auch in städtischen Naherholungsgebieten ausgeht, nicht unterschätzt werden darf. Deshalb ist es vor allem in den Frühlings- und Frühsommermonaten wichtig, sich vor *I. ricinus* zu schützen.

Abstract: Hard ticks of the species *Ixodes ricinus* may transmit the spirochaetal bacteria *Borrelia* that leads to skin disease as well as chronic joint and nerve inflammation. Ticks prefer humid and tight underwood, where people are attacked during their presence in forests. It was the aim of this project to analyze the prevalence of ticks and their rate of infection by *Borrelia* in urban recreation areas of Basel, Switzerland. Six different urban areas including one park, two recreation areas and three forests in and around the city of Basel, were investigated for the presence of ticks monthly from April to August 2003. To catch the ticks the flagging method by pulling a white cloth through the undergrowth was used. The ticks collected were analyzed for *Borrelia* DNA with the Real Time PCR. In four out of the six recreation areas analyzed a total of 397 ticks (35 adults, 172 nymphs and 190 larvae) were collected. In the park and in one recreation area no *I. ricinus* were found. The different development of the tick-stages showed a varying seasonal distribution pattern: Adults and nymphs were mostly found during the first period of the analysis and larvae were present in the second period only. The average rate of infection with *Borrelia* was 16.4%. No *Borrelia* DNA was found in the larvae. It may be assumed that where ever ticks are present, there exists a risk of an infection with *Borrelia*. Therefore, it is important to protect oneself from tick bites even in urban recreation areas.

* Wettbewerbsarbeit «Schweizer Jugend forscht», präsentiert am 38. Nationalen Wettbewerb vom 30. April bis 2. Mai 2004 in Genf

Einleitung

Zecken sind Überträger von verschiedenen Infektionskrankheiten (Krickau und Helfricht 2000). In der vorliegenden Arbeit soll in sechs verschiedenen Untersuchungsgebieten in und um Basel untersucht werden, wie gross die Gefahr vor Zecken als Krankheitsüberträger ist.

Zecken sind Gliederfüssler (Stamm: Arthropoden), gehören zur Klasse der Spinnentiere (Arachniden) und zur ausserordentlich vielfältigen Ordnung der Acarinen (Krickau und Helfricht 2000).

Man unterscheidet zwei Zeckenfamilien: 1. Lederzecken (*Argasidae*): Die Lederzecken besitzen keinen Rückenschild und leben in den warmen und gemässigten Klimaregionen der Erde. Sie sind unbedeutend für die Übertragung von Krankheiten in unseren Breitengraden. Die häufigste bei uns vorkommende Lederzecke ist die Taubenzecke (*Argas reflexus*), welche vor allem in Taubenschlägen und an Tauben zu finden ist. Sie kann zwar auch in menschliche Behausungen eindringen, überträgt aber keine Krankheiten. 2. Schildzecken (*Ixodidae*): Die Schildzecken besitzen einen schützenden Rückenschild und ihre Mundwerkzeuge sind von dorsal gesehen deutlich sichtbar. Sie sind weltweit Vektoren vieler Krankheiten bei Mensch

und Tier. Die häufigste bei uns vorkommende Schildzecke ist der gemeine Holzbock oder Hundezecke (*Ixodes ricinus*), welche 90 Prozent der europäischen Zeckenfauna ausmacht. Alle weiteren Ausführungen dieser Arbeit beziehen sich auf diese Art.

Der Holzbock durchläuft drei Entwicklungsstadien (Tab. 1): das Larven-, das Nymphen- und das Imaginalstadium. Die gesamte Entwicklung dauert je nach örtlicher Witterung, Klima, Vegetation und Anzahl der vorhandenen Wirte durchschnittlich eineinhalb bis vier Jahre. *I. ricinus* ist eine dreiwirtige Zecke. Jedes Stadium braucht eine Blutmahlzeit. Zwischen diesen Blutmahlzeiten können lange Wartephase auftreten, die ein Teil der Zecken aufgrund ihrer grossen Hungerfähigkeit aber überstehen kann.

Nach einigen Wochen schlüpft aus dem Ei die etwa 0.5 mm grosse Larve, welche nur drei Beinpaare besitzt. Ein Drittel des Rückens ist von einem Schild aus Chitin (Scutum) bedeckt. Aufgrund ihrer Grösse ist sie nur in der Krautschicht bis etwa 20 cm Höhe anzutreffen. Als Wirte kommen Kleinnager oder Vögel in Frage. Der Mensch gehört nur sehr selten zu den Wirten der Larve, da die meisten Hautregionen zu dick sind für die noch schwach ausgebildeten Mundwerkzeuge. Bei einem erfolgreichen Saugakt, welcher etwa zwei bis vier Tage dauert, nimmt das

	Larve	Nymphe	Adulttier ♀	Adulttier ♂
Körperlänge	0.5 mm	1 mm	3.5 mm	2.5 mm
Beinpaare	3	4	4	4
Schildbedeckung des Rückens	ein Drittel	weniger als die Hälfte	etwa die Hälfte (herzförmig)	ganz
Vorkommen	niedrige Krautschicht bis 20 cm Höhe	Farne und Sträucher bis 75 cm Höhe	Sträucher bis 100 cm Höhe	Sträucher bis 100 cm Höhe
Wirte	Kleinnager, Vögel	Vögel, Hunde, Mensch	Wildtiere, Kühe, Mensch	Wildtiere, Kühe, Mensch

Tab. 1: Vergleich der Entwicklungsstadien von *I. ricinus*.

Körpervolumen um das Zehn- bis Zwanzigfache zu. Danach lässt sich die Larve fallen und häutet sich im Schutze der Vegetation zur Nymphe.

Nymphen haben vier Beinpaare und die doppelte Larvengrösse. Ihr Schild bedeckt weniger als die Hälfte des Rückens. In diesem Stadium erklimmen sie Pflanzen von bis zu 80 cm Höhe. Dort warten sie auf ihre Wirte, zu welchen neben denjenigen der Larve auch grössere Nagetiere, kleinere landwirtschaftliche Nutztiere, Haustiere und der Mensch gehören. Nach erneutem Saugakt folgt nun nach einer vier- bis achtwöchigen Pause und einer weiteren Häutung das Imaginalstadium. Die Wartepositionen der adulten Zecken können nun bis zu einem Meter Höhe betragen. So erreichen sie auch grosse Säuger wie Kühe, Pferde, Wildtiere und den Menschen.

Das Adultstadium ist die einzige Entwicklungsstufe, bei der sich männliche und weibliche Tiere unterscheiden lassen: Das Männchen erreicht eine Länge von etwa 2.5 mm. Der Chitinschild bedeckt den ganzen Rücken. Männchen müssen nicht unbedingt eine Blutmahlzeit zu sich nehmen. Nach der Paarung mit dem Weibchen sterben sie. Das Weibchen ist mit 3.5 mm Körperlänge am grössten. Es besitzt einen herzförmigen, rotbraunen Schild, der etwa einen Drittel des Rückens bedeckt. Um sich fortzupflanzen, ist eine Blutmahlzeit unabdingbar. Nur vollgesogene Weibchen können sich mit einem Männchen paaren. Dabei klammert sich das Männchen am Weibchen fest und führt mit seinen Mundwerkzeugen den zylinderförmigen Spermatophor in die Geschlechtsöffnung des Weibchens ein. Die begatteten Weibchen lassen sich auf den Boden fallen und suchen einen geschützten Ort, wo sie bis zur Eiablage verharren. Nach etwa acht bis 30 Tagen erfolgt die Ablage von bis zu 5000 Eiern. Danach stirbt auch die weibliche Hundezecke.

Die Larven, Nymphen, Männchen und Weibchen von *I. ricinus* wurden unter dem Binokular photographiert (Abb. 1–4). *I. ricinus* trägt am vordersten Gliedmassenpaar ein grubenförmiges, mit Haaren und Borsten versehenes Sinnesorgan, das mechanische, thermische und chemische Reize wahrnimmt. Dieses Sinnesorgan registriert die von einem Lebewesen verursachte

Erschütterung, die abgegebene Wärme und das in der Atemluft vorhandene Kohlendioxid. Es reagiert auch auf Buttersäure, welche unter anderem Bestandteil des menschlichen Schweißes ist. Dieses so genannte Hallersche Organ ist für *I. ricinus* unerlässlich bei der Wirtsfindung (Krickau und Helfricht 2000).

Ist ein Wirt geortet, lässt sich die Zecke von ihrem Warteplatz auf den Wirt abstreifen. Dort angelangt, sucht sie eine Stelle, wo die Haut möglichst dünn und feucht ist. Beim Menschen befinden sie sich deshalb oft in der Leistengegend, den Achselhöhlen oder den Kniekehlen. Die Zecken sind sehr wählerisch, weshalb es mehrere Stunden dauern kann, bis sie mittels Sinnesborsten an den vorderen Beinpaaren und den Tastern (Pedipalen) am Mundwerkzeugapparat (Gnathostoma) eine geeignete Einstichstelle gefunden haben.

Nun treten die Mundwerkzeuge in Aktion. Die folgenden Vorgänge kann man in zwei Phasen einteilen: Zuerst werden die Haut und das darunter liegende Gewebe durch die Chelizeren aufgeschnitten. Chelizeren stellen kleine Messerchen dar, die sich sägeartig gegeneinander bewegen. Darauf wird das Hypostom, ein aus Chitin bestehender und mit Widerhaken besetzter Saugrüssel, in die Wunde eingeführt. Bei der eigentlichen Nahrungsaufnahme gibt die Zecke einen anästhesierenden, gewebssauflösenden und blutgerinnungshemmenden Speichel in die Wunde ab. Zur festen Verankerung wird zudem eine schnell härtende Masse ausgeschieden, die den Saugrüssel in der Haut verankert. Durch das Nahrungsrohr werden dann Blut, Gewebssäfte und Zellsubstrate aufgesaugt. Während des Saugens kann die Zecke den Wirt durch Speichel mit allfällig vorhandenen Krankheitserregern infizieren. Der Saugakt dauert durchschnittlich fünf bis vierzehn Tage. Dabei kann die Zecke das 100- bis 200-Fache ihres Körpergewichts an Blut aufnehmen.

Die Lyme-Borreliose ist eine Infektionskrankheit, welche durch Spirochäten der Gruppe *Borrelia burgdorferi* sensu lato hervorgerufen wird. Diese werden ausschliesslich durch Zecken der Spezies *Ixodes* übertragen. Die Lyme-Borreliose befällt den Menschen wahrscheinlich schon seit vielen Jahrhunderten. Lange Zeit wur-

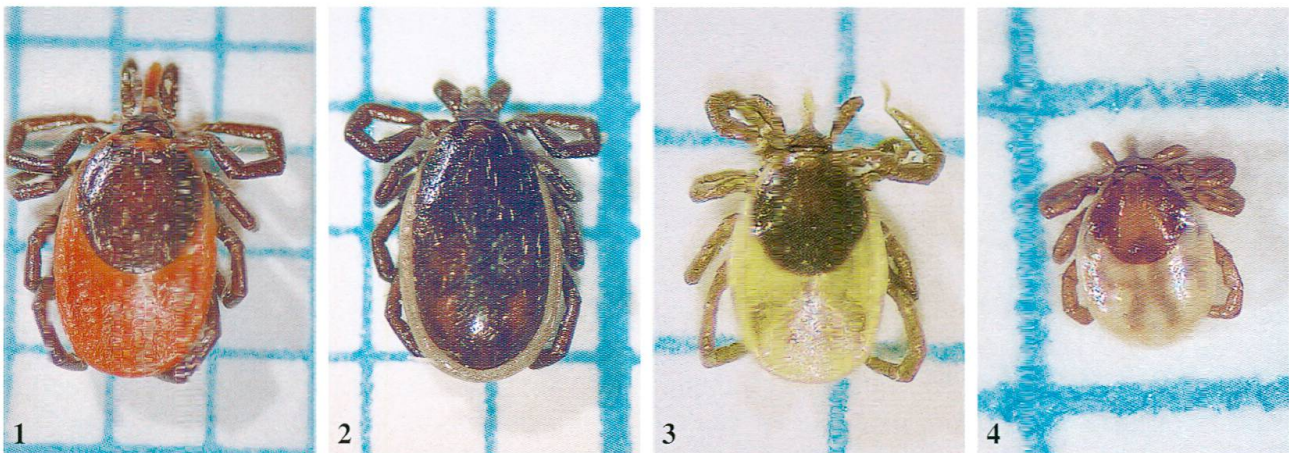


Abb. 1–4: Die Entwicklungsstadien von *Ixodes ricinus* wurden unter dem Binokular photographiert: weibliches Adulttier (1), Männchen (2), Nymphe (3) und Larve (4). Die Kantenlänge eines Quadrats entspricht 1 mm.

den die Krankheitszeichen aber verkannt. Erste Symptome wurden zwar schon im 19. Jahrhundert von Medizinern beschrieben, doch erst im letzten Viertel des 20. Jahrhunderts konnten Patienten aus den USA die Wissenschaft dazu bewegen, ihre Leiden genauer zu untersuchen (Krickau und Helfricht 2000). Massgeblich beteiligt daran war eine Hausfrau: Innerhalb weniger Jahre nachdem sie in das kleine, amerikanische Dorf Lyme im Bundesstaat Connecticut gezogen war, traten bei ihr und ihren Kindern immer wieder grippeartige Symptome und Gelenkentzündungen auf. Obwohl sie eine grosse Anzahl Ärzte aufsuchte, konnte keiner eine Diagnose stellen. Doch sie gab nicht auf. Nachdem die Mutter von ähnlichen Fällen in der Nachbarschaft gehört hatte, kontaktierte sie das Gesundheitsamt. Als die Krankheit auch in der Öffentlichkeit grosse Aufmerksamkeit erregt hatte, widmeten sich zahlreiche Ärzte der Erforschung dieser mysteriösen Krankheit. Es wurde immer wahrscheinlicher, dass sie von Zecken übertragen wird. Da aber die Forscher lange Zeit davon ausgingen, dass es sich beim Krankheitsauslöser um ein Virus handeln könnte, hatte man den Erreger noch immer nicht gefunden. Erst als man herausfand, dass die Symptome durch Penicillin bekämpft werden können, schien die Erregersuche unter Bakterien erfolgsversprechend. Tatsächlich gelang dann bald der Durchbruch: Im Herbst 1981 entdeckte der Basler Willy Burgdorfer im Darmsack weiblicher Zecken eine schraubenförmige Bakterienform: Spirochäten

der Gattung *Borrelia* (Krickau und Helfricht 2000).

Diese haben einen schraubenförmigen Bau mit unregelmässigen Windungen. Ihre Hülle besteht aus einer äusseren und einer inneren Membran, welche den Protoplasmazyylinder umschliesst. Dieser enthält die Erbanlagen, bestehend aus dem Bakterienchromosom und bis zu 20 DNA-Plasmiden. Borrelien können sich mit Hilfe von Geisseln (Endoflagellen) sehr gut fortbewegen. Durch das Zusammenziehen dieser Geisselbündel bewegt sich das Bakterium schraubenförmig vorwärts und so gelingt es ihm, alle Gewebe und Organe zu durchdringen. Die optimale Wachstumstemperatur des Bakteriums liegt bei 36 Grad Celsius, und die Generationszeit schwankt zwischen sechs und 20 Stunden. Das ist relativ lange und es könnte mit ein Grund dafür sein, weshalb die Bakterien nur in seltenen Fällen tödlich wirken. Es gibt mindestens vier verschiedene krankmachende Erreger-Typen (Genospezies): *Borrelia burgdorferi*, *Borrelia garinii*, *Borrelia afzelii*, *Borrelia valaisiana*.

Die Lyme-Borreliose ist eine Multisystemkrankheit. Sie weist eine grosse Vielfalt von Symptomen und Inkubationszeiten auf. Am häufigsten sind Hautkrankheiten, Erkrankungen des Nervensystems, der Augen, der inneren Organe und des Bewegungsapparates. Man kann die Krankheit in drei Stadien einteilen. Zu beachten ist jedoch, dass während des Krankheitsverlaufs einzelne Stadien nicht auftreten und die Übergänge flussend verlaufen. In Tabelle 2 sind die

verschiedenen Symptome vereinfacht den einzelnen Stadien zugeordnet. Um sicher zu gehen, um welche Krankheit es sich handelt, muss eine gültige Diagnose gestellt werden. Erst dann kann die Lyme-Borreliose durch Vernichtung der Spirochäten erfolgreich therapiert werden.

Das ist aber nicht immer einfach, da die Bakterien eine recht lange Generationszeit haben, hartnäckige Formen bilden können und sich an für Medikamente schwer zugänglichen Stellen verstecken. Grundlegend bei der Bekämpfung von Borrelien ist die Verabreichung von Antibi-

	Zeitdauer	Haut	Nervensystem	Bewegungsapparat	Sonstige
Stadium 1	etwa ab dem dritten Tag bis acht Wochen nach der Infektion	- die Wanderröte, eine lokale Infektion der Haut, die nach Einsetzen der Immunreaktion des Menschen zu wandern beginnt (<i>Erythema migrans</i>) - Lymphozytom			- Grippe-ähnliche Begleitsymptome
Stadium 2	ab dem zweiten bis zwölften Monat nach der Infektion		- Schädigung der Nervenwurzeln (<i>Meningoradikul(oneur)itis</i>) - Meningitis (besonders Lähmungen im Gesicht)	- Entzündung der Gelenke (<i>Lyme-Arthritis</i>)	- Entzündung der Augen - Entzündung der inneren Organe
Stadium 3	ein oder mehrere Jahre bis sogar Jahrzehnte nach der Infektion, unter Umständen lebenslang	- Lymphozytom - zigarettenpapierartige Hautverdünnung mit bläulichem Hervortreten der Adern (<i>Acrodermatis chronica atrophicans</i>)	- Bewusstseins-trübungen	- Entzündung der Gelenke (<i>Lyme-Arthritis</i>)	- Entzündung der Augen - chronische Organschäden

Tab. 2: Zusammenstellung der Symptome der Lyme-Borreliose.

otika. Dabei haben sich besonders vier Wirkstoffe bewährt (Krickau und Helfricht 2000): Tetracycline (Breitspektrum Antibiotika), Penicilline (Mittel erster Wahl bei der Infektionsbekämpfung), Makrolide (weiterentwickelte Antibiotika, welche auch Erreger vernichten, die resistent gegen Tetracycline und Penicilline sind) und Cephalosporine (hochwirksame Breitbandantibiotika, die vor allem in den fortgeschrittenen Stadien angewendet werden). Bei der Borrelienbehandlung ist es von grosser Wichtigkeit, die Krankheit möglichst früh mit den entsprechend dosierten Antibiotika zu behandeln (Kimmig 2000, Krickau und Helfricht 2000). Auch muss beachtet werden, dass es erst in den USA einen Impfstoff gegen die Lyme-Borreliose gibt, da dort ausschliesslich Erreger des Typs *B. burgdorferi* vorkommen. In Europa aber, wo verschiedene Genospezies des Bakteriums auftreten, ist noch kein wirksamer Impfstoff verfügbar, und obwohl intensiv danach geforscht wird, rechnet man noch mit einer Entwicklungszeit von mehreren Jahren (Kimmig 2000).

Bei der Diagnostik von Infektionskrankheiten werden grundsätzlich zwei Arten der Diagnosen unterschieden: der indirekte und der direkte Erregernachweis. Beim indirekten Nachweis von Erregern werden nicht die pathogenen Keime selbst, sondern die vom Immunsystem produzierten Antikörper nachgewiesen. Da der Körper diese erst nach ungefähr drei bis sechs Wochen produziert, kann eine allfällige Infektion erst dann entdeckt werden. Diese Methode hat noch weitere Nachteile: So ist es möglich, dass der Mensch schon früher einmal infiziert wurde, der Körper die Krankheit aus eigener Kraft besiegt hat und jetzt noch Antikörper (eine so genannte Seronarbe) vorhanden sind. Aber auch das Gegenteil kann vorkommen: Obwohl der Körper infiziert ist, können keine Antikörper nachgewiesen werden. Deshalb gilt es, bevor eine geeignete Therapie verordnet wird, Symptome und Diagnose genau zu analysieren und zu vergleichen.

Beim direkten Erregernachweis werden Bakterien auf einem geeigneten Nährmedium und unter speziellen Bedingungen gezüchtet. Diese Methode wird aber fast nie verwendet, da die Vermehrung der Bakterien auf einem Nährbo-

den lange dauert und ausserdem sehr unsicher ist (Kimmig 2000, Krickau und Helfricht 2000).

Eine andere Möglichkeit ist der Nachweis von Bakterien-DNA mit Hilfe der Polymerase Ketten Reaktion (PCR). Die PCR ist 1983 von Carl B. Mullis entwickelt worden und hat die Molekulargenetik revolutioniert. Sie hat eine völlig neue Vorgehensweise bei der Analyse von DNA-Sequenzen ermöglicht, denn sie löst ein grosses Problem bei der Untersuchung von DNA: Gene sind seltene Zielobjekte in einem riesigen Genom. Die PCR ermöglicht die Vervielfältigung eines bestimmten, definierten DNA-Abschnittes. Die Vorgänge bei der Vervielfältigung einer DNA-Sequenz durch die PCR sind der natürlichen Replikation sehr ähnlich. Die Reaktion besteht aus drei Schritten: 1. Denaturierung: Durch das Erhitzen der DNA auf 90–100°C werden die Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den einzelnen Basen aufgebrochen und es entstehen DNA-Einzelstränge. 2. Annealing (Anlagerung): Das Reaktionsgemisch wird auf eine Temperatur zwischen 40°C und 6°C abgekühlt. Die beiden Primer (kurze, synthetisch hergestellte, komplementäre DNA-Sequenzen von 20–30 Basen) lagern sich an und bestimmen den Anfang und das Ende der Zielsequenz. 3. Extension (Verlängerung): Bei einer Temperatur von 72°C synthetisiert die Taq-Polymerase (rekombinante, hitzestabile DNA-Polymerase aus dem Bakterium *Thermus aquaticus*) die Komplementärstränge. Durch mehrfaches Wiederholen dieser Schritte (so genannte Zyklen) wird die Zielsequenz exponentiell vervielfacht und kann anschliessend nachgewiesen werden. Dies geschieht bei der konventionellen PCR mit Hilfe der Gelelektrophorese. Dies ist ein Verfahren zur Auftrennung von Makromolekülen. Als Medium dient ein Gel aus einer polymerisierenden Substanz (z.B. Agarose), an die ein elektrisches Feld angelegt wird. Das Gel wirkt nun wie ein Molekularsieb, wobei die grossen Moleküle langsam, und die kleinen Moleküle schnell wandern. Die dadurch entstehenden Banden werden durch Markierungsverfahren sichtbar gemacht (Watson et al. 1993, Weber 2001, Frank et al. 1997).

Bei der Real Time PCR bleiben die drei Schritte (Denaturierung, Annealing und Exten-

sion) der konventionellen PCR erhalten. Zusätzlich zu den beiden Primern befindet sich aber noch eine Probe im Reaktionsgemisch. Diese Probe (eine markierte DNA-Sequenz) ist komplementär zu einer DNA-Sequenz zwischen den beiden Primern. Die Markierung dieser Probe besteht aus zwei verschiedenen Fluoreszenzfarbstoffen, dem Reporterfarbstoff (R) und dem Quencherfarbstoff (Q). Liegen diese beiden Moleküle räumlich nahe beieinander, geben sie kein Signal ab. Wird nun die Probe während der DNA-Synthese in die sich bildende DNA eingebaut, werden die mit einem Reporterfarbstoff markierten Nukleinsäuren frei und emittieren Licht, welches direkt gemessen werden kann (Abb. 5).

Die Real Time PCR ist primär für die Quantifizierung der PCR entwickelt worden. Sie hat aber gegenüber der konventionellen PCR einen weiteren Vorteil: Das PCR-Röhrchen muss nach der DNA-Amplifikation nicht mehr geöffnet werden, was das Risiko einer Verschleppung von Ziel- und besonders Produkt-DNA in eine spätere Reaktion verhindert.

Material und Methode

Es wurden sechs Sammelgebiete in der Stadt Basel und ihrer unmittelbaren Umgebung ausgewählt: die städtische Parkanlage Kannenfeldpark, die zwei an die Stadt angrenzenden Grünanlagen Grün 80 und Langen Erlen sowie die drei Waldgebiete St. Chrischona, Allschwiler Wald und Bruderholz. Die Lage dieser Gebiete ist in Abbildung 7 dargestellt. Hierbei handelte es sich um eine Auswahl beliebter Naherholungsgebiete in und um Basel, welche jeden Tag von unzähligen Familien, Spaziergängerinnen, Joggerinnen und Hundehaltern benützt werden. Die Zecken wurden in jenen Gebieten gesammelt, wo sich die meisten Leute aufhielten, dort wo die Möglichkeit bestand, dass sie den Menschen befallen. In Frage kamen vor allem Wegränder, Picknickplätze oder Kinderspielplätze. In jedem Gebiet wurde während fünf Monaten von April bis August 2003 monatlich ein Sammeldurchgang durchgeführt.

Die am weitesten verbreitete Sammelmethode für Zecken ist die Fahnenmethode (Sonenshine

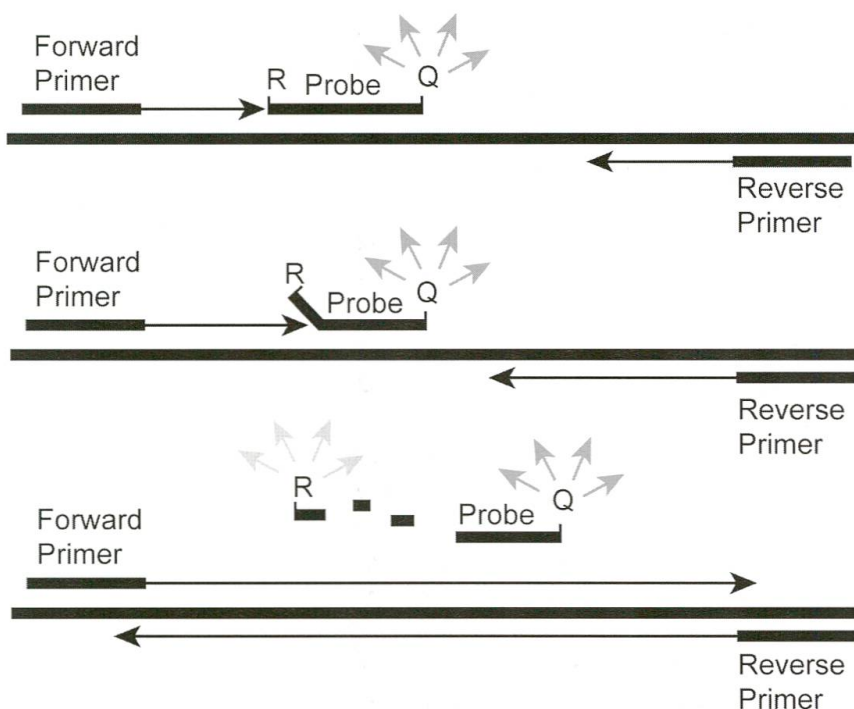


Abb. 5: (aus Günzburg): Bei der Real Time PCR wird die Probe während der DNA-Synthese in die sich bildende DNA eingebaut und der Reporterfarbstoff (R) beginnt Licht zu emittieren.



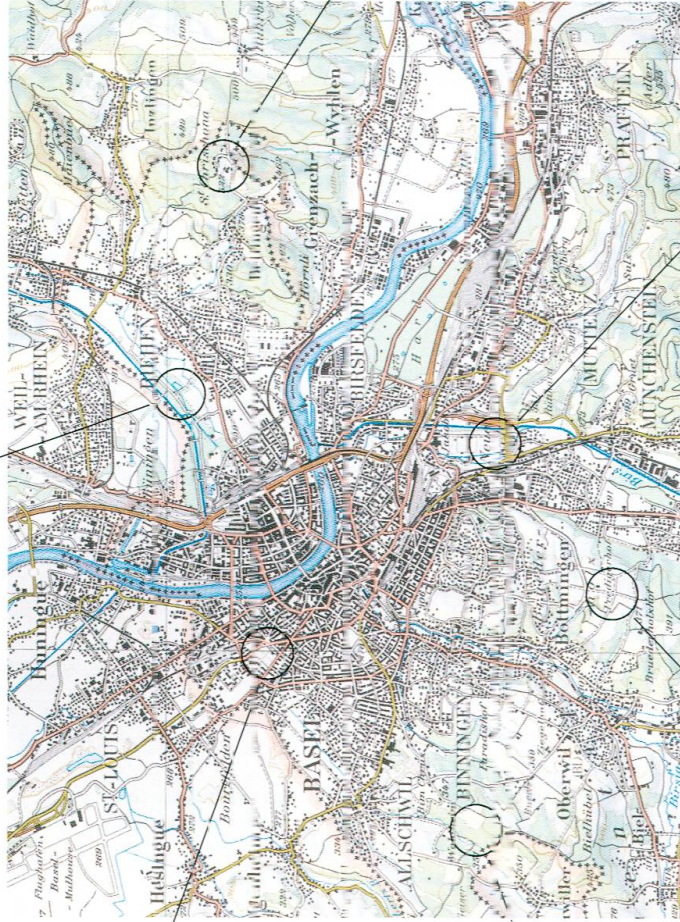
Lange Erlen



Kannenfeldpark



Allschwiler Wald



St. Chrischona



Bruderholz



Grün 80



Abb. 7: Die verschiedenen Untersuchungsgebiete in und um Basel. Karte reproduziert mit Bewilligung von swiss-topo (BA 056868).



Abb. 6: Ein Probefang mit der Fahnenmethode im Allschwiler Wald.

1993). Dabei wird ein an einem Stock befestigtes, weisses Baumwolltuch durch das Unterholz gezogen (Abb. 6). Die Zecken halten sich in Erwartung eines Wirtes daran fest. Um die einzelnen Gebiete miteinander vergleichen zu können, wurde bei jedem Fang das Tuch 20 Mal durch das Unterholz gezogen. Jeder Zug mass zwischen drei und fünf Meter. Da das Tuch 1 m² gross war, konnte man davon ausgehen, dass pro Sammelplatz und Monat etwa 80 m² Unterholz auf Zecken untersucht wurden.

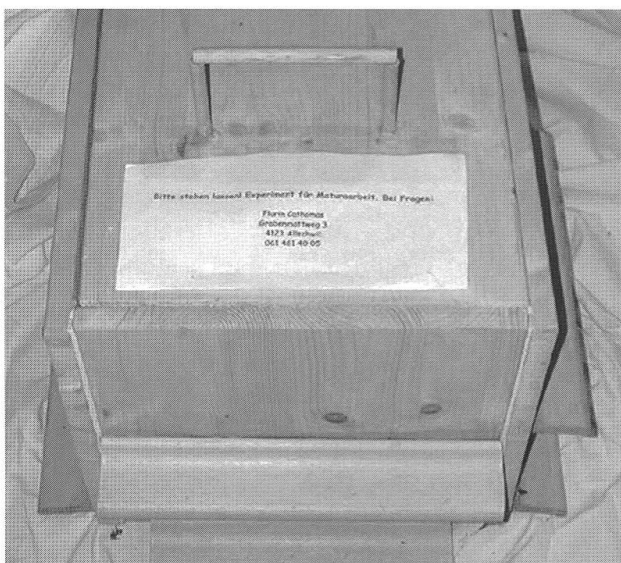


Abb. 8: Zeckenfalle im Überblick.

Die gesammelten Zecken wurden mit einer Pinzette in eine Petrischale gelegt. In dieser befand sich ein mit Chloroform getränktes Taschentuch. Ein Wattebausch erwies sich als nicht vorteilhaft, da er die Zecken mit vielen dünnen Fasern verschmutzte. Die Chloroformkonzentration in der Schale musste genug hoch sein, um die sehr widerstandsfähigen Tiere zu töten. Anschliessend wurden sie unter dem Binokular nach Stadien sortiert. Vorhandene Verunreinigungen wie Schmutz, Wollfäden oder Pflanzenreste wurden entfernt. Danach wurde *I. ricinus* in ein beschriftetes (Datum, Sammelort, Anzahl und Stadium) 1.5 ml Eppendorf-Röhrchen eingeschlossen und im Gefrierfach bei einer Temperatur von -18°C aufbewahrt.

Eine weitere Methode, welche angewendet wurde, war die CO₂-Zeckenfalle (Sonenshine 1993). Dabei wurde die Tatsache ausgenützt, dass Zecken von CO₂ angelockt werden. Aus Holz wurde eine Falle gebaut (Abb. 8 und 9). Die Kiste hatte einen Innenraum, wo das CO₂ in einer Gasflasche aufbewahrt wurde. Aus kleinen Öffnungen in der Wand strömte es auf eine Leiste, welche mit Klebeband versehen war. Wenn die Zecken versuchten, die Öffnung zu erreichen, blieben sie auf dem klebrigen Vorsprung haften. Aufgestellt wurde die Falle während elf Tagen im Allschwiler Wald.

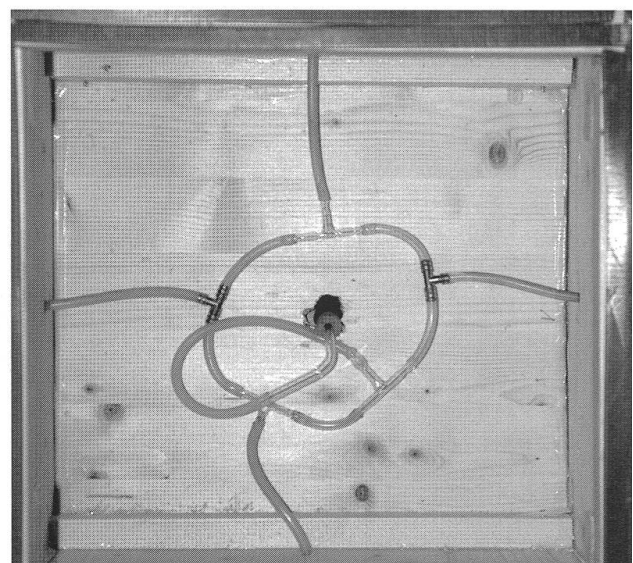


Abb. 9: Schläuche der Zeckenfalle, durch die das CO₂ nach aussen strömt.

Zur Extraktion und Reinigung der DNA aus den Zecken wurde das QIAamp DNA Mini Kit verwendet. Diese wurden nach dem mitgelieferten Protokoll durchgeführt (Qiagen 2003).

Für die Real Time PCR wurden folgende Primer und Probes verwendet (Wicki et al. 2000): Forward Primer FlaF1A (AGC AAA TTT AGG TGC TTT CCA A), der Reverse Primer FlaR1 (GCA ATC ATT GCC ATT GCA GA) und die FlaProbe (TGC TAC AAC CTC ATC TGT CAT TGT AGC ATC TTT TAT TTG).

Für die Reaktion wurden neben 5 µl des zu untersuchenden Materials noch 12.5 µl Universal Master Mix, welcher die notwendigen Nucleotide, die TAQ Polymerase und eine Pufferlösung enthielt, 2.5 µl Forward Primer FlaF1A, 2.5 µl Reverse Primer FlaR1 und 2.5 µl Fla Probe in ein Eppendorf-Röhrchen pipettiert. Danach wurde das Reagenzgemisch auf eine 96 Loch PCR-Platte übertragen. Zusätzlich wurden zwei negative Kontrollen, die keine DNA enthielten, und zwei positive Kontrollen mit der DNA des Bakteriums *Borrelia burgdorferi* mitgeführt.

Die PCR wurde in einem ABI Prism 7700 Sequence Detection System, bei 50 Zyklen mit folgenden Zyklenbedingungen durchgeführt: 15 s bei 95°C und 1 min bei 60°C. Anschliessend wurden die Resultate mit einem Macintosh Computer 4400/2200 und der Software Sequence Detection System Software Version 1.6.3 ausgewertet. Alle Samples wurden doppelt ausgeführt. Bei diskrepanten Resultaten wurde die Untersuchung des Samples wiederholt.

Die adulten Tiere wurden einzeln untersucht, da sie am grössten waren und folglich auch am meisten DNA enthielten. 47 Nymphen wurden ebenfalls einzeln untersucht, um einen ersten Überblick über den Borrelienbefall der Zecken zu gewinnen. Da diese Einzeluntersuchungen eine geringe Durchseuchung aufwiesen, wurde der Rest der Nymphen gepoolt, das heisst mehrere Nymphen zusammen untersucht. Die einzelnen Pools bestanden aus höchstens 7 Nymphen. Die Larven wurden in maximal 10 Tiere pro Pool aufgeteilt. Die prozentuale Durchseuchung mit Borrelien wurde mit folgender Formel berechnet (Chiang und Reves 1962):

$$f(x) = 1 - \left(\frac{n - x^m}{n} \right) \cdot 100$$

$f(x)$ = Infektionsrate in Prozent, n = Anzahl der getesteten Pools, m = Durchschnittliche Zeckenanzahl pro Pool, X = Anzahl der positiven Pools.

Resultate

Die Fahnenmethode (Sonenshine 1993) zum Sammeln von *I. ricinus* war einfach anwendbar und erfolgreich. Die einzige Voraussetzung für das Funktionieren der Methode war trockenes Wetter: Wenn es regnete und der Boden nass war, hat sich das Baumwolltuch mit Wasser voll gesogen. Dreimal wurde bei Regen die Fahnenmethode in Gebieten, in denen bisher *I. ricinus* nachgewiesen wurden, getestet und nie hat sich eine Zecke am Tuch festgehalten. Deshalb kann davon ausgegangen werden, dass die Methode bei Regen oder nassem Unterholz schlecht oder gar nicht funktioniert.

Mit der CO₂-Falle wurden keine Zecken gefangen, obwohl während der elf Tage mehrere Male der Standort gewechselt und die Konzentration des ausströmenden Gases verändert wurde. Nachdem das CO₂ einer Gasflasche aufgebraucht war, wurde der Versuch nicht mehr weiter geführt.

Insgesamt wurden während fünf Monaten in den sechs Sammelgebieten 397 *I. ricinus* gefangen: 35 Adulttiere (13 Weibchen und 22 Männchen), 172 Nymphen und 190 Larven. Im Beobachtungszeitraum variierte die Zeckenhäufigkeit innerhalb der verschiedenen Stadien: Während die Nymphen und Adulttiere vor allem in den Monaten April, Mai und Juni auftraten, konnten Larven überwiegend in den Monaten Juli und August nachgewiesen werden (Tab. 3).

Bezüglich der Verteilung in den einzelnen Sammelgebieten zeigte sich folgendes Bild: Das Gebiet mit den meisten *I. ricinus* war St. Chrischona. Dort wurden 262 Zecken gesammelt. Das sind 66% aller gefangenen Zecken. Im Allschwiler Wald und auf dem Bruderholz wurden 76 beziehungsweise 49 *I. ricinus* gefunden. In den Langen Erlen wurden am wenigsten Tiere

	April	Mai	Juni	Juli	August	Total
Larven	0	1	6	155	28	190
Nymphen	51	84	24	12	1	172
Adulttiere	10	11	11	2	1	35
weibl.	4	3	5	0	0	12
männl.	6	8	6	2	1	23
Total	61	96	41	169	30	397

Tab. 3: Verteilung der Entwicklungsstadien von *I. ricinus* während des Beobachtungszeitraums in allen sechs Gebieten.

gesammelt, nämlich 10. Im Kannenfeldpark und in der Grün 80 wurde *I. ricinus* nicht gefunden.

Bei der Gesamtzahl der gesammelten Zecken war zu beobachten, dass in den Monaten April,

Mai und Juli vor allem Adulttiere und Nymphen vorkamen, die Larven aber erst in den Monaten Juli und August auftraten. Ein starker Anstieg

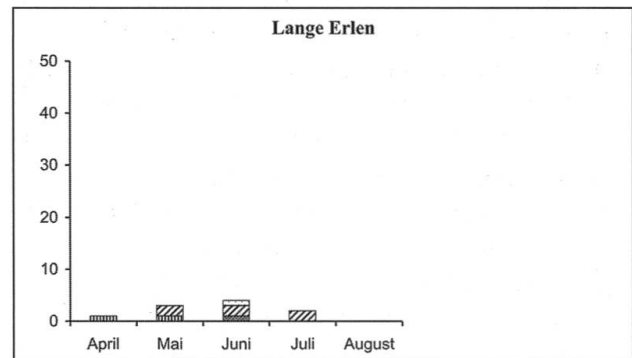
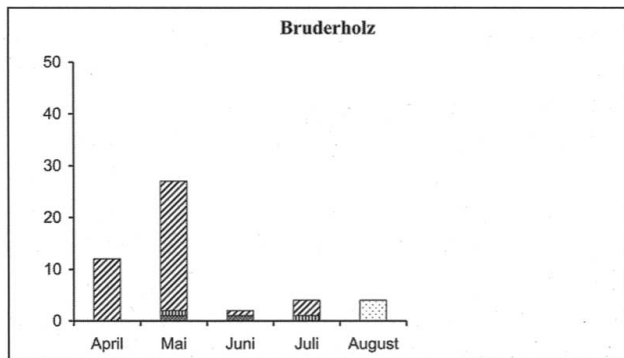
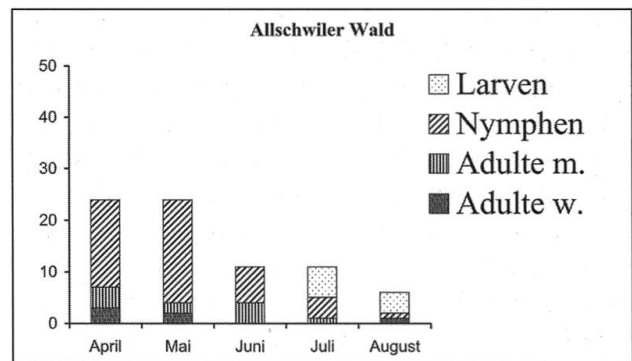
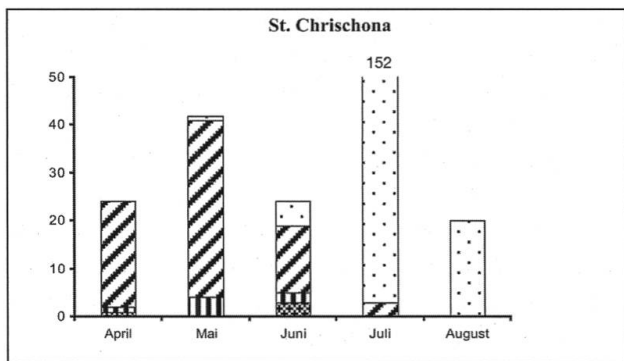


Abb. 10–13: Verteilung der Entwicklungsstadien von *I. ricinus* auf die verschiedenen Sammelorte.

von Larven wurde im Juli in St. Chrischona mit 149 Tieren beobachtet (Abb. 10–13).

Die Borrelien-DNA in den Zecken wurde mit der Real Time PCR nachgewiesen (Abb. 14). In 16.4% der 172 untersuchten Adulttiere

und Nymphen wurde Borrelien-DNA nachgewiesen; 14.3% der Adulttiere und 16.8% der Nymphen waren positiv. Keine Borrelien-DNA wurde in den 190 untersuchten Larven gefunden. Die positiven Borreliennachweise der

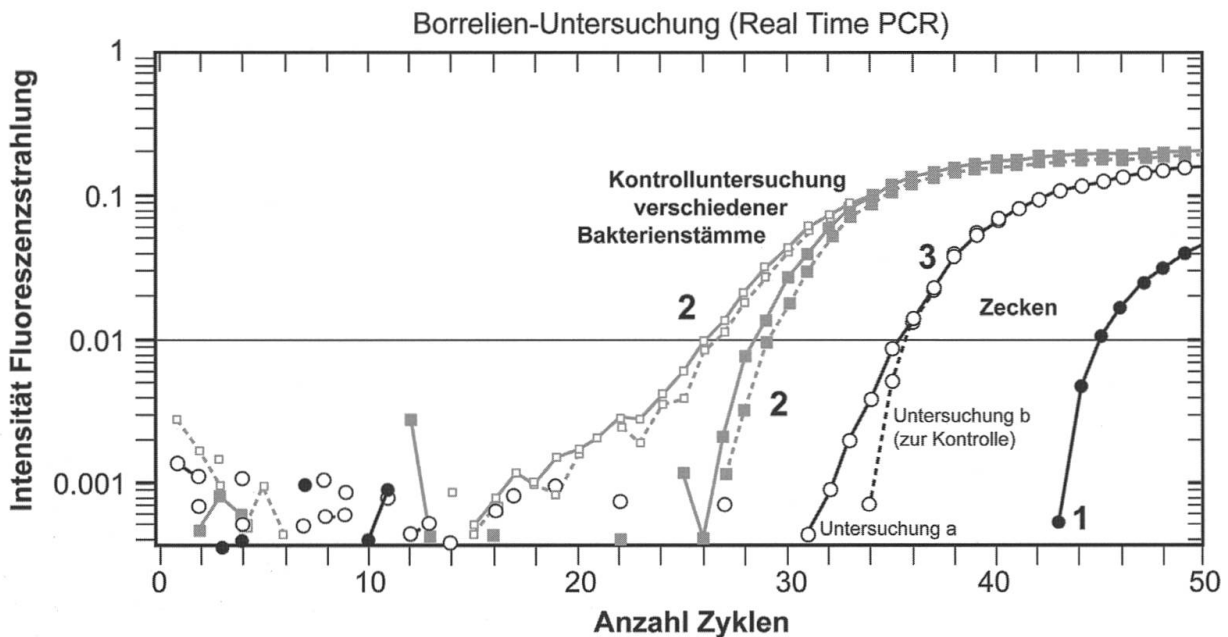


Abb. 14: Die Auswertung am Bildschirm hat folgendermassen stattgefunden (nachgezeichnet nach Bildschirmdarstellung): Auf der x-Achse ist die Anzahl Zyklen, auf der y-Achse die Intensität der Fluoreszenzstrahlung dargestellt. Alle Untersuchungen wurden zur Kontrolle im Duplikat ausgeführt. Bei diskordanten Ergebnissen (1) wurde das Material noch einmal überprüft. Bei jeder Untersuchung wurden eine oder mehrere positive Kontrollen (DNA der Bakterienstämme) (2) und eine negative Kontrolle (nicht sichtbar) mitgeführt. In diesem Beispiel ist eine Probe positiv (3).

	April	Mai	Juni	Juli	August
St. Chrischona					
Nymphen	28.4 % (22)	19.9 % (37)	0 % (14)	0 % (3)	0 % (0)
Adulttiere	0 % (2)	25 % (4)	20 % (5)	0 % (0)	0 % (0)
Allschwiler Wald					
Nymphen	13.1 % (17)	0 % (20)	0 % (7)	25 % (4)	0 % (1)
Adulttiere	28.6 % (7)	25 % (4)	0 % (4)	0 % (1)	0 % (1)
Bruderholz					
Nymphen	43.9 % (12)	27.9 % (25)	0 % (1)	0 % (3)	00 % (0)
Adulttiere	0 % (0)	0 % (2)	0 % (1)	0 % (1)	0 % (0)

Tab. 4: Prozentualer Befall von *I. ricinus* mit Borrelien, nachgewiesen mit der Real Time PCR. In Klammern ist die Anzahl der untersuchten Zecken aufgeführt.

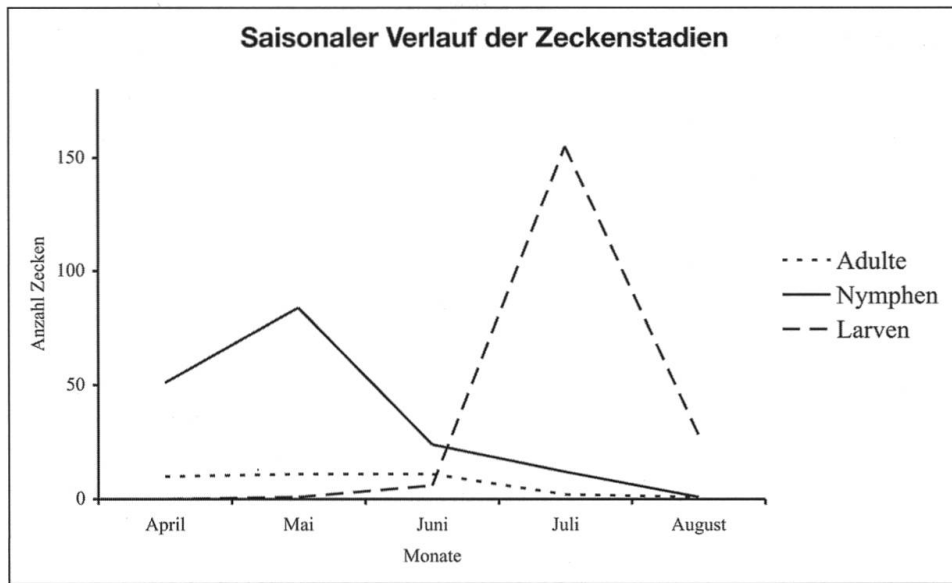


Abb. 15: Saisonaler Verlauf der Entwicklungsstadien von *I. ricinus* gesamthaft in allen untersuchten Gebieten.

Adulttiere und Nymphen beschränkten sich auf die Gebiete St. Chrischona (17.7%), Allschwiler Wald (9.5%) und Bruderholz (27.3%; Tab. 4).

Diskussion und Schlussfolgerung

In der vorliegenden Arbeit wurde *I. ricinus* in vier von sechs untersuchten stadtnahen Erholungsgebieten von Basel gefunden. Die Zeckenhäufigkeit zeigte zeit- und stadienabhängige Schwankungen mit einer Häufung von Adulttieren und Nymphen im Frühsommer, während die Larven erst in der zweiten Hälfte der Untersuchungsperiode beobachtet wurden (Abb. 15).

Mit der CO₂-Falle konnten im Monat Mai im zeckenreichen Allschwiler Wald keine Zecken gefangen werden. Das CO₂ hat sich wahrscheinlich zu schnell aus der Falle verflüchtigt, um die Zecken anzulocken. Um den Versuch zu ergänzen, hätte man auch Buttersäure verwenden können, da die Zecken auf Buttersäure reagieren und diese eine viel grössere Reichweite und Beständigkeit als CO₂ gehabt hätte.

Verschiedene Gründe können die unterschiedliche Zeckendichte in den untersuchten Gebieten erklären. Dort wo *I. ricinus* nicht gefunden wurde, fehlten möglicherweise die Wirte. Der Kannenfeldpark ist ein Gebiet, in dem ein Hundeverbot gilt. Zudem wurde regelmässig das

Gras geschnitten und im Herbst das Laub entfernt. Dadurch wurde der Zecke der Lebensraum entzogen. Zudem ist der Kannenfeldpark, ein ehemaliger Friedhof (Eggmann und Steiner 1997), ein weitgehend abgeschlossenes Naherholungsgebiet ohne Anschluss an ein grösseres Waldsystem. Auch in den Langen Erlen war sehr wenig Unterholz vorhanden.

Eine erstaunliche Ausnahme bildete die Grün 80. Obwohl Wirte und Unterholz vorhanden waren, konnte *I. ricinus* nicht nachgewiesen werden. Das Gebiet ist zur Hälfte abgeschlossen; auf der einen Seite grenzt es an die Stadt Basel, auf der anderen Seite aber an ein Waldgebiet. Eine Erklärung dafür könnte sein, dass die Birs als natürliche Barriere wirkte, und die Einschleppung von Zecken verhindert wurde.

Die zeckenreichen Gebiete St. Chrischona, Allschwiler Wald und das Bruderholz sind Waldgebiete. Alle diese Orte sind bei Hundehaltern sehr beliebt. Im Allschwiler Wald und in St. Chrischona weidete in der Nähe der Sammelplätze Vieh. Wirte waren demzufolge viele vorhanden. Auch die übrigen Lebensbedingungen für *I. ricinus* waren gut, da es normalerweise feucht war und viel Unterholz hatte. Einzige Ausnahme war ein Teilstück des Allschwiler Waldes, wo zwei Mal das Gras am Wegrand geschnitten wurde, und deshalb die Zahl der gesammelten Zecken abnahm.

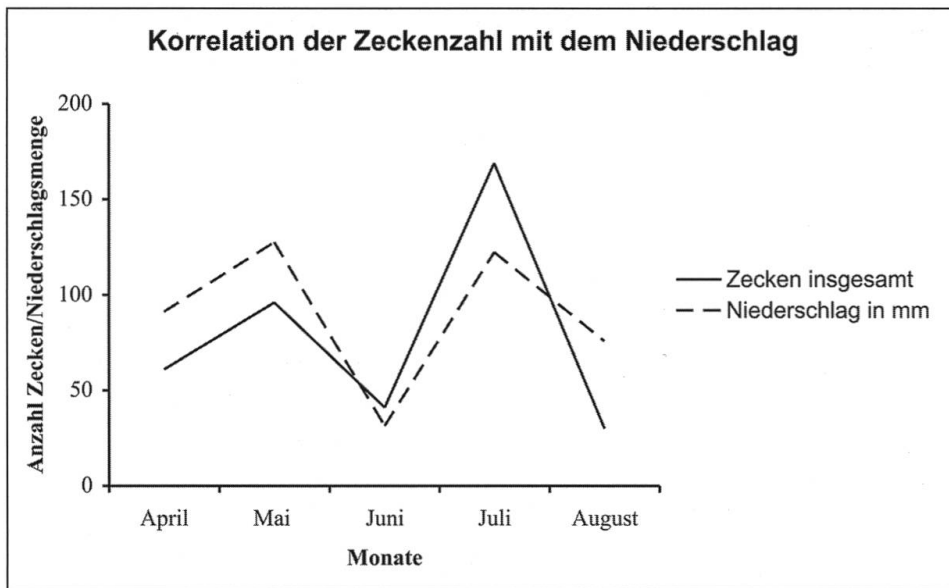


Abb. 16: Vergleich der gesamten Zeckenzahlen mit den Niederschlagsmessungen.

Die Korrelation zwischen gefundenen *I. ricinus* pro Monat und dem monatlichen Niederschlag wurde mit Hilfe der Daten der Meteo Schweiz verglichen: Dabei wurde folgender Zusammenhang festgestellt: Je höher die Niederschläge eines Monats waren, desto grösser war auch die Anzahl der gesammelten Zecken (Abb. 16). Der Sommer 2003 war sehr heiss und trocken. Besonders extrem war der Juni, wo die Durchschnittstemperatur 23.3°C betrug und die Niederschlagsmenge nur 31.5 mm erreichte. Viele Pflanzen und auch das Unterholz waren dürr. Dies könnte mit ein Grund dafür gewesen sein, dass in vielen Gebieten im Juni die Zahl der gesammelten Zecken zurückgegangen ist.

Saisonale, zahlenmässige Schwankungen von Zecken und deren Entwicklungsstadien sind auch in der Literatur belegt (Sonenshine 1993, Vassalo et al. 2000, Eisen et al. 2002). Vor allem das Auftreten von Nymphen und Larven wurde dabei untersucht. Bei den Nymphen sind zwei verschiedene Spitzen festzustellen: eine grössere im Frühling und eine zweite, kleinere im Spätsommer. Je nach Spezies und Klima sind die Spitzen mehr oder weniger stark ausgeprägt und zeitlich etwas verschoben. Larven treten in allen Literaturangaben (Sonenshine 1993, Vassalo et al. 2000, Eisen et al. 2002) erst im Sommer auf.

Borrelien konnten mittels PCR an drei von vier Orten in den untersuchten Zecken nachge-

wiesen werden. Die monatlichen Befallsraten schwankten zwischen 13 % und 43 %. Die Adulttiere und die Nymphen waren etwa gleich stark infiziert. In den Larven waren keine Borrelien nachweisbar.

In den Langen Erlen wurden keine Borrelien gefunden. Dies bedeutet aber nicht, dass die Langen Erlen ein borrelienfreies Gebiet sind. Die Zahl der gesammelten *I. ricinus* war zu klein, um eine abschliessende Aussage zu machen (n = 10). Statistisch gesehen hätte bei einer Infektionsrate von 10–20 % eine bis zwei Zecken positiv sein sollen. Da aber pro Monat nie mehr als vier Zecken gesammelt wurden, kann nicht ausgesagt werden, dass die Langen Erlen borrelienfrei sind. Auf jeden Fall ist aber das Risiko einer Infizierung in diesem Gebiet schon aufgrund der geringen Anzahl gesammelter Zecken gering.

In der Literatur wird der Befall von *I. ricinus* mit Borrelien folgendermassen festgehalten: Die durchschnittliche Infektionsrate der Zecken mit Borrelien schwankt zwischen 14.3 % und 38 %. Diese entspricht etwa den Resultaten der vorliegenden Arbeit (Allschwilerwald 9.5 %, St. Chrischona 17.7 % und Bruderholz 27.3 %). Die Gegenüberstellung mit Resultaten aus Russland, Frankreich, Österreich, Tschechien, Deutschland, Finnland und anderen Teilen der Schweiz (Tab. 5) zeigt, dass die Naherholungsgebiete von Basel einen vergleichbaren Befall von *I. ricinus* mit Borrelien verzeichnen (Durch-

Literatur	Larven	Nymphen	Adulttiere	Total	Sammelort
(Jouda et al. 2003)	nicht untersucht	10 % (n = 415)	16 % (n = 45)	15.6 % (n = 460)	Tessin
(Hubalek et al. 2003)	nicht untersucht	16.2 % (n = 797)	28.8 % (n = 719)	22.2 % (n = 1516)	Tschechien und Österreich
(Rauter et al. 2002)	nicht untersucht	30 % (n = 507)	40 % (548)	35 % (n = 1055)	Deutschland
(Wicki et al. 2000)	nicht untersucht	25.9 % (n = 5336)	20.7 % (n = 735)	26 % (n = 6071)	Schweiz
(Junttila et al. 1999)	nicht untersucht	-- (n = 303)	-- (n = 423)	32 % (n = 726)	Finnland
(Schaarschmidt et al. 2001)	nicht untersucht	--	--	16 % (n = 3665)	Deutschland
(Quessada et al. 2003)	0 % (n = 50)	14.1 % (n = 419)	14.6 % (n = 219)	14.3 % (n = 688)	Frankreich
(Alekseev et al. 2001)	--	--	--	38 % (n = 295)	Russland
Vorliegende Arbeit	0 % (n = 190)	16.8 % (n = 172)	14.3 % (n = 35)	16.4 % (n = 397)	Basel

Tab. 5: Vergleich der Borreliendurchseuchung von Zecken in der Literatur. n = Zahl der insgesamt untersuchten Zecken. Beim Total sind Nymphen und Adulttiere addiert.

schnitt Basel: 16.4% und Durchschnitt andere Regionen: 23.3%).

Die vorliegende Arbeit hat gezeigt, dass Basels Naherholungsgebiete, sofern sie nicht regelmässig gepflegt werden, einen Bestand von *I. ricinus* aufweisen. In drei von vier Gebieten konnte zudem Borrelien-DNA nachgewiesen werden. Diese Resultate verdeutlichen, dass die Gefahr, die von den Zecken ausgeht, nicht unterschätzt werden darf. Deshalb ist es vor allem in den Frühlings- und Frühsommermonaten not-

wendig, sich gegen Zecken zu schützen. Dies erfolgt durch entsprechende Kleidung (lange Hosen, langärmelige Oberteile und hohe Schuhe) und Zeckensprays. Sehr wichtig ist es, dass nach jedem Besuch eines potentiellen Endemiegebiets der Körper nach einem allfälligen Zeckenbefall abgesucht wird und die Zecken rasch und fachgerecht entfernt werden. Danach muss der weitere Verlauf des Gesundheitszustandes genau verfolgt werden. Andererseits darf man aber auch nicht zu ängstlich sein. Bei entsprechen-

dem Schutz und bei frühem Erkennen eines Zeckenstichs kann die Gefahr einer Borrelienerkrankung verringert, beziehungsweise rasch mit einer wirkungsvollen Therapie begonnen werden.

Es wäre nun interessant, eine gesamtschweizerische Untersuchung von beliebten Naherholungsgebieten auf Zecken und Borrelien durchzuführen. Damit könnte das Risiko für eine Infektion mit Borrelien besser beurteilt und entsprechende Warnungen und Schutzmassnahmen vor der Lyme-Borreliose publiziert werden.

Dank

Ich möchte mich ganz herzlich bei Herrn Scheuber, meinem Betreuungslehrer vom Gymnasium Kirschgarten, bedanken, der mich immer mit sehr grosser Begeisterung unterstützt hat. Ebenfalls bedanken möchte ich mich bei Michèle Baumann, der Laborantin des Kantonalen Institutes für Pathologie in Liestal, die mich sehr kompetent ins Labor eingeführt hat. Bedanken möchte ich mich auch bei Prof. Dr. H. Hecker und Dr. A. Puschnig für die redaktionelle Überarbeitung des Manuskripts. Einen besonders grossen Dank möchte ich Prof. Gieri Cathomas aussprechen, der mir das Labor zur Verfügung gestellt hat und mir während der Arbeit viele hilfreiche Tipps gab. Danken möchte ich auch den Firmen Applied Bio Systems und Qiagen, die mir einen Teil des Materials für meine Laborarbeit gegeben haben. Ebenfalls möchte ich Meteo Schweiz danken, die mir kostenlos die Wetterdaten geschickt hat.

Literatur

- Alekseev, A.N., H.V. Dubinina, I. Van De Pol & L.M. Schouls (2001): Identification of *Ehrlichia spp.* and *Borrelia burgdorferi* in *Ixodes* ticks in the Baltic regions of Russia. *Journal of Clinical Microbiology* 39: 2237–2242.
- Chiang, C.L. & W.C. Reeves (1962): Statistical estimation of virus infection rates in mosquito vector populations. *American Journal of Hygiene* 75: 377–391.
- Eggmann, V. & B. Steiner (1997): Kannelfeld. Schwabe Verlag, Basel.
- Eisen, L., R.J. Eisen & R.S. Lane (2002): Seasonal activity patterns of *Ixodes pacificus* nymphs in relation to climatic conditions. *Medical and Veterinary Entomology* 16: 235–244.
- Frank, R., U. Sommermann & G. Ströhla (1997): *Natura*; Genetik und Immunbiologie. Ernst Klett Verlag, Stuttgart.
- Günzburg, W.H. und Mitarbeiter der Veterinärmedizinischen Universität Wien: <http://www.vu-wien.ac.at/i123/VIROKURS/RT-PCRkurs.html>.
- Hubalek, Z., D. Stunzner, J. Halouzka, W. Sixl, I. Wendelin, Z. Juricova & Y.O. Sanogo (2003): Prevalence of borreliæ in ixodid ticks from a floodplain forest ecosystem. *Wiener klinische Wochenschrift* 115: 121–124.
- Jouda, F., M. Crippa, J.L. Perret & L. Gern (2003): Distribution and prevalence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in *Ixodes ricinus* ticks of canton Ticino (Switzerland). *European Journal of Epidemiology* 18: 907–912.
- Junttila, J., M. Peltomaa, H. Soini, M. Marjamäki & M.K. Viljanen (1999): Prevalence of *Borrelia burgdorferi* in *Ixodes ricinus* ticks in urban recreational areas of Helsinki. *Journal of Clinical Microbiology* 37: 1361–1365.
- Kimmig, P. (2000): Zecken: Kleiner Stich mit bösen Folgen. Verlag Ehrenwirth, Bergisch Gladbach.
- Krickau, W. & J. Helfricht (2000): Die Zeckenborreliose. Verlag Gesundheit MEDICUS, Berlin.
- Qiagen (2003): Genomic DNA Purification; Technical hints, applications and protocols. QIAGEN Germany.
- Quessada, T., F. Martial-Convert, S. Arnaud, H. Leudet De La Vallee, B. Gilot & J. Pichot (2003): Prevalence of *Borrelia burgdorferi* species and identification of *Borrelia valaisiana* in questing *Ixodes ricinus* in the Lyon region of France as determined by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* 22: 165–173.
- Rauter, C., R. Oehme, I. Diterich, M. Engele & T. Hartung (2002): Distribution of clinically relevant *Borrelia* genospecies in ticks assessed by a novel, single-run, real-time PCR. *Journal of Clinical Microbiology* 40: 36–43.
- Schaarschmidt, D., R. Oehme, P. Kimmig, R.D. Hesch & S. Englisch (2001): Detection and molecular typing of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in *Ixodes ricinus* ticks and in different patient samples from southwest Germany. *European Journal of Epidemiology* 17: 1067–1074.
- Sonenshine, D.E. (1993): *Biology of Ticks*. New York Oxford University Press, Oxford.
- Vassalo, M., R.E. Paul & C. Perez-Eid (2000): Temporal distribution of the annual nymphal stock of

- Ixodes ricinus* ticks. Experimental and Applied Acarology 24: 941–949.
- Watson, J.D., M. Gilman, J. Witkowski & M. Zoller (1993): Rekombinierte DNA. Spektrum; Akademischer Verlag, Heidelberg.
- Weber, U. (2001): Biologie Oberstufe, Gesamtband. Cornelsen; Volk und Wissen, Berlin.
- Wicki, R., P. Sauter, C. Mettler, A. Natsch, T.ENZler, N. Pusterla, P. Kuhnert, G. Egli, M. Bernasconi, R. Lienhard, H. Lutz & C.M. Leutenegger (2000): Swiss Army Survey in Switzerland to determine the prevalence of *Francisella tularensis*, members of the *Ehrlichia phagocytophila* genogroup, *Borrelia burgdorferi* sensu lato, and tick-borne encephalitis virus in ticks. European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases 19: 427–432.

Flurin Cathomas
Judengässli 41
CH-4123 Allschwil

