

## Die Rolle von Amsel (*Turdus merula*), Rotdrossel (*Turdus iliacus*) und Singdrossel (*Turdus philomelos*) als Blutwirte für Zecken (Acari: Ixodidae) und Reservoirwirte für vier Genospezies des *Borrelia burgdorferi*-Artenkomplexes

Christian Stern<sup>1</sup>, Andreas Kaiser<sup>2</sup>, Walter A. Maier<sup>1</sup> & Helge Kampen<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institut für Medizinische Parasitologie der Universität Bonn

<sup>2</sup>Institut für Zoologie der Universität Mainz

**Abstract:** The role of the blackbird (*Turdus merula*), redwing (*Turdus iliacus*) and song thrush (*Turdus philomelos*) as blood hosts for ticks (Acari: Ixodidae) and reservoir hosts for four genospecies of the *Borrelia burgdorferi*-complex.

In spring 2003, 251 specimens of the three bird species, blackbird (*Turdus merula*), redwing (*Turdus iliacus*) and song thrush (*Turdus philomelos*) that had been trapped on the Greifswalder Oie, a small German island in the Baltic sea, were examined for ticks (*I. ricinus*). 806 ticks (305 larvae, 508 nymphs) were removed from the birds and stored in 80% ethanol or, in the case of full engorgement, kept alive until moulting. The infestation prevalences of the three bird species ranged from 39,5 % to 68,2 % demonstrating the important role of these species as tick hosts. Out of 377 ticks, 104 were tested DNA-positive for *B. burgdorferi* sensu lato by a polymerase chain reaction assay. The increasing infection prevalences of larvae (19,7 %), nymphs (30,0 %) and adults obtained from repleted nymphs (38,9 %) display the reservoir function of the birds for *B. burgdorferi* s.l.. The *Borrelia*-positive tick specimens were additionally tested for the respective *B. burgdorferi*-genospecies present, *B. burgdorferi* sensu stricto, *B. afzelii*, *B. garinii* and/or *B. valaisiana*, via DNA-hybridisation. 94,8 % of the ticks were found positive for *B. garinii* or *B. valaisiana*. Although these two genospecies are known to be bird-specific, so far there is little evidence on different bird species having different kinds of reservoir competence. According to the results of this study, however, a special correlation between infecting genospecies and avian reservoir host species appears to be likely and has to be proven by further epidemiological and immunological studies.

**Key words:** birds, ticks, *Borrelia burgdorferi* genospecies complex, *B. garinii*, *B. valaisiana*, reservoir competence

<sup>1</sup>Christian Stern, Walter A. Maier, Helge Kampen, Institut für Medizinische Parasitologie der Universität Bonn, Sigmund-Freud-Str.25, D-53105 Bonn; E-mail: dennystern@gmx.de; <sup>2</sup>Andreas Kaiser, Institut für Zoologie der Universität Mainz, Saarstr. 21, D-55099 Mainz.

Vögel spielen vor allem aufgrund ihrer Häufigkeit in natürlichen und anthropogenen Habitaten sowie ihrer von anderen Wirbeltieren unübertroffenen Mobilität als natürliche Reservoir von Krankheitserregern eine bedeutende infektionsepidemiologische Rolle. Darüber hinaus können Zugvögel während ihrer Migration Erreger wie Vektoren über hunderte oder tausende von Kilometern transportieren und in ihrer Verbreitung extrem begünstigen.

Dass Vögel neben anderen Tiergruppen eine wichtige Wirtsfunktion für Zecken besitzen, ist bekannt. Ebenso wird Vögeln eine Reservoirfunktion für bestimmte Genospezies des *Borrelia burgdorferi*-Artenkomplexes zugesprochen (GERN et al. 1998; GYLFE et al. 2000). In welchem Maße verschiedene Vogelarten an der geographischen Verbreitung dieser Bakterienarten beteiligt sind, ist jedoch noch weitgehend unklar. In dieser Studie sollte durch die Untersuchung von an Vögeln abgesammelten Zecken (*Ixodes ricinus*) die Bedeutung von drei Drosselarten (*Turdidae*) für den Lebenszyklus der Borrelien genauer untersucht werden. Des Weiteren wurde die Reservoirfunktion dieser Vogelarten für vier verschiedene Genospezies des *B. burgdorferi*-Komplexes geprüft.

## Material und Methoden

Die Materialsammlung erfolgte im Frühjahr 2003 auf der Ostseeinsel Greifswalder Oie im nordöstlichen Mecklenburg-Vorpommern. Hier wurden im Rahmen der dortigen Vogelberingung Amseln (*Turdus merula*), Rotdrosseln (*Turdus iliacus*) und Singdrosseln (*Turdus philomelos*) auf Zecken untersucht. Unabhängig vom Entwicklungsstadium wurden die Zecken mit einer Pinzette abgesammelt und i.d.R. sofort in 80%igen Ethanol überführt. Voll gesogene Zecken aber, die sich sehr leicht vom Vogel lösen ließen, da sie kurz vor Beendigung ihres Saugaktes standen, wurden lebend in Reaktionsgefäße gegeben, wo sie sich ins nächste Entwicklungsstadium häuten konnten, und erst anschließend in Alkohol fixiert.

Zum spezifischen Nachweis von Borrelien in den Zecken wurde nach dem Protokoll von GUY & STANEK (1991) extrahierte Zecken-DNA in eine einfache PCR (SCHWARTZ et al. 1992) eingesetzt. Bei dieser wird eine 260 bp lange Sequenz der 23S rDNA der Borrelien amplifiziert. Da dieser Genabschnitt bei allen Genospezies des *B. burgdorferi*-Komplexes zu finden ist, kann die PCR zu einem generellen Nachweis von *B. burgdorferi* s.l. eingesetzt werden. DNA von positiv getesteten Zecken wurde anschließend mit einer nested PCR nach RIJPKEMA et al. (1995) aufgearbeitet. Hierbei wird die Spacer-Region zwischen dem 5S rRNA- und dem 23S rRNA-Gen amplifiziert. Diese weist einen hohen DNA-Polymorphismus auf, der eine Differenzierung der Genospezies durch nähere Analyse der PCR-Produkte erlaubt. Durch die Verwendung modifizierter Primer wurden die Amplifikate der nested PCR am 3'-Ende biotinyliert.

Per DNA-Hybridisierung mit Genospezies-spezifischen Sonden konnten die *B. burgdorferi* s.l.-positiven Proben auf vier Genospezies des Artenkomplexes untersucht werden. Es wurden Sonden für *B. burgdorferi* s. s., *B. afzelii*, *B. garinii* und *B. valaisiana* sowie eine *B. burgdorferi* s.l.-spezifische Sonde verwendet (RIJPKEMA et al. 1995). Da die DNA-Hybridisierung als Reverse-Line-Blot (RLB) erfolgen sollte, bei der die Sonden an eine negativ geladene Membran gebunden werden müssen, wurde an das 5'-Ende der Sonden eine Aminogruppe gekoppelt. Die Hybridisierung der DNA-Amplifikate mit den jeweiligen Sonden erfolgte in einem Miniblotter (MN45, Immunetics) nach dem Prinzip einer Kreuzhybridisierung (SOCRANSKY et al. 1994). Durch spätere Inkubation der Membran mit Streptavidin-Peroxidase und einem Chemilumineszenz-Farbstoff (ECL Direct Labeling and Detection System, Amersham) wurde die Emission eines Lichtsignals provoziert, das mittels eines Röntgenfilms sichtbar gemacht werden konnte.

## Ergebnisse

Insgesamt wurden 99 Amseln, 86 Singdrosseln und 66 Rotdrosseln untersucht. Von diesen 251 Tieren wurden insgesamt 806 *I. ricinus*-Zecken (305 Larven, 508 Nymphen) abgesammelt. Die Infestationsprävalenzen (Prozentsatz befallener Vögel), Infestationsintensitäten (Anzahl Zecken/infestierter Vögel) und mittleren Infestationsintensitäten (Anzahl Zecken/untersuchter Vögel) der drei Vogelspezies sind in Tab. 1 zusammengestellt.

Tab. 1: Zeckenbefall der Vögel

Vogelart	Anzahl untersuchter Vögel	Anzahl infestierter Vögel	Anzahl gefundener Zecken	Infestationsprävalenz [%]	Infestationsintensität	mittlere Infestationsintensität
Rotdrossel	66	45	219	68,2	4,9	3,3
Amsel	99	60	398	60,6	6,6	4,0
Singdrossel	86	34	189	39,5	5,6	2,2
gesamt	251	139	806	55,4	5,8	3,2

Von den infestierten Vögeln wurden anschließend maximal drei Larven bzw. Nymphen pro Individuum mit Hilfe der PCR auf *B. burgdorferi* s.l. getestet. Die Durchseuchung der Larven variierte von 15,4 bis 23,1 %, die der Nymphen von 30 bis 42,3 % (Tab. 2). Bei beiden Entwicklungsstadien waren die von Amseln abgesammelten Zecken prozentual am höchsten infiziert.

Nach Gesogenheitszuständen differenziert sind in Abb. 1 die Infektionsprävalenzen der von den drei Vogelarten abgesammelten Zecken den in anderen Studien ermittelten Infektionsprävalenzen (GERN et al. 1998; HUBÁLEK & HALOUZKA 1998) für ungesogene Entwicklungsstadien gegenübergestellt. Alle im

Rahmen dieser Studie nach der Entnahme vom Vogelwirt unmittelbar getöteten (da nur unvollständig gesogenen) Zecken sind unter der Bezeichnung ‚unvollständig gesogen‘ zusammengefasst. Als ‚ungesogen‘ sind die zwar vollgesogen abgesammelten, aber erst nach der Häutung getöteten und daher nüchtern getesteten Nymphen und adulten Tiere bezeichnet. Deutlich ist die Zunahme der Infektionsraten von unvollständig gesogenen Larven bis hin zu ungesogenen adulten Zecken zu erkennen. Letztere wiesen zwar eine gemeinsame Infektionsprävalenz von 38,9 % auf, doch da kein einziges der Männchen positiv auf *B. burgdorferi* s.l. getestet wurde, erreichte die Infektionsprävalenz der Weibchen sogar 58,3 %.

Tab. 2: Infektionsprävalenzen der Zecken mit *B. burgdorferi* s.l.

Vogelart	Larven			Nymphen			gesamt		
	Anzahl getestet	Anzahl positiv	Infektionsprävalenz [%]	Anzahl getestet	Anzahl positiv	Infektionsprävalenz [%]	Anzahl getestet	Anzahl positiv	Infektionsprävalenz [%]
Amsel	91	21	23,1	52	22	42,3	143	43	30,1
Rotdrossel	66	14	21,2	79	26	32,9	145	40	27,6
Singdrossel	39	6	15,4	50	15	30	89	21	23,6
gesamt	196	41	20,9	181	63	34,8	377	104	27,6

Weiterhin wird die Reservoirrolle der Vögel deutlich, wenn man die Infektionsprävalenzen gehäuteter, nüchterner Zecken nach vorherigem Saugakt an einem der in dieser Studie untersuchten Vogelarten mit denen wirtsuchender, am Boden gefangener Zecken vergleicht (30,0 zu 10,8 % bei Nymphen, 38,9 zu 17,4 % bei Adulten).

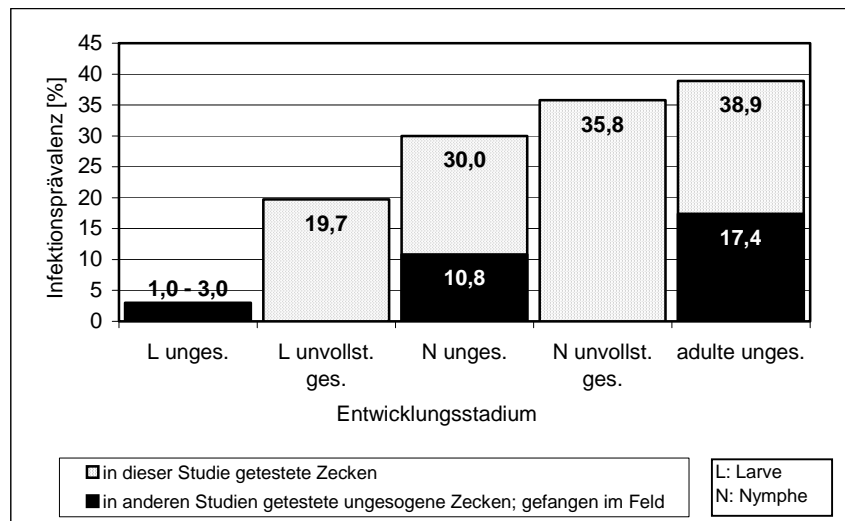


Abb. 1: Infektionsprävalenzen der verschiedenen Zecken-Entwicklungsstadien

Bei der im Anschluss an die nested PCR folgenden DNA-Hybridisierung konnte in 94 Fällen eine Einfachinfektion mit einer der getesteten *B. burgdorferi*-Genospezies festgestellt werden. In zehn Fällen wurde eine Doppelinfektion nachgewiesen, davon achtmal mit *B. garinii* und *B. valaisiana*. In nur jeweils drei Proben wurde *B. afzelii* bzw. *B. burgdorferi* s.s. nachgewiesen, während *B. valaisiana* 45mal und *B. garinii* sogar 63mal vertreten waren. In Abb. 2 ist das Ergebnis einer Kreuzhybridisierung auf einem Röntgenfilm abgebildet.



Abb. 2: Beispiel für das Ergebnis einer RLB-Kreuzhybridisierung für 18 Zeckenproben auf einem Röntgenfilm. Horizontal untereinander aufgetragen wurden die Komplex- und die Genospezies-spezifischen Sonden. Vertikal wurden die Positivkontrollen der Genospezies (Reihe 1-4), die Negativkontrollen (Reihe 5, 14, 18) sowie die Zeckenproben aufgetragen.

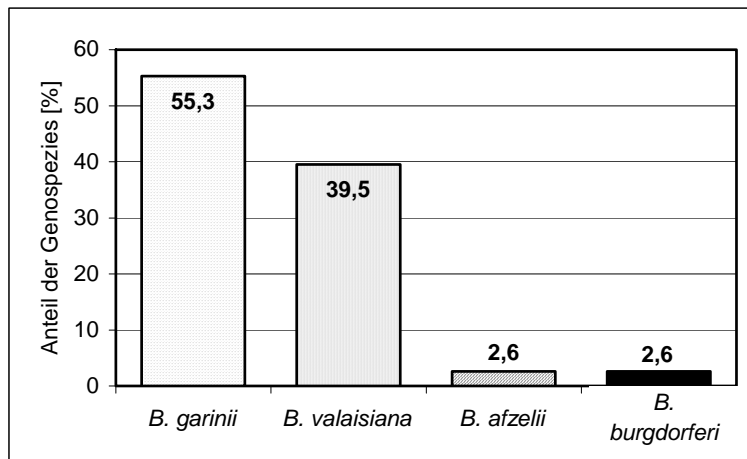


Abb. 3: Prozentuale Anteile der verschiedenen *B. burgdorferi*-Genospezies an der Summe aller Nachweise (n=114)

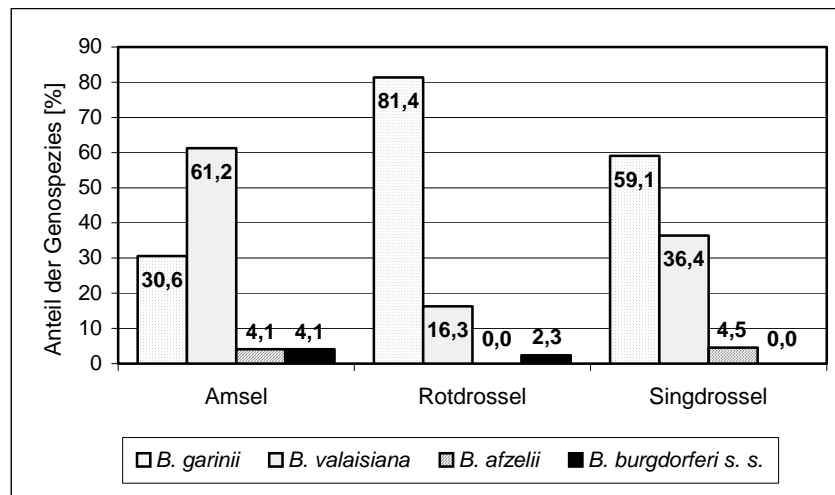


Abb. 4: Verteilung der in Zecken nachgewiesenen Genospezies auf die verschiedenen Vogelarten

Die Nachweishäufigkeiten der Genospezies insgesamt sind in Abb. 3 im direkten Vergleich dargestellt. Um zu ermitteln, ob die Infektionen der Zecken mit den verschiedenen Genospezies in Abhängigkeit von der infestierten Vogelart variierten, wurden die Ergebnisse von Amsel, Rotdrossel und Singdrossel in Abb. 4

gegenübergestellt. Auffällig sind die unterschiedlichen Verhältnisse der Genospezies zueinander. Bei der Amsel überwiegt *B. valaisiana* mit 61,2 %, gefolgt von *B. garinii* mit 30,6 %. *B. afzelii* und *B. burgdorferi* s.s. haben nur jeweils einen Anteil von 4,1 %. Bei der Rotdrossel liegt mit 81,4 % ein deutliches Übergewicht bei *B. garinii* vor, während *B. valaisiana* hier nur einen Anteil von 16,3 % stellt. *B. afzelii* wurde garnicht, *B. burgdorferi* s.s. nur in 2,3 % aller Fälle nachgewiesen. Auch bei der Singdrossel stellt *B. garinii* den größten Prozentsatz (59,1) und als zweithäufigste Genospezies folgt wiederum *B. valaisiana* mit 36,4 %. *B. afzelii* stellt wieder nur einen kleinen Anteil (4,5 %), während *B. burgdorferi* s.s. gar nicht gefunden wurde.

### Diskussion

Auch in anderen Studien (METZGER et al. 2003; OLSEN et al. 1995a; STRUB et al. 2001; WALTER et al. 1979a) konnten den drei Drosselarten während des Zuges ähnliche Infestationsprävalenzen und mittlere Infestationsintensitäten mit Zecken nachgewiesen werden. Dies zeigt, dass diese Vogelarten nicht zufällig stark infestiert waren, sondern eine beständig wichtige Rolle als Zeckenwirte darstellen. Da alle Vögel auf dem Frühjahrszug gefangen und untersucht wurden, sollte ebenfalls die wichtige Verschlepperfunktion der Vogelarten bedacht werden. Bei einer durchschnittlichen Dauer des Saugaktes der Larven von 3-5 Tagen und der Nymphen von 5-7 Tagen ist ein Transfer von vielen hundert Kilometern möglich.

Ebenfalls bedeutend sind die drei Vogelarten als Reservoirwirte im Lebenszyklus von *B. burgdorferi* s.l.. In ungesogenen, wirtsuchenden Zecken wurden von GERN et al. (1998) bzw. HUBÁLEK & HALOUZKA (1998) durchschnittliche Borrelien-Durchseuchungen von 1-3 % bei Larven, 10,8 % bei Nymphen und 17,4 % bei adulten Zecken ermittelt. Gerade weil sich die Vögel auf dem nordwärts gerichteten Frühjahrszug befanden und die Tiere über ihre gesamte Zugperiode untersucht wurden, ist davon auszugehen, dass die abgesammelten Zecken einen Durchschnitt der gesamten norddeutschen bzw. nordpolnischen Zeckenpopulationen bilden. Wahrscheinlich wiesen die in dieser Studie untersuchten Zecken vor ihrem Saugakt am Vogel ähnliche Durchseuchungsraten auf wie wirtsuchende Zecken in anderen Studien. Vergleicht man nun die von GERN et al. (1998) bzw. HUBÁLEK & HALOUZKA (1998) ermittelten Werte mit denen dieser Studie, wird die große Bedeutung der Vögel als Infektionsquelle deutlich. Larven, die vor Beginn des Saugaktes durchschnittlich zu 1-3 % durchseucht waren, wiesen im nächsten Entwicklungsstadium mit 30 % eine um 10- bis 30fache Erhöhung der Infektionsprävalenz auf. Nymphen, die im nüchternen Zustand mit einer Durchseuchungsrate von etwa 10,8 % getestet wurden, erwiesen sich in dieser Studie nach der Häutung zu adulten Tieren zu 38,9 % mit *B. burgdorferi* s.l. infiziert. Die Durchseuchung von Weibchen war auch in anderen Studien (z.B. MATUSCHKA et al. 1992; MAETZEL et al. 2005) höher als die der Männchen. Worauf dieser Unterschied zurückzuführen ist, ist unklar. Da die Männchen jedoch i.d.R. nicht mehr stechen, hat ihre Durchseuchung für die Borreliose-Epidemiologie keine Bedeutung.

Betrachtet man die Ergebnisse der DNA-Hybridisierung, so fallen die hohen Anteile von *B. garinii* (55,3 %) und *B. valaisiana* (39,5 %) an den gefundenen Genospezies ins Auge. Nach den Ergebnissen anderer Untersuchungen (HANINČOVÁ et al. 2003; KAMPEN et al. 2004; KURTENBACH et al. 1998) war dies jedoch zu erwarten. Durch Interaktion mit Komplementfaktoren wird zumindest *B. afzelii* im Vogelblut eliminiert (HANINČOVÁ et al. 2003; KURTENBACH et al. 1998, 2002a, b). *B. garinii* und *B. valaisiana* werden wegen ihrer scheinbaren Resistenz gegen das Komplement deshalb auch als die typischerweise von Vögeln verbreiteten Genospezies betrachtet (HANINČOVÁ et al. 2003; KAMPEN et al. 2004; KURTENBACH et al. 1998).

Dass 5,8 % (6 von 104) der untersuchten Zecken trotz der Komplementaktivität eine Infektion mit *B. afzelii* bzw. *B. burgdorferi* s.s. zeigten, ist möglicherweise mit der Dauer des Saugaktes der entsprechenden Zecken zu erklären. In diesen Fällen wurde die Mindestzeit zwischen Saugbeginn der Zecke bis zur Eliminierung der Borrelien möglicherweise unterschritten.

Die Zuordnung der Infektionen der Zecken mit den verschiedenen Genospezies zu den jeweiligen Vogelarten zeigt sehr unterschiedliche Verteilungen, die auf unterschiedliche Reservoirfunktionen der Vogelarten hindeuten könnten. Bisher wurde immer nur von einer allgemeinen Reservoirfunktion von Vögeln für *B. garinii* und *B. valaisiana* gesprochen, ohne dass weitere Differenzierungen in Betracht gezogen wurden. In detaillierteren Studien müsste deshalb geklärt werden, wie die Reservoirfunktion verschiedener Vogelspezies für diese beiden Genospezies geartet ist. Die unterschiedlichen Ergebnisse der Verteilung von *B. garinii* und *B. valaisiana* auf die Vogelarten (*B. valaisiana* v.A. bei der Amsel, *B. garinii* v.A. bei der Rotdrossel) und vor Allem auch das seltene Auftreten von Doppelinfektionen mit diesen beiden Genospezies spricht für eine besondere Reservoirfunktion einer Vogelart für eine der beiden Genospezies. Diese Theorie wird durch den

Befund unterstützt, dass in nach Lebendhaltung gehäuteten Larven und Nymphen bei Amsel und Rotdrossel jeweils auch nur eine der beiden Genospezies gefunden wurde. Möglicherweise wurden in diesen Fällen nicht nur aufgenommene *B. afzelii* und *B. burgdorferi* s.s.-Bakterien, sondern auch solche der jeweils zweiten für Vogel-spezifisch gehaltenen Spezies bereits zuvor eliminiert.

Die im Rahmen der vorliegenden Arbeit gesammelten Daten zeigen, dass die Vektorrolle der Vögel für *B. burgdorferi* bislang nur unzureichend geklärt und ihre weitere Erforschung für das allgemeine Verständnis der Borreliose-Epidemiologie notwendig ist.

### Literatur

- GERN, L., ESTRADA-PENA, A., FRANSEN, F., GRAY, J.S., JAENSON, T.G., JONGEJAN, F., KAHL, O., KORENBERG, E., MEHL, R. & NUTTALL, P.A. (1998): European reservoir hosts of *Borrelia burgdorferi* sensu lato. – Zentralbl. Bakteriologie. 287: 196-204.
- GUY, E.C. & STANEK, G. (1991): Detection of *Borrelia burgdorferi* in patients with Lyme disease by polymerase chain reaction. – J. Clin. Pathol. 44: 610-611.
- GYLVE, A., BERGSTRÖM, S., LUNDSTRÖM, J. & OLSEN, B. (2000): Reactivation of *Borrelia* infection in birds. – Nature 403: 724-725.
- HANINČOVÁ, K., SCHÄFER, S.M., ETTI, S., SEWELL, H.-S., TARAGELOVÁ, V., ZIAK, D., LABUDA, M. & KURTENBACH, K. (2003): Association of *Borrelia afzelii* with rodents in Europe. – Parasitol. 126: 11-20.
- HANINČOVÁ, K., TARAGELOVÁ, V., KOČI, J., SCHÄFER, S.M., HAILS, R., ULLMANN, A.J., PIESMAN, J., LABUDA, M. & KURTENBACH, K. (2003): Association of *Borrelia garinii* and *B. valaisiana* with songbirds in Slovakia. – Appl. Environm. Microbiol. 69: 2825-2830.
- HUBÁLEK, Z. & HALOUZKA, J. (1998): Prevalence rates of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in host seeking *Ixodes ricinus* ticks in Europe. – Parasitol. Res. 84: 167-172.
- KAMPEN, H., RÖTZEL, D., KURTENBACH, K., MAIER, W.A. & SEITZ, H.M. (2004): Substantial rise in the prevalence of Lyme borreliosis spirochetes in a region of west Germany over a ten-years period. – Appl. Environm. Microbiol. 70: 1576-1582.
- KURTENBACH, K., CAREY, D., HOODLESS, A.N., NUTTALL, P.A. & RANDOLPH, S.E. (1998a): Competence of pheasants as reservoirs for Lyme disease spirochaetes. – J. Med. Entomol. 35: 77-81.
- KURTENBACH, K., PEACEY, M., RIJPKEMA, S.G.T., HOODLESS, A.N., NUTTALL, P.A. & RANDOLPH, S.E. (1998b): Differential transmission of the genospecies of *Borrelia burgdorferi* sensu lato by game birds and small rodents in England. – Appl. Environm. Microbiol. 64: 1169-1174.
- KURTENBACH, K., DE MICHELIS, S., ETTI, S., SCHÄFER, S.M., SEWELL, H.-S., BRADE, V. & KRAICZY, P. (2002): Host association of *Borrelia burgdorferi* sensu lato – the key role of host complement. – Trends Microbiol. 10: 74-79.
- KURTENBACH, K., SCHÄFER, S., SEWELL, H.-S., PEACEY, M., HOODLESS, A., NUTTALL, P.A. & RANDOLPH, S.E. (2002): Differential survival of Lyme borreliosis spirochetes in ticks that feed on birds. – Infect. Immun. 70: 5893-5895.
- MAETZEL, D., MAIER, W.A. & KAMPEN, H. (2005): *Borrelia burgdorferi* infection prevalences in questing *Ixodes ricinus* ticks (Acari: Ixodidae) in urban and suburban Bonn, western Germany. – Parasitol. Res. 95: 5-12.
- MATUSCHKA, F.R., FISCHER, P., HEILER, M., BLÜMCKE, S. & SPIELMAN, A. (1992): Stage-associated risk of transmission of the Lyme disease spirochete by European *Ixodes* ticks. – Parasitol. Res. 78: 695-698.
- METZGER, B. (2003): Wirtskompetenz ziehender Singvögel (Passeriformes) für Zecken (Ixodidae) und mögliche Rolle als Reservoir für Spirochaeten (*Borrelia burgdorferi* sensu lato). – Diplomarbeit, Universität Rostock.
- OLSEN, B., JAENSON, T.G. & BERGSTROM, S. (1995a): Prevalence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato-infected ticks on migrating birds. – Appl. Environm. Microbiol. 61: 3082-3087.
- OLSEN, B., DUFFY, D.C., JAENSON, T.G., GYLFE, A., BONNEDAHL, J. & BERGSTRÖM, S. (1995b): Transhemispheric exchange of Lyme disease spirochaetes by seabirds. – J. Clin. Microbiol. 33: 3270-3274.
- RIJPKEMA, S.G.T., MOLKENBOER, M.J.C., SCHOULS, L.M., JONGEJAN, F. & SCHELLEKENS, J.F.P. (1995): Simultaneous detection and genotyping of three genomic groups of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in Dutch *Ixodes ricinus* ticks by characterization of the amplified intergenic spacer region between 5S and 23S rRNA genes. – J. Clin. Microbiol. 33: 3091-3095.

- SCHWARTZ, I., WORMSER, G.P., SCHWARTZ J.J., COOPER, D., WEISSENSEE, P., GAZUMYAN, A., ZIMMERMANN, E., GOLDBERG, N.S., BITTKER, S., CAMPBELL, G.L. & PAVIA, C. (1992): Diagnosis of early Lyme disease by polymerase chain reaction amplification and culture of skin biopsies from erythema migrans lesions. – J. Clin. Microbiol. 30: 3082-3088.
- SOCRANSKY, S.S., SMITH, C., MARTIN, L., PASTER, B.J., DEWHIRST, F.E. & LEVIN, A.E. (1994): “Checkerboard” DNA-DNA hybridization. – BioTechniques 17: 788-792.
- STRUB, O. (2001): Zecken (Ixodidae) auf Singvögeln (Passeriformes) und ihre Rolle als Vektoren für *Borrelia burgdorferi* sensu lato. – Diplomarbeit Biologie, Universität Mainz.
- WALTER, G., LIEBISCH, A. & STREICHERT, J. (1979b): Untersuchungen zur Biologie und Verbreitung von Zecken (Ixodoidea, Ixodidae) in Norddeutschland. II. Zecken der Zugvögel auf der Insel Helgoland. – Angew. Zool. 4: 445-461.

