
Multilocus Sequence Typing von *Borrelia burgdorferi* sensu stricto und *Borrelia afzelii* Stämmen aus Europa und den USA: Populationsstruktur, Pathogenität und Patientensymptomatik

Sabrina Jungnick



München 2018

Aus dem Nationalen Referenzzentrum für Borrelien am Bayrischen Landesamt für
Gesundheit und Lebensmittelsicherheit in Oberschleißheim
Präsident: Dr. med. Andreas Zapf

**Multilocus Sequence Typing von *Borrelia burgdorferi sensu stricto* und
Borrelia afzelii Stämmen aus Europa und den USA:
Populationsstruktur, Pathogenität und Patientensymptomatik**

Dissertation zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Sabrina Jungnick
aus Ansbach
2018

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Universität München

Berichterstatter:	Prof. Dr. med. Dr. phil. Andreas Sing
Mitberichterstatter:	Prof. Dr. Sebastian Suerbaum Prof. Dr. Michael Hoelscher Prof. Dr. Hans – Walter Pfister
Mitbetreuung durch den promovierten Mitarbeiter:	Dr. med. Volker Fingerle
Dekan:	Prof. Dr. med. dent. Reinhard Hickel
Tag der mündlichen Prüfung:	26.04.2018

Teile dieser Arbeit wurden in folgenden Originalartikeln veröffentlicht:

1. **Jungnick S**, Margos G, Rieger M, Dzaferovic E, Bent SJ, Overzier E, Silaghi C, Walder G, Wex F, Koloczek J, Sing A und Fingerle V. *Borrelia burgdorferi* sensu stricto and *Borrelia afzelii*: Population structure and differential pathogenicity. International Journal of Medical Microbiology. 2015.

2. Wang G, Liveris D, Mukherjee P, **Jungnick S**, Margos G und Schwartz I. Molecular Typing of *Borrelia burgdorferi*. Current protocols in microbiology. 2014:12C. 5.1-C. 5.31.

3. Castillo-Ramírez S, Fingerle V. **Jungnick S**, Straubinger RK, Krebs S, Blum H, Meinel DM, Hofmann H, Guertler P, Sing A und Margos G. Trans-Atlantic exchanges have shaped the population structure of the Lyme disease agent *Borrelia burgdorferi* sensu stricto. Scientific reports, 2016. 6.

Weitere Veröffentlichung:

Margos G, Stockmeier S, Hizo-Teufel C, Hepner S, Fish D, Dautel H, Sing A, Dzaferovic E, Rieger M, **Jungnick S**, Binder K, Straubinger RK und Fingerle V. Long-term in vitro cultivation of *Borrelia miyamotoi*. Ticks and tick-borne diseases, 2015. 6(2): p. 181-184.

*„Inmitten der Schwierigkeiten
liegt die Möglichkeit.“*
Albert Einstein

Abstract

To understand the epidemiological and ecological context of vector borne diseases, precise typing of causative agents is necessary. Multilocus sequence typing (MLST) is a method in molecular biology for the fast, economic and unambiguous characterization of bacteria and other organisms. Lyme borreliosis (LB) is the most common tick borne disease in the Northern hemisphere caused by species of the *Borrelia burgdorferi* sensu lato complex. To better understand the epidemiological and clinical context of two *Borrelia* species frequently reported in LB, 133 *Borrelia* (*B.*) *burgdorferi* sensu stricto (s. s.) and *Borrelia* (*B.*) *afzelii* strains from patients and ticks in Europe were typed via MLST. MLST data from additional 744 *B. burgdorferi* s. s. and *B. afzelii* strains were downloaded from the MLST data bank. The population structure, clinical manifestations and human pathogenicity of *B. afzelii* in Europe as well as *B. burgdorferi* s. s. in Europe and the USA were compared. In addition, the invasiveness of sequence types (ST) and clonal complexes (CC) were analyzed in both species. Special attention was paid to the clinical manifestation of neuroborreliosis. Analysis of the population structure confirmed the hypothesis that *B. afzelii* shows a greater heterogeneity of ST (98 ST from n = 198 strains) compared to *B. burgdorferi* s. s. (112 ST from n = 677 strains). Moreover there was a greater prevalence of *B. afzelii* (ticks: 41.3 %, patients: 52.7 %) than *B. burgdorferi* s. s. (ticks: 13.2 %, patients: 13.7 %) in Europe. *B. burgdorferi* s. s. populations from Europe and the USA showed an overlap of two sequence types (ST1 and ST3) in patient isolates while there was no overlap of STs in ticks. Thus, it was hypothesized that the patients in Europe carrying ST1 or ST3 may have acquired their infection in the USA. *B. burgdorferi* s. s. infections in Europe were found to be more often associated with disseminated symptoms (93 %) and neuroborreliosis (odds ratio: 3.0) than *B. afzelii* infections (42 %) in Europe and *B. burgdorferi* s. s. infections in the USA (42 %), respectively it was noticed that some ST and CC might have greater human pathogenicity than others (cf. ST1, ST3 and CC4 in Hanincova et al. 2013). Modern typing systems have already generated a huge data base for bacterial analyses. Nevertheless, further studies based on our data would be required to verify the differences of ST and CC in human pathogenicity and to get appropriate statistical data about differences of ST in Europe and the USA. In this context, our data can be relevant for further vaccine development.

Zusammenfassung

Die häufigste von Zecken übertragene Erkrankung nördlich des Äquators ist die Lyme Borreliose (LB). Zum Verständnis von Epidemiologie und Ökologie dieser vektorübertragenen Erkrankung ist eine präzise Typisierung von Borrelien essentiell. Mittels der molekularbiologischen Typisierungsmethode Multilocus sequence typing (MLST) können präzise und weltweit vergleichbare Daten für epidemiologische und ökologische Studien generiert werden. In dieser Arbeit wurden MLST-Daten von Borrelien aus europäischen und US-amerikanischen Patientenisolaten und Zecken analysiert. Populationsstrukturen, klinische Manifestationen und die Humanpathogenität von *Borrelia (B.) afzelii* in Europa sowie *Borrelia (B.) burgdorferi* sensu stricto (s. s.) in Europa und den USA wurden verglichen. Insgesamt wurden 133 europäische *B. burgdorferi* s. s. und *B. afzelii* Stämme mittels MLST typisiert. Weitere 744 europäische und US-amerikanische *B. burgdorferi* s. s. und *B. afzelii* MLST-Daten wurden von der MLST-Onlinedatenbank heruntergeladen. In Europa zeigte sich eine größere Prävalenz von *B. afzelii* (Durchseuchungsrate Zecken: 41,3 %, Patienten: 52,7 %) verglichen mit *B. burgdorferi* s. s. (Durchseuchungsrate Zecken: 13,2 %, Patienten: 13,7 %). *B. afzelii* zeigte außerdem eine wesentlich heterogenere Populationsstruktur (98 unterschiedliche Sequenztypen (ST) bei n = 198 Stämmen) als *B. burgdorferi* s. s. (112 unterschiedliche ST bei n = 677 Stämmen). Zwei ST (ST1 und ST3) der Spezies *B. burgdorferi* s. s. wurden sowohl in Patientenisolaten aus Europa als auch aus den USA gefunden, während es keine Überschneidungen von ST in Zecken gab. Patienten mit ST1- und ST3-Infektionen aus Europa könnten sich demnach eventuell bei Aufenthalten in den USA infiziert haben. Des Weiteren war *B. burgdorferi* s. s. in Europa deutlich häufiger mit disseminierten Infektionen (93 %) und invasiven Erkrankungsverläufen (odds ratio: drei) assoziiert als *B. afzelii* (42 % disseminierte Infektionen) oder *B. burgdorferi* s. s. in den USA (42 % disseminierte Infektionen). Es zeigten sich potenziell unterschiedliche humanpathogene Eigenschaften einzelner ST. ST1 und ST3 schienen in deskriptiven Analysen humanpathogener zu sein als andere ST. Schließende Statistiken wurden in diesem Zusammenhang nicht angewendet. Daten und Ergebnisse dieser Arbeit können als Grundlage für weiterführende Studien zur Humanpathogenität einzelner ST beziehungsweise CC dienen und sind somit auch im Rahmen der Impfstoffentwicklung von Bedeutung.

Inhaltsverzeichnis

Abstract	VIII
Zusammenfassung	IX
Inhaltsverzeichnis	X
Abkürzungsverzeichnis	XIV
Tabellenverzeichnis	XVI
Abbildungsverzeichnis	XVIII
1 Einleitung	1
1.1 Historischer Überblick	1
1.2 Epidemiologie der Lyme Borreliose	2
1.3 <i>Borrelia burgdorferi</i> sensu lato	3
1.3.1 Struktur, Morphologie und Genom	3
1.3.2 Systematik, geographische Verteilung und Pathogenität	8
1.4 Klinik, Diagnostik und Therapie der Lyme Borreliose	12
1.5 Impfung und Prophylaxe	17
1.6 Schildzecke (<i>Ixodes</i>) als Hauptvektor der Lyme Borreliose	19
1.6.1 Systematik und geographische Verteilung	19
1.6.2 Lebenszyklus und Übertragung von Borrelien	20
1.7 Multilocus sequence typing	21
1.7.1 Prinzip der Methode	22
1.7.2 Vor- und Nachteile des Multilocus Sequence Typing	23
1.7.3 Verarbeitung der Daten und allgemeine Ziele des Multilocus Sequence Typing	24
1.8 Zielsetzung dieser Arbeit	25
2 Materialien und Methoden	26
2.1 Verwendete Stämme	26
2.1.1 <i>Borrelia burgdorferi</i> sensu stricto	26
2.1.2 <i>Borrelia afzelii</i>	27
2.1.3 Patientenmaterial	27
2.1.4 Geographische Herkunft der Stämme	28
2.2 Housekeeping Gene	29
2.3 Primer	30
2.4 Kultivierung der Proben	31
2.5 DNA-Extraktion und -Aufbereitung	33
2.6 Schnellschritt DNA-Aufbereitung	34
2.7 Konzentrationsmessung der Proben	35

2.8	Polymerasekettenreaktion (PCR)	35
2.8.1	Kontaminationskontrolle	36
2.8.2	PCR-Techniken	37
2.8.2.1	Nested und seminested PCR.....	37
2.8.2.2	Realtime-PCR.....	38
2.8.2.3	Touchdown-PCR	39
2.8.2.4	Gradienten-PCR	40
2.8.3	Optimierung der Reaktionsbedingungen	40
2.8.3.1	Primerkombinationen und Annealingtemperaturen	41
2.8.3.2	Touchdown-PCR zur Sensitivitäts- und Spezifitätstestung.....	42
2.8.4	PCR-Protokolle.....	42
2.8.4.1	Touchdown-PCR	43
2.8.4.2	Nested und seminested PCR.....	44
2.9	Agarosegelelektrophorese.....	44
2.10	Aufreinigung der PCR-Produkte	46
2.11	DNA Sequenzierung	47
2.12	Sequenzanalysen.....	48
2.13	Allel- und Sequenztypen.....	49
2.14	Klonale Komplexe	50
2.15	Stammbäume	51
2.16	Grafische Übersicht des Multilocus Sequence Typing.....	52
2.17	Statistik	53
3	Ergebnisse.....	54
3.1	Patientenisolate und Zecken aus Europa und den USA.....	54
3.2	Art der Infektion beim Patienten	55
3.3	Häufigste <i>Borrelia burgdorferi</i> sensu stricto ST in Patientenisolaten und Zecken aus Europa.....	56
3.4	Neu identifizierte Sequenztypen in Europa	57
3.4.1	<i>Borrelia burgdorferi</i> sensu strico	57
3.4.2	<i>Borrelia afzelii</i>	57
3.5	Vergleich von Sequenztypen aus Patientenisolaten und Zecken.....	58
3.6	Vergleich von <i>Borrelia burgdorferi</i> sensu strico Sequenztypen in Europa und den USA	60
3.7	Populationsstruktur und Invasivität von <i>Borrelia burgdorferi</i> sensu stricto	61
3.7.1	goeBURST-Netzwerk.....	61
3.7.2	Klonale Komplexe.....	63
3.7.3	Verwandtschaftsverhältnisse und Humanpathogenitäten.....	64
3.7.4	Stammbaumanalyse	64
3.7.4.1	Evolutionäre Beziehungen.....	66
3.7.4.2	Rekombinationen und Clusterunterschiede	67
3.7.5	Invasivität	68

3.8	Populationsstruktur und Invasivität von <i>Borrelia afzelii</i>	70
3.8.1	goeBURST-Netzwerk.....	70
3.8.2	Klonale Komplexe.....	72
3.8.3	Verwandtschaftsverhältnisse und Humanpathogenitäten.....	72
3.8.4	Stammbaumanalyse.....	72
3.8.4.1	Evolutionäre Beziehungen.....	74
3.8.4.2	Rekombinationen und Clusterunterschiede.....	75
3.8.5	Invasivität.....	75
3.9	Invasivität der Spezies <i>Borrelia burgdorferi</i> sensu stricto und <i>Borrelia afzelii</i> in Europa.....	78
3.10	Invasivität von <i>Borrelia burgdorferi</i> sensu stricto in Europa verglichen mit den USA.....	80
3.11	Neuroborreliose.....	81
3.12	Morphea, Granuloma anulare und Tinnitus.....	82
3.13	Korrelation zwischen Patientenalter und der Art der Borrelieninfektion bei Patienten aus Europa.....	82
4	Diskussion.....	84
4.1	Auswahl von Spezies und Stämmen.....	84
4.2	Methodik.....	85
4.3	Statistische Auswertungen.....	86
4.4	<i>Borrelia burgdorferi</i> sensu stricto und <i>Borrelia afzelii</i> in Europa.....	87
4.4.1	Häufigkeit der Spezies und Unterschiede hinsichtlich humanpathogener Eigenschaften.....	88
4.4.2	Sequenztypen in Patientenisolaten und Zecken.....	90
4.4.3	Mischinfektionen.....	91
4.5	Gemeinsame <i>Borrelia burgdorferi</i> sensu strico Sequenztypen in Europa und den USA.....	92
4.5.1	Sequenztyp 1.....	93
4.5.2	Sequenztyp 3.....	94
4.6	Humanpathogenität und Invasivität einzelner Sequenztypen.....	95
4.7	Populationsstrukturen von <i>Borrelia burgdorferi</i> sensu strico und <i>Borrelia afzelii</i>	96
4.7.1	Verwandtschaftsverhältnisse und klonale Komplexe.....	96
4.7.2	Heterogenität.....	97
4.7.3	Rekombination.....	97
4.7.4	Vergleich der <i>Borrelia burgdorferi</i> sensu stricto Populationsstrukturen in Europa und den USA.....	98
4.8	Invasivität.....	99
4.8.1	<i>Borrelia burgdorferi</i> sensu stricto und <i>Borrelia afzelii</i> in Europa.....	99
4.8.2	<i>Borrelia burgdorferi</i> sensu stricto in Europa und den USA....	100

4.9	Neuroborreliose	101
4.10	Klinische Manifestationen von <i>Borrelia burgdorferi</i> sensu stricto und <i>Borrelia afzelii</i> Infektionen.....	102
4.11	Cofaktor Patientenalter bei <i>Borrelia burgdorferi</i> sensu stricto und <i>Borrelia afzelii</i> Infektionen.....	104
4.12	Ausblick.....	105
	Literaturverzeichnis.....	107
	Anhang	128
	Geographische Herkunft europäischer Patientenisolate	128
	Therapieschemata der Lyme Borreliose	129
	Hauptwirte von Schildzecken	131
	Herstellung eines MKP-Mediums	132
	Primer.....	133
	Materialien	136
	Gemeinsame <i>Borrelia burgdorferi</i> sensu stricto und <i>Borrelia afzelii</i> Sequenztypen in Zecken und Patientenisolaten aus Europa.....	141
	Stammbäume mit Maßstäben und Bootstrapwerten > 50 %.....	142
	Übersicht analysierter Stämme	149
	Danksagung	186
	Veröffentlichungen.....	188
	Lebenslauf	190
	Eidesstattliche Erklärung.....	191

Abkürzungsverzeichnis

α	Signifikanzniveau
A	Arthritis
A, C, G, T	Adenin, Cytosin, Guanin, Thymin
ACA	Acrodermatitis chronica atrophicans
AFLP	Amplified fragment-length polymorphism (Genetische Fingerabdruckmethode)
AK	Antikörper
AS	Allgemeinsymptome
AT	Alleltyp
<i>B.</i>	<i>Borrelia</i>
<i>B. a.</i>	<i>Borrelia afzelii</i>
<i>B. b. s. s.</i>	<i>Borrelia burgdorferi</i> sensu stricto
Bp, Mbp	Basenpaare, Megabasenpaare
CC	Clonal complex (klonaler Komplex)
ddH ₂ O	Doppelt destilliertes Wasser
df	Freiheitsgrade
DNA	Deoxyribonucleic acid (Desoxyribonukleinsäure)
EM, MEM	Erythema migrans, Multiple Erythemata migrantia
FMS tree	Full Minimum Spanning tree
g	G-Kraft (relative Zentrifugalkraft)
<i>hbb</i> -RTD-PCR	Realtime PCR des <i>hbb</i> Gens
<i>I.</i>	<i>Ixodes</i> (Schildzecke)
i.v.	Intravenös (als Infusion)
IGS	Intergenetic spacer
kA	Keine Angabe
KGP	Kniegelenkspunktat
LB	Lyme Borreliose
LCB	Lymphadenosis cutis benigna (Borrelienlymphozytom)
MEGA	Molecular Evolutionary Genetics Analysis

MIRU – VNTR	Mycobacterial interspersed repetitive units – Variable Number of Tandem Repeats analysis (Molekularbiologische Typisierungsmethode für Mykobakterien)
MKP Medium	Modifiziertes Kelly-Medium (nach Preac Mursic et al.)
MLEE	Multilocus Enzyme Electrophoresis
MLST, MLSA	Multilocus Sequence Typing, Multilocus Sequence Analysis
n	Anzahl
NB	Neuroborreliose
NGS	Next Generation Sequencing
NRZ	Nationales Referenzzentrum für Borrelien in Oberschleißheim
Osp	Outer surface protein
P	Patient
p.o.	Per os (zum Einnehmen)
PCR	Polymerasekettenreaktion
PFGE	Pulsfeldgelelektrophorese
p-Wert	Signifikanzwert
RAPD	Randomly Amplified Polymorphic DNA (besondere Form der PCR)
rcf	Relative centrifugal force (Relative Zentrifugalkraft)
rDNA	Ribosomal Deoxyribonucleic acid (ribosomale Desoxyribonukleinsäure)
RNA	Ribonucleic acid (Ribonukleinsäure)
rpm	Revolutions per minute (Umdrehungen pro Minute; Drehzahl)
S	Singleton (Einzelisolat)
SF	Subfounder (ursprünglicher Sequenztyp einer Untergruppe)
s. l.	sensu lato (im weiteren Sinne)
s. s.	sensu stricto (im engeren Sinne)
ST	Sequenztyp
Taq-Polymerase	Thermus aquaticus Polymerase (thermostabile Polymerase)
TLV	Triple locus variants
Tm	Schmelztemperatur

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Spezies des <i>B. burgdorferi</i> s. l. Komplexes	9
Tabelle 2: OspA-Typen der wichtigsten humanpathogenen <i>B. burgdorferi</i> s. l. Spezies in Europa.....	11
Tabelle 3: Klinische Hauptmanifestationen der häufigsten <i>B. burgdorferi</i> s. l. Spezies in Europa.....	12
Tabelle 4: Manifestationen der LB.....	16
Tabelle 5: <i>B. burgdorferi</i> s. s. Stämme aus Europa und den USA	26
Tabelle 6: <i>B. afzelii</i> Stämme aus Europa.....	27
Tabelle 7: Biologische Isolationsmaterialien der <i>B. burgdorferi</i> s. s. und <i>B. afzelii</i> Patientenisolat aus Europa und den USA	28
Tabelle 8: <i>B. burgdorferi</i> s. l. housekeeping Gene für MLST Analysen	30
Tabelle 9: Gradienten-PCR Protokoll zur Optimierung der Primerkombinationen und Annealingtemperaturen.....	42
Tabelle 10: PCR-Ansatz für 20 µl / 30 µl	43
Tabelle 11: Touchdown-PCR für <i>clpA</i> , <i>clpX</i> , <i>pepX</i> , <i>nifS</i> , <i>pyrG</i> , <i>rplB</i> und <i>uvrA</i>	43
Tabelle 12: Genspezifische Annealingtemperaturen.....	43
Tabelle 13: PCR <i>recG</i>	44
Tabelle 14: Analytierte <i>B. burgdorferi</i> s. s. und <i>B. afzelii</i> Stämme aus Europa und den USA.....	54
Tabelle 15: Art der <i>B. burgdorferi</i> s. s. und <i>B. afzelii</i> Infektion bei Patienten in Europa	55
Tabelle 16: Art der <i>B. burgdorferi</i> s. s. Infektion bei Patienten in den USA.....	56
Tabelle 17: Häufigste (n > 4) <i>B. burgdorferi</i> s. s. ST in Europa.....	56
Tabelle 18: Häufigste (n > 4) <i>B. afzelii</i> ST in Europa.....	56
Tabelle 19: Neue <i>B. burgdorferi</i> s. s. Alleltypen in Zecken	57
Tabelle 20: Neue <i>B. afzelii</i> Alleltypen in Patientenisolaten.....	58
Tabelle 21: <i>B. burgdorferi</i> s. s. ST von Patientenisolaten und Zecken aus Europa und den USA	61
Tabelle 22: Klonale Komplexe der Spezies <i>B. burgdorferi</i> s. s.	63
Tabelle 23: Kläden europäischer <i>B. burgdorferi</i> s. s. ST im Stammbaum	67
Tabelle 24: Invasivität einzelner <i>B. burgdorferi</i> s. s. ST in Europa.....	69
Tabelle 25: Klonale Komplexe der Spezies <i>B. afzelii</i>	72
Tabelle 26: Art der <i>B. afzelii</i> Infektion bei Patienten der Stammsammlung des NRZ	76
Tabelle 27: Invasivität mittels MLST typisierter <i>B. afzelii</i> Isolate der Stammsammlung des NRZ	77
Tabelle 28: Invasivität einzelner <i>B. afzelii</i> ST in Europa.....	78

Tabelle 29: Geographische Herkunft in dieser Arbeit typisierter Patientenisolat aus Europa.....	128
Tabelle 30: Antibiotika zur Therapie der LB	129
Tabelle 31: Therapieschema der LB nach Stadien.....	130
Tabelle 32: Hauptwirte der Schildzecken und übertragener Erreger	131
Tabelle 33: Primer der housekeeping Gene	133
Tabelle 34: Materialien und Hersteller.....	136
Tabelle 35: Überschneidungen europäischer <i>B. burgdorferi</i> s. s. und <i>B. afzelii</i> ST in Zecken und Patientenisolaten	141
Tabelle 36: <i>B. burgdorferi</i> s. s. - Patientenisolat aus Europa	149
Tabelle 37: <i>B. afzelii</i> - Patientenisolat aus Europa	151
Tabelle 38: <i>B. burgdorferi</i> s. s. - Zecken aus Europa.....	154
Tabelle 39: <i>B. afzelii</i> - Zecken aus Europa.....	156
Tabelle 40: <i>B. burgdorferi</i> s. s. - Patientenisolat aus den USA.....	160
Tabelle 41: <i>B. burgdorferi</i> s. s. - Zecken aus den USA	166
Tabelle 42: Weitere, bisher nicht mittels MLST typisierte, <i>B. afzelii</i> Patientenisolat der Stammsammlung des NRZ.....	182

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme von Borrelien	3
Abbildung 2: Struktureller Aufbau von Spirochäten	5
Abbildung 3: Speicheldrüse der Zecke	6
Abbildung 4: Antigenwitch und struktureller Aufbau der Schildzecke.	7
Abbildung 5: Geographische Verbreitung von Borrelienspezies.....	9
Abbildung 6: Verteilung humanpathogener <i>B. burgdorferi</i> s. l. Spezies in europäischen Patientenisolaten und Zecken	11
Abbildung 7: Erythema migrans beim Patienten	13
Abbildung 8: Multiple Erythemata migrantia beim Patienten	13
Abbildung 9: BLZ an Mamille und Ohrläppchen (linkes Bild) und periphere Fazialisparese links beim Patienten (rechtes Bild)	14
Abbildung 10: Manifestationen der chronisch disseminierten LB.....	15
Abbildung 11: Richtiges Entfernen einer Zecke mittels Zeckenkarte.	18
Abbildung 12: Geographische Verteilung von <i>B. burgdorferi</i> s. l. Vektoren	19
Abbildung 13: Lebenszyklus der Schildzecke mit stadienabhängigem Wirtsspektrum und entsprechenden Durchseuchungsraten	21
Abbildung 14: Geographische Herkunft mittels MLST typisierter <i>B. burgdorferi</i> s. s. und <i>B. afzelii</i> Patientenisolat aus Europa.....	29
Abbildung 15: Lage der housekeeping Gene auf dem Linearchromosom.....	30
Abbildung 16: Präparierte Zecke	31
Abbildung 17: Beimpfte Kulturröhrchen im Inkubator	32
Abbildung 18: Dunkelfeldmikroskopie kultivierter Borrelien	33
Abbildung 19: Beispielhafte Temperaturkurve eines PCR-Zyklus (linkes Bild) daneben der Eppendorf Light Cycler des NRZ (rechtes Bild).....	36
Abbildung 20: Schema der nested PCR	38
Abbildung 21: Beispielhafte <i>hbb</i> -RTD-PCR Schmelzkurve der Spezies <i>B. burgdorferi</i> s. s.	39
Abbildung 22: Beispielhaftes Schema einer Gradienten-PCR.....	40
Abbildung 23: Agarosegelelektrophorese einer erfolgreichen PCR des <i>recG</i> Gens	45
Abbildung 24: Sequenzausschnitt des <i>recG</i> -Gens	49
Abbildung 25: Mischinfektion im Sequenzausschnitt des <i>pyrG</i> -Gens	49
Abbildung 26: Bestimmung von AT anhand der MLST-Onlinedatenbank	50
Abbildung 27: Bestimmung von ST anhand der MLST-Onlinedatenbank	50
Abbildung 28: MLST im Überblick.....	52
Abbildung 29: Verteilung unterschiedlicher Borrelienspezies in 484 mittels <i>hbb</i> -RTD-PCR analysierten Zecken aus Süddeutschland	55
Abbildung 30: Venn-Diagramm der <i>B. burgdorferi</i> s. s. und <i>B. afzelii</i> ST in Patientenisolaten und Zecken aus Europa.....	59

Abbildung 31: Venn-Diagramm der <i>B. burgdorferi</i> s. s. ST in Patientenisolaten und Zecken aus Europa und den USA.....	60
Abbildung 32: goeBURST-Netzwerk aller <i>B. burgdorferi</i> s. s. Zecken und Patientenisolat aus Europa und den USA.....	61
Abbildung 33: Kladogramm aller 112 <i>B. burgdorferi</i> s. s. ST von Patientenisolaten und Zecken aus Europa und den USA.....	66
Abbildung 34: Nomenklatur von Stammbäumen.....	66
Abbildung 35: Disseminierte und lokalisierte Infektionen der Spezies <i>B. burgdorferi</i> s. s. in Europa.....	68
Abbildung 36: Manifestationen disseminierter <i>B. burgdorferi</i> s. s. Infektionen absteigender Häufigkeit.	69
Abbildung 37: goeBURST-Netzwerk mittels MLST analysierter <i>B. afzelii</i> Isolate aus Europa.....	70
Abbildung 38: Kladogramm der 198 <i>B. afzelii</i> Patientenisolat und Zecken aus Europa.....	74
Abbildung 39: Art der <i>B. afzelii</i> Infektion bei Patienten in Europa.....	76
Abbildung 40: Manifestationen disseminierter <i>B. afzelii</i> Infektionen bei Patienten aus Europa.....	77
Abbildung 41: Vergleich der Invasivität von <i>B. burgdorferi</i> s. s. und <i>B. afzelii</i>	79
Abbildung 42: Odds disseminierter Infektionen mit <i>B. burgdorferi</i> s. s. und <i>B. afzelii</i>	80
Abbildung 43: Art der <i>B. burgdorferi</i> s. s. Infektion bei Patienten aus Europa und den USA.....	81
Abbildung 44: Neuroborreliosen bei Infektionen mit <i>B. burgdorferi</i> s. s. und <i>B. afzelii</i> in Europa.....	82
Abbildung 45: Patientenalter und Art der <i>B. burgdorferi</i> s. s. und <i>B. afzelii</i> Infektion bei Patienten aus Europa.	83
Abbildung 46: Phylogenetischer Baum aller <i>B. burgdorferi</i> s. s. ST mit Bootstrapwerten > 50 %	142
Abbildung 47: Phylogenetischer Baum aller <i>B. burgdorferi</i> s. s. ST mit Maßstab für Mutationen	143
Abbildung 48: Phylogenetischer Baum aller <i>B. afzelii</i> ST mit Bootstrapwerten > 50 %	146
Abbildung 49: Phylogenetischer Baum aller <i>B. afzelii</i> ST mit Maßstab für Mutationen	147

1 Einleitung

Die Lyme Borreliose (LB) ist die häufigste von Zecken übertragene bakterielle Infektionskrankheit nördlich des Äquators (40°-60° nördlicher Breite) [1-5]. Erreger dieser stadienhaften Multisystemerkrankung sind Borrelien des *Borrelia burgdorferi* sensu lato (s. l.) Komplexes (sensu lato = im weiteren Sinne) [6, 7]. Borrelien werden bevorzugt im Frühjahr und Herbst von Zecken übertragen [8-10], wobei der häufigste Überträger (Vektor) der Erkrankung in Europa der „gemeine Holzbock“ (Schildzecke, *Ixodes ricinus*, *I. ricinus*) ist [11]. Die Durchseuchung von *I. ricinus* mit Borrelien liegt in Studien bei etwa 1 % in Larven, 10 % in Nymphen und 20 % in adulten Zecken [12, 13]. Das Risiko nach einem Zeckenstich, unabhängig vom Infektionsstatus der Zecke, an einer Borreliose zu erkranken beträgt bis zu 5,2 % [14-16].

In Europa besteht bisher keine flächendeckende Meldepflicht der LB. Entsprechend variieren die geschätzten Inzidenzraten je nach literarischer Quelle und liegen für Europa bei 16-140 Neuerkrankungen pro 100.000 Einwohner [1, 2].

In einigen Bundesländern Deutschlands gilt bereits eine Meldepflicht für gesicherte LB Fälle, so in Berlin, Brandenburg, Mecklenburg-Vorpommern, Rheinland-Pfalz, Saarland, Sachsen, Sachsen-Anhalt, Thüringen und Bayern [17]. Meldedaten werden vom Nationalen Referenzzentrum für Borrelien in Oberschleißheim (NRZ) sowie dem Robert-Koch-Institut gesammelt und ausgewertet. Hierbei finden sich die höchsten LB Inzidenz- und Durchseuchungsraten in Deutschland für Süddeutschland [18-20].

1.1 Historischer Überblick

Buchwald beschrieb 1883 als erster in der Literatur eine Manifestation der LB. Dabei handelte es sich um die Acrodermatitis [chronica] atrophicans (ACA) [21]. Von da an verging fast ein Jahrhundert, bis der Erreger dieser Erkrankung identifiziert werden konnte. Willy Burgdorfer gelang es 1982 erstmals Borrelien aus dem Mitteldarm einer Zecke zu isolieren, was später auch aus Patientenmaterial möglich wurde [22-30].

Erste Studien zur LB wurden von Steere und Malawista in den USA durchgeführt. Anlass dafür war eine endemische Häufung von Arthritiden (Gelenksentzündungen) um 1972 im ländlichen Raum Old Lyme, Connecticut. Diese Gelenksentzündungen traten

insbesondere bei Kindern auf [31, 32]. Kurze Zeit später konnte ein Zusammenhang zu erythematösen Hautveränderungen bei Patienten festgestellt werden [32-34]. In Europa wurden ähnliche dermatologische Manifestationen bereits Anfang des 20. Jahrhunderts beschrieben [35-37]. Dort bezeichnete man die Entität als „Erythema [chronicum] migrans“ und vermutete schon frühzeitig eine Übertragung durch Zecken. In den USA konnte erst später die Zecke *I. scapularis* (*I. dammini*) als Vektor identifiziert werden [38, 39]. Der LB konnten im Verlauf eine Reihe weiterer Symptome, auch neurologischer Art, zugeordnet werden [32, 40-45]. Die ersten Beschreibungen der Neuroborreliose (NB) sind einer Publikation von Garin und Bujadoux (1922) zu entnehmen. Ein Arzt aus München namens Bannwarth dokumentierte 1941-1944 die neurologischen Symptome im Detail. Der Symptomkomplex der Meningoradikulitis wird entsprechend bis heute als „(Garin-Bujadoux-) Bannwarth-Syndrom“ bezeichnet [45-48]. Die Nomenklatur der Erkrankung „Lyme Borreliose“ geht auf den Ursprungsort erster Studien in den USA (Old Lyme in Connecticut) zurück.

1.2 Epidemiologie der Lyme Borreliose

Zuverlässige epidemiologische Daten bezüglich Inzidenz und Prävalenz der LB in Europa sind derzeit kaum vorhanden. Grund dafür ist eine fehlende zentrale Registrierung von Krankheitsfällen sowie vermutlich hohe Dunkelziffern nicht diagnostizierter und gemeldeter Patienten. Die LB ist die häufigste von Zecken übertragene Erkrankung des 40°. -60°. Grad nördlicher Breite (Nordamerika, Nordafrika, Europa und Asien) [1-5]. Laut CDC lag die Inzidenz in den USA der letzten Jahre bei ca. 7/100.000 Einwohnern. Dabei konnte eine deutliche Häufung von Krankheitsfällen an der Ostküste festgestellt werden [49]. In Europa wurde die LB, im Gegensatz zur lokal begrenzten Frühsommermeningoencephalitis (FSME), nahezu ubiquitär beobachtet. Hinsichtlich der Inzidenz waren dabei starke regionale Unterschiede festzustellen [50]. Schätzungen der Inzidenz in Zentraleuropa lagen für Gebiete Österreichs am höchsten, wo man die Rate der Neuerkrankungen auf 300-350 Fälle pro 100.000 Einwohner schätzte. In Deutschland ergab sich, basierend auf Meldedaten, eine geschätzte Inzidenz von ca. 25-30/100.000 [1]. Die Zahlen für Süddeutschland lagen deutlich höher [20, 51-53]. Besonders gefährdet an einer LB zu

erkranken sind im allgemeinen Menschen, die sich freizeit- oder berufsbedingt viel in der Natur aufhalten [54-58].

1.3 *Borrelia burgdorferi sensu lato*

B. burgdorferi s. l., der Erregerkomplex der LB, wurde nach seinem Entdecker Willy Burgdorfer benannt. Die Gattung der Borrelien gehört in der Biosystematik zur Familie der Spirochäten. Innerhalb der Gattung „Borrelia“ kann zwischen verschiedenen humanpathogenen Spezies unterschieden werden. Die wichtigsten sind die LB verursachenden Spezies sowie Erreger des Rückfallfiebers [6, 7, 22, 59-61].

1.3.1 Struktur, Morphologie und Genom

Borrelien sind spiralig gewundene, gram-negative Bakterien, die sich schraubenförmig fortbewegen (vgl. Abb. 1).

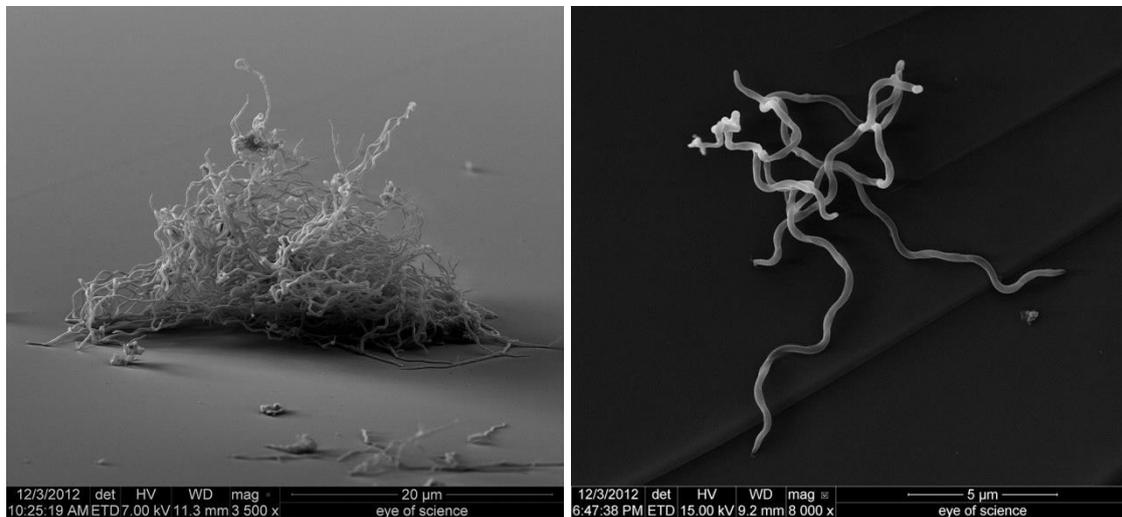


Abbildung 1: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme von Borrelien [Bild: Eye of Science].

Eine Anzucht von Borrelien in Kulturmedien gelingt vor allem unter mikroaerophilen Bedingungen [62-65]. Mit einem Durchmesser von etwa 0,3 μm und einer Länge von ca. 10-30 μm sind Borrelien sehr dünn. Sie nutzen Kohlenhydrate, wie Glucose als Energiequelle und können im modifizierten Kelly-Medium (MKP-Medium) angezüchtet werden [7, 66]. Bei Temperaturen von 30°C bis 33°C wachsen die Kulturen zu einer Zelldichte von bis zu 4×10^8 pro ml heran. Dabei erreichen sie eine Generationszeit von 11-12 Stunden [67]. Die Zellwand der Borrelien besteht vor allem aus Proteinen und Membranlipiden und schützt das besondere Innenleben der Organismen [66]. Denn Spirochäten besitzen, anders als andere Bakterien, sogenannte Endoflagellen zur Fortbewegung. Die Endoflagellen befinden sich im periplasmatischen Spalt (vgl. Abb. 2) und bestehen aus 7-11 bipolaren Flagellen, die sich um den Zellkörper winden und gebündelt vorne und hinten am sogenannten „protoplasmatischen Zylinder“ befestigt sind. Dieser Aufbau führt zum helikalen Aussehen und der schraubenförmigen Bewegung von Borrelien, wodurch eine Fortbewegung in hochviskösen Medien wie beispielsweise dem Wirtsgewebe möglich wird [66, 68-71].

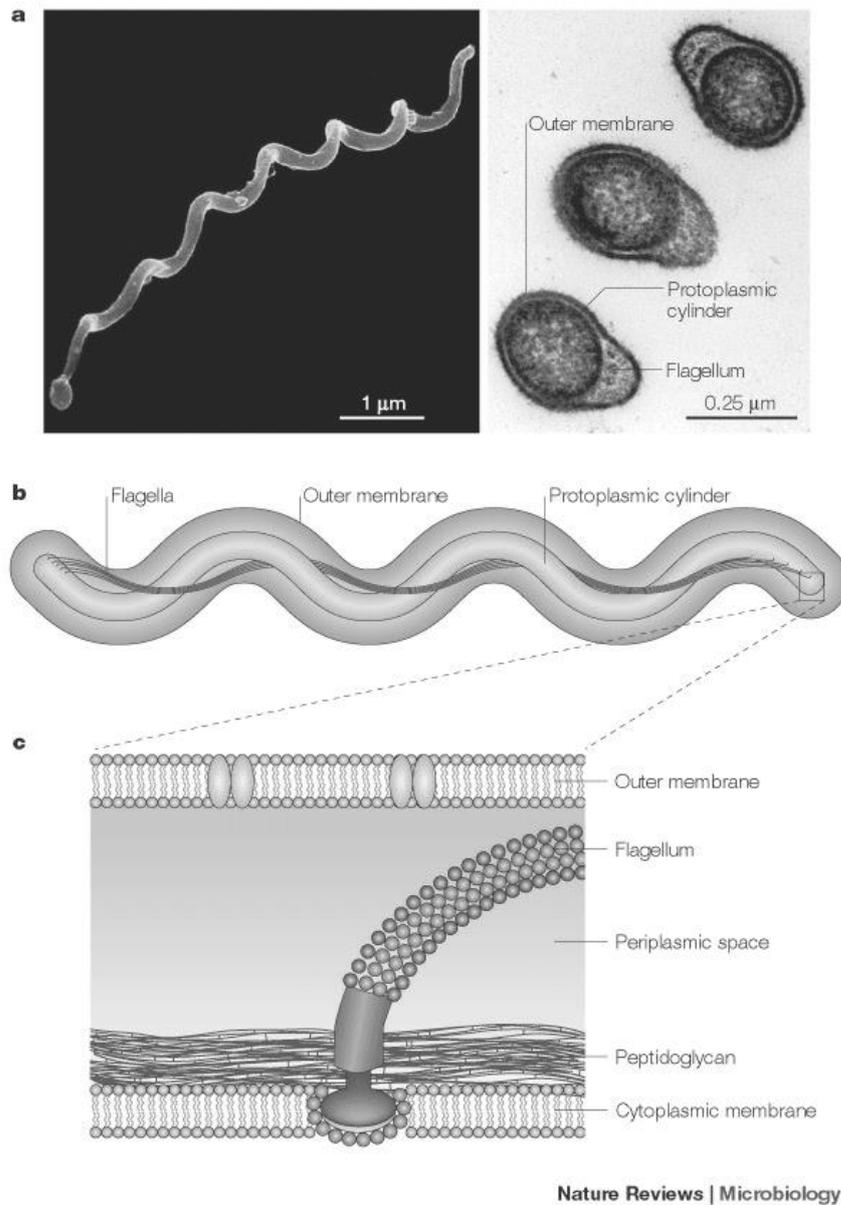


Abbildung 2: Struktureller Aufbau von Spirochäten [72].

Zwischen den Blutmahlzeiten der Zecken befinden sich Borrelien vor allem im Zeckendarm. Beim Saugakt wandern die Erreger in die Speicheldrüsen (vgl. Abb. 3) und von dort aus in den Wirt. Das Übertreten von Borrelien aus dem Darm in die Speicheldrüsen von Zecken wird durch Veränderungen in der Zusammensetzung exprimierter Oberflächenproteine (Antigene) möglich [73-77].

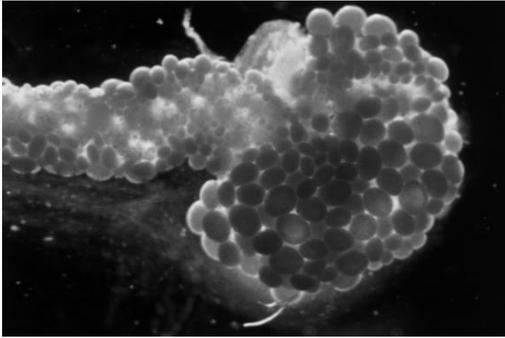


Abbildung 3: Speicheldrüse der Zecke [Bild: NRZ].

Borrelien besitzen eine Vielzahl von Antigenen auf ihrer Oberfläche, von denen bereits über 100 identifiziert werden konnten [78-80]. Die sogenannten „outer surface Proteine“ (Osp) wurden bisher am intensivsten untersucht. Mittlerweile sind sechs Osp Typen (OspA – F) bekannt [80, 81]. OspA und OspB gelten als essentiell für das Anhaften der Borrelien an der Darmwand der Zecken [82-86]. Kurz nachdem Zecken einen Wirt gefunden haben, saugen sie sich mittels des Stechapparates an diesem fest. Durch die Veränderung der Umweltbedingungen im Zeckendarm durch die Blutmahlzeit (pH, Temperatur und osmotischer Druck) ändert sich die Zusammensetzung der Oberflächenproteine von Borrelien. Die Expression von OspA sinkt, während es zu einer Hochregulation von OspC kommt (vgl. Abb. 4). Dieser „Antigenswitch“ ermöglicht den Borrelien das Übertreten vom Mitteldarm der Zecke in deren Speicheldrüsen. Diese Änderung der OspA- und OspC - Expression spielt nach bisherigen Erkenntnissen eine wichtige Rolle bei der Infektion des Wirtes [87-94].

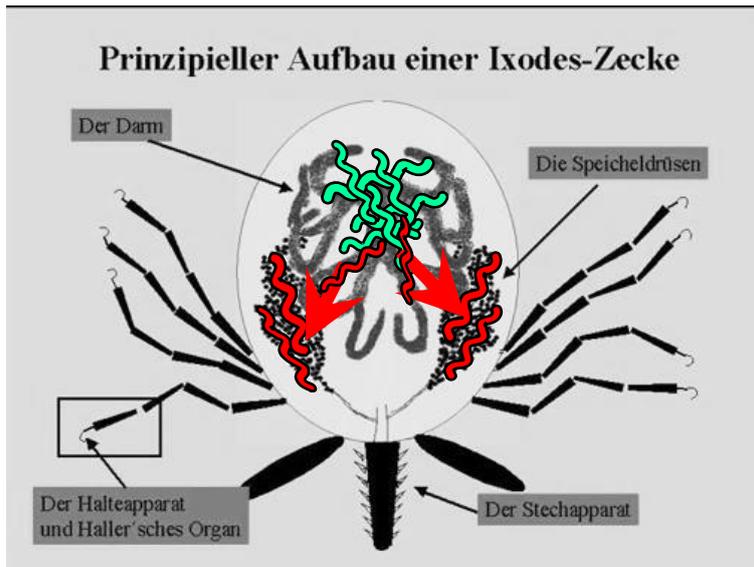


Abbildung 4: Antigen switch und struktureller Aufbau der Schildzecke. Borrelien mit OspA- (grün) und OspC- (rot) Expression. Das Haller'sche Organ an den Vorderbeinen der Zecke dient der Orientierung [73].

Während das Antigen OspD wohl eine bisher unbekannt Rolle spielt, sind OspE und OspF wahrscheinlich insbesondere für die Interaktion der Borrelien mit Wirtsgewebe verantwortlich [95-98]. OspE und sogenannte CRASP-Antigene scheinen es Borrelien zu ermöglichen, durch Inhibition des Komplementsystems das native Immunsystem des Wirts zu umgehen. Dadurch können sich die Borrelien im Organismus etablieren und diesen als Reservoirwirt nutzen [99]. Um einer Anpassung des menschlichen Immunsystems an entsprechende Borrelienantigene entgegen zu wirken, besteht eine gewisse Variabilität von OspE und OspF sowie weiteren Oberflächenproteinen [100, 101].

Das Genom von Borrelien ist außergewöhnlich aufgebaut. Es besteht aus einem etwa 1Mbp langen Linearchromosom sowie mehreren kleineren, linearen und zirkulären Plasmiden. Vorgänge wie Konjugation, die Integration von Phagen-DNA, Rekombination und Plasmidverlust beim Kultivieren führen zu einer gewissen Variabilität der Plasmidanzahlen und Genlagen [102-106]. Mit knapp 30 mol % Guanin (G) und Cytosin (C) weist das Borreliengenom einen eher geringen Anteil dieser Basen auf. Dadurch ist eine deutliche Abgrenzung zu anderen Spirochäten wie Treponemen oder Leptospiren gegeben [104, 107].

Bereits 1997 wurde der erste Borrelienstamm, B31 (ATCC 35210), teilsequenziert. Im Jahre 2000 folgte dann eine Vollgenomsequenzierung [105, 108], wobei eine vergleichsweise geringe Anzahl von Borreliengen auffiel. Ein Grund dafür könnte ein Genverlust durch Anpassung an die parasitäre Lebensweise von Borrelien sein [108]. Auf dem Linearchromosom sind einige sogenannte „housekeeping Gene“ lokalisiert. Diese Gene sind an fundamentalen Prozessen wie zum Beispiel der Replikation, Transkription, Translation oder an metabolischen Prozessen beteiligt. Sie dienen somit der Zellerhaltung und unterliegen nur wenig evolutionären Veränderungen. Housekeeping Gene gelten im Bezug auf evolutionär bedingte genetische Veränderungen als besonders beständig [107-111].

1.3.2 Systematik, geographische Verteilung und Pathogenität

Ursprünglich nahm man an, die Erreger der LB seien eine homogene Gruppe von Bakterien. Sie wurden als *Borrelia burgdorferi* (*B. burgdorferi*) bezeichnet [7, 22, 112, 113]. Später zeigte sich jedoch, dass es sich um eine heterogene Gruppe von Bakterien handelt [114]. Mittlerweile wird zwischen *B. burgdorferi* sensu lato (*B. burgdorferi* s. l., „im weiteren Sinne“) und *B. burgdorferi* sensu stricto (*B. burgdorferi* s. s., „im engeren Sinne“) unterschieden. *B. burgdorferi* s. l. beschreibt dabei den heterogenen Spezieskomplex, der alle bisher bekannten Borreliengenospezies der LB verursachenden Spirochäten umfasst, während sich *B. burgdorferi* s. s. auf die ursprünglich entdeckte Spezies (vgl. Stamm B31) dieses Komplexes bezieht.

Durch molekulargenetische Analysen konnten bisher 22 verschiedene Genospezies, darunter eine noch nicht benannte „Genomospezies 2“, klassifiziert werden. Eine Zuordnung verschiedener Genospezies zu unterschiedlichen geographischen Lokalisationen war möglich (vgl. Abb. 5, Tab. 1) [115].

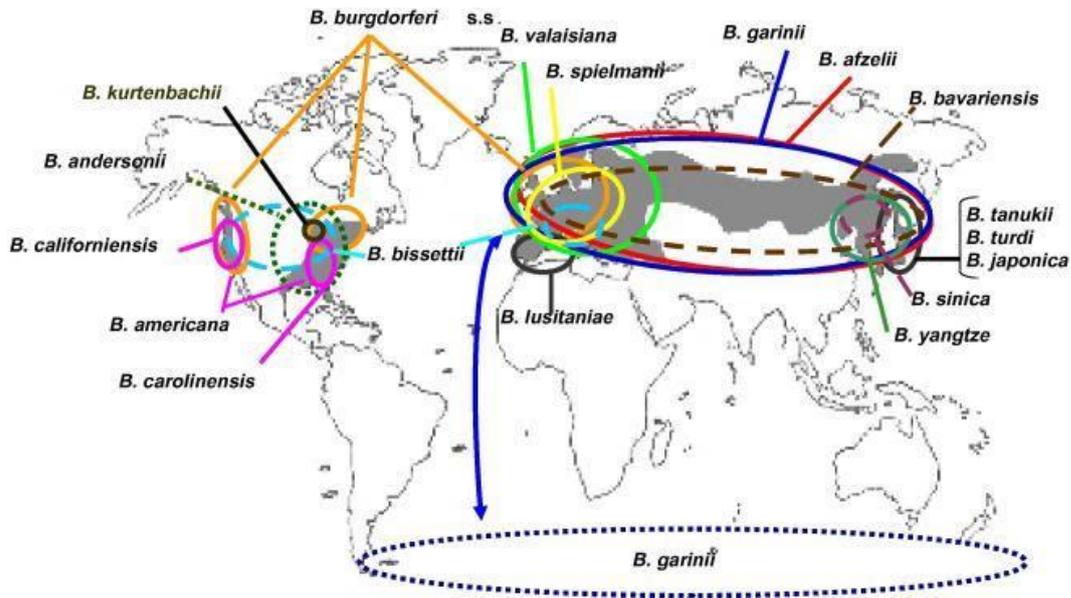


Abbildung 5: Geographische Verbreitung von Borrelienspezies. Der graue Bereich zeigt LB Endemiegebiete [8, 116]. *B. garinii* wurde aufgrund ihrer Verbreitung durch Seevögel auch in arktischen Gebieten, Küsten Neufundlands und nahe der Ostküste Kanadas gefunden [117, 118].

Tabelle 1: Spezies des *B. burgdorferi* s. l. Komplexes. * Gesicherte Humanpathogenität, ** Erstbeschreibung

Borrelien Spezies (Typbezeichnung)	Geographische Ausbreitung	Referenz	Jahr**
<i>B. burgdorferi</i> s. s. (B31) *	Europa, USA	Baranton et al.[115]	1992
<i>B. garinii</i> (20047) *	Europa, Asien	Baranton et al. [115]	1992
<i>B. afzelii</i> (VS461) *	Europa, Asien	Canica et al. [119]	1993
<i>B. japonica</i> (H014)	Japan	Kawabata et al. [120]	1993
<i>B. andersonii</i> (21038)	USA	Marconi et al. [121]	1995
<i>B. tanuki</i> (Hk501)	Japan	Fukunaga et al. [122]	1996
<i>B. turdii</i> (Ya501)	Japan	Fukunaga et al. [122]	1996
<i>B. lusitaniae</i> (PoTiB2)	Europa, Nordafrika	Le Fleche et al. [123]	1997
<i>B. valaisiana</i> (VS 116)	Europa, Asien	Wang et al. [124]	1997
<i>B. bissettiae</i> (DN127-cl9-2)	Europa, USA	Postic et al. [125]	1998

<i>B. sinica</i> (CMN3)	China	Masuzawa et al. [126]	2001
<i>B. spielmanii</i> (PC-Eq17N5) *	Europa	Richter et al. [127]	2006
<i>B. californiensis</i> (CA 446)	USA	Postic et al. [128]	2007
<i>Genomospecies 2</i>	USA	Postic et al. [128]	2007
<i>B. yangtzensis</i>	China	Chu et al. [129]	2008
<i>B. americana</i> (SCW-41)	USA	Rudenko et al. [130]	2009
<i>B. carolinensis</i> (SCW-22)	USA	Rudenko et al. [131]	2009
<i>B. bavariensis</i> (PBi) *	USA, Europa	Margos et al. [132]	2009
<i>B. kurtenbachii</i> (25015)	Europa	Margos et al. [133]	2010
<i>B. finlandensis</i> (SV1)	Europa	Casjens et al. [134]	2011
<i>B. chilensis</i>	USA	Ivanova et al. [135]	2013
<i>B. mayonii</i> *	USA	Pritt et al. [136]	2016

Die einzelnen Genospezies des *B. burgdorferi* s. l. Komplexes haben unterschiedliches humanpathogenes Potenzial (vgl. Tab. 1). Zu den gesichert humanpathogenen Spezies gehören: *B. burgdorferi* s. s., *B. afzelii*, *B. garinii*, *B. bavariensis* und *B. mayonii*. Auch *B. spielmanii* wurde als infektiös eingestuft und konnte bisher vor allem aus EM isoliert werden. Der Pathogenitätsstatus von *B. bissettiae*, *B. kurtenbachii* und *B. lusitaniae* konnte bislang nicht eindeutig geklärt werden. Alle übrigen Genospezies wurden bisher nicht in Patientenisolaten nachgewiesen [132, 137-149].

In den USA galt *B. burgdorferi* s. s. lange Zeit als einziger humanpathogener Erreger des *B. burgdorferi* s. l. Komplexes [150]. 2016 entdeckten Pritt et al. in den USA eine neue humanpathogene *B. burgdorferi* s. l. Spezies, die vorläufig als *B. mayonii* benannt wurde [136, 151].

Die Heterogenität humanpathogener Spezies war in Europa und Asien deutlich größer als in den USA [152]. Eine Methode der Borrelientypisierung war die Bestimmung des Oberflächenproteins OspA mittels Western Blot und monoklonaler Antikörper [153, 154]. Dabei konnte jeder Spezies ein bestimmter „OspA Typ“, beziehungsweise mehrere OspA Typen bei *B. garinii*, zugeordnet werden (vgl. Tab. 2) [132, 153, 155].

Tabelle 2: OspA-Typen der wichtigsten humanpathogenen *B. burgdorferi* s. l. Spezies in Europa

Spezies	OspA Typ
<i>B. burgdorferi</i> s. s.	1
<i>B. afzelii</i>	2
<i>B. garinii</i>	3, 5-8
<i>B. bavariensis</i>	4

Bereits in mehreren Studien wurde ein Zusammenhang zwischen der Borrelienspezies und der Patientensymptomatik beschrieben (vgl. Abb. 6). Einigen Spezies konnten weiterhin bestimmte Hauptmanifestationen beim Patienten zugeordnet werden (vgl. Tab. 3) [137, 153, 156-160].

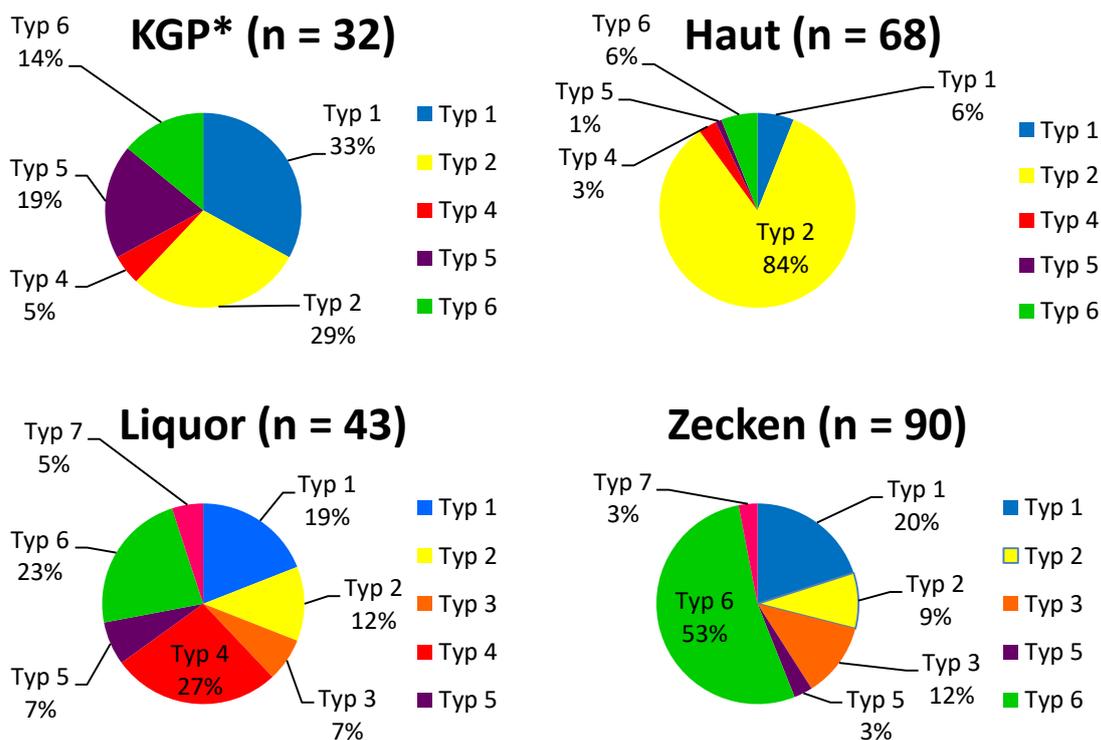


Abbildung 6: Verteilung humanpathogener *B. burgdorferi* s.l. Spezies in europäischen Patientenisolaten und Zecken. *KGP = Kniegelenkspunktat. Modifiziert nach Wilske 1996/2002 [161].

Tabelle 3: Klinische Hauptmanifestationen der häufigsten *B. burgdorferi* s. l. Spezies in Europa [161]

Spezies	Hauptmanifestation bei Patienten
<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Arthritis
<i>B. afzelii</i>	Kutane Symptome (Acrodermatitis chronica atrophicans)
<i>B. garinii</i>	Neuroborreliose
<i>B. bavariensis</i>	Neuroborreliose

Auch Unterschiede hinsichtlich der Humanpathogenität von Borrelienspezies konnten nachgewiesen werden. So wurde *B. bavariensis* beispielsweise bisher zwar häufig in Patientenisolaten, jedoch selten in Zecken gefunden. Andere Spezies wie *B. garinii* OspA-Typ 6 wiederum wurden vor allem in Zecken nachgewiesen [155, 159].

1.4 Klinik, Diagnostik und Therapie der Lyme Borreliose

Die LB ist eine Multisystemerkrankung und umfasst eine Reihe verschiedener Manifestationen. Dabei wird zwischen frühen Manifestationen (früher: Stadium I und II) und späten Manifestationen (früher: Stadium III) unterschieden (vgl. Tab. 4) [160, 162, 163]. Diese können unabhängig voneinander auftreten, wobei eine stadienhafte Reihenfolge nicht obligat ist [164-166]. Prädilektionsorte der LB sind Haut, Gelenke, Nervensystem und Herz [114, 167-173].

Frühmanifestationen

Akut-lokal

Das Erythema migrans (EM, Wanderröte) gilt als häufigste Manifestation der LB. Dabei handelt es sich um eine rötliche, makulo- bis papulöse Effloreszenz im Bereich der Einstichstelle, die sich im Verlauf zentrifugal ausbreitet und zentral meist abblasst (vgl. Abb. 7) [35, 40, 174]. Das EM zeigt sich bei etwa 80 % der Patienten innerhalb weniger Tage bis Wochen nach einem Zeckenstich [175]. Parallel treten häufig grippeähnliche Symptome auf [24, 163, 173, 176].



Abbildung 7: Erythema migrans beim Patienten [177].

Akut-disseminiert

Kommt es zur hämatogenen Streuung von Bakterien, wird von einer systemischen, disseminierten Infektion gesprochen. Vor allem in den USA kommt es gelegentlich zum gleichzeitigen Auftreten multipler Erythemata migrantia (MEM) am ganzen Körper (vgl. Abb. 8). Diese akut disseminierte Manifestation der LB steht in der Regel in keinem zeitlichen Zusammenhang zum Zeckenstich [24, 178-181].



Abbildung 8: Multiple Erythemata migrantia beim Patienten [182].

Auch die Neuroborreliose (NB) wird zu den akut disseminierten Manifestationen gezählt, wobei Symptome meist erst nach einigen Wochen bis Monaten auftreten [183]. Die NB präsentiert sich oft als Meningoradikulitis Bannwarth („Bannwarth-Syndrom“, welche starke, nächtlich betonte Schmerzen, Paresen und Parästhesien sowie gegebenenfalls eine periphere, teils beidseitige Fazialisparese umfasst (vgl. Abb. 9) [46, 172, 184-187].

Auch eine Myokarditis mit Herzrhythmusstörungen sowie Augenbeteiligungen sind zu diesem Zeitpunkt möglich [188-192]. Beim Borrelien Lymphozytom (BLZ, Lymphadenosis cutis benigna) treten rötlich livide, knotige Hautveränderungen auf, die häufig mit einer lokalen Lymphadenopathie einhergehen. Prädilektionsstellen für das BLZ sind Mamillen, Skrotum, Ohrläppchen und das Gesicht (vgl. Abb. 9) [163, 193-201].



Abbildung 9: BLZ an Mamille und Ohrläppchen (linkes Bild) und periphere Fazialisparese links beim Patienten (rechtes Bild) [Bild: NRZ].

Spätmanifestationen

Chronisch-disseminiert

Nach einigen Monaten bis Jahren können persistierende, disseminierte Borrelieninfektionen chronische Manifestationen hervorrufen. Bei der Lyme Arthritis (A) handelt es sich um Gelenkentzündungen mit voluminösen Schwellungen, die sich meist an verschiedenen großen Gelenken zeigen (vgl. Abb. 10). Die Lyme Arthritis steht in Europa, nach dem EM, an zweiter Stelle der häufigsten LB-Manifestationen [170, 202, 203]. Im Verlauf der Lyme Arthritis kommt es häufig zur Spontanremission [32, 40].

Eine weitere chronisch-disseminierte Manifestation, die Acrodermatitis chronica atrophicans [Herxheimer] (ACA), wurde bisher fast ausschließlich in Europa beschrieben. Sie betrifft vor allem weibliche Patientinnen über 60 Jahre. Dabei kommt es, oft erst nach Jahren, zu entzündlichen Schwellungen mit Prädilektionsort an den Streckseiten der Extremitäten. Im Verlauf können Hautatrophien und

zigarettenspapierartige Hautveränderungen entstehen. Hautvenen treten dann oft plastisch hervor und es können Falten, fibrinoide Knoten, Sklerosierungen, sowie lokaler Haarverlust und eine gestörte Schweißsekretion auftreten (vgl. Abb. 10). In einigen Fällen führt die ACA zu sensiblen Polyneuropathien [21, 30, 42, 169, 204-208].



Abbildung 10: Manifestationen der chronisch-disseminierten LB [Bild: NRZ].

In seltenen Fällen der chronischen NB kann es zu lymphozytären Meningitiden sowie progredienten Encephalomyelitiden kommen. Dabei sind das Auftreten von Gang-, Kognitions- und Blasenfunktionsstörungen möglich [209].

Ein umstrittener Symptomkomplex der chronischen LB, das „Post-Lyme Syndrom“, beinhaltet verschiedene psychopathologische Symptome, wobei der Zusammenhang zur LB bisher nicht ausreichend geklärt werden konnte [210-212].

Tabelle 4: Manifestationen der LB

Art der Manifestation	Zeitpunkt nach dem Zeckenstich	Hauptsymptome	Weitere Symptome
Früh, Akut-lokal	Tage bis Wochen	Erythema migrans	Grippeähnliche Symptome
Früh, Akut- disseminiert	Wochen bis Monate	Akute Neuroborreliose, Myokarditis, Augenbeteiligung, Lymphadenosis cutis benigna	
Spät, Chronisch- disseminiert	Monate bis Jahre	Lyme Arthritis, Acrodermatitis chronica atrophicans, chronische Neuroborreliose	Sensible Polyneuropathien, Myelitis, Post-Lyme Syndrom

Die Diagnose der LB ist je nach Manifestation unterschiedlich zu stellen, wobei es sich beim EM in der Regel um eine klinische Blickdiagnose handelt, die keiner weiteren Diagnostik bedarf. Alle anderen Manifestationen der LB werden anhand der Serologie, also einem Nachweis von Antikörpern, diagnostiziert. Dabei ist zu beachten, dass eine Antikörperdiagnostik nur bei klinisch eindeutigen Manifestationen der LB sinnvoll ist, da die Seroprävalenz der LB ist insbesondere im höheren Alter sehr hoch ist und daher falsch positive Ergebnissen möglich sind [213, 214]. Nur in Ausnahmesituationen, bei diagnostischer Unklarheit, Immunsuppression, Manifestation der LB noch vor Bildung von Antikörpern, wird eine Kultur angelegt oder eine PCR durchgeführt [64, 114, 175, 178, 183, 215-222]. Zur Früherkennung der NB laufen derzeit Forschungen zur Wertigkeit des Chemokin CXCL13 im Liquor, welches bisher jedoch noch keinen Stellenwert in der klinischen Routinediagnostik einnimmt [223-225].

Die Therapie der LB sollte bei eindeutigen klinischen Manifestationen umgehend eingeleitet werden, um Spätfolgen und chronische Verläufe zu verhindern [226-228]. Dabei kommen Antibiotika zum Einsatz [229]. Die Wahl und Dosierung des Antibiotikums sowie die Therapiedauer hängen von den jeweiligen klinischen

Manifestationen sowie dem physiologischen Zustand des Patienten ab [216, 230, 231]. Wichtig ist, dass ein alleiniger serologischer Nachweis von Borrelienantikörpern (Borrelien-AK) ohne klinische Symptomatik des Patienten keine Therapieindikation darstellt [216, 232, 233]. Detaillierte Informationen zur Therapie der LB sind den Tabellen 30 und 31 (Therapieschemata der LB) im Anhang zu entnehmen. Die Prognose der LB ist bei adäquater Behandlung gut.

1.5 Impfung und Prophylaxe

1998 wurde in den USA ein verträglicher sowie effizienter Impfstoff gegen die LB zugelassen. Dieser induzierte eine AK-Bildung gegen das Oberflächenprotein OspA beim Patienten. Entsprechende AK traten beim Saugakt der Zecke aus dem Blut der Patienten in den Mitteldarm der Zecke über und konnten dort mit Borrelien interagieren beziehungsweise diese gegebenenfalls eliminieren. Borrelien konnten somit nicht mehr auf den Patienten übertreten. Da zunächst nur *B. burgdorferi* s. s. als einzige humanpathogene Borrelienspezies der USA galt, war die Anwendung eines monovalenten Impfstoffs dort sinnvoll. 2002 wurde der Impfstoff wegen unerwünschter Nebenwirkungen und schlechter Verkaufszahlen vom humanmedizinischen Markt genommen [234-237].

Die Heterogenität humanpathogener Borrelienspezies in Europa und Asien scheint deutlich größer zu sein, weshalb sich die Entwicklung eines adäquaten Impfstoffs entsprechend komplexer gestaltet [238]. Trotz einiger vielversprechender Ansätze gibt es bisher noch keine geeigneten Präparate auf dem europäischen und asiatischen humanmedizinischen Markt [239-242].

Die effektivste Prophylaxe der LB ist die Vermeidung von Zeckenstichen. Empfohlene Schutzmaßnahmen in diesem Zusammenhang sind das Tragen langer Kleidung und die Reduktion von Aufenthalten in Wald- und Heckennähe. Diese Vorsichtsmaßnahmen sollten insbesondere während der Zeckenhochsaison (Mai-Juli und September-Oktober, in Deutschland) getroffen werden.

Nach möglicher Exposition sollte der Körper insbesondere an feuchten Stellen gründlich nach Zecken abgesucht werden. Chemische Duftstoffe, sogenannte Repellentien, können ergänzend genutzt werden [57, 245-250].

Da die Wahrscheinlichkeit der Borrelienübertragung mit der Dauer des Saugaktes steigt, sollten festgesogene Zecken unverzüglich fachgerecht entfernt werden [251-255]. Dazu werden sie mit Hilfe einer Pinzette, Zeckenkarte oder notfalls mit den Fingernägeln hautnah herausgezogen beziehungsweise -geschoben. Quetschen, ruckartiges Ziehen oder Drehen sind dabei zu vermeiden (vgl. Abb. 11). Eine Desinfektion vor und nach dem Entfernen der Zecke ist sinnvoll. Chemische, mechanische oder thermische Manipulationen hingegen sollten unterlassen werden [256]. Möglicherweise tritt nach Entfernen der Zecke eine Rötung an der Einstichstelle auf. Dabei handelt es sich in der Regel um eine meist unbedenkliche Fremdkörperreaktion, die nach kurzer Zeit von selbst verschwindet. Treten Komplikationen während oder nach der Zeckenentfernung auf, sollte ein Arzt aufgesucht werden [77, 257].

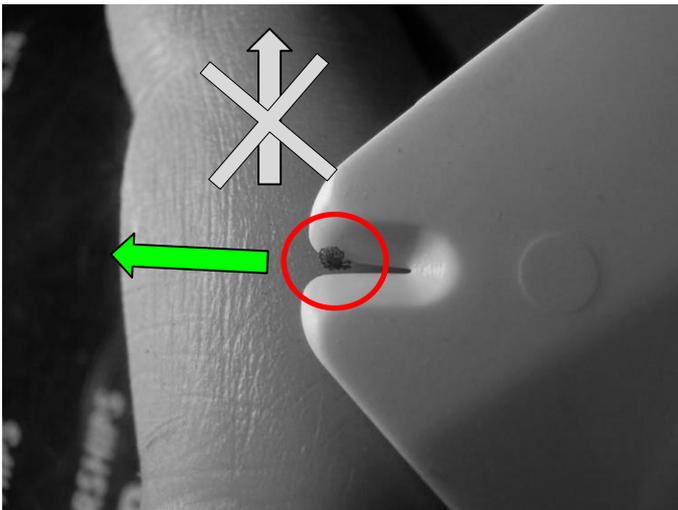


Abbildung 11: Richtiges Entfernen einer Zecke mittels Zeckenkarte. Die Zeckenkarte sollte hautnah in Schlitzrichtung (grüner Pfeil) geschoben werden [Bild: NRZ].

1.6 Schildzecke (*Ixodes*) als Hauptvektor der Lyme Borreliose

Zecken sind Gliederfüßer (Arthropoden) und zählen zur Klasse der Spinnentiere (Arachnida). Borrelien des *B. burgdorferi* s. l. Komplexes werden ausschließlich durch Schildzecken (Ixodidae) übertragen. Überträger humanpathogener Erreger bezeichnet man als „Vektoren“ [258-260].

1.6.1 Systematik und geographische Verteilung

Vektoren von *B. burgdorferi* s. l. unterscheiden sich je nach geographischer Lage (vgl. Abb. 12), wobei in Europa *I. ricinus* (gemeiner Holzbock) und in Osteuropa sowie Asien *I. persulcatus* (Taigazecke) als Hauptvektor vorherrschen. In Nordamerika werden Borrelien an der Ostküste vor allem durch *I. scapularis* (Hirschzecke) und an der Westküste durch *I. pacificus* (western blacklegged tick) übertragen [9, 11, 261, 262].

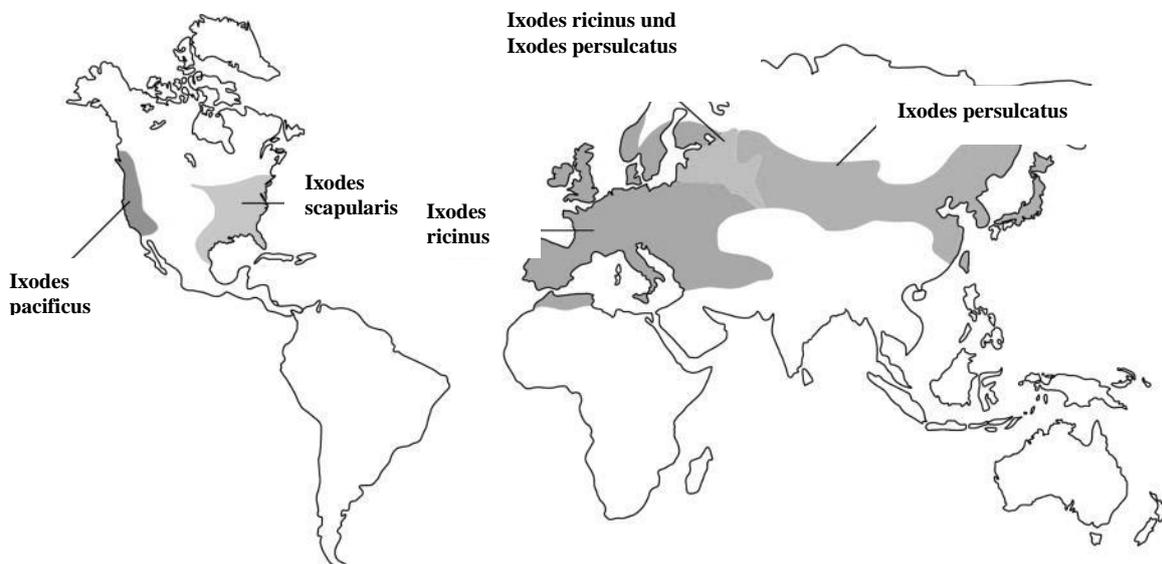


Abbildung 12: Geographische Verteilung von *B. burgdorferi* s. l. Vektoren [9].

Je nach Zeckenart werden unterschiedliche Borrelienspezies übertragen. Auch Mischinfektionen verschiedener Borrelienspezies in einem Vektor sind möglich [50, 263-267]. Eine detaillierte Tabelle der Vektoren verschiedener Borrelienspezies und der Wirtspräferenzen dieser Vektoren ist dem Anhang zu entnehmen (vgl. Tab. 32, Hauptwirte der Schildzecken).

1.6.2 Lebenszyklus und Übertragung von Borrelien

Schildzecken durchlaufen, in ihrem 2-5-jährigen Lebenszyklus drei blutsaugende Entwicklungsstadien (Larve → Nymphe → adulte Zecke). In jedem dieser Stadien nehmen sie eine Blutmahlzeit zu sich, wobei sie stets ihren Wirt wechseln (vgl. Abb. 13) [74, 268-272]. Nymphen und Larven bevorzugen kleinere Wirte, adulte Zecken größere. Beim Saugakt können sich die Zecken über das Wirtsblut oder durch sogenanntes „Co-feeding“ mit Borrelien infizieren. Beim Co-feeding findet eine Übertragung von Borrelien zwischen zwei benachbart saugenden Zecken statt [273, 274]. Auch eine transovarielle Übertragung von Borrelien konnte in einigen Studien nachgewiesen werden, diese spielt jedoch, wenn überhaupt, nur eine untergeordnete Rolle [266, 275].

Die Borreliendurchseuchungsrate von Zecken unterliegt starken regionalen Schwankungen. Im Durchschnitt steigt sie von etwa 1 % bei Larven auf 10 % bei Nymphen und 20 % bei adulten Zecken (vgl. Abb. 13) [12, 13, 276]. Trotz der höheren Durchseuchungsrate adulter Zecken gelten Nymphen als Hauptüberträger von Borrelien. Grund dafür könnte deren geringe Körpergröße sein. Denn im Vergleich mit adulten Zecken werden Nymphen oft erst spät erkannt und entfernt, wodurch sich die durchschnittliche Saugzeit verlängert [277, 278]. Die Wahrscheinlichkeit nach einem Zeckenstich an einer LB zu erkranken, lag in Studien durchschnittlich unter 5 % [14, 15, 278, 279].

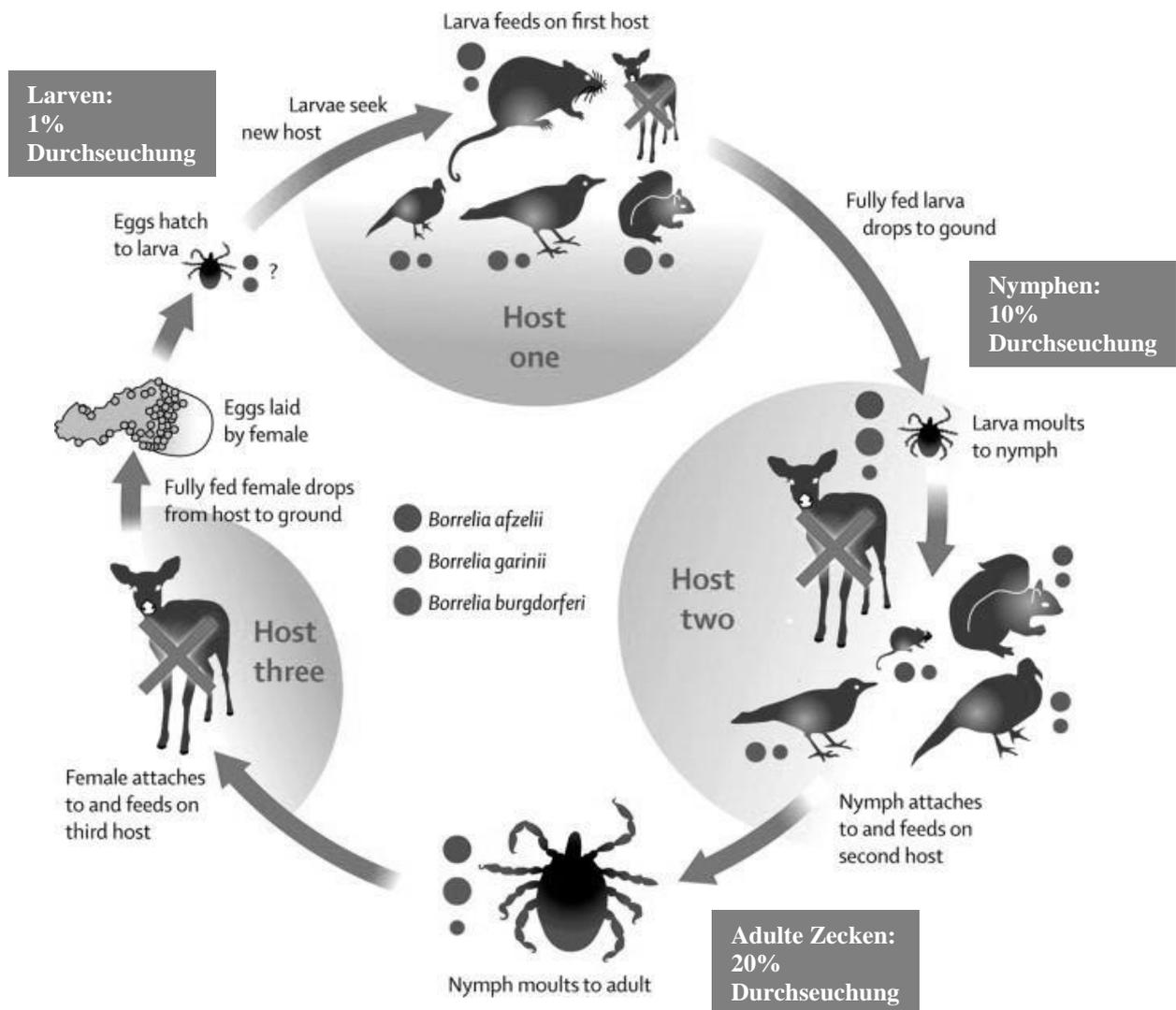


Abbildung 13: Lebenszyklus der Schildzecke mit stadienabhängigem Wirtsspektrum und entsprechenden Durchseuchungsraten. Der Mensch ist im Lebenszyklus der Schildzecke nur ein akzidentelles Opfer [9, 280].

1.7 Multilocus sequence typing

Das Multilocus sequence typing (MLST) ist eine molekularbiologische Methode zur Typisierung von Bakterien und anderen Organismen [281, 282]. Die Methode wurde 1998 von Martin Maiden, Brian Spratt et al. in England entwickelt. Als erste Spezies zur Entwicklung und Validierung des MLST wurde *Neisseria meningitidis* typisiert. Im Verlauf folgten Typisierungen einer Vielzahl anderer Bakterien und Organismen. 2008 entwickelten Margos et al. ein Typisierungsschema für MLST Analysen von Borrelien [111, 283].

Grundlage des MLST sind Sequenzanalysen von housekeeping Genen. Housekeeping Gene kodieren unter anderem physiologisch relevante Enzyme und sind trotz hoher Spezifität allen Spezies gemein. Sie kommen im Borreliengenom nur als Einzelkopien vor. Wenige evolutionäre Veränderungen und eine möglichst selektionsneutrale Lage auf dem Chromosom sind Auswahlkriterien für MLST-housekeeping Gene [111, 284]. Neben dem Begriff des „multilocus sequence typing“ (MLST) wird in der Literatur des Öfteren von „multilocus sequence analysis“ (MLSA) gesprochen. Die Begriffe MLST und MLSA werden meist synonym verwendet. Genau genommen ist das MLST jedoch als Analyse von Stämmen innerhalb einer Spezies definiert. Beim MLSA hingegen werden Stämme verschiedener Spezies verglichen, wobei in den letzten Jahren auch neue Borrelienspezies identifiziert werden konnten [111, 127, 128, 285-290].

1.7.1 Prinzip der Methode

Zunächst werden ausgewählte Gene einer Spezies mittels Polymerasekettenreaktion (PCR) vervielfältigt. Anschließend werden die entsprechenden Gene sequenziert und die generierten Sequenzdaten überprüft. Anhand von Onlinedatenbanken kann dann jedem Allel (Ausprägung eines Gens) eine Nummer zugeordnet werden (Alleltyp, AT). Durch das Aneinanderreihen der Allele eines Stammes erhält man eine bestimmte Allelkombination. Die Zahlenkombination der AT wird „allelisches Profil“ genannt und ergibt den sogenannten Sequenztyp (ST) eines Stammes (vgl. Abb. 27).

Im Vergleich zu anderen Methoden, wie beispielsweise der Vollgenomsequenzierung, spielt die genaue Anzahl von Mutationen im Gesamtgenom beim MLST keine Rolle. Durch einen Vergleich mit Stammbaumanalysen können anhand von MLST-Daten potenzielle Rekombinationsereignisse detektiert werden.

Die Auswahl und Anzahl der genutzten housekeeping Gene hängt von der jeweiligen Spezies ab. Sie ist stets ein Kompromiss aus Kosten, Zeitaufwand und Nutzen. Je mehr Gene verwendet werden, desto genauer können Unterschiede zwischen Stämmen und potenzielle Rekombinationsereignisse herausgearbeitet werden. Aus praktischen Gründen werden beim MLST bis heute meist Allelfragmente mit durchschnittlich 400-600 Basenpaaren verwendet [116, 283, 284, 291-293].

1.7.2 Vor- und Nachteile des Multilocus sequence typing

Das MLST ermöglicht eine präzise Charakterisierung von Organismen und schafft somit neue Grundlagen für epidemiologische und evolutionsbiologische Studien. Das MLST weist neben zahlreichen Vorteilen jedoch auch einige Nachteile auf [283, 287, 292, 293].

Vorteile des MLST:

- ❖ International standardisierte Nomenklatur und Vergleichbarkeit von Daten
- ❖ Laborunabhängige Interpretation von Daten
- ❖ Gute Trennschärfe zwischen Stämmen
- ❖ Globale Verfügbarkeit von Daten in Echtzeit durch Onlinedatenbanken
- ❖ Hohe Reliabilität durch standardisierte Verfahren
- ❖ Geringer menschlicher Bias durch automatisierte Verfahren
- ❖ Geringe DNA-Mengen aufgrund vorgeschaltener PCR ausreichend
- ❖ Valide Aussagen über Verwandtschaftsverhältnisse durch Typisierung anhand konservierter housekeeping Gene
- ❖ Geeignet für Analysen nicht-klonaler Bakterienpopulationen
- ❖ Vergleichsweise einfache, schnelle und zuverlässige Bereitstellung von Daten

Nachteile der MLST:

- ❖ Bisher relativ teuer, laborintensiv und zeitaufwändig
- ❖ Bindung an Sequenzierlabore
- ❖ Ungeeignet bei Mischinfektionen von Spezies
- ❖ Keine Unterscheidung von Mutationen und Rekombinationen im selben Analyseverfahren
- ❖ Bei Inkongruenz der Loci ungeeignet
- ❖ Hohe Anfälligkeit für Kontaminationen wegen hochsensitiver Verfahren (vor allem bei Anwendung der (semi-) nested PCR)

[283, 284, 287, 292, 294, 295]

1.7.3 Verarbeitung der Daten und allgemeine Ziele des Multilocus sequence typing

MLST-Daten wurden ursprünglich in der lokalen Datenbank MLSTdbNet gesammelt. Aufgrund zu großer Datenmengen stieß diese im Verlauf jedoch schnell an ihre Grenzen und schon bald wurde die erste Onlinedatenbank (<http://pubmlst.org/>) der Oxford University eingerichtet. Alternative MLST-Onlinedatenbanken, wie beispielsweise „<http://www.mlst.net/>“ des Imperial College London folgten. Für MLST Analysen von *B. burgdorferi* s. l. empfiehlt sich, aufgrund der großen bereits vorhandenen Datenmenge die Nutzung der pubmlst.org Onlinedatenbank. MLST-Daten können mittels zahlreicher veröffentlichter Algorithmen und Möglichkeiten der graphischen Darstellung ausgewertet werden [285, 292, 296-301].

Die Anwendungsgebiete des MLST sind vielseitig. Sie reichen von phylogenetischen, epidemiologischen und ökologischen Studien bis hin zur pharmakologischen Resistenztestung bestimmter Erreger. Ziele des MLST wie (i) die Einsicht in die Ausbreitung von Erregern zur besseren Kontrolle und deren Eindämmung, (ii) die Bestimmung der Pathogenität innerhalb von Populationen und (iii) Fortschritte in der Impfstoffentwicklung sind nur Beispiele [283, 292].

1.8 Zielsetzung dieser Arbeit

In den vorherigen Kapiteln wurde die Relevanz der LB als häufigste zeckenübertragene Erkrankung nördlich des Äquators deutlich. Epidemiologische Daten und ökologische Zusammenhänge bilden die Basis für das Verständnis vektorübertragener Infektionskrankheiten. Sie sind somit eine wesentliche Voraussetzung zur Implementierung sinnvoller Kontrollmaßnahmen. Mittels MLST wurde eine einfache, schnelle und präzise Typisierung von Erregern möglich. Bereits in früheren Studien konnten Daten zur Populationsstruktur humanpathogener *Borrelia burgdorferi* s. s. erhoben werden [111, 302]. Ein direkter Vergleich von MLST- und Patientendaten der Spezies *B. burgdorferi* s. s. aus Europa und den USA wurde jedoch bislang nicht durchgeführt. Weiterhin wurden in Europa zwar Zecken, jedoch keine *B. burgdorferi* s. l. Patientenisolat mittels MLST typisiert. Auch eindeutige Aussagen zur Invasivität einzelner *B. burgdorferi* s. l. ST konnten bisher nicht getroffen werden.

Hauptziel dieser Arbeit war die Analyse von *B. afzelii* und *B. burgdorferi* s. s. Populationsstrukturen in Europa und den USA. Dabei sollten sowohl europäische Patientenisolat als auch Zecken mittels MLST typisiert werden.

Weiterhin wurde ein Vergleich von Populationsstrukturen, klinischen Manifestationen und Invasivitäten der Spezies *B. burgdorferi* s. s. in Europa und den USA angestrebt. Als Basis für vergleichende Analysen mit Daten aus den USA wurde eine Studie von Hanincova et al. (2013) herangezogen [302].

Nebenziele dieser Arbeit waren zum einen die Erhebung von Daten zur Invasivität von *B. afzelii* und *B. burgdorferi* s. s. in Europa und zum anderen Analysen des humanpathogenen Potenzials einzelner ST und klonaler Komplexe. Ein besonderes Augenmerk lag im Bezug auf die Auswahl von Stämmen und statistischen Auswertungen auf der Manifestation NB, da diese Manifestation der LB besonders schwerwiegende Symptome bei Patienten hervorruft [302, 303].

2 Materialien und Methoden

2.1 Verwendete Stämme

In dieser Arbeit wurden MLST-Daten von 927 *B. burgdorferi* s. s. und *B. afzelii* Stämmen aus Europa und den USA analysiert. Die Borrelienstämme wurden aus Patientenmaterial sowie Zecken gewonnen. Eine detaillierte Auflistung aller analysierten Stämme befindet sich im Anhang (vgl. Tab. 36-42).

2.1.1 Verwendete *Borrelia burgdorferi* sensu stricto Stämme

56 *B. burgdorferi* s. s. Stämme aus europäischen Patientenisolaten und Zecken wurden mittels MLST typisiert. Daten von weiteren 601 *B. burgdorferi* s. s. Stämmen aus den USA wurden von Hanincova et al. 2013 übernommen und standen über die MLST Onlinedatenbank zur Verfügung (vgl. Tab. 5).

Tabelle 5: *B. burgdorferi* s. s. Stämme aus Europa und den USA (n= 679). *Inkl. KIFII und FheII, ^a eigens in dieser Arbeit mittels MLST typisiert, ^b Isolate der MLST-Onlinedatenbank

Geographische Herkunft	Patientenisolat [n]	Zecken [n]
Europa	33 ^{a*}	23 ^a
		22 ^b
USA	145 ^b	456 ^b

Die *B. burgdorferi* s. s. Patientenisolat aus Europa wurden in den Jahren 1983-2011 am Nationalen Referenzzentrum für Borrelien in Oberschleißheim (NRZ) gesammelt. Zwei der *B. burgdorferi* s. s. Patientenisolat aus Europa (PFheI/PFheII und PKifI/PKifII) stammten jeweils aus Hautbiopsien unterschiedlicher Körperregionen desselben Patienten. Da die Isolate jeweils den gleichen ST (PFheI/PFheII: ST21; PKifI/PKifII: ST24) zeigten, lag die Vermutung nahe, dass es sich um identische Stämme handelte. Entsprechend wurden nur 31 der 33 typisierten *B. burgdorferi* s. s. Patientenisolat aus Europa in weiterführende statistische Auswertungen einbezogen.

Neben *B. burgdorferi* s. s. Patientenisolaten wurden auch *B. burgdorferi* s. s. infizierte Zecken mittels MLST typisiert. Diese stammten aus München und Umgebung und wurden von Frau Dr. Overzier (Lehrstuhl für Vergleichende Tropenmedizin und Parasitologie der LMU München, München, Deutschland) zur Verfügung gestellt [304].

2.1.2 *Borrelia afzelii*

77 *B. afzelii* Patientenisolaten der Stammsammlung des NRZ wurden mittels MSLT typisiert. In statistische Auswertungen bezüglich der Invasivität und klinischer Manifestationen wurden weitere 50 *B. afzelii* Patientenisolate der Stammsammlung des NRZ einbezogen (vgl. Tab. 6 und Tab. 42 im Anhang).

Tabelle 6: *B. afzelii* Stämme aus Europa (n = 248). ^a eigens in dieser Arbeit mittels MLST typisiert, ^b Stämme der MLST Onlinedatenbank, ^c weitere, bisher nicht mittels MLST typisierte Stämme des NRZ

Geographische Herkunft	Patientenisolate [n]	Isolate aus Zecken [n]
Europa	77 ^a	118 ^b
	3 ^b	
	50 ^c	

Bezüglich der 3 *B. afzelii* Patientenisolate der MLST Onlinedatenbank lagen keine differenzierten Angaben zur Manifestation oder Art der Infektion beim Patienten vor. Aus diesem Grund wurden die drei Isolate nicht für statistische Analysen der Invasivität von *B. afzelii* verwendet.

2.1.3 Patientenmaterial

Die Patientenisolate aus den USA stammten ausschließlich aus Blut und Hautbiopsien (von Hanincova et al. (2013)) [302]. Europäische Patientenisolate wurden darüber hinaus auch aus Liquor, Kniegelenkspunktaten sowie je einem Myokard-, Glaskörper- und Knochenbiopsat gewonnen (vgl. Tab. 7).

Tabelle 7: Biologische Isolationsmaterialien der *B. burgdorferi* s. s. (*B. b. s. s.*) und *B. afzelii* (*B. a.*) Patientenisolat aus Europa und den USA. ^a inkl. FheII und KIFII, ^b mittels MLST typisierte Stämme, ^c bisher nicht mittels MLST typisierte Stämme, CSF Cerebrospinal fluid (Liquorpunktat), KGP Kniegelenkspunktat, [n] Anzahl

Spezies	[n]	CSF	Haut	KGP	Blut	Myokard	Auge	Knochen
<i>B. b. s. s.</i> ^a (Europa)	33	17	12	2	-	1	1	-
<i>B. b. s. s.</i> (USA)	145	-	129	-	16	-	-	-
<i>B. a.</i> ^b	77	16	58	1	1	-	-	1
<i>B. a.</i> ^c	50	1	48	1	-	-	-	-

2.1.4 Geographische Herkunft der Stämme

Europäische Patientenisolat und Zecken stammten zum überwiegenden Anteil aus Süddeutschland beziehungsweise vor allem aus dem Großraum München (vgl. Abb. 14). Eine detaillierte Tabelle zur geographischen Herkunft europäischer Patientenisolat ist dem Anhang zu entnehmen (vgl. Tab. 29).

Patientenisolat aus den USA stammten etwa zu gleichen Teilen aus Wisconsin (n = 69) und New York (n = 76) [302]. Detaillierte Angaben zur geographischen Herkunft infizierter Zecken aus den USA sind nicht verfügbar.

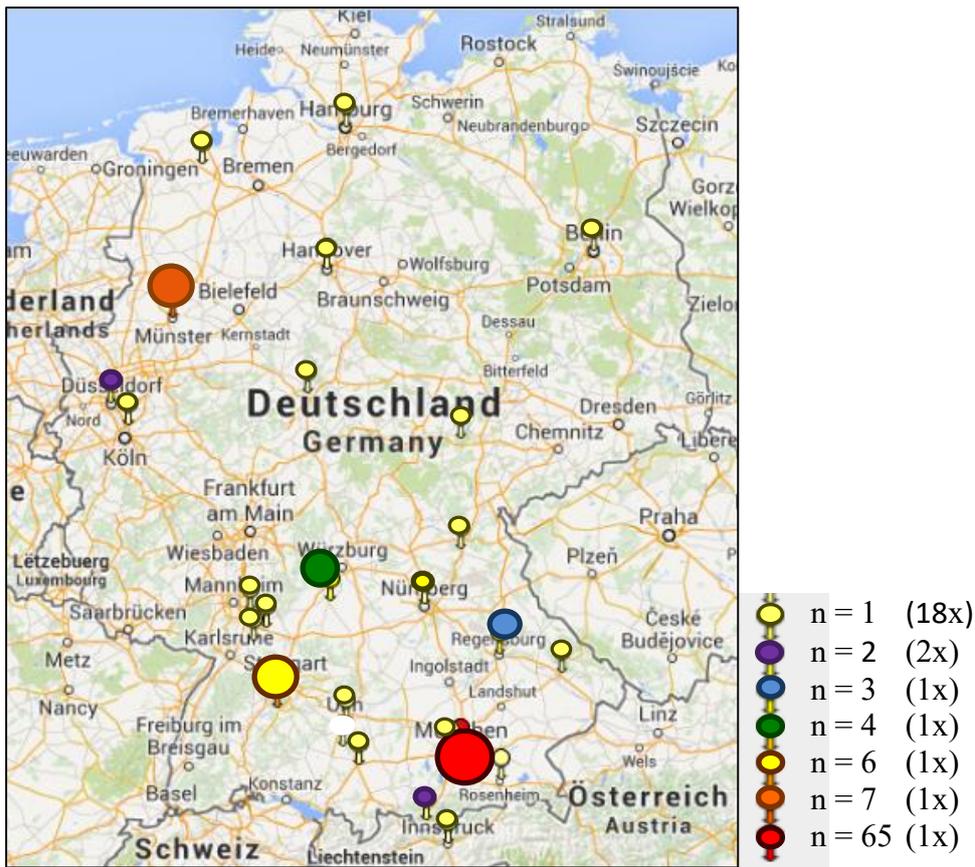


Abbildung 14: Geographische Herkunft mittels MLST typisierter *B. burgdorferi* s. s. und *B. afzelii* Patientenisolat aus Europa (n = 110). Modifizierte spatial epidemiology Darstellung. Die farbigen Kreise spiegeln die Anzahl [n] der Patientenisolat an den jeweiligen Standorten wieder. In Klammern stehen die Anzahlen der jeweiligen Kreise auf der Karte. Nicht eingezeichnet sind zwei Isolate aus dem ehemaligen Jugoslawien und ein Isolat aus Polen.

2.2 Housekeeping Gene

Das MLST von *B. burgdorferi* s. l. wurde, nach Margos et al. (2008), anhand von acht konservierten housekeeping Genen (*nifS*, *clpA*, *rplB*, *pyrG*, *recG*, *clpX*, *pepX* und *uvrA*) durchgeführt (vgl. Tab. 8) [111]. Entsprechende housekeeping Gene liegen auf dem linearen Chromosom der Borrelien und gelten als evolutionär sehr stabil (vgl. Abb. 15).

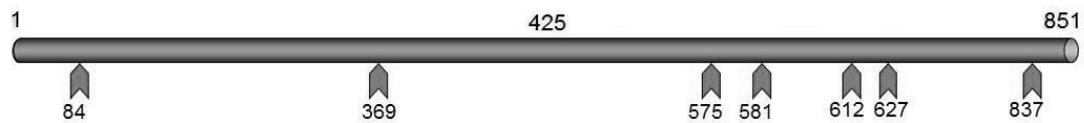


Abbildung 15: Lage der housekeeping Gene auf dem Linearchromosom. Die Zahlenangaben markieren die Lage der Gene auf dem Referenzstrang B31 [Bild: NRZ].

Tabelle 8: *B. burgdorferi* s. l. housekeeping Gene für MLST Analysen [111, 285]

Gen	Länge	Lage auf dem Referenzstrang B31	Funktion/Produkt	G/C Gehalt [%]
<i>nifS</i>	564	BB0084	Aminotransferase	27,4
<i>clpA</i>	579	BB0369	Clp Protease SU A	26,7
<i>rplB</i>	624	BB0481	50S ribosomales Protein L2	35,3
<i>pyrG</i>	603	BB0575	CTP Synthase	31,3
<i>recG</i>	651	BB0581	DNA Rekombinase	31,5
<i>clpX</i>	624	BB0612	Clp Protease SU X	32,5
<i>pepX</i>	570	BB0627	Dipeptidyl aminopeptidase	29,9
<i>uvrA</i>	570	BB0837	Exonuclease ABC SU A	35,7

2.3 Primer

Die Primer für das MLST von *B. burgdorferi* s. s. und *B. afzelii* aus Europa wurden bereits im Vorfeld vom Team des NRZ für Borrelien, mit Hilfe der Software Oligoexplorer 1.2 (Gene Link), generiert und von Metabion (Metabion, Planegg, Deutschland) synthetisiert [305]. Entsprechende Primer wurden für MLST Analysen dieser Arbeit übernommen und hinsichtlich Annealingtemperaturen und Primerkombinationen optimiert. Für die Gene *clpA*, *pyrG*, *recG*, *clpX*, *pepX* und *uvrA* standen jeweils vier, für die Gene *rplB* und *nifS* drei verschiedene Primer zur Verfügung. Eine nested PCR der Gene *clpA*, *pyrG*, *recG*, *clpX*, *pepX* und *uvrA* konnte somit durchgeführt werden. Da für die Gene *rplB* und *nifS* kein sinnvoller vierter Primer generiert werden konnte, wurde eine seminested PCR dieser Gene durchgeführt (vgl.

2.8.2.1 Nested und seminested PCR) [111]. Die Länge der Primer lag zwischen 18 und 27 bp. Die optimale Annealingtemperatur wurde in vorausgehenden Tests ermittelt (vgl. 2.8.3) und lag bei 48-60 °C. Denn zu hohe Annealingtemperaturen erschweren nach dem Gesetz der Brown'schen Molekularbewegung die Bindung der Primer, während es bei zu niedrigen Annealingtemperaturen zu unspezifischen Primerbindungen kommt. Eine Tabelle aller Primer inklusive Primer- und Produktlänge sowie Lage auf dem Linearchromosom, ist dem Anhang zu entnehmen (vgl. Tab. 33) [111].

2.4 Kultivierung der Proben

Die initialen Schritte zur Gewinnung von Borrelien-DNA aus Zecken und Patientenisolat unterschieden sich in einigen Aspekten.

Adulte Zecken wurden zunächst mit Hilfe von Einmalspateln unter sterilen Bedingungen in mit PBS (PBS, Merck, Darmstadt, Deutschland) gefüllten Plastikröhrchen (Eppendorf Safe-Lock Tubes, Eppendorf, Hamburg, Deutschland) zerdrückt, um borrelienhaltige Organe freizulegen. Borrelien befinden sich in erster Linie im Darm der Zecken (vgl. Abb. 18). Dieser Schritt entfiel bei Nymphen.



Abbildung 16: Präparierte adulte Zecke. Der Darm der Zecke ist als dunkles Konvolut mittig im Bild zu erkennen [Bild: NRZ].

Humane Biopsiepräparate wurden mit sterilen Scheren zerschnitten und in 1,5 ml-Plastikröhrchen (Eppendorf Safe-Lock Tubes, Eppendorf, Hamburg, Deutschland) überführt.

Im Anschluss wurde das Material aus Zecken und Biopsiepräparaten in 200 µl PBS (PBS, Merck, Darmstadt, Deutschland) gelöst und für 2 h bei 56 °C (350 rpm) inkubiert (Thermomixer compact, Eppendorf, Hamburg, Deutschland). Bei allen anderen biologischen Materialien erfolgte dieser Schritt direkt. Nach Zugabe von 200 µl Tissue lysis buffer (MAGNA Pure DNA Tissue lysis buffer, Roche, Mannheim, Deutschland) und 40 µl Proteinase K (Proteinase K, 20 mg/ml, Qiagen, Hilden, Deutschland) wurde diese Lösung für 10 min auf 70 °C erhitzt (Thermomixer compact, Eppendorf, Hamburg, Deutschland).

Die Kultivierung von Borrelienstämmen dieser Arbeit erfolgte in MKP-Medium. Eine detaillierte Beschreibung zur Herstellung des MKP-Mediums kann dem Anhang entnommen werden (Herstellung eines MKP-Mediums). Um eine erfolgreiche Kultivierung zu gewährleisten, wurden je drei Kulturröhrchen (sterile Kulturröhrchen, Carl Roth, Karlsruhe, Deutschland) mit 0,5 ml desselben Stammes beimpft und im Anschluss für sieben Tage bei 33 °C inkubiert (Function line, Heraeus, Hanau, Deutschland) (vgl. Abb. 16).

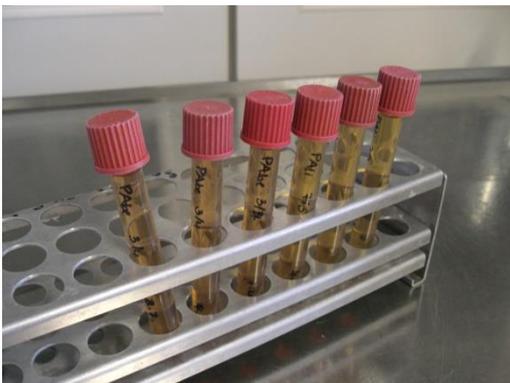


Abbildung 17: Beimpfte Kulturröhrchen im Inkubator [Bild: Sabrina Jungnick].

Nach einer Woche erfolgte eine Wachstums- und Kontaminationskontrolle der Borrelien mittels Dunkelfeldmikroskopie (Dialux 20, 40x Objektiv, Leitz, Wetzlar,

Deutschland). Dazu wurden 15 µl des beimpften Kulturmediums auf einen Objektträger (Objektträger, LLG Labware, Meckenheim, Deutschland) aufgetragen und das Nativpräparat bei 400-facher Vergrößerung untersucht (vgl. Abb. 17). Die Anzahl der Borrelien betrug nun im Optimalfall 10-20 Borrelien pro Blickfeld. Dies entsprach einer Dichte der kultivierten Borrelienpopulation von ca. 10^6 - 10^7 /ml.

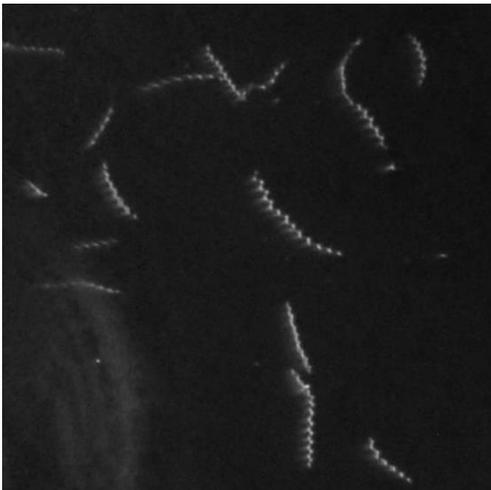


Abbildung 18: Dunkelfeldmikroskopie kultivierter Borrelien [Bild: Sabrina Jungnick].

In seltenen Fällen kam es trotz sterilem Arbeiten zu Verunreinigungen. Diese wurden vor der Weiterverarbeitung durch verschiedene Methoden behoben. Bei einer Kontamination mit Stäbchenbakterien wurde der Inhalt der Kulturröhrchen unter Anwendung von Druck gefiltert (0,45 µm Membranfilter, Sartorius, Göttingen, Deutschland). Bei Kokkenkontaminationen wurden Antibiotika (Sulfomethoxazol (SXT), Fosfomycin (FF) oder Amikacin (AK) je nach Erreger in minimaler Hemmkonzentration, $SXT \leq 300$ µg/ml, $FF \leq 1200$ µg/ml und $AK \leq 120$ µg/ml) zur Dekontamination eingesetzt.

2.5 DNA-Extraktion und Aufbereitung

Nach erfolgreicher Anzucht der Erreger wurde der Inhalt von jeweils drei Kulturröhrchen (Sterile Kulturröhrchen, Carl Roth, Karlsruhe, Deutschland) desselben Stammes in ein 50 ml-Zentrifugenröhrchen (Nalgene Oak Ridge High-Speed Centrifuge Tubes, Thermo Scientific, Roichester, NY) überführt. Die Lösung wurde mit 10x Phosphate Buffered Saline (PBS, Merck, Darmstadt, Deutschland) aufgefüllt und für

20 min bei 64512 x g (12.000rpm) zentrifugiert (Zentrifuge ZK 401, BHG HerMLE, Gosheim, Deutschland). Nach Abkippen des Überstands wurde das verbleibende Pellet zweimal mit ca. 1 ml PBS (PBS, Merck, Darmstadt, Deutschland) erneut zentrifugiert und resuspendiert. Das Pellet (Bakterienkonzentration: 10^9 / μ l) wurde nach erneuter Zentrifugation (Centrifuge 5415D, Eppendorf, Engelsdorf, Deutschland) in 50 μ l PBS (PBS, Merck, Darmstadt, Deutschland) gelöst. Nach Zugabe von 200 μ l Inkubationspuffer (D920B, Merck, Darmstadt, Deutschland), 200 μ l Lysepuffer (Lysis-Buffer, Roche, Mannheim, Deutschland), 30 μ l Proteinkinase K (Proteinkinase K, 20 mg/ml, Qiagen, Hilden, Deutschland) und 10 μ l RNase A (RNase A Solution, Merck, Darmstadt, Deutschland) wurde die Mischung für 2 Stunden bei 65 °C inkubiert (Thermomixer compact, Eppendorf, Hamburg, Deutschland).

Anschließend wurde der Ansatz in die originale Kartusche des Maxwell 16 FFS Nucleic Acid Extaction System Custom Kit (Maxwell 16 FFS Nucleic Acid Extaction System Custom Kit, Promega, Madison, USA) pipettiert und 80 μ l Elutionspufferlösung (Maxwell 16 FFS Nucleic Acid Extaction System Custom Kit, Promega, Madison, USA) für die Auswaschung vorgelegt. Der Vorgang der DNA-Aufreinigung erfolgte in mehreren Schritten automatisiert im Maxwell 16 (Maxwell 16, Promega, Madison, USA). Einige Stämme wurden in ähnlicher Weise anhand der BioSprint 96 Technologie (BioSprint 96 Technologie, Qiagen, Hilden, Deutschland) und dem zugehörigen BioSprint 96 Blood Kit nach Angaben des Herstellers (BioSprint 96 Blood Kit, Qiagen, Hilden, Deutschland) verarbeitet.

2.6 Schnellschritt-DNA-Aufbereitung

Zur Verifizierung einiger MLST-Ergebnisse war eine Wiederholung der PCR und Sequenzierung bestimmter Stämme nötig. Dabei wurde auf eine zeitintensive Extraktion und Aufreinigung der Proben verzichtet und stattdessen eine Schnellschritt-DNA-Aufbereitung angewendet. Bei -80 °C eingefrorenen Kulturen wurden nach dem Auftauen für 10 min bei 13400 x g (12.000 rpm) zentrifugiert (Centrifuge 5415D, Eppendorf, Engelsdorf, Deutschland). Der flüssige Überstand wurde abgekippt, das entstandene Pellet mit 200 μ l PBS (PBS, Merck, Darmstadt, Deutschland) gewaschen und erneut für 10 min bei 13400 x g (12.000 rpm) zentrifugiert (Centrifuge 5415D, Eppendorf, Engelsdorf, Deutschland). Nachdem der flüssige Überstand erneut

abgekippt und das Pellet in 200 μl PBS (PBS, Merck, Darmstadt, Deutschland) resuspendiert wurde, kam der Thermoblock als Hauptakteur zum Einsatz (Thermostate, Liebisch Labortechnik, Bielefeld, Deutschland).

Durch die Inkubation der Proben für 10 min bei 95 $^{\circ}\text{C}$, wurden Zellstrukturen der Borrelien aufgebrochen und die DNA freigelegt.

2.7 Konzentrationsmessung der Proben

Die quantitative DNA-Konzentrationsbestimmung pro 1 μl erfolgt mittels des Nanodrop 1000-Systems (Nanodrop 1000 Spektrometer, PEQLAB, Erlangen, Deutschland).

2.8 Polymerasekettenreaktion (PCR)

Mit Hilfe der Polymerasekettenreaktion (PCR) konnten geringe Mengen DNA in kurzer Zeit vervielfältigt werden [305, 306].

Der allgemeine Ablauf der PCR erfolgt stets nach dem gleichen Prinzip (vgl. Abb. 19).

1) Zunächst werden die Wasserstoffbrückenbindungen der doppelsträngigen DNA durch hohe Temperaturen aufgebrochen. Dabei entstehen DNA-Einzelstränge (Denaturierung).

2) In einem zweiten Schritt kommt es zur Anlagerung (Annealing) von Primern an den gewünschten DNA Abschnitt. (Primer sind kurze DNA-Stränge, deren Basen komplementär zur DNA Vorlage passen. Sie markieren den Startpunkt für die Amplifikation des gewünschten Genabschnittes.)

3) Im letzten Schritt synthetisiert das Enzym DNA-Polymerase einen neuen DNA Strang entsprechend der Ausgangs-DNA (Verlängerung).

Diese drei Schritte werden in mehreren Zyklen wiederholt, wobei es zu einer exponentiellen Vermehrung der DNA kommt. Neben freien Nukleotiden und einer Pufferlösung sind in der Regel Magnesiumionen für ein gutes Gelingen nötig. 1988

legte Saiki mit der Verwendung einer hitzestabilen (Taq-) Polymerase den Grundstein für die Automatisierung des PCR-Vorgangs [307].

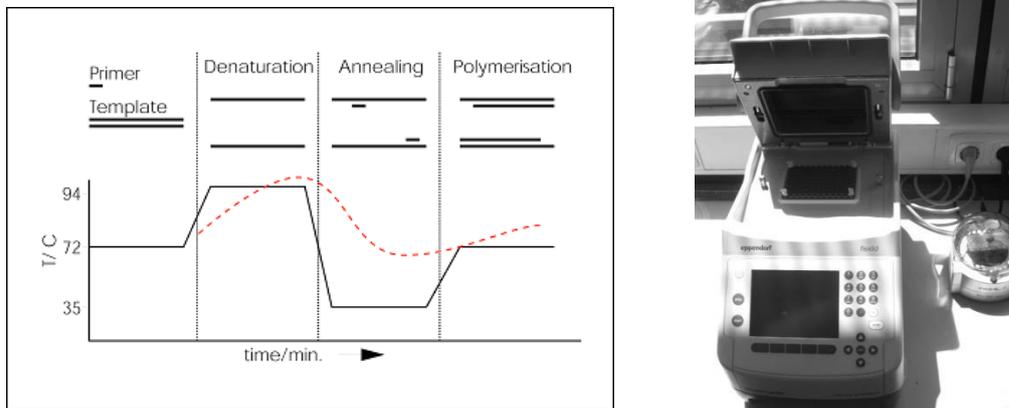


Abbildung 19: Beispielhafte Temperaturkurve eines PCR-Zyklus (linkes Bild) [308] Daneben der Eppendorf Light Cycler des NRZ (rechtes Bild) [Bild: Sabrina Jungnick].

2.8.1 Kontaminationskontrolle

Um qualitativ hochwertige PCR Ergebnisse zu erhalten ist es essentiell Kontaminationen zu vermeiden. Aufgrund der hohen Sensitivität und Effizienz der Methode genügen schon kleinste Mengen Fremd-DNA, um Ergebnisse zu verfälschen [309]. Daher wurde im Labor unter strengsten hygienischen Anforderungen gearbeitet.

i) Einzelne Arbeitsschritte wurden in verschiedenen Räumen durchgeführt. Schutzkittel, Pipetten und Einmalhandschuhe wurden nach jedem Arbeitsschritt gewechselt.

ii) Sterile Werkbänke (UV2 PCR Workstation, VWR, Ismaning, Deutschland; MSC Advantage Class II, Thermofisher Scientific, München, Deutschland) mit Filterabzug und UV-Dekontaminationssystem (UV Air Circulator während, UV Chamber für 30min nach Nutzung) kamen zum Einsatz und Oberflächen wurden nach jedem Arbeitsschritt dekontaminiert (LTK Licence to kill 008 PCR save, Firma Biodelta, Löhne, Deutschland).

iii) Es wurden gestopfte Pipetten (epT.I.P.S. Motion und Dualfilter, Eppendorf, Hamburg, Deutschland) verwendet und Proben, fest verschlossen, in unterschiedlichen Kühlsystemen (LKv 3910 MediLine, LKUv 1610 MediLine, New Brunswick Innova U725, Liebherr, Ochsenhausen, Deutschland) gelagert.

iiii) Bei allen PCR-Läufen wurden konsequent Negativkontrollen mitgeführt. Negativkontrollen enthielten ausschließlich doppelt destilliertes Wasser und durchliefen die gleichen Arbeitsschritte wie der Rest der Proben. Ein negatives PCR-Ergebnis der Negativkontrollen machte zuverlässige Ergebnisse und ein kontaminationsfreies Arbeiten wahrscheinlich.

2.8.2 PCR-Techniken

Neben der klassischen PCR existieren mittlerweile verschiedene weitere PCR-Methoden für spezifische Fragestellungen. In dieser Arbeit wurden die nested- und seminested PCR, die realtime-PCR (RTD-PCR), die touchdown-PCR sowie die Gradienten-PCR genutzt. Daher werden diese vier PCR-Methoden im Folgenden kurz erläutert.

2.8.2.1 Nested- und seminested PCR

Die Amplifikation geringer DNA-Mengen, wie beispielsweise aus Zecken, gelang am ergiebigsten mit Hilfe der nested PCR (vgl. Abb. 20). Dieses hochsensitive Verfahren besteht aus zwei hintereinander geschalteten PCR-Durchläufen. Dabei dienen die Amplifikate des ersten Durchlaufs als Vorlagen für den zweiten Durchlauf. Primer für den ersten PCR-Durchlauf binden einige Basen außerhalb der Zielsequenz für die Sequenzierung (outer primer). Im zweiten Durchlauf kommen Primer zum Einsatz, die innerhalb der amplifizierten DNA des ersten Durchlaufs binden (inner primer), wobei das Zielamplifikat für die Sequenzierung deutlich kürzer ist als das Amplifikat des ersten Durchlaufs.

Der Name „nested PCR“ („geschachtelte PCR“) bezieht sich auf die beschriebene Primerkonstellation. Da eine vernünftige Platzierung zweier inner Primer nicht für alle Gene möglich war, wurde in einigen Fällen eine seminested PCR durchgeführt (vgl. 2.3,

Primer). Bei der seminested PCR wird nur ein outer primer im zweiten PCR Durchlauf durch einen inner primer ersetzt. Das weitere Vorgehen entspricht dem der nested PCR. Aufgrund der hohen Gesamtanzahlen von PCR-Zyklen ist die semi-/ nested PCR sehr sensitiv. Entsprechend strengste Hygienemaßnahmen sind auch hier essentiell, um Kontaminationen zu vermeiden.

Die semi-/ nested PCR erreicht aufgrund der Verschachtelung von outer und inner primer außerdem eine hervorragende Spezifität [310].

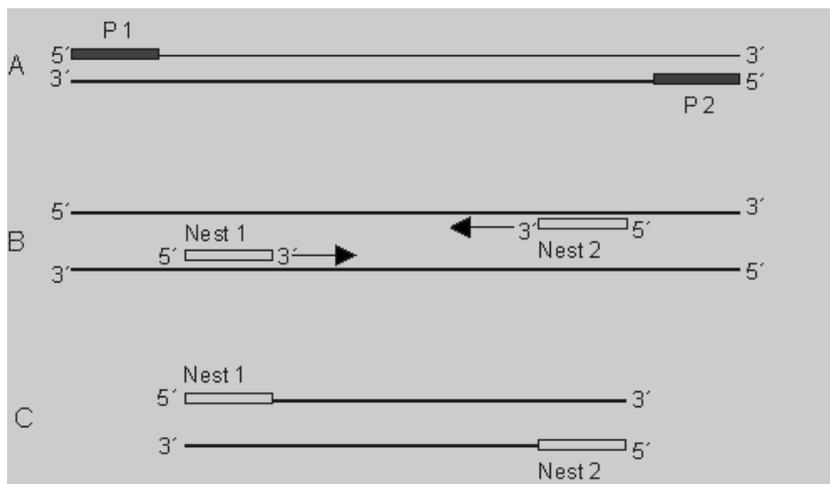


Abbildung 20: Schema der nested PCR. A: erster PCR Durchlauf mit outer primer (P1, P2), B: zweiter PCR-Durchlauf mit inner primer (Nest1, Nest2), C: Endprodukt.

Bei einer seminested PCR wird nur einer der outer primer im zweiten Durchlauf gegen einen inner primer ausgetauscht [311].

2.8.2.2 Realtime-PCR

Mittels der realtime-PCR (RTD-PCR) kann die Vervielfältigung von Borrelien-DNA aus Zecken in Echtzeit dargestellt werden. Die exponentiell steigende DNA-Konzentration wird dabei mit Hilfe von Fluoreszenz sichtbar gemacht [312, 313]. Anhand der *hbb*-RTD-PCR ist eine Differenzierung verschiedener Borrelienspezies aus Zecken möglich. Das *hbb*-Gen kodiert ein histonähnliches Protein. Histone stehen in engem Kontakt zur DNA, weswegen ihre Gene in der Regel konserviert vorliegen [314, 315].

Die Auswertung der *hbb*-RTD-PCR erfolgte anhand von „Schmelzkurven“ (vgl. Abb. 21), wobei das Prinzip der RTD-PCR darauf beruht, dass doppelsträngige DNA ab einer bestimmten Temperatur in ihre Einzelstränge zerfällt (Schmelzen der DNA). Zu diesem Zeitpunkt entsteht bei der RTD-PCR ein Fluoreszenzpeak innerhalb der Schmelzkurve, welcher für jede Borrelienspezies bei einer anderen Temperatur auftritt. Aus Zecken isolierte *B. burgdorferi* s. s. Stämme konnten somit anhand ihres speziesspezifischen Temperaturgipfels (Temperaturpeak, T_m) von etwa 71 °C identifiziert werden.

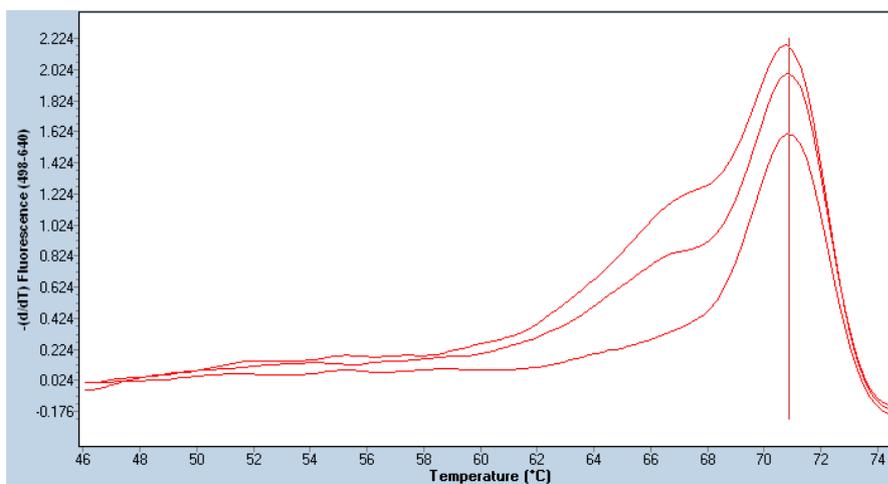


Abbildung 21: Beispielhafte *hbb*-RTD-PCR Schmelzkurve der Spezies *B. burgdorferi* s. s. x-Achse: Temperatur, y-Achse: Fluoreszenzänderung. Fluoreszenz- und Temperaturpeak (T_m) bei 70,79 °C [Bild: NRZ].

2.8.2.3 Touchdown-PCR

Bei der touchdown-PCR werden zunächst möglichst hohe Annealingtemperaturen gewählt, die im Verlauf der PCR-Zyklen in mehreren Schritten sinken und am Ende bei einem bestimmten Wert stagnieren. Grundlage dieser PCR-Technik ist, dass Primer bei hohen Annealingtemperaturen spezifischer binden, während niedrige Annealingtemperaturen die Effizienz der PCR steigern. Die spezifischen DNA-Amplifikate der ersten PCR-Zyklen dienen dabei im Verlauf als Vorlage für weitere PCR-Durchläufe. Somit wird eine exakte und gleichzeitig effiziente Amplifikation von DNA möglich [316, 317].

2.8.2.4 Gradienten PCR

Bei der Gradienten-PCR wird ein Gradient der Annealingtemperaturen im Thermoblock des PCR-Cyclers erzeugt. Verschiedene Proben können somit bei unterschiedlichen Annealingtemperaturen amplifiziert werden. Grundlage dieser PCR-Technik ist, dass unterschiedliche Primer verschiedene „optimale Annealingtemperaturen“ aufweisen. Durch Auswertung verschiedener Test-Gradienten-PCR Durchläufe konnten für alle Primer „optimale Annealingtemperaturen“ festgelegt werden (vgl. Abb. 22) [318].

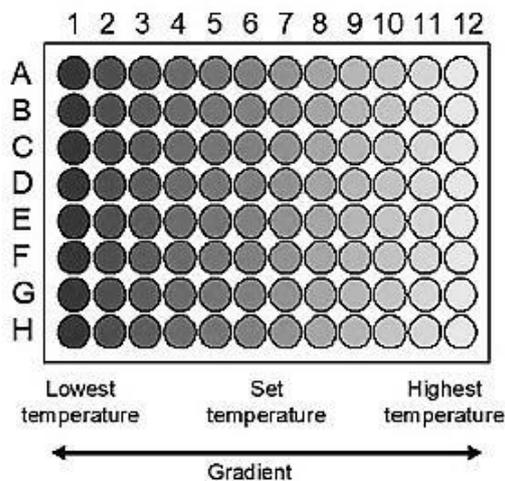


Abbildung 22: Beispielhaftes Schema einer Gradienten-PCR. Unterschiedliche Proben wurden von oben nach unten aufgetragen (Spalten A-H). Annealingtemperaturen im Thermoblock des PCR-Cyclers stiegen von links nach rechts (Reihen 1-10) [319].

2.8.3 Optimierung der Reaktionsbedingungen

Das MLST-Schema für die Typisierung von Borrelien wurde bereits in früheren Studien von Margos et al. entwickelt [111]. Daher konnten einige Reaktionsbedingungen, wie die Anzahl der PCR-Zyklen und die effektivste Elongationszeit aus entsprechenden Protokollen übernommen werden. Bei 40 PCR-Zyklen wurde die höchsten DNA-Konzentrationen bei geringsten Artefaktanzahlen erreicht. Abhängig von der Polymeraseaktivität und den Genlängen wurde die Elongationszeit auf 60 Sekunden festgelegt.

Einige weitere Optimierungen, insbesondere hinsichtlich der Primerkombinationen und Annealingtemperaturen, waren nötig.

Als Positivkontrolle wurde bei allen PCR-Durchläufen ein *B. kurtenbachii* Stamm eingesetzt, da diese Borrelienspezies in Deutschland bisher nicht nachgewiesen und im Labor des NRZ nicht verarbeitet wurde, so dass falsch positive Reaktionen unwahrscheinlich waren. Der Nachweis von *B. kurtenbachii* in anderen Proben als der Positivkontrolle wäre demnach ein Hinweis auf eine Laborkontamination gewesen. Bei negativem PCR-Ergebnis der Positivkontrolle war eine Laborkontamination unwahrscheinlich und es konnte von einem Prozessfehler ausgegangen werden.

2.8.3.1 Primerkombinationen und Annealingtemperaturen

Die optimalen Primerkombinationen und Annealingtemperaturen wurden in mehreren Versuchen mit Hilfe von Gradienten-PCR-Durchläufen ermittelt.

Die Gradienten-PCR wurde in 40 Zyklen mit einem Reaktionsansatz von 20 µl (vgl. Tab. 10) bei Annealingtemperaturen von 60 - 48 °C durchgeführt (vgl. Tab. 9).

Alle inner und outer primer der acht housekeeping Gene wurden zunächst im Verhältnis 1:20 mit doppeltdestilliertem, RNase freiem Wasser (Ampuwa, Fresenius, Kabi, Bad Homburg, Deutschland), von 100 pmol auf 5 pmol verdünnt. Anschließend wurden die Primerkombinationen (i) inner forward / inner reverse, (ii) outer forward / inner reverse (iii) outer forward / outer reverse und (iv) inner forward / outer reverse für alle acht housekeeping Gene getestet.

Aufgrund der großen Anzahl mittels MLST typisierter Stämme wurden keine einzelnen Röhren, sondern mehrere PCR-Platten (Twin tec PCR Plates 96, Eppendorf, Hamburg, Deutschland) verwendet. Diese wurden nach Zupipettieren des PCR-Ansatzes mit selbstklebenden Alufolien fest verschlossen und für 60 Sekunden bei 3220 x g (4000 rpm) zentrifugiert (Centrifuge 5810R, Eppendorf, Hanau, Deutschland). Beim Einlegen der Platten in den Eppendorf PCR Cycler (Mastercycler nexus gradient, Eppendorf, Hamburg, Deutschland) wurde darauf geachtet, dass die Platten fest in der Halterung lagen.

Der initiale Schritt (Aktivierung) der Gradienten-PCR dient vor allem der Aktivierung der HotStarTaq-Polymerase. Denn dieses Enzym liegt bei Raumtemperatur in inaktivem

Zustand vor. Der letzte Schritt (final extention) der Gradienten-PCR stellt sicher, dass alle DNA-Stränge fertig amplifiziert werden (vgl. Tab. 9).

Tabelle 9: Gradienten-PCR Protokoll zur Optimierung der Primerkombinationen und Annealingtemperaturen

1. Aktivierung	95 °C	15 Minuten	Initial
2. Denaturierung	94 °C	15 Sekunden	
3. Annealing	60 – 48 °C	30 Sekunden	40 Zyklen
4. Elongation	72 °C	60 Sekunden	
5. Final Extention	72 °C	5 Minuten	
6. Temperatur halten	12 °C	-	-

2.8.3.2 Touchdown-PCR zur Sensitivitäts- und Spezifitätstestung

Die Testung von Sensitivität und Spezifität der optimierten Primerkombinationen erfolgte mittels der Touchdown-PCR. Dabei wurden die Primerkombinationen bei unterschiedlichen DNA-Konzentrationen getestet, um Aussagen zur Sensitivität machen zu können. Die Konzentrationen der Test-DNA (*B. kurtenbachii*) waren hierfür 0,5 ng / μ l, 0,05 ng / μ l und 0,005 ng / μ l. Um eine Aussage zur Spezifität der Primerbindungen zu erhalten, wurde eine Touchdown-PCR aller vier Primerkombinationen der acht Gene bei Annealingtemperaturen von 58 – 50 °C durchgeführt.

2.8.4 PCR-Protokolle

Die Amplifikation von Borrelien-DNA aus Patientenisolaten und Zecken erfolgte für alle Gene außer *recG* mittels toudown-PCR (vgl. Tab. 10-13), da anhand dieser Technik die besten Ergebnisse im Hinblick auf DNA-Ausbeute, Sensitivität und Spezifität erreicht wurden. Da die Primer des housekeeping Gens *recG* nur bei 55 °C Annealingtemperatur optimal binden können, wurde diese Annealingtemperatur für allen *recG*-PCR Zyklen beibehalten. Die DNA-Konzentration lag für alle PCR-Reaktionen bei 0,5 ng / μ l, damit nach Aufreinigung der PCR-Produkte noch genügend DNA für Sequenzierungen übrig blieb.

Tabelle 10: PCR-Ansatz für 20 µl /30 µl. * Primerkombinationen der klassischen PCR und des ersten Durchlaufs der (semi-/) nested PCR: outer forward / outer reverse (zweiter Durchlauf: genabhängig, vgl. 2.8.4.1 nested und seminested PCR)

PCR Ansatz für 20 µl (30 µl):

10 µl (15 µl)	Master Mix (HotStarTaq Master Mix, Qiagen, Hilden, Deutschland, beinhaltet HotStarTaq, Magnesiumchlorid, Desoxyribonukleotide und Puffer)
4 µl (6 µl)	Doppelt destilliertes Wasser
2 µl (3 µl)	Outer/Inner forward Primer*
2 µl (3 µl)	Outer/Inner reverse Primer*
2 µl (3 µl)	DNA beziehungsweise Amplifikat des ersten PCR Durchlaufs bei (semi-/) nested PCR

2.8.4.1 Touchdown-PCR

Tabelle 11: Touchdown-PCR für *clpA*, *clpX*, *pepX*, *nifS*, *pyrG*, *rplB* und *uvrA*. * Genspezifische Annealingtemperaturen, ** temperaturabhängige Anzahl der Zyklen x, danach 40 Zyklen bei Endtemperatur

1. Aktivierung	95 °C	15 min	
2. Denaturierung	94 °C	15 sec	
3. Annealing	*	30 sec	x ** + 40 Zyklen
4. Elongation	72 °C	60 sec	
5. Final Extention	72 °C	5 min	
6. Temperatur halten	12 °C	-	

Tabelle 12: Genspezifische Annealingtemperaturen

Gen	Temperatur	Zeit
<i>clpA</i>	55 – 48 °C	30 sec /Zyklus
<i>clpX</i> , <i>nifS</i> , <i>pyrG</i> , <i>pepX</i> , <i>uvrA</i> , <i>rplB</i>	60 – 52 °C	30 sec /Zyklus
<u>alternativ:</u> <i>clpX</i> , <i>nifS</i> , <i>pyrG</i> , <i>pepX</i> , <i>uvrA</i> , <i>rplB</i> (außer <i>recG</i>)	58 – 50 °C	30 sec /Zyklus

Tabelle 13: PCR *recG*

1. Aktivierung	95 °C	15 min	
2. Denaturierung	94 °C	15 sec	
3. Annealing	55 °C	30 sec	40 Zyklen
4. Elongation	72 °C	60 sec	
5. Final Extention	72 °C	5 min	
6. Temperatur halten	12 °C	-	

2.8.4.2 Nested und seminested PCR

Borrelien-DNA aus Zecken sowie teilweise aus Patientenisolaten bei denen die DNA-Extraktion bereits länger zurücklag oder die DNA-Konzentration gering war, wurde mit Hilfe einer nested- beziehungsweise seminested PCR amplifiziert. Dabei erfolgte nach erfolgreicher Touchdown-PCR ein zweiter PCR-Durchlauf, bei dem die outer primer durch inner primer ersetzt wurden (vgl. 2.8.2.1 Nested und Seminested PCR). Statt der Ausgangs-DNA wurden dabei im zweiten PCR-Durchlauf 2 µl PCR-Produkt der ersten Reaktion als Vorlage verwendet. Für *nifS* und *rplB* konnte nur jeweils ein adäquater inner primer generiert werden. Daher wurde für diese Gene eine seminested PCR durchgeführt. Die Primerkombinationen des zweiten PCR-Durchlaufs der Gene *nifS* und *rplB* lauteten (i) outer forward / inner reverse (*nifS*) und (ii) inner forward / outer reverse (*rplB*).

2.9 Agarosegelelektrophorese

Zur Erfolgskontrolle der PCR-Reaktionen wurden Agarosegelelektrophoresen durchgeführt (vgl. Abb. 23). Somit konnte eine Aussage über die DNA-Konzentration und Qualität der PCR-Produkte getroffen werden. Anhand der Laufgeschwindigkeit im Gel konnte abgeschätzt werden, ob die PCR-Produkte die gewünschte Länge hatten.

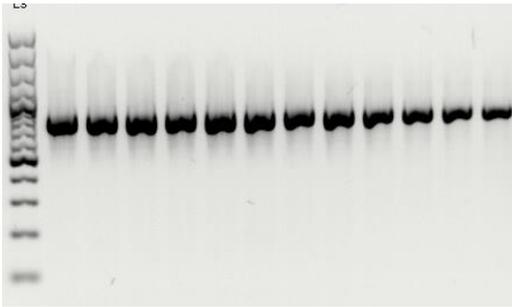


Abbildung 23: Agarosegelelektrophorese einer erfolgreichen PCR des *recG*-Gens. Links im Bild der Längenstandard von 100bp - 1kbp [Bild: Sabrina Jungnick].

Als Trägermedium der Proben wurde ein 1,5 %-iges Agarosegel angefertigt. Je nach Größe des Gels wurden 7,5-45 g Agarose (LE Agarose, Biozym, Oldendorf, Deutschland) mit 50-300 ml 1x TBE Puffer (Accugene TBE Puffer, Biozym, Oldendorf, Deutschland) vermischt und unter mehrfachem Rühren in der Mikrowelle aufgeköcht. Der Lösung wurden pro 100 ml 6 - 8 µl GelRed Nucleic acid stain (GelRed Nucleic Acid Gel Stain 10.000x in water, Biotium, Fremont, USA) als Fluoreszenzfarbstoff zugefügt. Anschließend wurde die Lösung in eine Gelkammer (Sub-Cell Model 192 Cell, Biorad, München, Deutschland; PerfectBlue Gelsystem Mini L, Peqlab, Erlangen, Deutschland) gegossen und ein Gelkamm eingesetzt, um Geltaschen für die Probenaufnahme zu erhalten. Nach dem Erkalten des Agarosegels wurden pro Geltasche 6 µl PCR-Produkt zusammen mit 2 µl 6x Orange Loading dye (6x Orange Loading dye, Thermo Scientific, Waltham, USA) aufgetragen. Als Längenstandard wurden 2 µl DNA-Längenstandard für 100bp - 1kbp (Quantitas DNA Marker, 100bp - 1kbp, Biozym, Oldendorf, Deutschland) verwendet [320]. Es wurde eine Spannung von 150 Volt für etwa 30 min angelegt. Die Visualisierung der DNA im Gel erfolgte mit Hilfe eines UV-Dokumentationssystems (Basic imaging system, LTF Labortechnik, Wasserburg, Deutschland), wobei Bilder mittels der BioCapt-Software ausgewertet wurden (vgl. Abb. 23) [321].

2.10 Aufreinigung der PCR-Produkte

Vor der Sequenzierung wurden die PCR-Produkte auf zwei verschiedene Arten aufgereinigt und dabei störende Bestandteile, wie Primerreste oder dNTPs, entfernt. Bei der Wahl der Aufreinigungsmethode spielten die Konzentrationen und die biologische Herkunft der Proben eine entscheidende Rolle.

Hochkonzentrierte DNA aus Patientenisolaten wurde mit Hilfe des Enzyms ExoSAP-IT von Affymetrix (ExoSAP-IT for PCR Product clean up, Affymetrix, High Wycombe, UK) aufgereinigt. Dabei handelt es sich um ein Reagenz, welches die beiden hydrolytischen Enzyme Exonuclease I (zur Entfernung einzelsträngiger Primer und belangloser DNA-Stücke) sowie rekombinante Shrimp Alkine Phosphatase (rSAP) (zum Abbau übriger DNA-Bausteine) enthält. Um diese schnelle und einfache Methode zu nutzen, wurde die amplifizierte DNA zunächst entsprechend des LMU Sequencing Service Protocol auf eine DNA-Konzentration von 20 - 50 ng (bei einer Länge von 500 - 1000 bp) verdünnt. Anschließend wurden 2 µl ständig eisgekühltes ExoSAP-IT (ExoSAP-IT for PCR Product clean up, Affymetrix, High Wycombe, UK) mit 5 µl des PCR-Produkts vermischt.

Diese Lösung wurde im Thermocycler (Mastercycler nexus gradient, Eppendorf, Hamburg, Deutschland) für 15 min bei 37 °C inkubiert und anschließend für 15 min auf 80 °C erhitzt, um die Enzyme zu inaktivieren. Das gereinigte PCR-Produkt konnte entweder direkt zur Sequenzierung herangezogen oder bei -20 °C gelagert werden [322-326].

PCR-Produkte niedrigerer DNA-Konzentration, wie beispielsweise aus Zecken, wurden schonend mittels Proteinfällung durch Polyethylen-Glykol (PEG) (PEG 8000, Carl Roth, München, Deutschland) gereinigt [327]. PEG ist ein hydrophiles, ungeladenes Polymer, das durch Proteinaggregation zu einer reversiblen Fällung von DNA-Fragmenten führt [328]. Zunächst wurden 10 µl PCR-Produkt mit 10 µl PEG (20%), durch Vibration (Vortexmixer 7-2020, neoLab, Heidelberg, Deutschland) vermischt und anschließend bei 37 °C für 15 min inkubiert (Function line, Heraeus, Hanau, Deutschland). Nach 15-minütigem Zentrifugieren (2,500 x g, 3525 rpm) bei Raumtemperatur (Centrifuge 5810R, Eppendorf, Hanau, Deutschland) wurde der

Überstand abgekippt und verworfen. Das am Boden verbliebene Pellet wurde mit 125 µl eisgekühltem 80%-igen Ethanol gewaschen und erneut für 2 min bei 1,450 x g (2684 rpm) zentrifugiert (Centrifuge 5810R, Eppendorf, Hanau, Deutschland). Ethanolrückstände konnten nach erneutem Verwerfen des Überstands durch kurzes Offenstehen der Proben restlos verdampfen. Anschließend wurde das Pellet in 10 µl doppelt destilliertem Wasser gelöst.

2.11 DNA-Sequenzierung

DNA kann grundsätzlich anhand zweier unterschiedlicher Methoden sequenziert werden. Eine der Methoden (nach Maxam und Gilbert) basiert auf der chemischen Spaltung von DNA, während die andere Methode (nach Sanger) anhand von Enzymen erfolgt. DNA dieser Arbeit wurde nach Sanger sequenziert [329-332]. Das Grundprinzip der Sanger-Sequenzierung ist die sogenannte „Kettenabbruchsynthese“ [333]. Dabei sorgen fluoreszenzmarkierte Desoxyribonukleotide (ddNTPs) bei der Sequenzierungs-PCR für einen Abbruch der polymerisierten DNA-Kette. Es entstehen DNA-Fragmente unterschiedlicher Länge, die jeweils mit einem unterschiedlich fluoreszenzmarkierten ddNTP enden. Mittels Kapillarelektrophorese erfolgt im Anschluss eine längenabhängige Auftrennung der DNA-Fragmente. Der Fluoreszenzfarbstoff kann mittels Laser angeregt werden, wobei entsprechende Emissionen als Elektropherogramm aufgezeichnet werden. Da sich kürzere DNA-Fragmente bei der Kapillarelektrophorese schneller bewegen als längere, spiegeln die Fluoreszenzpeaks im Elektropherogramm die Positionen einzelner Basen im DNA-Strang wieder [330, 334]. Bis heute kommt der Sanger Sequenzierung aufgrund der guten Automatisierbarkeit, der hohen Ausbeute und geringer Fehlerraten eine herausragende Bedeutung zu. Daher gilt sie weiterhin, trotz neuer Techniken wie dem „next generation sequencing“ (NGS), als wichtige Standardmethode der DNA-Sequenzierung [323].

Die PCR-Produkte dieser Arbeit wurden von SourceBioscience und dem Sequenzierservice der LMU München sequenziert.

2.12 Sequenzanalyse

Sequenzen wurden sowohl grafisch als Elektropherogramm (Fluoreszenzpeaks) als auch in Form von Basencodes ausgewertet [334], wobei sich in einigen Fällen unspezifische, uneindeutige Fluoreszenzpeaks („Background“) zeigten. Derartiger Background erschwerte die automatisierte Auswertung von Sequenzen. Deshalb, und zur Differenzierung von Mischinfektionen, wurden alle Sequenzen manuell kontrolliert [330].

Um qualitativ möglichst hochwertige Sequenzen zu erhalten, wurden die Gene aller Stämme sowohl in Vorwärts- als auch in Rückwärtsrichtung sequenziert. Mittels smartgene (Smartgene Integrated Database Network System, Schweiz) konnten die beiden Sequenzelektropherogramme direkt miteinander verglichen und ausgewertet werden (vgl. Abb. 24). Waren eine oder mehrere Basen nicht eindeutig zu identifizieren, wurde der gesamte Sequenziervorgang eines Gens wiederholt.

Zecken zeigten häufig sogenannte Mischsequenzen. Diese entstanden durch Infektionen von Zecken mit mehr als nur einer Borrelienspezies / einem Borrelienstamm. In diesem Fall war eine eindeutige Zuordnung der Sequenzen zu einer Borrelienspezies / einem Borrelienstamm nicht möglich (vgl. Abb. 25). Zecken mit Mischinfektionen von Borrelien wurden von weiteren Analysen ausgeschlossen.

Eine detaillierte Vorgehensweise der Sequenzanalyse kann dem Fachartikel „Molecular Typing of *Borrelia burgdorferi*“ von Wang G, Liveris D, Mukherjee P, Jungnick S, Margos G und Schwartz I (2014) entnommen werden [335].

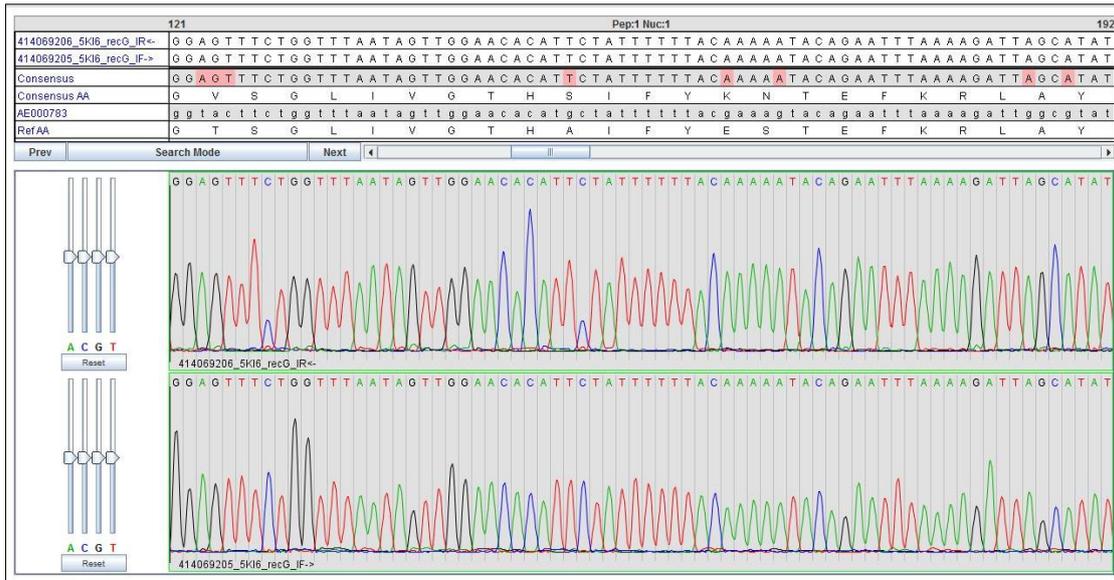


Abbildung 24: Sequenzausschnitt des *recG*-Gens. Oben im Bild der Basencode, darunter die Elektropherogramme in Rückwärts- und Vorwärtsrichtung [Bild: NRZ].

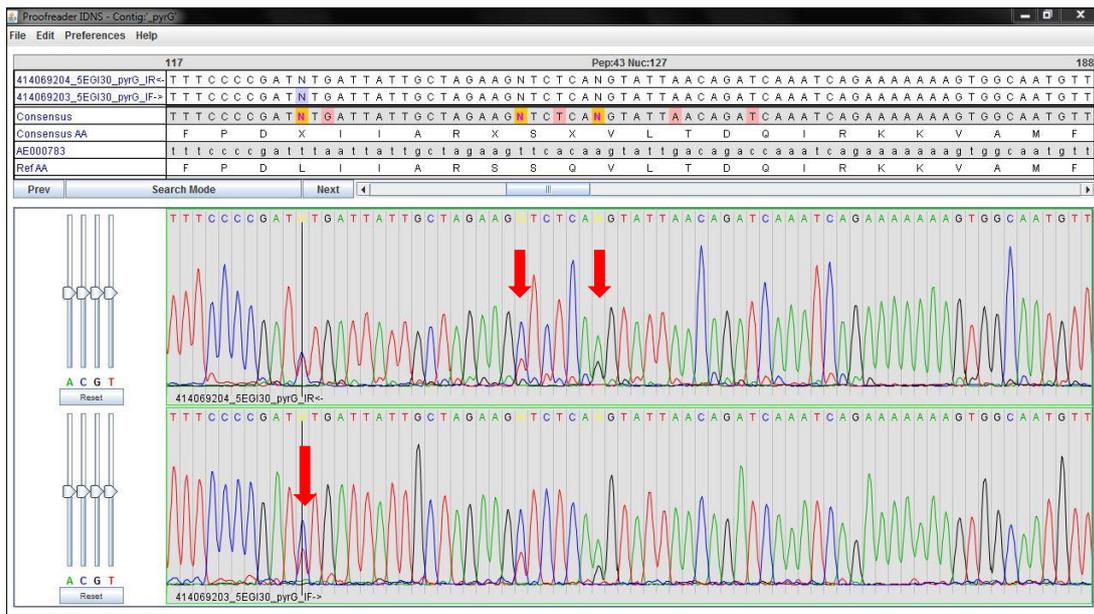


Abbildung 25: Mischinfektion im Sequenzausschnitt des *pyrG*-Gens (Pfeile markieren doppelte Basenpeaks) [Bild: NRZ].

2.13 Allel- und Sequenztypen

Anhand der Gensequenzen konnten Allel- und Sequenztypen (AT, ST) bestimmt werden (vgl. Abb. 26, 27). Hierfür wurden die Sequenzen mit bereits bekannten Alleltypen (AT) und Sequenztypen (ST) der mlst.net-Onlinedatenbank verglichen.

Nummern bereits bekannter AT und ST wurden übernommen, bisher unbekannten AT und ST wurden neue Nummern zugeteilt.

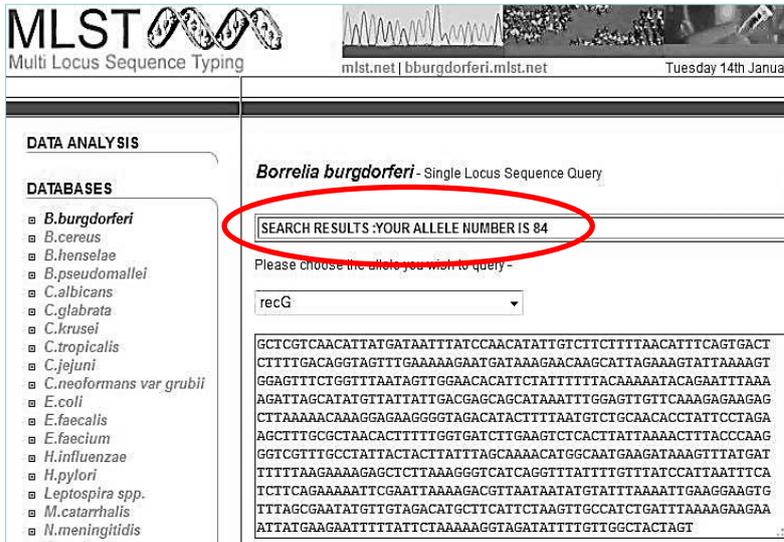


Abbildung 26: Bestimmung von AT anhand der MLST-Onlinedatenbank (AT 84, *recG*) [Bild: NRZ].

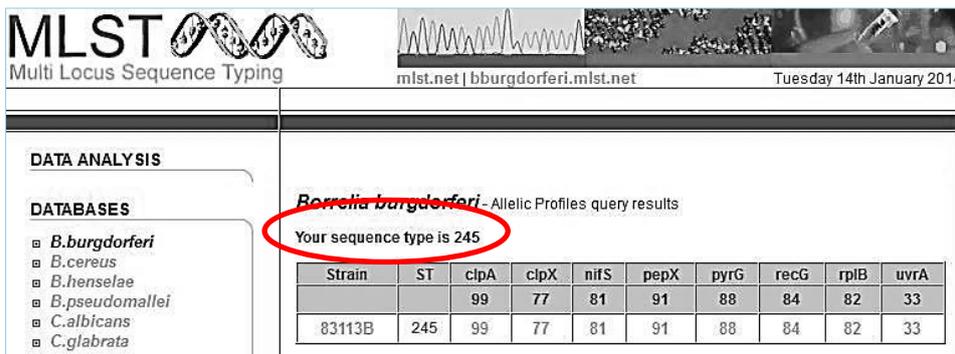


Abbildung 27: Bestimmung von ST anhand der MLST-Onlinedatenbank (ST245) [Bild: NRZ].

2.14 Klonale Komplexe

Mit Hilfe der Software Phyloviz (Version 6.2) und deren goeBURST-Algorithmus konnte ein Full Minimum Spanning Tree (FMS tree) aller ST erstellt werden. Dazu wurden die AT und ST im Softwareprogramm mit Informationen zur Herkunft, Invasivität und biologischen Quelle verknüpft. Mit der Einstellung „Triple locus variants“ (TLV) können die ST im goeBURST-Netzwerk anschließend als klonale Komplexe (CC) dargestellt werden. Als CC gruppieren sich bei TLV nur ST mit

maximal drei unterschiedlichen Allelen. Diese Anzahl unterschiedlicher Allele von ST spiegelt sich auch grafisch anhand der Farbintensität von Verbindungslinien zwischen ST wieder. Die Anzahl unterschiedlicher Allele entspricht der Enge von Verwandtschaften verschiedener ST. Je dunkler die Verbindungslinien, desto weniger Alleldifferenzen gibt es und desto enger sind ST miteinander verwandt.

2.15 Stammbäume

Mit Hilfe der Software MEGA (Version 6) wurden Stammbäume der Spezies *B. burgdorferi* s. s. und *B. afzelii* erstellt [336]. Die Darstellung von Verwandtschaftsverhältnissen erfolgte dabei anhand vollständiger Gensequenzen. Aneinandergereihte Gensequenzen („concatenated sequences“) wurden in MEGA hochgeladen. Es wurde sichergestellt, dass alle Sequenzen gleich lang waren und sich alle Basen an der richtigen Stelle befanden. Die Anzahl der „Bootstrapvalues“ wurde auf 500 festgesetzt und ein Maximum likelihood-Stammbaum erstellt. Bootstrapvalues gaben Auskunft, wie zuverlässig die Positionen von ST im Stammbaum sind. Aufgrund der großen Anzahl analysierter Stämme wurden je drei verschiedene Stammbaumabbildungen für *B. burgdorferi* s. s. und *B. afzelii* erstellt: (i) Ein rein topografischer Baum zur Übersicht von Verwandtschaftsverhältnissen, (ii) ein phylogenetischer Baum mit Maßstab für die Anzahl von Mutationen pro Position im alignment und (iii) ein topografischer Baum mit Angaben von Bootstrapvalues (vgl. Abb. 33, 38, 46-49).

2.16 Grafische Übersicht des Multilocus sequence typing

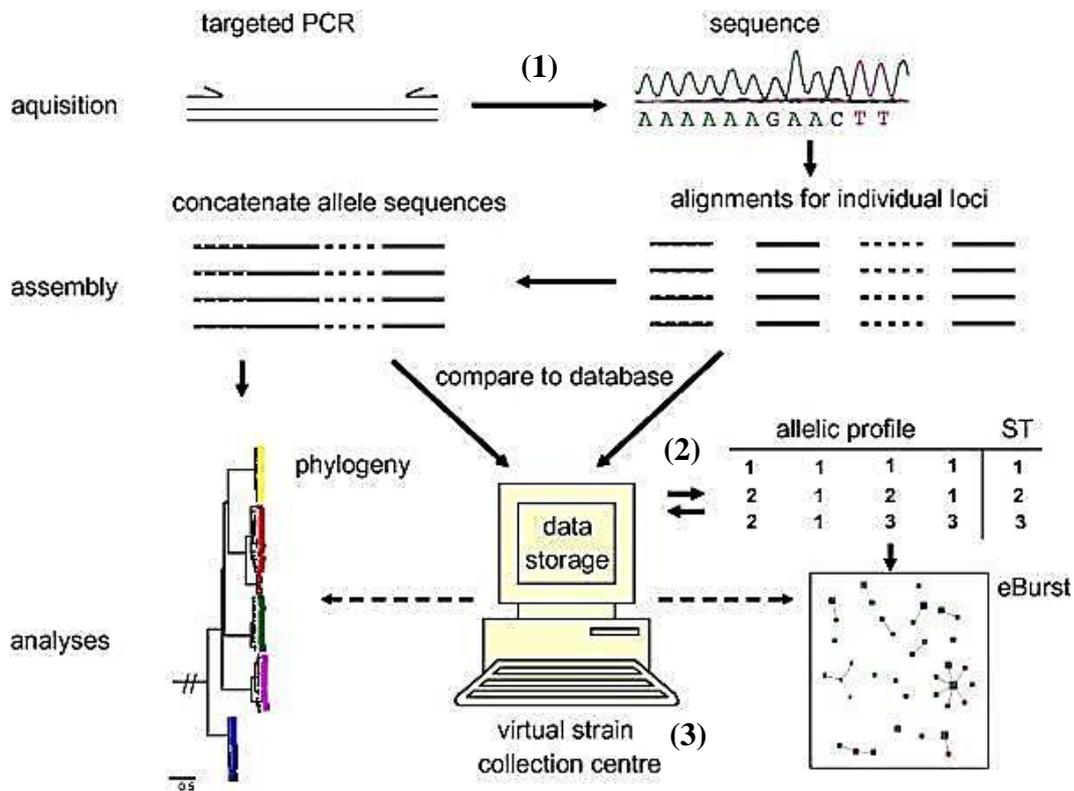


Abbildung 28: MLST im Überblick [116]. Nach erfolgreicher PCR wurden housekeeping Gene zunächst sequenziert (1). Aneinandergereihte Sequenzen der Gene ergaben im Folgenden ein allelisches Profil, aus dem wiederum entsprechende ST ermittelt werden konnten (2). Anhand von AT und ST sowie den Sequenzen selbst, konnten weitere Analysen durchgeführt und beispielsweise goeBURST-Netzwerke oder phylogenetische Bäume erstellt werden (3).

2.17 Statistik

Statistische Analysen dieser Arbeit erfolgten mit Hilfe der Programmiersprache R (Version 3.2.2) in Kombination mit RStudio (Version 0.99.486) für Microsoft Windows (R Core Team, Wien, Österreich).

Deskriptive Daten wurden mittels absoluter und relativer Häufigkeit angegeben.

Mit Hilfe von Kreuztabellen wurde zum einen die relative Häufigkeit der Infektionen bezogen auf die Invasivität (disseminiert oder lokalisiert) und zum anderen das Auftreten von Neuroborreliosen ermittelt. Eine Überprüfung der Ergebnisse auf Unabhängigkeit erfolgte mittels Chi-Quadrat-Tests (χ^2 -Tests). Ergebnisse dieser Tests wurden, unter Berücksichtigung des Signifikanzniveaus $\alpha = 0,01$ und der Freiheitsgrade $df = 1$, mittels der χ^2 -Verteilung interpretiert.

Es wurden Kreuztabellen für (i) das Auftreten disseminierter und lokalisierter Infektionen durch die Spezies *B. afzelii* und *B. burgdorferi* s. s. in Europa, (ii) das Auftreten disseminierter und lokalisierter Infektionen durch die Spezies *B. burgdorferi* s. s. in Europa und den USA sowie (iii) das Auftreten von NB bei Infektionen mit *B. burgdorferi* s. s. und *B. afzelii* erstellt.

Zwar wurden teilweise p-Werte angegeben, jedoch waren bei schließenden statistischen Auswertungen und Interpretationen potenzielle systematische Fehler zu beachten. Derartige Verzerrungseffekte der Daten wurden sorgfältig diskutiert. Es wurde entschieden, dass eine Verallgemeinerung ermittelter Zusammenhänge nur bedingt möglich ist.

3 Ergebnisse

Ziel dieser Arbeit war es, Populationsstrukturen und Pathogenitätseigenschaften von *B. burgdorferi* s. s. und *B. afzelii* zu analysieren. Darüber hinaus wurde ein interkontinentaler Vergleich der Spezies *B. burgdorferi* s. s. zwischen Europa und den USA angestrebt. Statistische Auswertungen zur Invasivität und Patientensymptomatik von *B. afzelii* und *B. burgdorferi* s. s. wurden erhoben, wobei ein besonderes Augenmerk auf der klinischen Manifestation NB lag.

3.1 Patientenisolat und Zecken aus Europa und den USA

Insgesamt wurden in dieser Arbeit 927 *B. burgdorferi* s. s. und *B. afzelii* Stämme analysiert (vgl. Tab. 14).

Tabelle 14: Analytierte *B. burgdorferi* s. s. und *B. afzelii* Stämme aus Europa und den USA

Spezies	Patientenisolat [n]	Zecken [n]	Gesamtanzahl [n]
<i>B. burgdorferi</i> s. s.	178	501	679
<i>B. afzelii</i>	130	118	248

Frau Dr. Overzier (Lehrstuhl für Vergleichende Tropenmedizin und Parasitologie der Ludwig-Maximilians-Universität in München, Deutschland) stellte dem NRZ insgesamt 500 Zecken aus dem Großraum München zur Verfügung. 484 Zecken wiesen beim Screening mittels *hbb*-RTD-PCR eine Borrelieninfektion auf, wovon 64 Zecken mit *B. burgdorferi* s. s. infiziert waren (vgl. Abb. 29). 43 der 484 Zecken trugen DNA von mehr als nur einer Borrelienspezies in sich (Mischinfektionen). Aufgrund von Mischinfektionen und zu geringer DNA-Konzentrationen konnten insgesamt nur 23 von 64 *B. burgdorferi* s. s. Zecken erfolgreich mittels MLST typisiert werden.

Verteilung von Borrelienspezies in Zecken aus Süddeutschland [%]

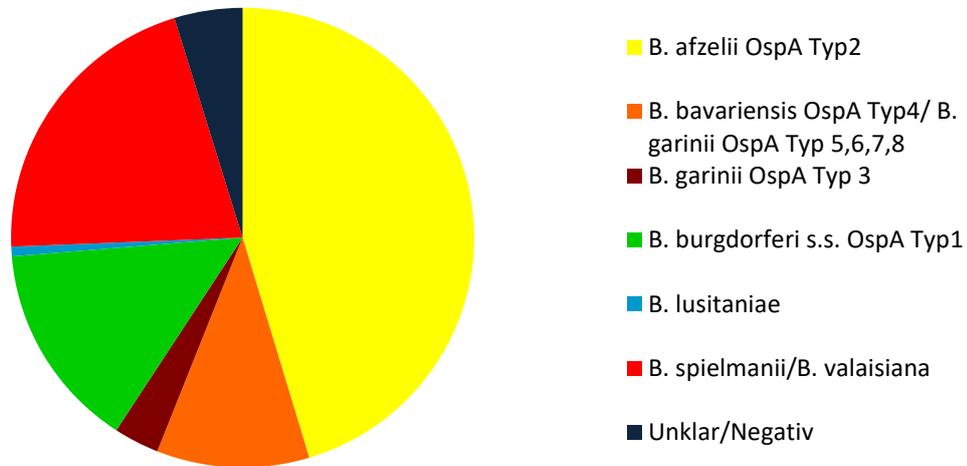


Abbildung 29: Verteilung unterschiedlicher Borrelienspezies in 484 mittels *hbb*-RTD-PCR analysierten Zecken aus Süddeutschland. *B. bavariensis* und *B. garinii* sowie *B. spielmanii* und *B. valaisiana* konnten mittels dieser Typisierungsmethode nicht differenziert werden.

3.2 Art der Infektion beim Patienten

Die Art der Infektion beim Patienten wurde analog zu bereits veröffentlichten Studien definiert (vgl. Hanincova et al. 2013) [302]. Demnach galt ein einzelnes EM als lokalisierte Infektion, während MEM und andere systemische Manifestationen als disseminierte Infektionen definiert wurden.

Tabelle 15: Art der *B. burgdorferi* s. s. und *B. afzelii* Infektion bei Patienten in Europa.
* Ohne PFheII und PKifII, ** inklusive aller *B. afzelii* Stämme der Stammsammlung des NRZ

Art der Infektion	<i>B. burgdorferi</i> s. s.*	<i>B. afzelii</i> **
Disseminiert (davon NB)	27 (17)	48 (17)
Lokalisiert	2	67
Keine Angabe	2	12

Tabelle 16: Art der *B. burgdorferi* s. s. Infektion bei Patienten in den USA

Art der Infektion	<i>B. burgdorferi</i> s. s.*
Disseminiert (davon NB)	61 (0)
Lokalisiert	65
Keine Angabe	19

3.3 Häufigste *Borrelia burgdorferi* sensu stricto ST in Patientenisolaten und Zecken aus Europa

Es zeigte sich eine deutliche Diskrepanz zwischen ST in Zecken und Patientenisolaten aus Europa (vgl. Tab. 17, 18). Lediglich ST20 der Spezies *B. burgdorferi* s. s. und ST347 der Spezies *B. afzelii* wurden häufig sowohl in Patientenisolaten als auch in Zecken nachgewiesen.

Tabelle 17: Häufige ($n > 4$) *B. burgdorferi* s. s. ST in Europa

Sequenztyp	Anzahl der Stämme [n]	Biologische Quelle
ST1	14	Patienten
ST20	11	
ST20	18	Zecken
ST284	5	

Tabelle 18: Häufige ($n > 4$) *B. afzelii* ST in Europa

Sequenztyp	Anzahl der Proben [n]	Biologische Quelle
ST71	18	Patienten
ST462	6	
ST347	5	
ST164	13	Zecken
ST250	5	
ST263	5	
ST347	5	

3.4 Neu identifizierte Sequenztypen in Europa

In dieser Arbeit konnten einige neue, bisher nicht veröffentlichte ST und AT der Spezies *B. burgdorferi* s. s. und *B. afzelii* identifiziert werden (vgl. Tab. 19, 20).

3.4.1 *Borrelia burgdorferi sensu stricto*

Die analysierten, mit *B. burgdorferi* s. s. infizierten, Zecken ergaben fünf neue ST sowie fünf neue AT. Die neuen ST wurden in aufsteigender Reihenfolge als ST588 bis ST592 benannt und der MLST-Onlinedatenbank hinzugefügt.

Tabelle 19: Neue *B. burgdorferi* s. s.-Alleltypen aus Zecken

Stamm	Gen	Neues Allel	ST
6BIII295	pyrG	168	588
6DI63	pepX	162	589
4NIII47	clpX	151	590
4BII44	pyrG	169	591
5NA111	nifS	136	592

Bei der Typisierung von 33 *B. burgdorferi* s. s. Patientenisolaten konnten keine neuen AT oder ST nachgewiesen werden.

3.4.2 *Borrelia afzelii*

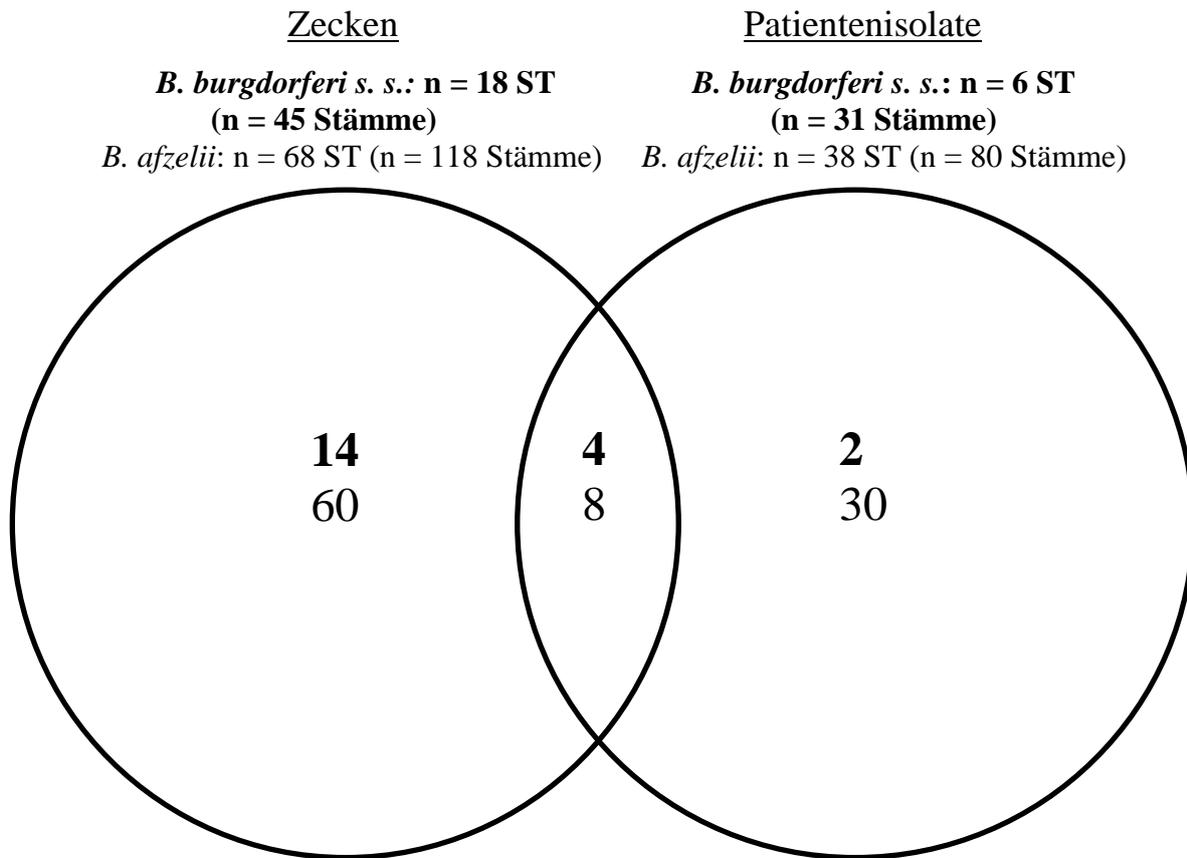
Die Analyse von Patientenisolaten der Spezies *B. afzelii* ergab 24 neue, erstmals in dieser Arbeit beschriebene ST. Diese wurden in aufsteigender Reihenfolge als ST458 bis ST480 sowie ST554 benannt und ebenfalls der MLST-Onlinedatenbank hinzugefügt. Darüber hinaus konnten sieben neue AT der Spezies *B. afzelii* nachgewiesen werden.

Tabelle 20: Neue *B. afzelii*-Alleltypen aus Patientenisolaten

Stamm	Gen	Neues Allel	ST
PBra	recG	164	560
PMar	clpA	181	468
PSch	recG	165	477
Pre	clpX	145	473
PDoe	nifS	132	471
PWi	recG	166	475
PTha	pyrG	163	474

3.5 Vergleich von Sequenztypen aus Patientenisolaten und Zecken

Gemeinsamkeiten und Unterschiede von *B. burgdorferi* s. s. und *B. afzelii* ST aus Zecken und Patientenisolaten wurden in einem Venn-Diagramm veranschaulicht (vgl. Abb. 30). Eine detaillierte Liste von *B. burgdorferi* s. s. und *B. afzelii* ST, die sowohl in Patientenisolaten als auch in Zecken aus Europa nachgewiesen werden konnten, befindet sich im Anhang (Tab. 35).

B. burgdorferi s. s.*B. afzelii*

Gesamtanzahl nachgewiesener ST in Patientenisolaten und Zecken aus Europa

***B. burgdorferi s. s.*: n = 20 ST (Anzahl Stämme gesamt: n = 76)**

B. afzelii: n = 98 ST (Anzahl Stämme gesamt: n = 198)

Abbildung 30: Venn-Diagramm der *B. burgdorferi s. s.* und *B. afzelii* ST in Patientenisolaten und Zecken aus Europa.

Vier *B. burgdorferi s. s.* ST wurden sowohl in Zecken als auch in Patientenisolaten aus Europa gefunden. Insgesamt konnten 20 verschiedene europäische *B. burgdorferi s. s.* ST identifiziert werden.

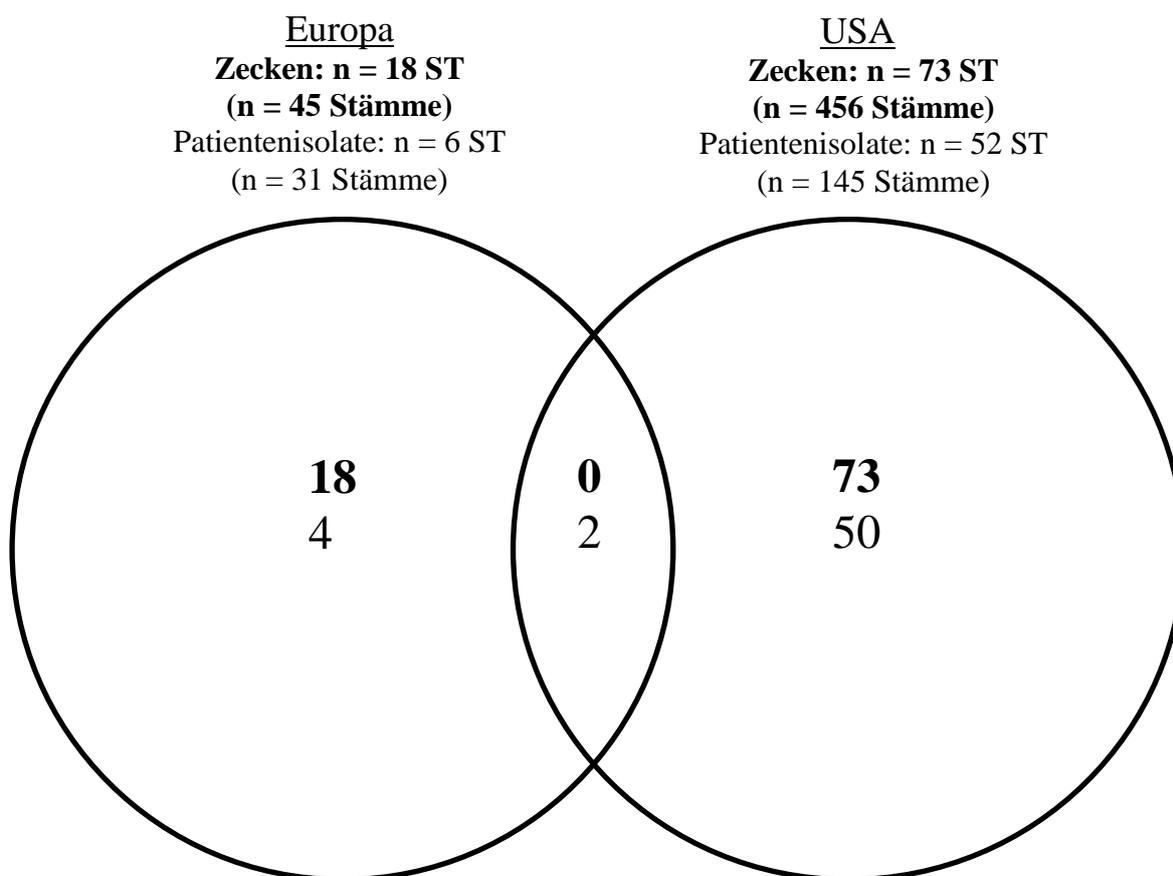
Acht *B. afzelii* ST wurden sowohl in Zecken als auch in Patientenisolaten aus Europa gefunden. Es konnten insgesamt 98 verschiedene europäische *B. afzelii* ST identifiziert werden.

3.6 Vergleich von *Borrelia burgdorferi* sensu stricto Sequenztypen in Europa und den USA

Ein Vergleich von ST der Spezies *B. burgdorferi* s. s. in Europa und den USA ergab lediglich zwei gemeinsame ST (ST1 und ST3) in Patientenisolaten. In Zecken konnten keine gemeinsamen ST nachgewiesen werden (vgl. Abb. 31).

Zecken

Patientenisolate



B. burgdorferi s. s. ST in Patientenisolaten und Zecken aus Europa und den USA:

Patientenisolate: n = 56 ST (Anzahl der Patientenisolaten gesamt: n = 176)

Zecken: n = 91 ST (Anzahl der Stämme aus Zecken gesamt: n = 501)

Abbildung 31: Venn-Diagramm der *B. burgdorferi* s. s. ST in Patientenisolaten und Zecken aus Europa und den USA.

Insgesamt konnten unter Berücksichtigung gemeinsamer ST beider Kontinente (n = 2), 112 verschiedene *B. burgdorferi* s. s. ST identifiziert werden (vgl. Tab. 21).

Tabelle 21: Nachgewiesene *B. burgdorferi* s. s. ST in Patientenisolaten und Zecken aus Europa und den USA

Geographische Herkunft	<i>B. burgdorferi</i> s. s. ST [n]	Stämme [n]
Europa	20	76
USA	94	601

3.7 Populationsstruktur und Invasivität von *Borrelia burgdorferi sensu stricto*

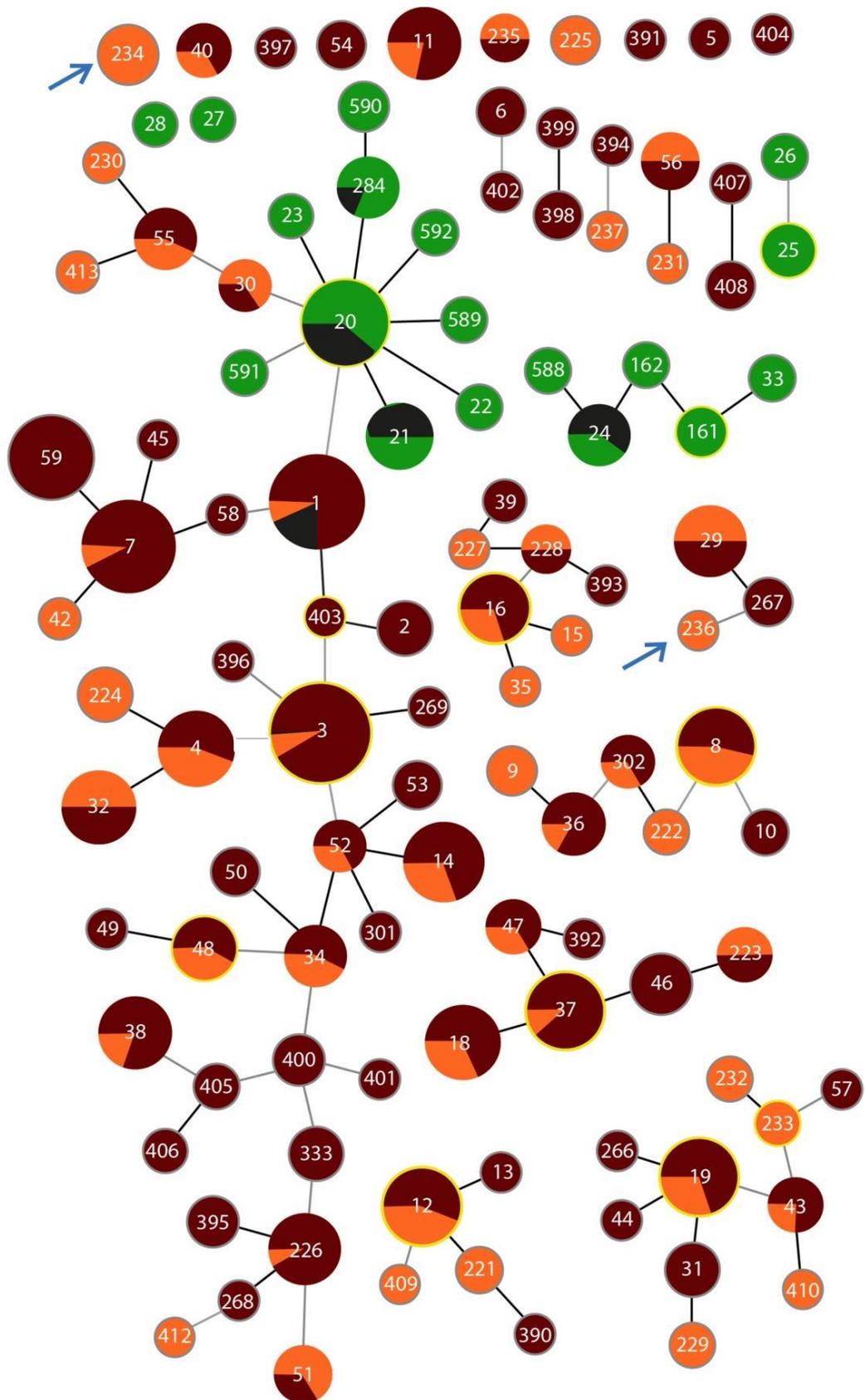
In dieser Arbeit wurden 679 mit *B. burgdorferi* s. s. infizierte Patientenisolate und Zecken aus Europa (n = 78 Stämme, inkl. PKIFII und PFheII) und den USA (n = 601 Stämme) analysiert. Von insgesamt 112 verschiedenen ST dieses Kollektivs waren 50 ST nur als Einzelisolate (Singletons, S) vorhanden. Weitere 62 ST konnten in mindestens zwei oder mehr Patientenisolaten und / oder Zecken nachgewiesen werden.

3.7.1 goeBURST-Netzwerk

Mit Hilfe der Software Phyloviz (Version 6.2) und deren goeBURST-Algorithmus wurde ein „Full Minimum spanning tree“ (FMS tree) erstellt (vgl. Abb. 32). Der FMS tree enthielt neben Informationen zum geographischen Herkunftsort (Europa oder USA) auch Informationen zur biologischen Quelle (Mensch oder Zecke). Die Anzahl der ST wurde grafisch in Form von unterschiedlichen Durchmesser der Kreise im Diagramm erfasst.

	USA	biologische Quelle: Zecke (n= 456)
	USA	biologische Quelle: Patientenisolat (n=145)
	Europa	biologische Quelle: Zecke (n= 45)
	Europa	biologische Quelle: Patientenisolat (n=33)

Abbildung 32: geoBURST-Netzwerk aller *B. burgdorferi* s. s. Zecken und Patientenisolate aus Europa und den USA. Verwandtschaftsverhältnisse wurden als TLV (Triple locus variants) dargestellt. Pfeile markieren potenzielle Rekombinationsereignisse.



3.7.2 Klonale Komplexe

ST zeigten sich unter der Einstellung von TLV nur dann als klonale Komplexe (CC), wenn sie sich in maximal drei Allelen unterschieden. ST mit weniger als fünf gemeinsamen Allelen wurden dementsprechend als Singletons dargestellt (vgl. Abb. 32). Die Population von 679 analysierten *B. burgdorferi* s. s. Stämmen ergab acht „major clonal complexes“ (CC), sechs „minor CC“ und 12 Singletons (vgl. Tab. 22). Die major CC bestanden aus mindestens drei ST. Die Nomenklatur der CC richtete sich nach den potenziellen Ursprungs-ST, insofern diese identifiziert werden konnte. Die Vermutung, es handle sich um einen Ursprungs ST lag nahe, wenn sich von einem bestimmten ST viele verwandte ST (SLV, DLV) abspalteten. Konnte kein eindeutiger Ursprungs-ST identifiziert werden, wurden entsprechende CC nach beliebigen ST benannt.

Tabelle 22: Klonale Komplexe der Spezies *B. burgdorferi* s. s.

Major clonal complexes	Minor complexes	Anzahl Singletons [n]
CC3	CC6	12
CC8	CC25	
CC12	CC56	
CC16/228	CC237	
CC19	CC399	
CC24	CC407	
CC37		
CC267		

Im goeBURST-Netzwerk zeigte sich eine Gruppierung europäischer ST inmitten des großen klonalen Komplexes CC3 (vgl. Abb. 32). Dieser enthielt sonst vor allem ST aus den USA. ST20 aus Europa zeigte sich als TLV von ST1. ST1 und ST3 konnten sowohl in Patientenisolaten aus Europa als auch aus den USA nachgewiesen werden. Beide ST waren aber bisher nicht in europäischen Zecken zu finden.

3.7.3 Verwandtschaftsverhältnisse und Humanpathogenität

ST aus Europa und den USA wiesen überwiegend engere Verwandtschaftsverhältnisse zu ST der gleichen geographischen Region auf, als zu ST des anderen Kontinents. Verwandtschaftsverhältnisse zeigten sich im goeBURST Netzwerk anhand der Anzahl unterschiedlicher AT zwischen zwei ST. Grafisch war dies an unterschiedlichen Farbtintensitäten der Verbindungslinien zweier ST erkennbar (vgl. Abb. 32).

ST1 konnte in 14 Patientenisolaten, aber bisher nicht in Zecken aus Europa nachgewiesen werden. Bis auf diese Ausnahme waren keine weiteren ST abgrenzbar, die in repräsentativer Anzahl ausschließlich in Zecken **oder** Patientenisolaten vorkamen.

3.7.4 Stammbaumanalyse

Mit Hilfe der Software MEGA (Version 2) wurde ein Maximum likelihood-Stammbaum mit Bootstrapping aller *B. burgdorferi* s. s. ST erstellt (vgl. Abb. 33). Grundlage für die Berechnung von Verwandtschaften bildeten aneinandergereihte Sequenzen der acht housekeeping Gene. Ein Stamm der Spezies *B. afzelii* wurde als sogenannte „outgroup“ eingefügt, um den Baum zu verwurzeln. Dadurch konnten neben Verwandtschaftsverhältnissen auch mögliche ST-Vorfahren abgegrenzt werden. Aus Übersichtsgründen wurden verschiedene Grafiken erstellt. Ein phylogenetischer Baum mit Maßstab sowie ein phylogenetischer Baum mit Bootstrap Werten (> 50 %) befinden sich im Anhang (vgl. Abb. 46, 47). Für weitere Analysen wurde ein übersichtliches, rein topografisches Kladogramm gewählt (vgl. Abb. 33).

Symbolerläuterungen des Kladogramms:

Biologische Quelle: nur in Patientenisolaten (Quadrat), nur in Zecken (Kreis), sowohl in Patientenisolaten als auch in Zecken (Dreieck).

Geographische Herkunft: Europa (rotes Symbol), USA (schwarzes Symbol), sowohl aus Europa als auch den USA (oranges Symbol).

Art der Infektion zum Zeitpunkt der Materialentnahme: disseminierte Infektion (rote Schrift), lokalisierte Infektion (grüne Schrift), sowohl lokalisierte als auch disseminierte Infektionen (braune Schrift), keine Angabe (graue Schrift). ST aus Zecken (schwarze Schrift). Sowohl in Patientenisolaten als auch in Zecken nachgewiesene ST: Art der Infektion beim Patienten determiniert die Schriftfarbe. ST in Patienten mit disseminierter und nicht näher bezeichneten Infektionen (keine Angabe): disseminierte Infektion determiniert die Schriftfarbe.

Mittels PhyloViz identifizierte CC wurden mit Klammern gekennzeichnet (vgl. Abb. 32).

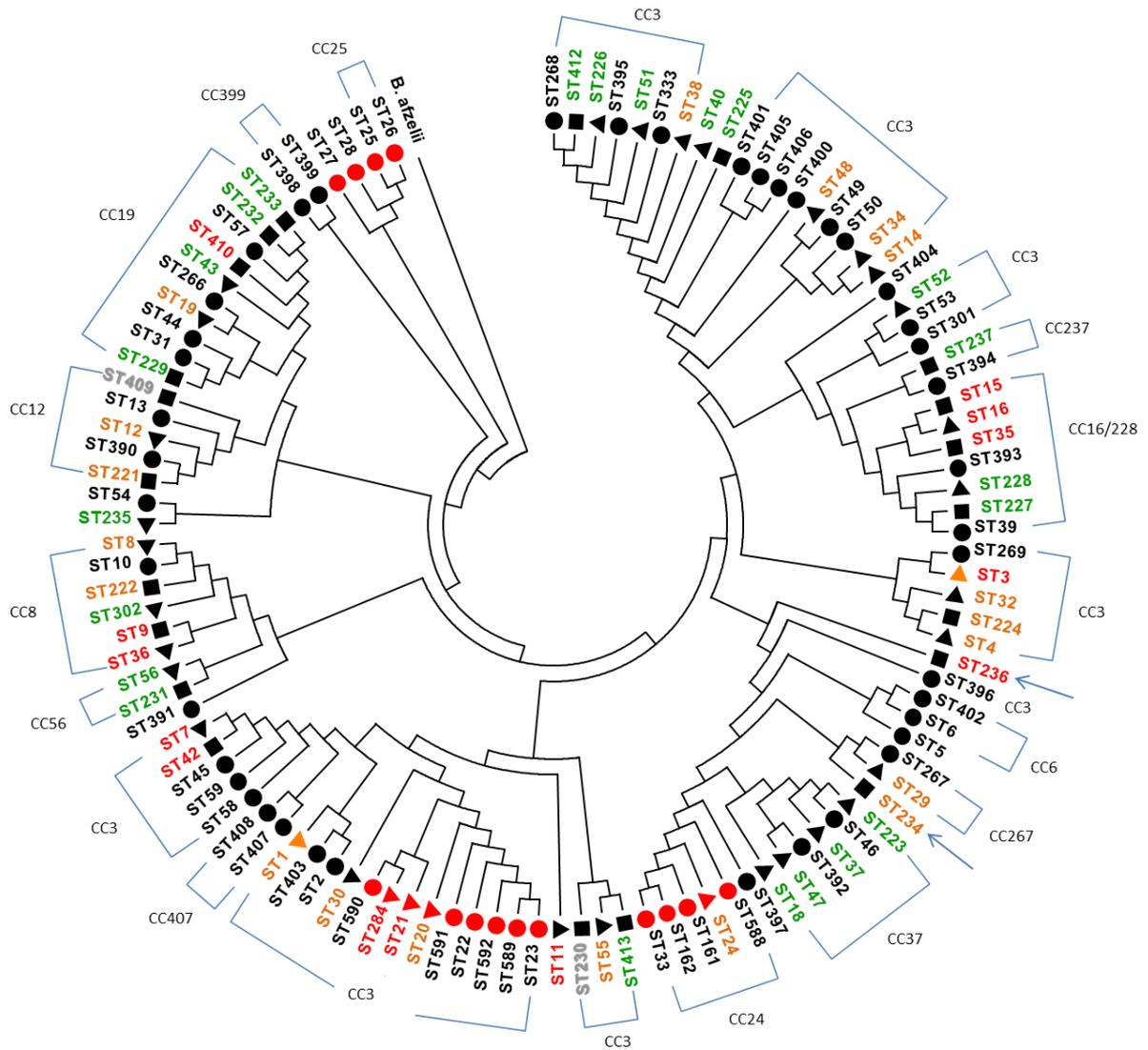


Abbildung 33: Kladogramm aller 112 *B. burgdorferi* s. s. ST von Patientenisolaten und Zecken (n = 679) aus Europa und den USA. Potenzielle Rekombinationsereignisse wurden mit Pfeilen markiert.

3.7.4.1 Evolutionäre Beziehungen

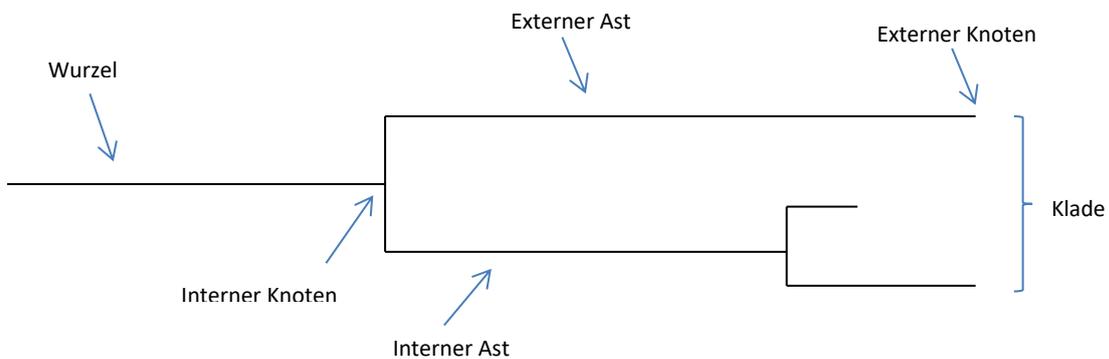


Abbildung 34: Nomenklatur von Stammbäumen.

Vom hypothetischen Vorfahren („erster interner Knoten“) der Spezies *B. burgdorferi* s. s. grenzten sich zunächst ST25-ST28 von allen übrigen Kladen ab (vgl. Abb. 33). Diese drei ST wiesen im Sequenzalignement eine Insertion von drei Basen (GTT) an den Positionen 2647-2649 auf. Die gesamte Gensequenz von ST25-ST28 verlängerte sich entsprechend auf 4788 Basen. Alle anderen ST lagen im Stammbaum sehr nahe beieinander. Trotzdem waren einzelne Kladen wie ST233-ST235, ST8-ST391 und weitere abgrenzbar. Der Maßstab des phylogenetischen Baums zeigte 0,01 Substitutionen pro Position im alignment (vgl. Abb. 47). In Zusammenschau mit der grafischen Darstellung des Stammbaums konnten allgemein enge Verwandtschaftsverhältnisse und eine insgesamt geringe Anzahl von Mutationen vermutet werden. Die Präzision der Positionen im Stammbaum wurde anhand von Bootstrapwerten berechnet (vgl. Abb. 46). Im *B. burgdorferi* s. s. Stammbaum betrug die Bootstrapwerte sowohl für externe, als auch für interne Knoten oft über 50 % und in vielen Fällen sogar über 90 %. Ein eindeutiger Unterschied zwischen externen und internen Knoten ließ sich diesbezüglich nicht ableiten. Insgesamt galten Stammbaumpositionen erst bei Bootstrapwerten von über 50 % als relativ zuverlässig. Europäische *B. burgdorferi* s. s. ST grenzten sich als eindeutige Kladen im MEGA-Stammbaum ab (vgl. Tab. 23).

Tabelle 23: Kladen europäischer *B. burgdorferi* s. s. ST im Stammbaum

<i>B. burgdorferi</i> s. s. ST aus Europa	ST162 - ST588
	ST25 - ST26
	ST23 - ST590

3.7.4.2 Rekombination und Clusterunterschiede

Die Mehrheit der CC des goeBURST-Netzwerkes zeigten sich auch im MEGA-Stammbaum als eindeutige Cluster (vgl. Abb. 33). Andere ST hingegen gruppierten sich im Stammbaum weniger eindeutig. Die Positionen von ST im MEGA-Stammbaum basierten auf der Anzahl von Mutationen. Bei horizontalem Genaustausch und Rekombination kam es zum gleichzeitigen Austausch einer Vielzahl von Basen, woraufhin sich die Position im Stammbaum deutlich veränderte. ST lagen dann fälschlicherweise zu weit von verwandten ST entfernt. Die Lokalisation von ST im

goeBURST-Netzwerk ergab sich anhand unterschiedlicher AT. Bei Rekombination eines ganzen Genabschnitts änderte sich daher nur ein einzelnes Allel und ST gruppierten sich im goeBURST-Netzwerk weiterhin in der Nähe ihrer ursprünglichen (hypothetischen) Verwandten. Rekombinationsereignisse konnten demnach vermutet werden, wenn die Position eines ST im MEGA-Stammbaum deutlich von der im goeBURST-Netzwerk abwich. Beispiele möglicher Rekombinationen waren ST1, ST3 und ST20 im größten klonalen Komplex CC3 sowie ST234/ST236 im CC267 (vgl. Abb. 32, 33). Im MEGA-Stammbaum konnten Klade europäischer ST eindeutig von ST Klade aus den USA abgegrenzt werden.

3.7.5 Invasivität

B. burgdorferi s. s. verursachte in Europa mit einer relativen Häufigkeit von 93 % häufiger invasive Krankheitsverläufe als rein lokale Manifestationen (relative Häufigkeit lokaler Manifestationen: 7 %) (vgl. Abb. 35).

Invasivität von *B. burgdorferi* s. s. in Europa [%]

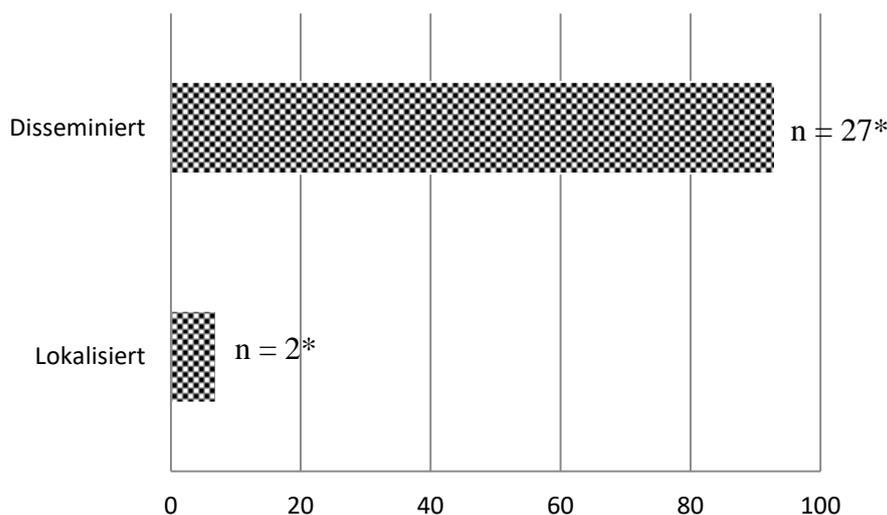


Abbildung 35: Disseminierte und lokalisierte Infektionen der Spezies *B. burgdorferi* s. s. in Europa (n = 29 Patienten). Patienten ohne genaue Angabe zur Manifestation oder Art der Infektion (n = 2) gingen nicht in die Grafik ein. *Absolute Anzahl [n].

Mit einer relativen Häufigkeit von 63 % manifestierten sich disseminierte Infektionen der Spezies *B. burgdorferi* s. s. meist als Neuroborreliosen.

Disseminierte Infektionen der Spezies *B. burgdorferi* s. s. [%]

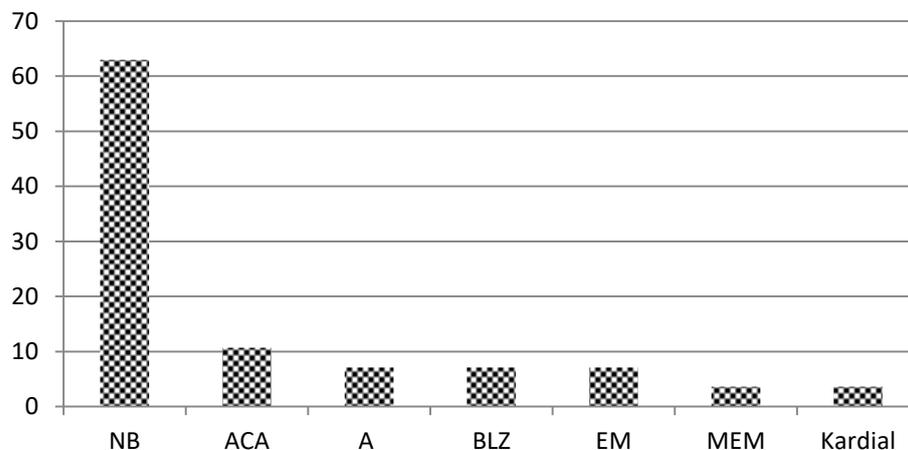


Abbildung 36: Manifestationen disseminierter *B. burgdorferi* s. s. Infektionen in absteigender Häufigkeit.

Aufgrund zu geringer Isolatanzahlen konnten keine statistischen Analysen zur Invasivität einzelner *B. burgdorferi* s. s. ST erhoben werden. Mit 93 % (ST1) und 82 % (ST20) wurden ST1 und ST20 vor allem in Patienten mit disseminierten Manifestationen nachgewiesen (vgl. Tab. 24). ST21 und ST24 wurden ausschließlich in jeweils zwei Patienten mit disseminierten Manifestationen gefunden. In rein deskriptive Auswertungen zur Invasivität einzelner ST wurden nur ST einbezogen, die in mindestens zwei Patientenisolaten gefunden wurden. Statistisch eindeutige Aussagen hinsichtlich der Invasivität einzelner *B. burgdorferi* s. s. ST konnten nicht getroffen werden.

Tabelle 24: Invasivität einzelner *B. burgdorferi* s. s. ST in Europa (n = 29, nachgewiesen in mindestens 2 Patientenisolaten)

Sequenztyp	disseminierte Infektionen [n]	lokalisierte Infektionen [n]	Gesamtanzahl Isolate
ST1	13	1	14
ST20	9	2	11
ST21	2	-	2
ST24	2	-	2

3.8 Populationsstruktur und Invasivität von *Borrelia afzelii*

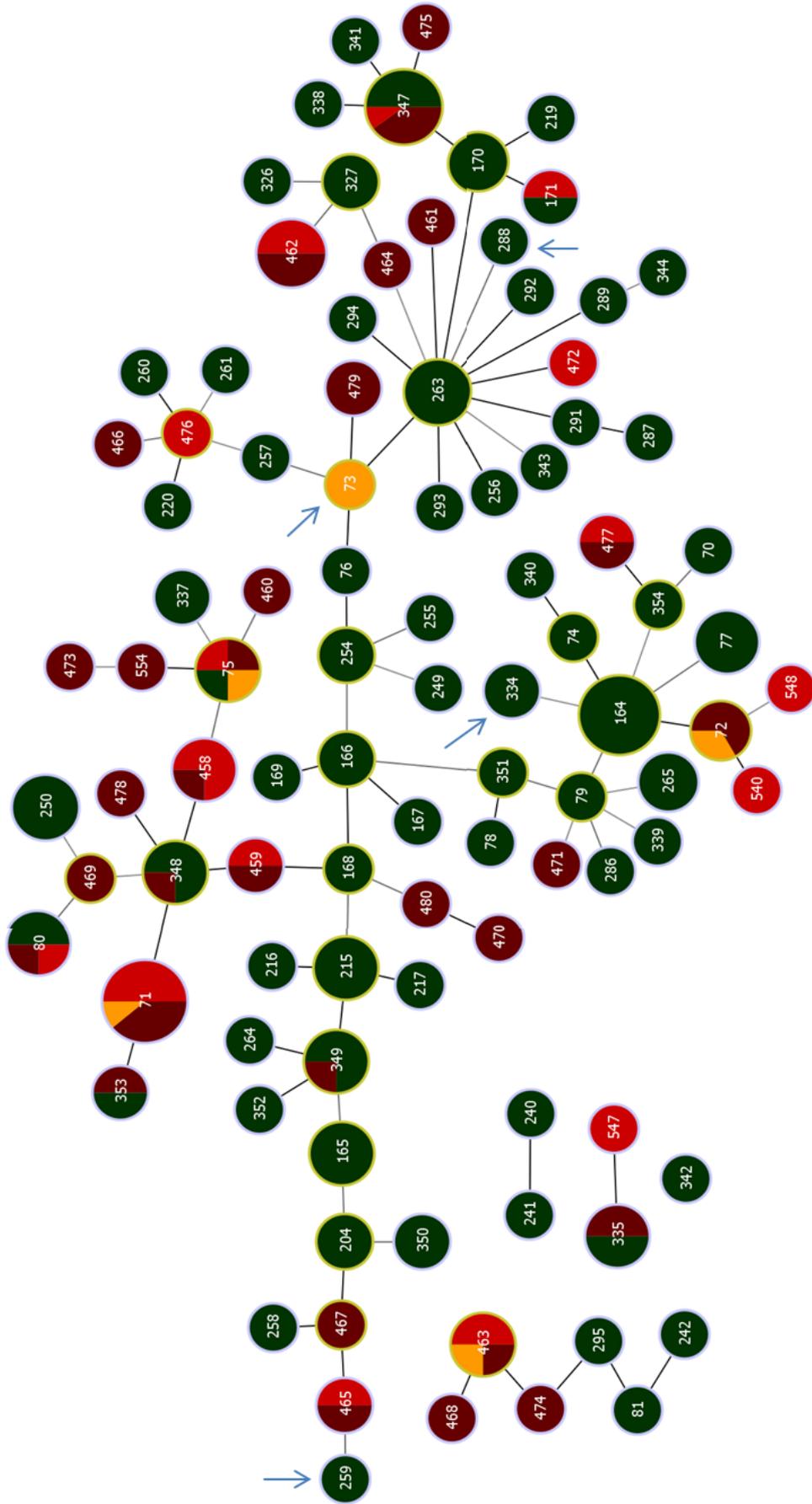
In dieser Arbeit wurden 198 europäische *B. afzelii* Isolate mittels MLST typisiert. Weitere 50 bisher noch nicht typisierte *B. afzelii* Isolate der Stammsammlung des NRZ wurden ebenfalls in statistische Auswertungen einbezogen. Insgesamt ergaben sich 98 unterschiedliche *B. afzelii* ST. 66 Singletons wurden identifiziert, während 32 weitere ST als major und minor CC nachgewiesen wurden.

3.8.1 goeBURST-Netzwerk

Ein goeBURST-Netzwerk zeigte alle analysierten *B. afzelii* Isolate als TLV (vgl. Abb. 37). Biologische Quelle (Zecke oder Patientenisolat) und Art der Infektion (disseminiert oder lokalisiert) wurden anhand unterschiedlicher Farben (vgl. Legende der Abbildung 37) hervorgehoben.

	biologische Quelle: Zecke (n= 118)	
	biologische Quelle: Patientenisolat	Art der Infektion: lokalisiert (n= 45)
	biologische Quelle: Patientenisolat	Art der Infektion: disseminiert (n=29)
	biologische Quelle: Patientenisolat	Art der Infektion: keine Angabe (n=6)

Abbildung 37: goeBURST-Netzwerk mittels MLST analysierter *B. afzelii* Isolate aus Europa (n= 198). Ohne n= 50 bisher nicht mittels MLST typisierte *B. afzelii* Isolate der Stammsammlung des NRZ. Die Pfeile markieren potenzielle Rekombinationsereignisse.



3.8.2 Klonale Komplexe

Im goeBURST-Netzwerk zeigten sich die meisten *B. afzelii* Isolate als großes Konglomerat CC263 (vgl. Abb. 37). Dabei konnten verschiedene potenzielle Ursprungssequenztypen (Subfounder, SF) definiert werden (vgl. Tab. 25).

Tabelle 25: Klonale Komplexe der Spezies *B. afzelii*

Major clonal complexes	Minor complexes	Singletons (S)
CC263 (SF248, SF164, SF263)	CC240	ST342
CC463	CC335	

3.8.3 Verwandtschaftsverhältnisse und Humanpathogenität

Die Mehrzahl der *B. afzelii* ST wiesen untereinander sehr enge Verwandtschaftsverhältnisse auf (vgl. Abb. 37). Lediglich um SF164 waren die ST weniger eng miteinander verwandt.

Ein eindeutiger Zusammenhang zwischen ST und biologischer Herkunft des Stammes (Zecke oder Patient) konnte nicht festgestellt werden. Weiterhin zeigte sich keine eindeutige Korrelation zwischen ST und Pathogenität (disseminierten oder lokalisierten Infektionen). ST71 wurde ausschließlich in 18 Patientenisolaten und bisher nicht in Zecken nachgewiesen. Allerdings galt es zu bedenken, dass die vergleichsweise geringe Anzahl analysierter *B. afzelii* Isolate keine eindeutigen statistischen Aussagen zuließ, insbesondere auch unter Berücksichtigung der enormen Heterogenität dieser Spezies.

3.8.4 Stammbaumanalyse

In die MEGA-Stammbaumanalyse wurden 77, im Rahmen dieser Arbeit, typisierte ST und weitere 121 bereits veröffentlichte ST eingeschlossen (vgl. Abb. 38).

Um den Stammbaum zu verwurzeln, wurde ST1 (*B. burgdorferi* s. s.) als outgroup eingefügt. Somit zeichnete sich grafisch ein potenzieller gemeinsamer Vorfahre der *B. afzelii* ST ab. Aus Übersichtsgründen wurden auch für *B. afzelii* verschiedene

Stammbäume erstellt. Ein phylogenetischer Baum mit Maßstab für Mutationen, sowie eine Darstellung des Stammbaums mit Bootstrap Werten > 50 %, befinden sich im Anhang (vgl. Abb. 48, 49).

Symbolerläuterungen des Kladogramms:

Biologische Quelle: nur in Patientenisolaten (Quadrat), nur in Zecken (Kreis), sowohl in Patientenisolaten als auch in Zecken (Dreieck).

Art der Infektion zum Zeitpunkt der Probenentnahme: disseminierte Infektion (rote Schrift), lokalisierte Infektion (grüne Schrift), sowohl lokalisierte als auch disseminierte Infektion (braune Schrift), keine Angabe (graue Schrift). ST aus Zecken (schwarze Schrift). ST sowohl in Patientenisolaten als auch in Zecken nachgewiesen: Art der Infektion im Menschen bestimmt die Schriftfarbe. ST in Patienten mit disseminierter und nicht näher bezeichneter Infektion (keine Angabe): disseminierte Infektion bestimmt die Schriftfarbe.

Mittels Phyloviz identifizierte klonale Komplexe (CC) wurden anhand von Klammern gekennzeichnet.

S = Singleton. Alle weiteren ST gehörten zum großen klonalen Komplex CC263. Hypothetische Ursprungs ST (subfounder, SF) des CC263 wurden beispielhaft mit Klammern gekennzeichnet (SF348, SF164 und SF263) (vgl. Abb. 37).

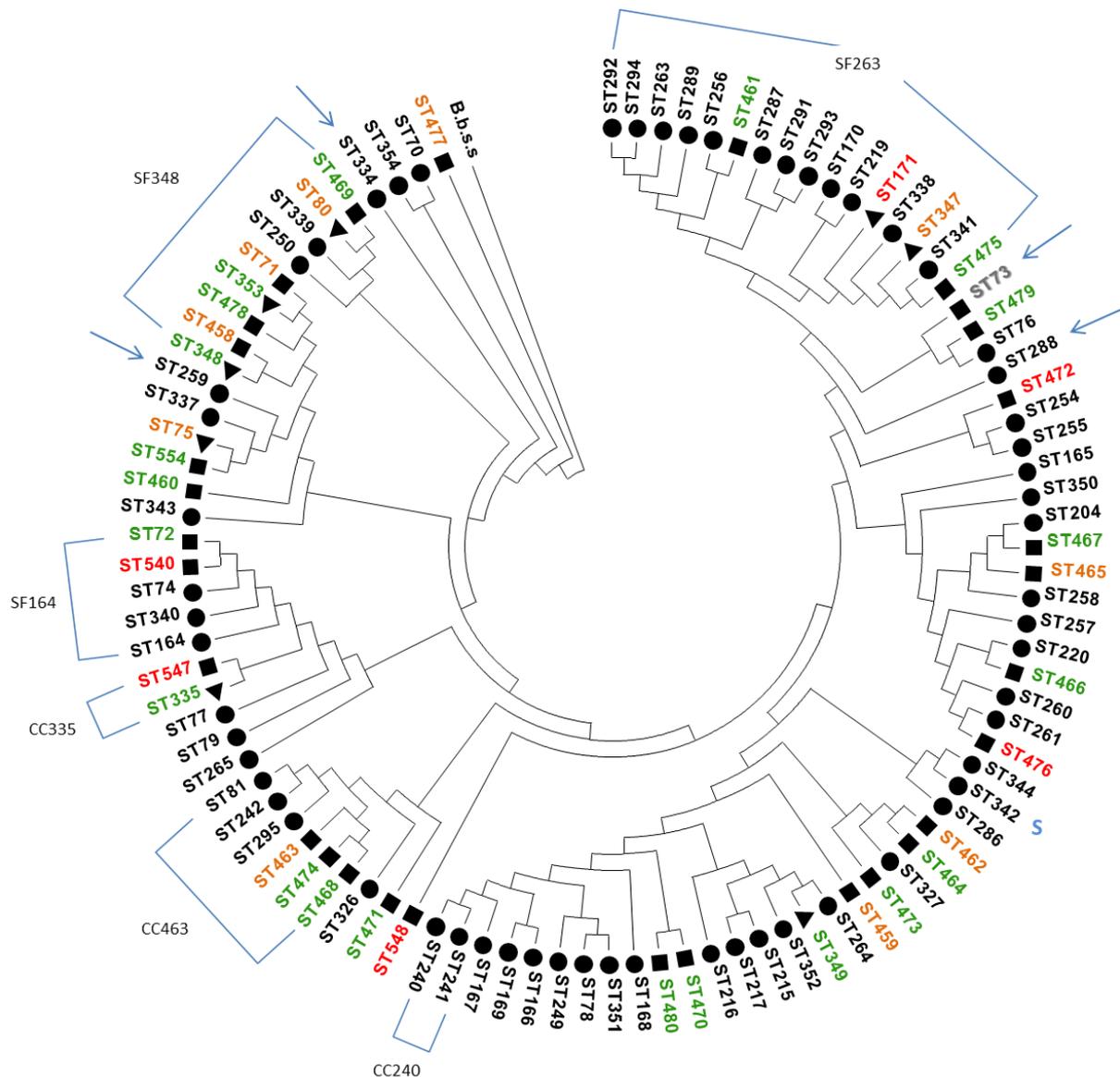


Abbildung 38: Kladogramm der 198 *B. afzelii* Patientenisolat und Zecken aus Europa. S = Singleton. Potenzielle Rekombinationsereignisse wurden mit Pfeilen gekennzeichnet.

3.8.4.1 Evolutionäre Beziehungen

Vom potenziellen gemeinsamen Vorfahren der analysierten *B. afzelii* ST gingen zwei innere Hauptäste ab (vgl. Abb. 38). Einer der Äste spaltet zunächst ST477 von den übrigen Klade ab. Als weitere Klade waren ST70 und ST354 abzugrenzen. Trotz offensichtlich enger Verwandtschaftsverhältnisse zeigten sich einzelne Gruppierungen von ST. Beispielsweise waren die Klade ST469-ST250, ST71-ST343, ST72-ST265 und weitere abgrenzbar. Der Maßstab des phylogenetischen Baums zeigte einen Wert

von 0,01 Substitutionen pro Position im alignment (vgl. Abb. 49). Insgesamt konnten enge (hypothetische) Verwandtschaftsverhältnisse der *B. afzelii* ST vermutet werden. Anhand von Bootstrapwerten wurde die Präzision der Positionen im Stammbaum abgeschätzt (vgl. Abb. 48). Die Bootstrapwerte im *B. afzelii* Stammbaum lagen, im Vergleich zum *B. burgdorferi* s. s. Stammbaum, seltener über 50 %. Der Bootstrapwert des zweiten internen Knotens im *B. afzelii* Stammbaum lag bei 100 %. Die Präzision der Positionen von ST im Stammbaum war bei *B. burgdorferi* s. s. wesentlich genauer verglichen mit *B. afzelii*.

3.8.4.2 Rekombination und Clusterunterschiede

Die klonalen Komplexe CC463, CC240 und CC335 zeigten sich sowohl im goeBURST-Netzwerk, als auch im MEGA Stammbaum als eindeutige Cluster (vgl. Abb. 37, 38). Andere ST des großen Komplexes CC263 positionierten sich in beiden Grafiken unterschiedlich. ST339, ST73, ST288 und ST259 beispielsweise wiesen Differenzen der Positionen im goeBURST-Netzwerk und im MEGA-Stammbaum auf, was als Hinweis auf Rekombination interpretiert werden konnte.

3.8.5 Invasivität

In dieser Arbeit wurde nur eine Auswahl aller *B. afzelii* Patientenisolat der Stammsammlung des NRZ mittels MLST typisiert. Um Verzerrungen durch Stichprobenselektion zu vermeiden, wurden in statistische Analysen alle vorhandenen Patientenisolat der Stammsammlung des NRZ einbezogen. Für die drei Patientenisolat der MLST-Onlinedatenbank waren keine Angaben zur Manifestation oder Art der Infektion bekannt. Patientenisolat ohne entsprechende Angaben wurden von statistischen Analysen ausgeschlossen. Die Anzahl der *B. afzelii* Patientenisolat lag für derartige Analysen entsprechend bei $n = 115$.

Tabelle 26: Art der Infektion bei *B. afzelii* infizierten Patienten der Stammsammlung des NRZ

Spezies	Gesamtanzahl [n]	Disseminierte Infektionen	Lokalisierte Infektionen	keine Angabe
<i>B. afzelii</i>	127	48 (davon 17 NB)	67	12

B. afzelii Infektionen führten mit einer relativen Häufigkeit von 58 % deutlich häufiger zu lokalen Infektionen als zu disseminierten Infektionen (relative Häufigkeit 42 %) (vgl. Tab. 26, Abb. 39).

Invasivität *B. afzelii* in Europa [%]

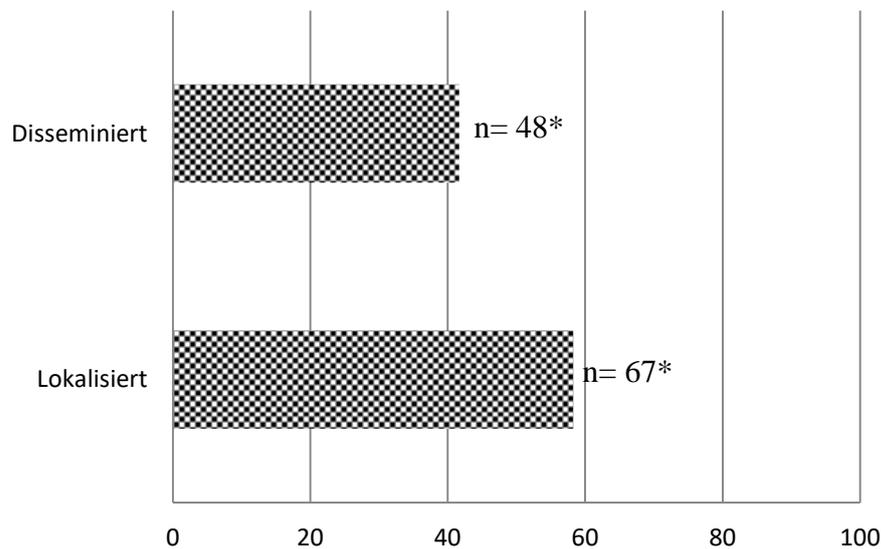


Abbildung 39: Art der *B. afzelii* Infektion bei Patienten in Europa. *Absolute Anzahl [n].

21 von 48 Patienten mit disseminierten *B. afzelii* Infektionen wiesen eine Acrodermatitis chronica atrophicans (ACA) auf (44 %). Unter Ausschluss von NB lag das relative Risiko im disseminierten Stadium eine ACA zu entwickeln, bei 68 % (vgl. Abb. 40).

Manifestationen disseminierter *B. afzelii* Infektionen [%]

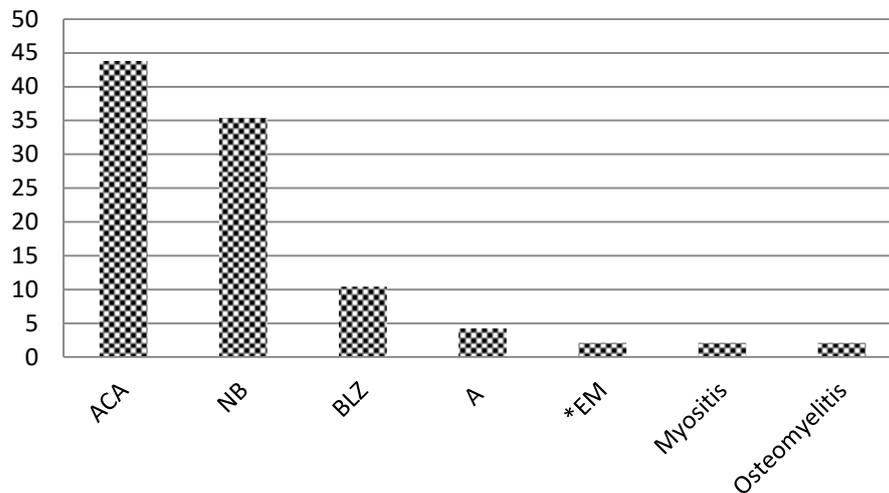


Abbildung 40: Manifestationen disseminierter *B. afzelii* Infektionen bei Patienten aus Europa. * Isolation der Borrelien aus Patientenblut.

Analysen zur Invasivität einzelner *B. afzelii* ST waren durch Selektion typisierter Patientenisolat verzerrt. Deshalb wurden in diesem Zusammenhang keine statistischen Analysen durchgeführt und nur deskriptive Daten erhoben.

Tabelle 27: Invasivität mittels MLST typisierter *B. afzelii* Isolate der Stammsammlung des NRZ

Spezies	Gesamtanzahl [n]	Disseminierte Infektionen	Lokalisierte Infektionen	keine Angabe
<i>B. afzelii</i>	77	29 (davon 17 NB)	45	3

In Analysen zur Invasivität einzelner *B. afzelii* ST wurden nur Isolate einbezogen, deren ST in mindestens zwei Patientenisolaten nachgewiesen wurden. Entsprechend ergaben sich 53 *B. afzelii* Patientenisolat für deskriptive Analysen (vgl. Tab. 27, 28).

Tabelle 28: Invasivität einzelner *B. afzelii* ST in Europa (n = 53, nachgewiesen in mindestens zwei Patientenisolaten)

Sequenztyp	disseminierte Infektionen	lokalisierte Infektionen	Gesamtanzahl der Patientenisolate [n]
ST71	10	8	18
ST462	3	3	6
ST347	1	4	5
ST458	3	1	4
ST463	2	2	4
ST72	-	2	2
ST75	1	1	2
ST80	1	1	2
ST335	-	2	2
ST459	1	1	2
ST465	1	1	2
ST477	1	1	2
ST479	-	2	2

ST von *B. afzelii* Patientenisolaten wurden überwiegend sowohl in Patienten mit disseminierten als auch lokalisierten Infektionen nachgewiesen (vgl. Tab. 28). Drei ST (ST72, ST335 und ST479) wurden bisher ausschließlich in Patienten mit lokalisierten Infektionen gefunden. Die Anzahl typisierter Patientenisolate war jedoch zu gering, um eindeutige statistische Aussagen treffen zu können.

3.9 Invasivität der Spezies *Borrelia burgdorferi* sensu stricto und *Borrelia afzelii* in Europa

Ein Vergleich der Spezies *B. burgdorferi* s. s. und *B. afzelii* in Europa zeigte, dass *B. burgdorferi* s. s. deutlich häufiger disseminierte Infektionen hervorrief (vgl. Abb. 41). Die relative Wahrscheinlichkeit der Dissemination von *B. burgdorferi* s. s. lag bei 93 %, verglichen mit einer relativen Wahrscheinlichkeit der Dissemination von *B. afzelii* um 42 %.

Invasivität der Spezies *B. burgdorferi* s. s. und *B. afzelii* [%]

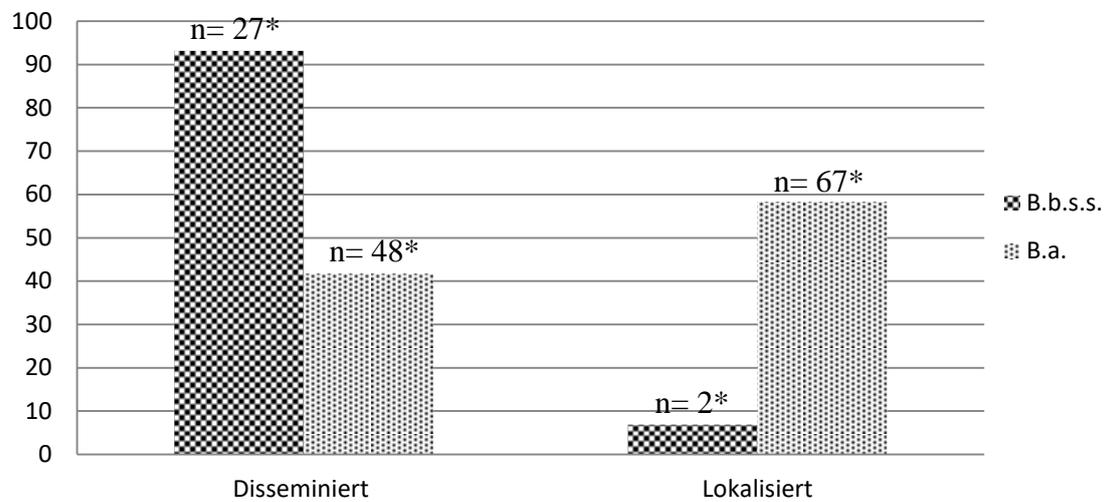


Abbildung 41: Vergleich der Invasivität von *B. burgdorferi* s. s. und *B. afzelii*

Die Odds disseminierter *B. burgdorferi* s. s. Infektionen lagen, verglichen mit lokalen Infektionen, bei 13,5 (vgl. Abb. 42). Die entsprechende Odds für *B. afzelii* ergaben 0,7. Demnach war die Chance der Borreliendissemiation von *B. burgdorferi* s. s. Infektionen (Odds ratio, OR) etwa 19-mal größer als bei *B. afzelii*. Ein chi²-Test zeigt einen statistisch signifikanten Unterschied zwischen disseminierten und lokalisierten Infektionen der Spezies *B. burgdorferi* s. s. und *B. afzelii* (chi² = 22.468, df = 1, p-Wert = 2.136e-06).

Odds der Borreliendissemiation bei *B. burgdorferi s. s.* und *B. afzelii* Infektionen

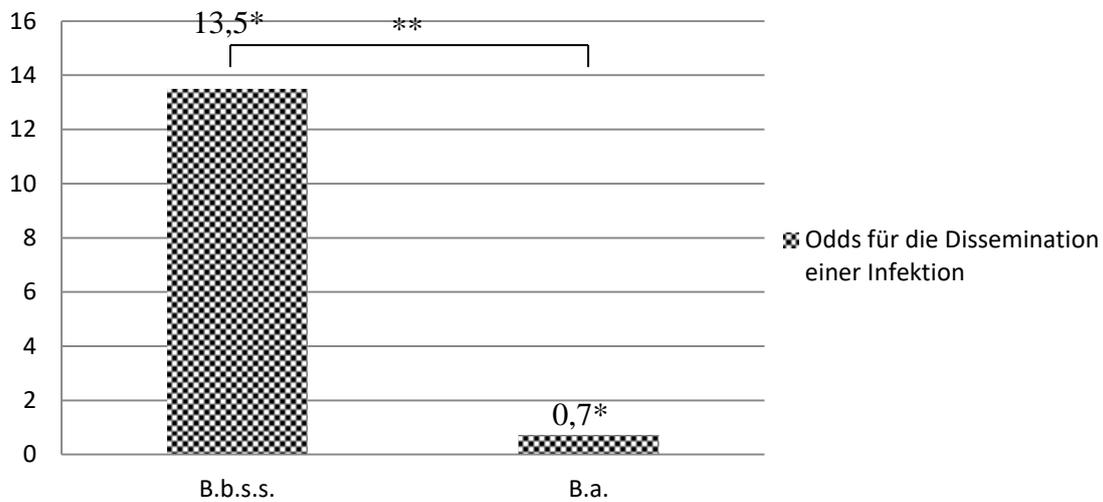


Abbildung 42: Odds disseminierter Infektionen durch *B. burgdorferi s. s.* und *B. afzelii* (Chancenverhältnis, OR = 19:1). * Odds. ** Statistisch signifikant unter $\alpha < 0,01$.

3.10 Invasivität von *Borrelia burgdorferi sensu stricto* in Europa und den USA

42 % von 145 *B. burgdorferi s. s.* Patientenisolaten aus den USA stammten aus Patienten mit disseminierten Infektionen, während 45 % der Patientenisolate aus Patienten mit lokalisierten Infektionen stammten. In 13 % der Fälle war keine Angabe zur Art der Infektion bekannt [302].

Die Spezies *B. burgdorferi s. s.* verursachte in Europa signifikant häufiger invasive Verläufe als in den USA (vgl. Abb. 43). Die Odds ratio disseminierter *B. burgdorferi s. s.* Infektionen lag in Europa nahezu 15-mal höher als in den USA. Auch mittels eines χ^2 -Tests konnte ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen der Invasivität von *B. burgdorferi s. s.* in Europa und den USA festgestellt werden ($\chi^2 = 17.408$, $df = 1$, p -Wert = $3.016e-05$).

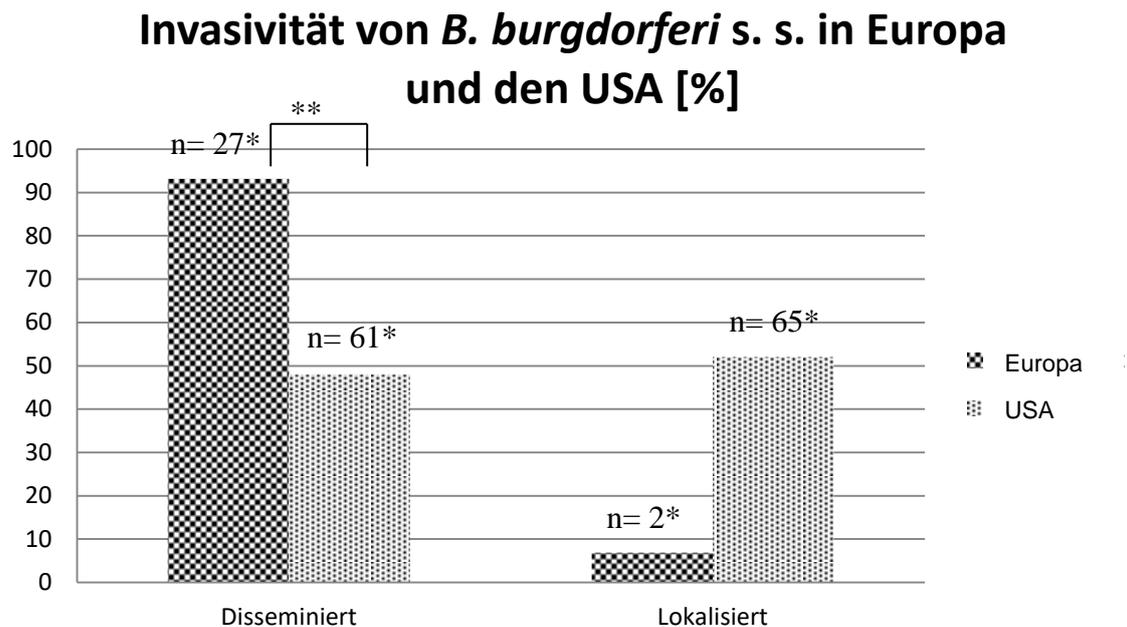


Abbildung 43: Art der *B. burgdorferi* s. s. Infektion bei Patienten aus Europa und den USA. Patientenisolat ohne Angaben zur Art der Infektion wurden nicht in die Grafik einbezogen. * Absolute Anzahl [n]. ** Statistisch signifikanter Unterschied unter $\alpha < 0,01$.

3.11 Neuroborreliose

B. burgdorferi s. s. rief in Europa signifikant häufiger Neuroborreliosen hervor als *B. afzelii* (vgl. Abb. 44) ($\chi^2 = 22.306$, $df = 1$, p-Wert = $2.325e-06$).

Die Odds der Manifestation disseminierter Infektionen als Neuroborreliose lagen für *B. burgdorferi* s. s. bei 1,7 und für *B. afzelii* bei 0,54. Die Chance, dass sich disseminierte Borrelieninfektionen als Neuroborreliose manifestierten, war für *B. burgdorferi* s. s. entsprechend dreimal größer als für *B. afzelii*.

Neuroborreliosen bei *B. afzelii* und *B. burgdorferi* s. s. Infektionen [%]

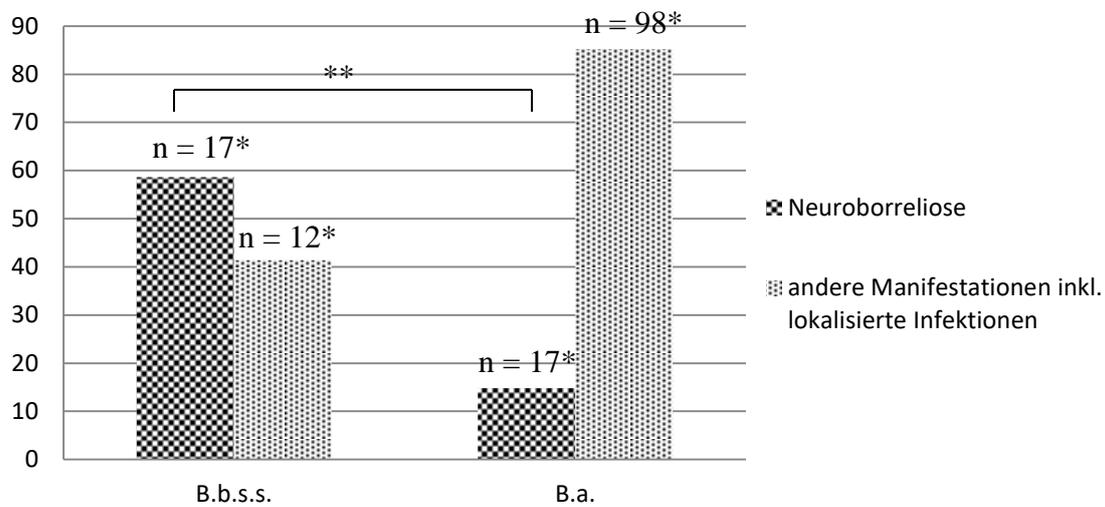


Abbildung 44: Neuroborreliosen bei Infektionen mit *B. burgdorferi* s. s. und *B. afzelii* in Europa. * Absolute Anzahl [n]. ** Statistisch signifikanter Unterschied unter $\alpha < 0,01$.

3.12 Weitere klinische Manifestationen

Drei Patienten (PHot, PWo, PTen) mit *B. afzelii* Infektion zeigten eine Morphea (zirkumskripte Sklerodermie). Bei einem Patienten (PWeb) mit *B. afzelii* Infektion wurde die Verdachtsdiagnose eines Granuloma anulare gestellt.

Nebenbefundlich konnte bei zwei Patienten mit *B. afzelii* Infektion (PBo und PLap) ein Tinnitus festgestellt werden.

3.13 Korrelation zwischen Patientenalter und Art der Borrelieninfektion bei Patienten aus Europa

Das Patientenalter zum Diagnosezeitpunkt wurde als Kovariable bezüglich der Art der Infektion bei Patienten analysiert (vgl. Abb. 45). Die Altersverteilung von 70 Patienten mit *B. afzelii* Infektion und 28 Patienten mit *B. burgdorferi* s. s. Infektion wurde grafisch dargestellt. Dabei zeigte sich ein Maximum an Infektionen im Alter von 51-60 Jahren. Schließende Statistiken zur Korrelation der Art der Infektion bei Patienten, abhängig vom Patientenalter, wurden nicht durchgeführt.

Korrelation des Patientenalters und der Art der Infektion [%]

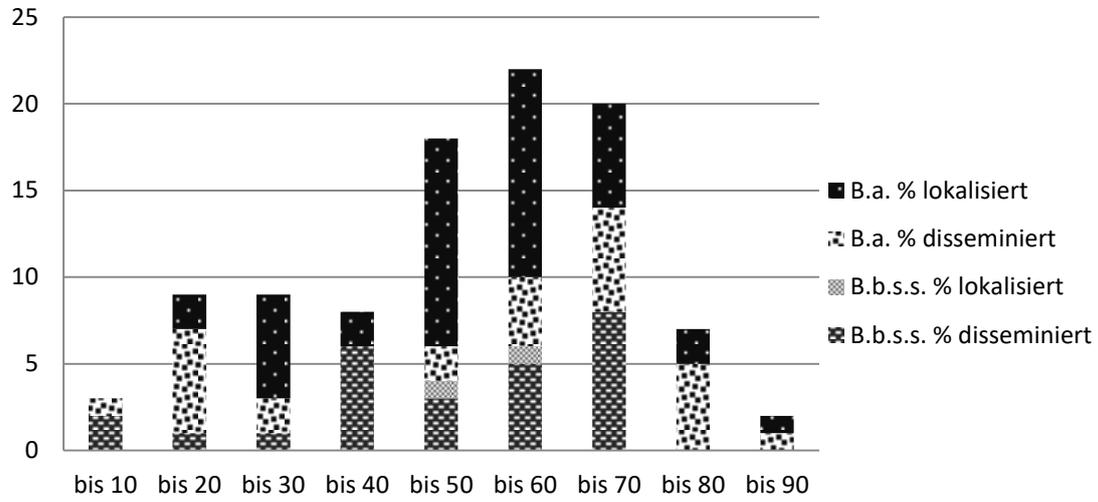


Abbildung 45: Patientenalter und Art der *B. burgdorferi* s. s. und *B. afzelii* Infektion bei Patienten aus Europa.

4 Diskussion

4.1 Auswahl von Spezies und Stämmen

Verschiedene Kriterien trugen zur Auswahl der Stämme und Spezies dieser Arbeit bei. So wurde *B. afzelii* aufgrund des häufigen Vorkommens in Europa und *B. burgdorferi* s. s. wegen der Möglichkeit des interkontinentalen Vergleichs von Populationsstrukturen, Invasivität und Pathogenität zwischen Europa und den USA (vgl. Hanincova et al. (2013)) ausgewählt [144, 276, 337-339].

Um den Rahmen dieser Arbeit nicht zu sprengen, wurden nur einige *B. afzelii* Stämme der Stammsammlung des NRZ mittels MLST typisiert (n = 77 von 127 Stämmen) (vgl. Tab. 6). In statistische Auswertungen wurden auch die übrigen 50 nicht mittels MLST typisierten *B. afzelii* Stämme der Stammsammlung des NRZ einbezogen, um statistische Selektionsfehler zu vermeiden. Als Auswahlkriterium, welche *B. afzelii* Stämme mittels MLST typisiert wurden, galt die Krankheitsmanifestation beim Patienten. Ein besonderes Augenmerk lag dabei auf der Manifestation NB, da diese Manifestation besonders schwerwiegende Symptome und Komplikationen bei Patienten hervorrief.

MLST-Typisierungen dieser Arbeit wurden zunächst nur an *B. burgdorferi* s. s. und *B. afzelii* Patientenisolaten aus Europa durchgeführt. Da sich in *B. burgdorferi* s. s. Patientenisolaten jedoch gehäuft ST zeigten, die bisher nicht in europäischen Zecken nachgewiesen werden konnten, wurde die Arbeit im Verlauf auf MLST-Analysen europäischer Zecken mit *B. burgdorferi* s. s.-Infektion erweitert [152, 302, 304].

4.2 Methodik

Als moderne molekularbiologische Methode zur Typisierung von Borrelienstämmen wurde in dieser Arbeit das MLST angewendet. Neben einigen Vorteilen wie der schnellen und präzisen Datenerhebung (vgl. 1.7.2 Vor- und Nachteile des MLST) ermöglichte das MLST laborunabhängige Vergleiche von Daten weltweit. Zur Wahl der Methode trug auch die (2013 veröffentlichte) Studie von Hanincova et al. „Multilocus Sequence Typing of *Borrelia burgdorferi* Suggests Existence of Lineages with Differential Pathogenic Properties in Human” bei, in der MLST-Daten von *B. burgdorferi* s. s. Stämmen aus den USA veröffentlicht wurden [302]. Durch Anwendung der gleichen Methode an *B. burgdorferi* s. s. Stämmen aus Europa konnte so ein direkter Vergleich von Populationsstrukturen und Pathogenitätseigenschaften von *B. burgdorferi* s. s. zwischen Europa und den USA erfolgen.

Andere Typisierungsmethoden, wie MLEE-, RAPD-, Ca3 Southern Blot-, *rrs-rrl*-/ 5S-23S rDNA Intergenetic spacer Analysen und Weitere, stießen in der Vergangenheit oft an ihre Grenzen hinsichtlich Trennschärfe und Präzision von Ergebnissen [284].

Das MLEE, als indirekte Methode der Genotypisierung, lieferte wesentlich ungenauere Daten als MLST-Analysen. Darüber hinaus bestand eine starke Abhängigkeit der MLEE-Ergebnisse von Untersuchungsbedingungen im jeweiligen Labor [284].

Auch bei anderen Typisierungsmethoden, wie der Pulsfeldelektrophorese (PFGE) und Fingerabdruck Methoden (AFLP) war die laborübergreifende Vergleichbarkeit von Ergebnissen oft problematisch [340].

Robles et al. (2004) verglichen MLST-, RAPD-, MLEE- und Ca3 Southern Blot-Analysen. Dabei konnten mittels MLST die besten Ergebnisse, hinsichtlich der Trennschärfe von *Candida albicans* Populationen, festgestellt werden [341]. Im Vergleich mit *rrs-rrl* Intergenetic spacer-Analysen (IGS) zeigte das MLST genauere phylogenetische Zuordnungsmöglichkeiten von Stämmen [111, 342, 343]. Hanincova et al. (2013) und Margos et al. (2008) zeigten, dass rekombinatorische Ereignisse nicht mittels einfacher Stammbaumanalysen des Oberflächenproteins OspC, jedoch anhand von MLST-Analysen ermittelt werden konnten [111, 302]. Neuere Studien von Coipan et al. (2016) verglichen das MLST mit 5S-23S rDNA IGS-Analysen. Aufgrund kürzerer Sequenzen waren 5S-23S rDNA IGS-Analysen zwar weniger zeitintensiv, jedoch

hinsichtlich der Trennschärfe relevanter Mutationen deutlich ungenauer als MLST-Analysen [342].

Trotz aller Vorteile gab es auch Nachteile und Grenzen des MLST [284]. So können nicht alle Bakterienarten uneingeschränkt mittels MLST typisiert werden. Für Analysen genetisch monomorpher Bakterien (wie *Yersinia pestis*, *Mykobacterium tuberculosis*, *Bacillus anthracis*) ist das MLST daher keine adäquate Typisierungsmethode [344-346]. Außerdem sind keine Analysen von Mischsequenzen möglich und durch die Abhängigkeit von Sequenzierlaboren ergeben sich teils logistische Herausforderungen. Die insgesamt hohen Kosten sowie der labortechnische Aufwand sind weiterhin zu bedenken. Indikation und Nutzen des MLST sind, auch aus ökonomischer Sicht, je nach Fragestellung individuell abzuwägen.

2012 publizierten Boers et al. eine Weiterentwicklung des klassischen MLST, das High Throughput MLST. Bei dieser neueren Methode wurden einige Nachteile des klassischen MLST behoben, so dass entsprechende Daten hoher Qualität noch schneller und ökonomischer generiert werden können [340, 347].

Das klassische MLST war zum Zeitpunkt dieser Arbeit, sowohl hinsichtlich der Bakterienart als auch der Fragestellungen eine moderne, adäquate Methode zur molekularbiologischen Typisierung von Borrelien [111].

4.3 Statistische Auswertungen

Analysierte Borrelienstämme dieser Arbeit stellten nur eine stichprobenartige Auswahl von *B. burgdorferi* s. s. und *B. afzelii* Stämmen aus Europa und den USA dar, weshalb systematische Fehler, insbesondere aufgrund von Selektionsprozessen, teilweise nicht auszuschließen waren. Um statistische Ergebnisse dennoch adäquat interpretieren zu können, wurden verzerrende Einflussfaktoren sorgfältig diskutiert und schließende Statistiken nur für einige Fragestellungen angewendet [348].

Borrelienstämme und Patientendaten der Stammsammlung des NRZ wurden zwischen 1983 und 2011 im Rahmen von Studien gesammelt. Die Einsendung von Patientenmaterial hing dabei entscheidend vom Engagement der jeweiligen Ärzte ab. Inwiefern Infektionen von Ärzten übersehen oder Daten nur selektiv weitergegeben wurden, war nicht nachvollziehbar. Es war denkbar, dass lokale Infektionen im

Vergleich zu schwerwiegenden disseminierten Infektionen unterrepräsentiert waren, da bei lokal begrenzten EM in der Regel nur eine bedingte Indikation zur diagnostischen Erregeranzucht bestand. Möglicherweise wurden viele EM gar nicht vom Arzt gesehen, behandelt oder biopsiert [342]. Auch ein Auftreten disseminierter Manifestationen erst nach erfolgter Meldung rein lokaler Infektionen wäre denkbar. Inwiefern in solchen Fällen eine Nachmeldung stattfand, blieb unklar.

Schließende Statistiken zur Invasivität einzelner ST waren aufgrund zu geringer Anzahlen, mittels MLST, typisierter Stämme weder für *B. burgdorferi* s. s. noch für *B. afzelii* möglich. Eine Verallgemeinerung von Ergebnissen dieser Arbeit auf die Grundgesamtheit der Bevölkerung war aufgrund möglicher Selektionsfehler daher nur bedingt möglich. Auch Invasivität und klinische Manifestationen konnten, wegen verschiedener Bedingungen der Datenerhebung zwischen Europa und den USA, nicht uneingeschränkt verglichen werden.

Mischinfektionen und zu geringe DNA-Konzentrationen führten dazu, dass einigen Zecken keine eindeutige Borrelienspezies zugeordnet werden konnte. Von 64 mittels *hbb*-RTD-PCR analysierten Zecken mit *B. burgdorferi* s. s. Infektion, war eine erfolgreiche Typisierung mittels MLST nur bei 23 Zecken möglich.

Da die Bedingungen der Datenerhebung für alle europäischen *B. burgdorferi* s. l. Spezies weitestgehend gleich waren, eliminierten sich systematische Fehler beim Vergleich von *B. burgdorferi* s. s. und *B. afzelii* Stämmen aus Europa teilweise gegenseitig.

Die Anwendung schließender statistischer Verfahren wurde je nach Fragestellung individuell entschieden. Weiterführende Studien zur Populationsstruktur, Pathogenität und klinischen Symptomatik von *B. burgdorferi* s. l., anhand flächendeckender Daten und größerer Anzahlen von Stämmen, wären von wissenschaftlichem und klinischem Interesse.

4.4 *Borrelia burgdorferi* sensu stricto und *Borrelia afzelii* in Europa

Bisher konnten weltweit 22 unterschiedliche *B. burgdorferi* s. l. Spezies identifiziert werden, wobei sechs dieser Spezies als humanpathogen eingestuft wurden (vgl. Tab. 1).

Je nach Borrelienspezies zeigten sich dabei unterschiedliche Durchseuchungsraten von Patientenisolaten und Zecken.

4.4.1 Häufigkeit verschiedener Borrelienspezies und Unterschiede hinsichtlich humanpathogener Eigenschaften

Die beiden häufigsten humanpathogenen Spezies des *B. burgdorferi* s. l. Komplexes in Europa sind *B. garinii* und *B. afzelii*, während *B. burgdorferi* s. s. bisher seltener in europäischen Patientenisolaten und Zecken nachgewiesen wurde [116, 144, 349, 350].

Als Gründe für die unterschiedlichen Durchseuchungsraten von Patientenisolaten und Zecken mit *B. burgdorferi* s. l., in Europa, konnten verschiedene Hypothesen aufgestellt werden. Beispielsweise war ein Zusammenhang zu den unterschiedlichen Besiedlungsdichten von Hauptwirten von *B. burgdorferi* s. l. Vektoren in Europa denkbar. Vektoren von *B. spielmanii* und *B. lusitaniae* beispielsweise nutzen insbesondere Siebenschläfer und Eidechsen als Wirte (vgl. Tab. 32). Da die Besiedlungsdichten von Siebenschläfern und Eidechsen in Europa vergleichsweise gering sind, waren die geringen Durchseuchungsraten mit *B. spielmanii* und *B. lusitaniae* somit erklärbar [342].

Hanincova et al. (2003) analysierten über 1.000 Zecken aus Zentraleuropa hinsichtlich der Durchseuchung mit *B. burgdorferi* s. l. Dabei wurde *B. afzelii* (50,6 %), gefolgt von *B. valaisiana* (26,5 %) und *B. garinii* (19,1 %, ohne Differenzierung von *B. bavariensis*) mit Abstand am häufigsten nachgewiesen. Andere Studien, wie Kurtenbach et al. (2001) oder Fingerle et al. (2008), zeigten leicht abweichende Zahlen. So fanden Kurtenbach et al. (2001) *B. afzelii*, *B. garinii*, *B. valaisiana*, und *B. burgdorferi* s. s. in europäischen Zecken mit einer Häufigkeit von 39,3 %, 21,2 %, 12,8 % und 1,5 %. Fingerle et al. (2008) wiesen *B. garinii*, mit 34,3 %, als häufigste Spezies in Süddeutschland nach [144, 338].

Eine Metaanalyse von Hartung et al. (2005) zeigte *B. afzelii* (38 %) auf Platz eins der *B. burgdorferi* s. l. Infektionen in europäischen Zecken. Auf Platz zwei und drei standen *B. garinii* (33 %) und *B. burgdorferi* s. s. (18 %). Trotz regional stark variierender Angaben zur Häufigkeit von *B. burgdorferi* s. l. in europäischen Zecken, galt *B. afzelii* als vorherrschende Spezies [276, 337, 339].

In dieser Arbeit wurde *B. afzelii* mit 41,3 % als häufigste Spezies, des *B. burgdorferi* s. l. Komplexes, in süddeutschen Zecken nachgewiesen (vgl. Abb. 29). Die *hbb*-RTD-PCR Analyse von insgesamt 484 süddeutschen Zecken ergab außerdem 19 % *B. valaisiana* / *B. spielmanii*, 13,2 % *B. burgdorferi* s. s., 12,6 % *B. bavariensis* / *B. garinii* und 0,6 % *B. lusitaniae* Infektionen.

Zur Häufigkeit von europäischen Patientenisolaten mit *B. burgdorferi* s. l. Infektionen wurden bisher deutlich weniger Daten veröffentlicht. Coipan et al. (2016) beschrieben *B. afzelii* (69,7 %), gefolgt von *B. garinii* (14,3 %) und seltener *B. burgdorferi* s. s. (4,3 %) als häufigste Borrelienspezies europäischer Patientenisolatate [339]. Diese Verteilung spiegelte sich auch in der Stammsammlung des NRZ wieder. Typisierungen mittels *OspA* und MLST ergaben 52,7 % *B. afzelii*, 16,6 % *B. garinii* und 13,7 % *B. burgdorferi* s. s. Infektionen bei insgesamt 241 analysierten Patientenisolaten der Stammsammlung des NRZ.

Coipan et al. (2016) berichteten von unterschiedlichen humanpathogenen Eigenschaften verschiedener Borrelienspezies. Beispielsweise wurden *B. afzelii* und *B. bavariensis* besonders häufig in Patientenisolaten nachgewiesen. Als Grund für die offenbar größere Humanpathogenität dieser beiden Spezies vermuteten Coipan et al. (2016) Gemeinsamkeiten von Hauptwirten mit dem Menschen als akzidentellen Wirt. Sowohl die Hauptwirte der Spezies *B. afzelii* und *B. bavariensis*, als auch der Mensch gehören zur Klasse der Säugetiere. Es war daher denkbar, dass bestimmte Faktoren der Spezies *B. afzelii* und *B. bavariensis* Infektionen von Säugetieren begünstigten [342, 351].

Eine interessante Aussage hinsichtlich der Humanpathogenität verschiedener *B. burgdorferi* s. l. Spezies trafen auch Cerar et al. (2016). In einer Studie zeigten sie anhand von *OspC*- und MLST-Analysen eindeutige Unterschiede der Spezies *B. burgdorferi* s. s. in Slowenien und den USA. Die Spezies wies je nach geographischer Herkunft unterschiedliche humanpathogene Eigenschaften und verschiedene klinische Manifestationen auf. Dabei zeigten sich größere Unterschiede zwischen *B. burgdorferi* s. s. aus Slowenien und den USA als zwischen *B. burgdorferi* s. s. und *B. afzelii* beziehungsweise *B. garinii* aus Slowenien. Ökologische Nischen, ähnlicher Selektionsdruck und gegebenenfalls der genetische Unterschied von Bevölkerungsgruppen könnten somit entscheidenden Einfluss auf die Humanpathogenität von Borrelien und die klinischen Manifestationen von Borrelieninfektionen haben [352].

4.4.2 Sequenztypen in Patientenisolaten und Zecken

In dieser Arbeit wurden 18 verschiedene *B. burgdorferi* s. s. und 68 *B. afzelii* ST in europäischen Zecken nachgewiesen (vgl. Abb. 30). In Patientenisolaten zeigten sich sechs verschiedene *B. burgdorferi* s. s. ST und 38 *B. afzelii* ST. Die Anzahl verschiedener ST in Zecken lag daher sowohl für *B. burgdorferi* s. s. als auch für *B. afzelii* deutlich über der Anzahl verschiedener ST in Patientenisolaten. Insgesamt wurden mehr Zecken (*B. burgdorferi* s. s. n = 45, *B. afzelii* n = 118) als Patientenisolate (*B. burgdorferi* s. s. n = 31, *B. afzelii* n = 80) typisiert. Dennoch schien die Vielfalt von ST in Zecken größer zu sein, als in Patientenisolaten. MLST-Analysen von Coipan et al. (2016) ergaben 194 verschiedene ST in Zecken (n = 544) und 85 ST in Patientenisolaten (n = 231). Die Anzahl verschiedener ST in Zecken und Patientenisolaten, bezogen auf die Anzahl typisierter Stämme, war somit zwar in etwa gleich groß, statistische Analysen ergaben jedoch eine größere Heterogenität von ST in Zecken verglichen mit ST in Patientenisolaten [342].

Nur vier *B. burgdorferi* s. s. und acht *B. afzelii* ST dieser Arbeit konnten sowohl in europäischen Patientenisolaten als auch in europäischen Zecken nachgewiesen werden (vgl. Abb. 30, Tab. 35). Auch Coipan et al. (2016) konnten nicht alle ST aus Zecken auch in Patientenisolaten nachweisen, und umgekehrt. Genaue Anzahlen gemeinsamer ST waren in Coipan et al. (2016) nicht nachvollziehbar [342]. Hanincova et al. (2013) stellten ebenfalls eine Diskrepanz von ST in Zecken und Patientenisolaten aus den USA fest [302].

Eine mögliche Erklärung für die geringe Anzahl gemeinsamer ST in europäischen Zecken und Patientenisolaten waren potenzielle systematische Fehler aufgrund zu geringer Anzahlen analysierter Stämme. Möglicherweise sind aber auch nicht alle Borrelien ST einer, als humanpathogen klassifizierten, Spezies gleichermaßen pathogen (vgl. 4.6, Humanpathogenität einzelner ST und klonaler Komplexe) [302, 342]. Eine weitere Hypothese zur Diskrepanz von ST in Patientenisolaten und Zecken war, dass sich einige ST durch bestimmte strukturelle Eigenschaften in Zecken oder Wirten „verstecken“ könnten. Miklossy et al. (2008) berichteten in der Vergangenheit von atypischen und zystischen Borrelienformen, die wohl im menschlichen Körper persistieren und gegebenenfalls reaktiviert werden können. Als Ursache für die Entstehung derartiger zystischer Formen vermuteten Murgia et al. (2004) hohen zellulären Stress von Borrelien [353, 354]. Daten der genannten Studien zu zystischen

Borrelienformen konnten bisher nicht eindeutig bestätigt werden. Atypische Formen konnten jedoch theoretisch eine Isolation und Kultivierung von Borrelien erschweren.

4.4.3 Mischinfektionen

Mischinfektionen wurden bisher vor allem in Zecken nachgewiesen. Dabei konnte in Zecken Borrelien-DNA von mehr als einer Spezies oder mehr als einem ST nachgewiesen werden [276]. Etwa 8,9% der 484 mittels *hbb*-RTD-PCR analysierten *B. burgdorferi* s. l. Stämme dieser Arbeit zeigten sich als Mischinfektionen. Auch frühere Studien aus Europa wiesen in etwa vergleichbare Zahlen nach. Bei Coipan et al. (2016) lag der Anteil von Mischinfektionen unter 3 %, wobei nicht beschrieben wurde, ob diese ausschließlich in Zecken oder auch in Patienten nachgewiesen wurden [342]. Rauter und Hartung (2005) wiesen etwa 13 % Mischinfektionen in Zecken nach [276]. Inwiefern auch in Wirten und Patientenisolaten Mischinfektionen vorkommen, konnte bisher nicht eindeutig geklärt werden. Nakao et al. (1995) wiesen Mischinfektionen wohl in 7 von 34 Mäusen in Japan nach [355] und Rijpkema (1997), Demaerschalck (1995) und Liveris (1996) berichteten von Mischinfektionen in Patientenisolaten. Die Anzahl der Wirte und Patientenisolate war dabei jedoch zu gering, um eindeutige statistische Aussagen treffen zu können [137, 141, 355, 356].

Verschiedene Theorien, weshalb Mischinfektionen in Patientenisolaten bisher nicht oder nur selten gefunden wurden, waren denkbar. Möglicherweise unterdrückt das Immunsystem des Menschen bei Infektionen mit einer Borrelienspezies eine Zweitinfektion mit einer anderen Borrelienspezies oder einem anderen ST. Es könnte demnach sein, dass das menschliche Immunsystem einige Borrelienspezies beziehungsweise ST mit Hilfe des Komplementsystems besser abtöten kann als andere. Somit kann bei Mischinfektionen möglicherweise eine Spezies eliminiert werden, während eine andere im Wirt oder Menschen verbleibt.

Denkbar war auch, dass Faktoren aus dem menschlichen Blut den gleichzeitigen Antigenwitch (von *OspA* zu *OspC*) mehrerer Borrelienspezies oder ST im Darm der Zecke verhindern. Ein Übertreten von Borrelien aus dem Darm in die Speicheldrüsen und somit eine Wirtsinfektion wären dann nicht möglich. Trotz Mischinfektionen in

Zecken könnte somit nur eine Spezies, beziehungsweise ein ST, auf den Menschen übertragen werden.

Eine weitere Hypothese war, dass Mischinfektionen in Zecken schlicht häufiger detektiert wurden als in Patientenisolaten. Denn MLST-Analysen von Borrelienstämmen aus Zecken erfolgten meist direkt anhand der DNA aus Zecken, während MLST-Analysen von Borrelienstämmen aus Patientenmaterial in der Regel anhand von Isolaten erfolgten [302].

4.5 *Borrelia burgdorferi* sensu stricto Sequenztypen in Europa und den USA

MLST-Typisierungen von *B. burgdorferi* s. s. Stämmen aus Patientenisolaten ergaben zwei ST (ST1 und ST3), die sowohl in Europa als auch in den USA gefunden wurden. In *B. burgdorferi* s. s. infizierten Zecken wurden hingegen keine gemeinsamen ST beider Kontinente nachgewiesen (vgl. Abb. 31) [304]. Qiu und Crowder beschrieben in den Jahren 2008 und 2010 ebenfalls gemeinsame ST in Patientenisolaten aus Europa und den USA [357, 358].

Verschiedene Erklärungen für die interkontinentale Diskrepanz von ST, klinische Manifestationen und humanpathogene Eigenschaften von *B. burgdorferi* s. s. Stämmen in Europa und den USA waren denkbar. Möglicherweise spielten genetische Unterschiede der Bevölkerung eine Rolle. Entsprechend könnten Faktoren im Immunsystem Infektionen mit bestimmten ST begünstigen oder blockieren. In Patienten mit schwächerem Immunsystem konnten Borrelien möglicherweise häufiger und schneller disseminierte Infektionen hervorrufen [304, 352, 357-359].

Eine weitere Erklärung für die Unterschiede hinsichtlich der Populationsstrukturen von *B. burgdorferi* s. s. in Europa und den USA lieferten Margos et al. (2008). Es wurde vermutet, dass sich *B. burgdorferi* s. s. Populationen beider Kontinente aus einem gemeinsamen Vorfahren entwickelten. Da die Separation der Populationslinien jedoch schon sehr lange zurück lag, konnten sich in Europa und den USA unterschiedliche Borrelienstämme entwickeln. Eventuell spielte dabei auch die Anpassung an ökologische Bedingungen der jeweiligen geographischen Region eine entscheidende Rolle. Im Widerspruch zu Studien von Ras (1997) und Foretz (1997) vermuteten

Margos et al. (2008), dass *B. burgdorferi* s. l. seinen Ursprung in Europa nahm [111, 360, 361].

Auch innerhalb der USA konnten Unterschiede hinsichtlich der ST von *B. burgdorferi* s. s. an der Ostküste (New York) und im mittleren Westen (Wisconsin) festgestellt werden [302]. *B. burgdorferi* s. s. ST aus New York und Wisconsin zeigten sich im goeBURST-Netzwerk zwar nahe verwandt, jedoch wurden nur zwei Überschneidungen von ST (ST4 und ST12) in Patientenisolaten beider geographischer Regionen gefunden. Eine mögliche Erklärung für diese Überschneidungen von ST wäre eine gemeinsame Ursprungspopulation von *B. burgdorferi* s. l. in den USA. Auch ein limitierter Genaustausch im *B. burgdorferi* s. l. Komplex könnte das Auftreten gemeinsamer ST in verschiedenen geographischen Regionen erklären. Dabei wäre es denkbar, dass gemeinsame ST in verschiedenen Regionen zufällig durch Rekombination und horizontalen Gentransfer entstanden [302].

Mechai et al. (2016) zeigten in einer Studie die vermehrte Assoziation einiger Wirte mit bestimmten ST und CC. Sie vermuteten eine genetische Adaptation von ST und CC an unterschiedliche Wirtsspezies. Da die Wirte je nach geographischer Herkunft variierten, konnte dies als Erklärung für Unterschiede von ST und CC verschiedener geographischer Regionen herangezogen werden [302, 362].

In Europa zeigten sich, vor allem im *B. burgdorferi* s. l. Komplex, kaum Unterschiede hinsichtlich der ST verschiedener Länder. Lediglich innerhalb der Spezies *B. afzelii* wurden einzelne unterschiedliche ST nachgewiesen (Coipan et al. (2016)). Als mögliche Begründung könnten ähnliche ökologische Nischen, Wirte und Vektoren in ganz Europa angesehen werden [342, 364, 365]. Weitere Metaanalysen von MLST-Daten verschiedener europäischer Länder wären interessant, um einen genauen Überblick über europäische *B. burgdorferi* s. l. Populationsstrukturen zu gewinnen [352].

4.5.1 Sequenztyp 1

14 von 33 eigens typisierten *B. burgdorferi* s. s. Patientenisolaten aus Europa erwiesen sich als ST1 (vgl. Tab. 17). Dieser ST wurde bisher zwar regelmäßig in Patientenisolaten und Zecken in den USA, nicht jedoch in Europa nachgewiesen [302, 359].

Der Anteil von ST1 bei *B. burgdorferi* s. s. Patientenisolaten dieser Arbeit war mit knapp 40 % relativ groß. Verschiedene Hypothesen konnten in diesem Zusammenhang

aufgestellt werden. Patienten könnten sich während eines Aufenthalts in den USA oder in Kanada mit ST1 infiziert haben. Der Symptombeginn der Patienten passte mehrheitlich zu einer Infektion mit Borrelien im Juni und somit zur Hauptaktivitätszeit von *I. scapularis* Nymphen im Nord-Osten der USA [366].

Alternativ wäre es denkbar, dass ST1 in Europa humanpathogener ist als andere *B. burgdorferi* s. s. ST (vgl. 4.6, Humanpathogenität einzelner ST und klonaler Komplexe). Möglicherweise tritt ST1 in europäischen Zecken aber auch vor allem als Mischinfektion auf. Mischinfektionen konnten mittels MLST nicht eindeutig identifiziert werden und eine Unterrepräsentation von ST1 in Zecken wäre somit erklärbar. Jedoch wurde ST1 in den USA bereits häufig in Zecken nachgewiesen. Castillo Ramirez et al. (2016) beschrieben, dass der Mensch das Haupttransportmittel von Borrelien zwischen Europa und den USA sei, da die meisten Wirte die weite Strecke über den Atlantischen Ozean kaum zurücklegen konnten. Die Vermutung, dass Patienten mit europäischen ST in den USA sich ihre Infektion bei einem Aufenthalt in Europa zuzogen und umgekehrt, lag nahe. Dies würde auch erklären, weshalb Überschneidungen von *B. burgdorferi* s. s. ST in Europa und den USA zwar in Patientenisolaten, bisher jedoch nicht in Zecken gefunden wurden [363].

4.5.2 Sequenztyp 3

ST3 der Spezies *B. burgdorferi* s. s. konnte nur in einem Patientenisolat (PLue) der Stammsammlung des NRZ nachgewiesen werden (vgl. Tab. 36). Dieser ST wurde bisher nur in Patientenisolaten und Zecken in den USA, nicht jedoch in Europa nachgewiesen. Klinisch manifestierte sich die Infektion mit ST3 bei PLue als multiple Erythemata migrantia (MEM). Eine Manifestation, die ebenfalls vor allem in den USA und nur selten in Europa beschrieben wurde [304, 367]. Daher lag die Vermutung nahe, dass sich PLue die Infektion mit ST3 möglicherweise bei einem Aufenthalt in den USA zuzog [363]. Bei einer Infektion von PLue mit ST3 in Europa, wären die gleichen Hypothesen zur Diskrepanz der Durchseuchung europäischer Patientenisolats und Zecken denkbar, wie unter 4.5.1 beschrieben. Möglicherweise wurden bisher insgesamt zu wenige Stämme typisiert, um ST3 auch in Europa regelmäßig in Patientenisolaten und Zecken nachzuweisen.

4.6 Humanpathogenität und Invasivität einzelner Sequenztypen

Weder in Europa, noch in den USA konnten bisher eindeutige Aussagen zur Humanpathogenität und Invasivität einzelner ST getroffen werden [302, 304].

In dieser Arbeit wurden einige ST, allen voran ST1 und ST3, ausschließlich in Patientenisolaten, nicht jedoch in Zecken nachgewiesen (vgl. Abb. 32, 37). Eine ähnliche Diskrepanz zwischen ST in Patientenisolaten und Zecken zeigten auch Studien von Hanincova et al. (2013) und Coipan et al. (2016). Es könnte daher vermutet werden, dass nicht alle ST gleichermaßen humanpathogen sind. Eine weitere Hypothese wäre die Existenz anderer Vektoren der LB neben Schildzecken. Magnarelli et al. (1986) berichteten von Einzelfällen, in denen Borrelien offenbar durch andere Insekten übertragen wurden [368, 369]. Evidenzbasierte Studien konnten dies im Verlauf nicht bestätigen, weshalb Schildzecken weiterhin als alleinige Vektoren der LB gelten [304, 370]. Coipan et al. (2016) und Haven et al. (2011) diskutierten, dass unterschiedliche humanpathogene Eigenschaften einzelner ST auch auf rekombinationsbedingte Anpassungen an Umweltbedingungen und Wirte zurückzuführen sein könnten [342, 351]. Eine Diskrepanz zwischen ST in Patientenisolaten und Zecken könnte aber auch durch systematische Selektionsfehler, aufgrund bisher zu wenig typisierter Stämme, bedingt sein.

Weiterhin zeigte sich, dass europäische *B. burgdorferi* s. s. Stämme dieser Arbeit mit einer relativen Häufigkeit von etwa 93 % disseminierte Infektionen bei Patienten hervorriefen. Etwa 40 % dieser *B. burgdorferi* s. s. Stämme erwiesen sich als ST1. Daher wurde diskutiert, ob ST1 in Europa möglicherweise ein besonders hohes Disseminationspotenzial in Patienten aufwies. Aufgrund zu geringer Anzahlen typisierter Patientenisolate waren jedoch keine schließenden Statistiken möglich. Hanincova et al. (2013) beschrieben eine Dissemination von ST1 in den USA in 4 von 5 Fällen [302].

Für weiterführende Studien zur Humanpathogenität und Invasivität einzelner ST und CC wären ST1 und ST3 besonders gut geeignet.

4.7 Populationsstrukturen von *Borrelia burgdorferi sensu stricto* und *Borrelia afzelii*

Populationsstrukturen von *B. burgdorferi* s. s. und *B. afzelii* aus Europa und den USA wurden in dieser Arbeit anhand von goeBURST-Netzwerken und MEGA-Stammbäumen nachvollzogen.

4.7.1 Verwandtschaftsverhältnisse und klonale Komplexe

Im goeBURST-Netzwerk gruppierten sich die meisten *B. afzelii* ST zu einem einzigen, riesigen klonalen Komplex namens CC26, während sich die *B. burgdorferi* s. s. Population in mehreren kleinen klonalen Komplexen gruppierte. Benachbarte ST der Spezies *B. afzelii* zeigten außerdem weniger Alleldifferenzen als benachbarte ST der Spezies *B. burgdorferi* s. s. Speziesintern wurden somit engere Verwandtschaftsverhältnisse von *B. afzelii* im Vergleich zu *B. burgdorferi* s. s. festgestellt (vgl. Abb. 32, 37).

Unterschiedliche Verwandtschaftsverhältnisse innerhalb verschiedener Borrelienspezies könnten laut Coipan et al. (2013 und 2016) anhand unterschiedlicher Rekombinationsfrequenzen verschiedener Spezies erklärt werden [342, 371]. Jacquot et al. (2014) zeigten, dass Rekombinationen innerhalb einer Spezies 50-mal häufiger sind als zwischen verschiedenen Spezies [372]. Seltenerer Rekombinationsereignisse innerhalb der Spezies *B. burgdorferi* s. s. könnten auf die geringere Durchseuchung europäischer Zecken mit *B. burgdorferi* s. s., im Vergleich zu beispielsweise *B. afzelii*, zurückzuführen sein [373].

Europäische *B. burgdorferi* s. s. ST gruppierten sich sowohl im Stammbaum als auch im goeBURST-Netzwerk, unter Einstellung von TLV, unmittelbar neben ST aus den USA. Aufgrund enger Verwandtschaftsverhältnisse von Stämmen dieser Spezies in Europa und den USA könnte angenommen werden, dass sich *B. burgdorferi* s. s. auf beiden Kontinenten aus demselben Vorfahren entwickelte. Diese Hypothese wurde auch in Studien von Margos et al. 2008 diskutiert, wobei ein europäischer Ursprung von *B. burgdorferi* s. s. vermutet wurde [111].

Weiterhin zeigten sich engere Verwandtschaftsverhältnisse europäischer *B. burgdorferi* s. s. ST untereinander, als zwischen *B. burgdorferi* s. s. ST aus Europa

und den USA. Trotz potenziell gleicher Vorfahren entwickelten sich *B. burgdorferi* s. s. Populationslinien in Europa und den USA somit, je nach ökologischer Nische, in unterschiedliche Richtungen [111, 302].

4.7.2 Heterogenität

Die Spezies *B. afzelii* zeigte sich in dieser Arbeit und in Studien von Coipan et al. (2016) genetisch wesentlich heterogener als *B. burgdorferi* s. s. (vgl. Abb. 32, 37) [342]. Obwohl etwa dreimal so viele *B. burgdorferi* s. s. Stämme (n = 677) als *B. afzelii* Stämme (n = 198) typisiert wurden, konnten bei beide Spezies annähernd gleichviele verschiedene ST nachgewiesen werden (*B. burgdorferi* s. s. n = 112 ST, *B. afzelii* n = 98 ST). Außerdem war die Anzahl bereits veröffentlichter ST und Stämme aus Europa für *B. afzelii* bereits deutlich größer als für *B. burgdorferi* s. s. (vgl. MLST-OnlineDatenbank, *B. burgdorferi* s. s. n = 15 ST bei 22 Stämmen, *B. afzelii* n = 74 ST bei 121 Stämmen). Dennoch wurden in dieser Arbeit deutlich mehr neue *B. afzelii* ST (31 % - 24 neue ST bei 77 typisierten Stämmen) als neue *B. burgdorferi* s. s. ST (9% - 5 neue ST bei 56 typisierten Stämmen) identifiziert. Eine größere Heterogenität der Spezies *B. afzelii* verglichen mit *B. burgdorferi* s. s. wurde daher angenommen. Pearson et al. (2009) beschrieben evolutionäre Prozesse wie Mutationen, Gendrift oder Rekombinationen als Grundlage für die Heterogenität von Bakterien [374]. In weiterführenden Studien wäre zu klären ob derartige evolutionäre Ereignisse, aufgrund der größeren Heterogenität, bei *B. afzelii* häufiger zu finden sind als bei *B. burgdorferi* s. s.

4.7.3 Rekombination

Obwohl housekeeping Gene des Linearchromosoms von Borrelien als evolutionär sehr stabil gelten, beschrieben Haven et al. (2011) und Vitorino (2008) auch innerhalb dieser Gene, in seltenen Fällen, Rekombinationen [302, 343, 351].

Anhand von MLST-Analysen konnten Rekombinationsereignisse zum Beispiel dann vermutet werden, wenn sich ein Borrelienstamm im goeBURST-Netzwerk anders positionierte als im zugehörigen Stammbaum. GoeBURST-Netzwerke wurden anhand von AT und ST erstellt, während Stammbäume anhand vollständiger Gensequenzen

generiert wurden. Kam es bei Rekombinationsereignissen zum gleichzeitigen Austausch mehrerer Basen, änderte sich die Position im Stammbaum stärker als im goeBURST-Netzwerk (vgl. 3.7.4.2, 3.8.4.2 Rekombination und Clusterunterschiede). Ein weiterer Hinweis auf Rekombination waren mehrere vermeintliche Punktmutationen auf nur einem Allel, denn dies wäre aus statistischen Gründen unwahrscheinlich [291, 302].

Rekombinationen in dieser Arbeit wurden bei ST1, ST3, ST20, ST234 und ST236 der Spezies *B. burgdorferi* s.s (vgl. Abb. 32, 33) und bei ST339, ST73, ST288 und ST259 der Spezies *B. afzelii* vermutet (vgl. Abb. 37, 38).

In Studien wurde beschrieben, dass unterschiedliche Genombereiche von Borrelien unterschiedlich stark von Rekombinationsereignissen betroffen waren. So kam es im *OspC*-Gen und anderen plasmidkodierenden Genen häufiger zu Rekombinationen als in konservierten Genen [343, 351, 375-377]. Inwiefern in konservierten Genen überhaupt Rekombinationsereignisse stattfanden wurde zunächst kontrovers diskutiert [378]. Man nahm an, stabile, unabhängige, klonale Populationen von Bakterien veränderten sich nur langsam durch vereinzelte Punktmutationen. Fänden Rekombinationsereignisse jedoch auch in klonalen Bakterienpopulationen statt, wäre mit einer größeren Populationsdynamik sowie schnelleren Veränderung von Verwandtschaftsverhältnissen zu rechnen als zunächst angenommen [376, 378].

Rekombination und somit die Variabilität von Genen ist, aus evolutionsbiologischer Sicht, essentiell für das Überleben von Bakterien. Denn so wird eine Anpassung von Organismen an verschiedene, sich ändernde Umweltbedingungen ermöglicht [379].

Insgesamt gilt *B. burgdorferi* s. l., trotz des gelegentlichen Auftretens von Rekombinationsereignissen, als Spezieskomplex großer klonaler Stabilität [302, 351].

4.7.4 Vergleich der *Borrelia burgdorferi* sensu stricto Populationsstrukturen in Europa und den USA

B. burgdorferi s. s. ist, neben der kürzlich entdeckten Spezies *B. mayonii*, die einzig humanpathogene *B. burgdorferi* s. l. Spezies in den USA [136]. In Europa sind mehrere humanpathogene *B. burgdorferi* s. l. Spezies bekannt, wobei *B. afzelii* bisher häufiger in Patientenisolaten und Zecken gefunden wurde als *B. burgdorferi* s. s. [150, 352]. Hinsichtlich der Heterogenität zeigte sich *B. burgdorferi* s. s. in Europa und den USA in etwa vergleichbar. In dieser Arbeit wurden 20 verschiedene ST bei 76 typisierten

Stämmen aus Europa (26%) und 94 verschiedene ST bei 601 typisierten Stämmen aus den USA (16%) nachgewiesen (vgl. Abb. 31 und 4.7.2 Heterogenität). Geringe Unterschiede hinsichtlich der Anzahl verschiedener *B. burgdorferi* s. s. ST in Europa und den USA könnten eventuell durch das größere Kollektiv, mittels MLST typisierter Stämme, in den USA erklärt werden. Es wäre denkbar, dass nur eine begrenzte Anzahl verschiedener *B. burgdorferi* s. s. ST existiert und bei ausreichend großer Anzahl typisierter Stämme kaum mehr neue ST identifiziert werden können [302]. Hinsichtlich der Verwandtschaftsverhältnisse von *B. burgdorferi* s. s. ST in Europa und den USA zeigten sich grafisch keine Unterschiede. So war die Aufteilung von ST in major complexes, minor complexes und Singletons sowie die Enge von Verwandtschaftsverhältnissen innerhalb von Populationen in Europa und den USA etwa vergleichbar (vgl. Abb. 32).

4.8 Invasivität

Bezüglich der Invasivität wurde in dieser Arbeit zwischen disseminierten und lokalisierten Infektionen unterschieden. Als „disseminiert“ wurden Manifestationen definiert, denen eine systemische Infektion zugrunde lag. Als „lokalisiert“ galt ausschließlich das lokal begrenzte Erythema migrans (EM).

4.8.1 *Borrelia burgdorferi* sensu stricto und *Borrelia afzelii* in Europa

In statistischen Analysen dieser Arbeit konnte nachgewiesen werden, dass *B. burgdorferi* s. s. signifikant häufiger disseminierte Manifestationen bei Patienten hervorrief als *B. afzelii* (vgl. Abb. 42). Innerhalb der Spezies *B. burgdorferi* s. s. zeigten sich disseminierte Infektionen außerdem statistisch signifikant häufiger als lokalisierte Infektionen (vgl. Abb. 35). Infektionen mit *B. burgdorferi* s. s. in Europa riefen disseminierte Manifestationen bei Patienten mit einer relativen Häufigkeit von nahezu 93 % hervor. Einzelne ST oder CC, die ausschließlich disseminierte oder lokalisierte Infektionen verursachten, konnten nicht identifiziert werden. Coipan et al. (2016) und Hanincova et al. (2013) beschrieben unterschiedliche Invasivitätseigenschaften einzelner ST beziehungsweise einzelner CC. So wurden ST335, ST1054 und ST 1073

der Spezies *B. afzelii* von Coipan et al. (2016) und ST der klonalen Komplex CC7, CC16 und CC4 von Hanincova et al. (2013) vor allem in Patienten mit disseminierten Borrelieninfektionen nachgewiesen und konnten als potenziell besonders invasiv eingestuft werden [302, 342]. Inwiefern sich Ergebnisse dieser Studien verallgemeinern lassen, gilt es jedoch in zukünftigen Metaanalysen zu prüfen. Denn möglicherweise wurden bisher zu wenige Stämme untersucht, um ST aus Patienten mit rein lokalisierten Infektionen auch bei disseminierten Infektionen nachzuweisen und umgekehrt.

4.8.2 *Borrelia burgdorferi* sensu stricto in Europa und den USA

B. burgdorferi s. s. schien in Europa signifikant häufiger disseminierte Manifestationen hervorzurufen als in den USA (93 % disseminierte *B. burgdorferi* s. s. Infektionen in Europa und 42 % disseminierte *B. burgdorferi* s. s. Infektionen in den USA, vgl. Abb. 43). Hinsichtlich der Invasivität einzelner CC konnten in einer Studie von Hanincova et al. (2013) aus den USA CC abgegrenzt werden, die ausschließlich lokalisierte (CC37) **oder** disseminierte (CC4) Manifestationen hervorriefen [302]. Auch Coipan et al. (2016) berichteten von unterschiedlichen Invasivitätseigenschaften verschiedener europäischer Borrelienspezies sowie einzelner ST und Kladen im Stammbaum. So riefen Infektionen mit *B. garinii* und *B. bavariensis* (v.a. ST84) laut Coipan et al. (2016) vor allem Neuroborreliosen hervor und ST335, ST1054 und ST1073 der Spezies *B. afzelii* wurden vor allem in Patienten mit disseminierten Infektionen nachgewiesen [342]. Gegebenenfalls käme es jedoch nach bestimmter Zeit, ohne Therapie, und je nach Immunstatus des Patienten, stets zur Borreliendissemiation. Insofern wäre es denkbar, dass Infektionen mit ST aus CC37 (Hanincova et al. (2013)) vor einer Borreliendissemiation entdeckt und therapiert wurden. Auch anhand des Oberflächenproteins OspC konnten unterschiedliche Invasivitätseigenschaften von *B. burgdorferi* s. s. Untergruppen festgestellt werden [146, 147, 380]. In Studien von Seinost et al. (1999) und Wormser et al. (2008) schienen nur die OspC Untergruppen, A, B, H, I und K disseminierte Infektionen hervorzurufen, während die OspC Untergruppen T und U ausschließlich in Patienten mit lokalisierten Infektionen gefunden wurden. Die Invasivitätseigenschaften der genannten OspC Untergruppen stimmten weitgehend mit den Invasivitätseigenschaften von CC aus Hanincova et al.

(2013) überein, wobei Abweichungen durch Rekombinationen und horizontalen Gentransfer erklärbar waren [302, 351, 381, 382].

Als mögliche Erklärung für unterschiedliche Invasivitätseigenschaften von CC und ST vermuteten Coipan et al. (2016), dass es durch Coinfektion mit anderen zeckenübertragenen Erregern (zum Beispiel *Anaplasma phagocytophilum*) zu einer Immunmodulation beim Menschen kommen könnte [342, 383, 384].

In dieser Arbeit konnte klonalen Komplexen von *B. burgdorferi* s. s. aus Europa keine spezifischen Invasivitätseigenschaften zugeordnet werden. Die Anzahl analysierter Patientenisolate dieser Arbeit war jedoch zu gering, um eindeutige Aussagen zur Invasivität einzelner CC treffen zu können.

In dieser Arbeit konnten weiterhin keine ST nachgewiesen werden, die ausschließlich disseminierte oder lokalisierte Infektionen hervorriefen. Dennoch zeigten sich, in rein deskriptiven Analysen, ST die vor allem disseminierte **oder** lokalisierte Infektionen verursachten (vgl. Tab. 24, 28).

ST1 und ST20 der Spezies *B. burgdorferi* s. s. führten beispielsweise gehäuft, ST21 und ST24 (in je zwei Fällen) sogar ausschließlich, zu disseminierten Infektionen. Drei *B. afzelii* ST (ST72, ST335 und ST479) riefen ausschließlich lokale Manifestationen hervor (vgl. 4.6 Humanpathogenität und Invasivität einzelner ST).

4.9 Neuroborreliose

B. burgdorferi s. s. Infektionen führten in dieser Arbeit, verglichen mit *B. afzelii* Infektionen statistisch signifikant häufiger zu Neuroborreliosen (NB) (vgl. Abb. 44).

Busch et al. (1995) und Wang et al. (1999) beschrieben *B. garinii* als Hauptverursacher der NB in Europa [140, 144, 150]. Wilske et al. (1996) konnten darüber hinaus nachweisen, dass offenbar vor allem OspA Typ 4 der Spezies „*B. garinii*“ NB hervorrief [155]. OspA Typ 4 wurde später von Margos et al. 2008 als eigenständige Spezies „*B. bavariensis*“ identifiziert [132]. Entsprechend war anzunehmen, dass es sich bei einigen „*B. garinii*“ Isolaten von Busch et al. (1995) und Wang et al. (1999) eigentlich um *B. bavariensis* handelte.

Busch et al. (1995) wiesen *B. garinii*, *B. afzelii* und *B. burgdorferi* s. s. in 58 %, 28 % und 11 % der Fälle in Patientenisolaten von Patienten mit NB nach [140].

In dieser Arbeit manifestierten sich *B. burgdorferi* s. s. Infektionen mit einer relativen Häufigkeit von 63 % als NB. Aufgrund der Diskrepanz zu Ergebnissen früherer Studien wurde diskutiert, inwiefern entsprechende Daten durch Selektionsfehler verzerrt sein könnten [161]. Es wurde entschieden, dass schließende statistische Auswertungen zur Häufigkeit von NB in Europa nicht uneingeschränkt verallgemeinert, und nur unter Berücksichtigung potenzieller systematischer Fehler interpretiert werden können (vgl. 4.3 statistische Auswertungen).

Frühere Studien zeigten, dass *B. burgdorferi* s. s. in Europa deutlich häufiger NB hervorrief als in den USA [302, 385]. In einer Studie von Hanincova et al. (2013) aus den USA erwiesen sich sogar nur fünf von 146 *B. burgdorferi* s. s. Infektionen als NB [302, 304].

Der Patient PKa dieser Arbeit erkrankte in zwei aufeinanderfolgenden Jahren an einer NB (PKaI/PKaII, 1983 und 1984). Dabei wurde in beiden Jahren derselbe *B. burgdorferi* s. s. ST isoliert. Ob es sich um eine Reaktivierung oder eine Neuinfektion handelte, war nicht mit Sicherheit nachvollziehbar.

Um detaillierte Unterschiede der Manifestation Neuroborreliose bei Infektionen durch *B. burgdorferi* s. s. in Europa und den USA, sowie im Vergleich zu *B. afzelii* festzustellen, sind weitere Studien notwendig.

4.10 Klinische Manifestationen von *Borrelia burgdorferi* sensu stricto und *Borrelia afzelii* Infektionen

Die Lyme Borreliose (LB) ist, als Multisystemerkrankung, in der Lage eine Vielzahl klinischer Manifestationen hervorzurufen. In der Literatur wurde beschrieben, dass klinische Manifestationen durch Borrelieninfektionen je nach Borrelienspezies variieren. Während *B. burgdorferi* s. s. vor allem mit Arthritiden assoziiert wurde, führte *B. afzelii* gehäuft zu lokalen und disseminierten Hautmanifestationen [161]. NB wurden insbesondere durch *B. garinii* und *B. bavariensis*, sowie in einigen Fällen durch *B. burgdorferi* s. s. hervorgerufen [161, 342, 350].

Cerar et al. (2016) konnten darüberhinaus geographische Unterschiede klinischer Manifestationen durch Borrelieninfektionen feststellen. So führten Infektionen mit

B. burgdorferi s. s. in Europa häufiger zu disseminierten und schwerwiegenden Manifestationen als in den USA [352].

B. burgdorferi s. s. Infektionen manifestierten sich in dieser Arbeit (in absteigender Reihenfolge) vor allem als NB, ACA, A, BLZ, kardiale Manifestationen und MEM (vgl. Abb. 36). Diese Ergebnisse widersprachen früheren Studien, die Arthritiden als Hauptmanifestation von *B. burgdorferi* s. s. Infektionen beschrieben [161]. Inwiefern NB aufgrund von Selektionsfehlern in dieser Arbeit überrepräsentiert oder in früheren Studien unterrepräsentiert waren, konnte nicht abschließend geklärt werden.

B. afzelii Infektionen manifestierten sich in dieser Arbeit, wie auch in früheren Studien, (in absteigender Reihenfolge) vor allem als akute und chronische Hautmanifestationen, NB sowie in selteneren Fällen als BLZ, A, kardiale Symptome und Osteomyelitiden (vgl. Abb. 40) [350].

Drei Patienten (PHot, PWo, PTen) mit *B. afzelii* Infektion sowie ein Patient (PShl) mit *B. burgdorferi* s. s. Infektion der Stammsammlung des NRZ zeigten eine Morphea (zirkumskripte Sklerodermie) und ein weiterer Patient (PWeb) wies ein Granuloma anulare auf.

Ein Zusammenhang von Borrelieninfektionen mit den Manifestationen Morphea und Granuloma anulare wurde bereits an vielen Stellen der Literatur diskutiert [387-392]. Inwiefern es sich bei der Morphea und dem Granuloma anulare um eine Manifestation der LB oder einen Risikofaktor für eine Sekundärbesiedelungen vorgeschädigter Haut mit Borrelien (bindegewebsaffine Bakterien) handelt, konnte bisher nicht abschließend geklärt werden [386].

Zwei Patienten (PBo und PLap) dieser Arbeit mit der Manifestation NB litten zum Diagnosezeitpunkt der LB nebenbefundlich an einem Tinnitus. PLap erlitt in der Vorgeschichte außerdem zwei Hörstürze. In Studien von Walther et al. (2003) und Peltomaa et al. (2000) wurde ebenfalls von einem Zusammenhang zwischen vestibulären Störungen mit Tinnitussymptomatik und der Diagnose LB berichtet. Auch Hörstürze traten in den genannten Studien gehäuft im Zusammenhang mit der LB auf, wobei vor allem Patienten mit NB betroffen waren [393, 394]. Um eindeutige Aussagen zum Zusammenhang der LB mit Hörstürzen beziehungsweise auditiven

Wahrnehmungen im Sinne eines Tinnitus treffen zu können, sind weiterführende Studien notwendig.

4.11 Cofaktor Patientenalter bei *Borrelia burgdorferi* sensu stricto und *Borrelia afzelii* Infektionen

Eine Infektion mit Borrelien und eine Erkrankung an der LB ist in jedem Alter möglich. Hubálek et al. (2009) beschrieben in einer Übersichtsarbeit zwei Häufigkeitsgipfel der LB in Europa um das 10. und 60. Lebensjahr [373]. Statistiken des CDC bestätigten diese bimodale Altersverteilung auch für die USA [395].

In dieser Arbeit zeigte sich ein Häufigkeitsgipfel von Borrelieninfektionen im Alter von 50-70 Jahren, sowie ein angedeuteter zweiter Häufigkeitsgipfel im Alter von 11-30 Jahren (vgl. Abb. 45).

Verschiedene Hypothesen könnten diese Altersverteilung erklären. Möglicherweise halten sich Menschen mittleren Alters (um 40 Jahre) sowie ältere Menschen (über 70 Jahre) seltener in Risikogebieten wie Wald und Wiesen auf. Ein Zusammenhang zwischen der Aktivität von Menschen in der Natur und dem gehäuften Auftreten der LB wurde bereits in früheren Studien, unter anderem von Mehnert et al. (2005), diskutiert [51]. Vielleicht entspricht die Altersverteilung in dieser Arbeit aber auch schlicht der Normalverteilung und somit dem Zufall, da die Kurve grafisch eine annähernd Gauß'sche Verteilung zeigt. Statistische Auswertungen zum Patientenalter und der Art der Infektion bei Patienten (disseminiert oder lokalisiert) wurden nicht erhoben.

Hubálek et al. (2009) beschrieben, dass BLZ vor allem bei Kindern unter 16 Jahren und die Spätmanifestation ACA vor allem bei älteren Patienten gefunden werden konnte [373]. Der Einfluss des Patientenalters auf die Art der Infektion, beziehungsweise die Manifestation bei Patienten wäre in weiterführenden Studien zu klären.

4.12 Ausblick

Die häufigste von Zecken übertragene Infektionskrankheit nördlich des Äquators ist die LB [1, 2]. 1982 entdeckte Willy Burgdorfer erstmals den Erreger dieser Erkrankung, wobei *B. burgdorferi* s. l. erst im Verlauf als heterogener Spezieskomplex identifiziert werden konnte. Mittlerweile ist es möglich Borrelien mit Hilfe moderner molekularbiologischer Methoden, wie beispielsweise dem MLST, präzise zu typisieren [22, 111, 283, 302].

Ziel dieser Arbeit war es, Daten zur Populationsstruktur der Spezies *B. burgdorferi* s. s. und *B. afzelii* in Europa zu erheben. Dazu wurden erstmals Patientenisolat und wiederholt auch Zecken aus Europa mittels MLST typisiert. Weiterhin wurden MLST-Daten von *B. burgdorferi* s. s. aus den USA von der MLST-Onlinedatenbank heruntergeladen und analysiert.

In dieser Arbeit zeigte sich *B. afzelii* wesentlich heterogener als *B. burgdorferi* s. s. Ein Vergleich von *B. burgdorferi* s. s. in Europa und den USA ergab Unterschiede hinsichtlich ST und klinischer Manifestationen auf beiden Kontinenten. Zwei Überschneidungen von *B. burgdorferi* s. s. ST (ST1 und ST3) in Patientenisolaten aus Europa und den USA konnten identifiziert werden, während sich keine Überschneidungen von ST in Zecken zeigten. In Europa schien *B. burgdorferi* s. s. signifikant häufiger invasive Verläufe hervorzurufen als *B. afzelii*. Weiterhin konnten potenziell unterschiedliche Humanpathogenitäts- und Invasivitätseigenschaften einzelner ST und CC vermutet werden [302, 303].

Die meisten Stämme dieser Arbeit stammten aus Süddeutschland, so dass Ergebnisse nur bedingt auf ganz Europa verallgemeinert werden konnten. Selektionsbedingte Verzerrungen statistischer Ergebnisse wurden sorgfältig diskutiert und Ergebnisse entsprechend interpretiert. Aufgrund der begrenzten Anzahl analysierter Stämme konnten einige schließende Statistiken in dieser Arbeit nicht durchgeführt werden. Inwiefern (i) einzelne ST und CC unterschiedliche Invasivitäts- und Humanpathogenitätseigenschaften aufweisen, (ii) Ergebnisse dieser Arbeit flächendeckend auf ganz Europa verallgemeinert werden können und (iii) weshalb gemeinsame *B. burgdorferi* s. s. ST aus Europa und den USA nur in Patientenisolaten nicht jedoch in Zecken gefunden wurden, konnte nicht abschließend geklärt werden. Inwiefern es Unterschiede der NB in Europa und den USA sowie zwischen

verschiedenen Spezies und ST gibt ist ebenfalls in weiteren Studien zu klären. Das MLST, als moderne molekularbiologische Typisierungsmethode ist besonders gut für zukünftige Studien im Rahmen von Metaanalysen geeignet, da große Datenmengen generiert und laborunabhängig miteinander verglichen werden können.

Ergebnisse dieser Arbeit können als Grundlage für Studien, beispielsweise im Rahmen der Impfstoffentwicklung, dienen. Denn Analysen zur Häufigkeit von Borrelienspezies und ST in Patientenisolaten und Zecken sowie Unterschiede hinsichtlich deren Humanpathogenitäts- und Invasivitätseigenschaften sind in diesem Zusammenhang besonders relevant.

Literaturverzeichnis

1. O'Connell, S., et al., *Epidemiology of european lyme borreliosis*. Zentralblatt für Bakteriologie, 1998. 287(3): p. 229-240.
2. Stanek, G., et al., *Epidemiology of Lyme borreliosis*, in *Aspects of Lyme borreliosis*. 1993, Springer. p. 358-370.
3. Dennis, D.T., *Epidemiology, ecology, and prevention of Lyme disease*. Lyme disease. Philadelphia: American College of Physicians, 1998: p. 7-34.
4. Orloski, K.A., et al., *Surveillance for Lyme disease—United States, 1992–1998*. MMWR CDC Surveill Summ, 2000. 49(3): p. 1-11.
5. Dennis, D.T. and E.B. Hayes, *Epidemiology of Lyme borreliosis*. O. Kahl, JS Gray, RS Lane, G. Stanek (Ed.) *Lyme borreliosis: biology, epidemiology and control*.—Oxford, United Kingdom: CABI Publishing.—2002.—P, 2002: p. 251-280.
6. R. C. Johnson, F. W. Hyde, and C.M. Rumpel, *Taxonomy of the Lyme disease spirochetes*. Yale Journal of Biology and Medicine, 1984. 57(4): p. 529-537.
7. Johnson, R.C., et al., *Borrelia burgdorferi sp. nov.: Etiologic Agent of Lyme Disease*. International Journal of Systematic Bacteriology, 1984. 34(4): p. 496-497.
8. Kurtenbach, K., et al., *Fundamental processes in the evolutionary ecology of Lyme borreliosis*. Nat Rev Microbiol, 2006. 4(9): p. 660-9.
9. Stanek, G., et al., *Lyme borreliosis*. Lancet, 2012. 379(9814): p. 461-73.
10. Hetteche, G., *Zecke*. 16.07.2008, Dr. Fingerle, Volker Bayerisches Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit 2012: http://www.lgl.bayern.de/gesundheitschutz/infektionsschutz/infektionskrankheiten_a_z/borreliose/lyme_zecke.htm.
11. Eisen, L. and R.S. Lane, *Vectors of Borrelia burgdorferi sensu lato*. Lyme borreliosis: Biology, epidemiology and control, 2002: p. 91-115.
12. Wilske, B., et al., *Lyme-Borreliose in Süddeutschland: Epidemiologische Daten zum Auftreten von Erkrankungsfällen sowie zur Durchseuchung von Zecken (Ixodes ricinus) mit Borrelia burgdorferi*. DMW-Deutsche Medizinische Wochenschrift, 2008. 112(45): p. 1730-1736.
13. Fingerle, V., et al., *Prevalence of Borrelia burgdorferi sensu lato in Ixodes ricinus in Southern Germany*. J Spiroch Tick Dis, 1994. 1: p. 41-45.
14. Maiwald, M., et al., *Transmission risk of Borrelia burgdorferi sensu lato from Ixodes ricinus ticks to humans in southwest Germany*. Epidemiology and infection, 1998. 121(1): p. 103-108.
15. Paul, H., H.-J. Gerth, and R. Ackermann, *Infectiousness for humans of Ixodes ricinus containing Borrelia burgdorferi*. Zentralblatt für Bakteriologie, Mikrobiologie und Hygiene. Series A: Medical Microbiology, Infectious Diseases, Virology, Parasitology, 1987. 263(3): p. 473-476.
16. Huegli, D., et al., *Prospective study on the incidence of infection by Borrelia burgdorferi sensu lato after a tick bite in a highly endemic area of Switzerland*. Ticks Tick Borne Dis, 2011. 2(3): p. 129-36.
17. RKI. *Lyme Borreliose*. 2013 01.03.2013; Available from: https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber_LymeBorreliose.html#doc2398672bodyText15.
18. Huber, M. <http://www.gesetze-bayern.de/jportal/?quelle=jlink&docid=jlr-MeldpflVBYrahmen&psml=bsbayprod.psml&max=true&aiz=true>. 2013 23.01.2013.
19. Fingerle, V. http://www.lgl.bayern.de/gesundheitschutz/infektionsschutz/infektionskrankheiten_a_z/borreliose/lyme_meldepflicht.htm. 2013 20.02.2013.
20. RKI, *Epidemiologisches Bulletin*. Aktuelle Daten und Informationen zu Infektionskrankheiten und public health, 2012(14).

21. Buchwald, A., *Ein Fall von diffuser idiopathischer Haut Atrophie*. Archives of Dermatology and Syphilis, 1883. 10(1): p. 553-556.
22. Burgdorfer, W., et al., *Lyme disease-a tick-borne spirochetosis?* Science, 1982. 216(4552): p. 1317-9.
23. Benach, J.L., et al., *Spirochetes isolated from the blood of two patients with Lyme disease*. N Engl J Med, 1983. 308(13): p. 740-2.
24. Steere, A.C.e.a., *The Early Clinical Manifestations of Lyme Disease*. Annals of Internal Medicine, 1983. 99(1): p. 76-82.
25. Ackermann, R., et al., [*Spirochete etiology of erythema chronicum migrans disease*]. Deutsche medizinische Wochenschrift (1946), 1984. 109(3): p. 92-97.
26. Pfister, H., et al., *The spirochetal etiology of lymphocytic meningoradiculitis of Bannwarth (Bannwarth's syndrome)*. Journal of neurology, 1984. 231(3): p. 141-144.
27. Mursic, V.P., et al., *Repeated isolation of spirochetes from the cerebrospinal fluid of a patient with meningoradiculitis Bannwarth*. European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases, 1984. 3(6): p. 564-565.
28. Preac-Mursic, V., et al., *First isolation of Borrelia burgdorferi from an iris biopsy*. Journal of Neuro-Ophthalmology, 1993. 13(3): p. 155-161.
29. Preac-Mursic, V., et al., *Acrodermatitis chronica atrophicans--a borreliosis!* Der Hautarzt; Zeitschrift für Dermatologie, Venerologie, und verwandte Gebiete, 1985. 36(12): p. 691-693.
30. Asbrink, E., A. Hovmark, and B. Hederstedt, *The spirochetal etiology of acrodermatitis chronica atrophicans Herxheimer*. Acta Derm Venereol, 1984. 64(6): p. 506-12.
31. Steere, A., et al. *Cluster of arthritis in children and adults in Lyme, Connecticut*. in *Arthritis and Rheumatism*. 1976. Lippincott - Raven Publ 227 east Washington sq, Philadelphia, PA 19106.
32. Steere, A.C., et al., *Lyme arthritis: an epidemic of oligoarticular arthritis in children and adults in three connecticut communities*. Arthritis Rheum, 1977. 20(1): p. 7-17.
33. Murray, P., *The widening circle: A Lyme disease pioneer tells her story*. 1996: St Martins Press.
34. Steere, A.C., et al., *Historical perspective of Lyme disease*. Zentralblatt für Bakteriologie, Mikrobiologie, und Hygiene. Series A, Medical microbiology, infectious diseases, virology, parasitology, 1986. 263(1-2): p. 3.
35. Afzelius, A., *Verhandlungen der Dermatologischen Gesellschaft zu Stockholm*. Archives of Dermatology and Syphilis, 1910. 101(2-3): p. 404.
36. Lipschütz, B., *Über eine seltene Erythemform (Erythema chronicum migrans)*. Archives of Dermatological Research, 1913. 118(1): p. 349-356.
37. Balban, W., *Erythema annulare, entstanden durch Insektenstiche*. Archives of Dermatological Research, 1911. 105(3): p. 423-430.
38. Steere, A.C. and S.E. Malawista, *Cases of Lyme disease in the United States: locations correlated with distribution of Ixodes dammini*. Ann Intern Med, 1979. 91(5): p. 730-3.
39. Wallis, R.C., et al., *Erythema chronicum migrans and Lyme arthritis: field study of ticks*. American journal of epidemiology, 1978. 108(4): p. 322-327.
40. Steere, A.C.e.a., *Erythema Chronicum Migrans and Lyme Arthritis: The Enlarging Clinical Spectrum*. Annals of Internal Medicine, 1977. 86(6): p. 685-698.
41. Herxheimer, K. and K. Hartmann, *Ueber Acrodermatitis chronica atrophicans*. Archives of Dermatology and Syphilis, 1902. 61(2-3): p. 57-76.
42. Herxheimer, K. and K. Hartmann, *Ueber Acrodermatitis chronica atrophicans*. Archiv für Dermatologie und Syphilis, 1902. 61(2-3): p. 255-300.
43. Hellerstrom, S., *Erythema chronicum migrans Afzelius with meningitis*. Acta Derm Venereologica, 1951. 31(2): p. 227-34.
44. Hellerström, S., *Erythema chronicum migrans Afzelii*. Acta Derm Venereol (Stockh), 1930. 11: p. 315-321.
45. Garin, C. and A. Bujadoux, *Paralysie par les tiques*. J Med Lyon, 1922. 71: p. 765-767.

46. Bannwarth, A., *Chronische lymphozytäre Meningitis, entzündliche Polyneuritis und 'Rheumatismus'*. Archiv Psychiatrischer Nervenkrankheiten, 1941. 113: p. 284-376.
47. Hörstrup, P. and R. Ackermann, *Durch Zecken übertragene Meningopolyneuritis (Garin-Bujadoux, Bannwarth)*. Fortschr Neurol Psychiatr, 1973. 41: p. 583-606.
48. Bannwarth, A., *Zur Klinik und Pathogenese der „chronischen lymphocytären Meningitis“*. European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience, 1944. 117(1-3): p. 161-185, 682-716.
49. Prevention, C.f.D.C.a. <http://www.cdc.gov/lyme/stats/chartstables/incidencebystate.html>. 2010 October 29, 2012.
50. Satz, N., *Klinik der Lyme-Borreliose*. Tabelle 15.1: Synopsis der Therapie der Lyme-Borreliose. 2010, Bern: Verlag Hans Huber.
51. Mehnert, W.H. and G. Krause, *Surveillance of Lyme borreliosis in Germany, 2002 and 2003*. Euro Surveill, 2005. 10(4): p. 83-5.
52. Huppertz, H., et al., *Incidence of Lyme borreliosis in the Würzburg region of Germany*. European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 1999. 18(10): p. 697-703.
53. Reimer, B., et al., *Epidemiology of Lyme borreliosis in south-eastern Bavaria (Germany)*. Zentralblatt für Bakteriologie, 1999. 289(5): p. 653-654.
54. Wilske, B., et al., *Zur Epidemiologie der Borrelia burgdorferi-Infektion. Nachweis von Antikörpern gegen Borrelia burgdorferi bei Waldarbeitern in Oberbayern*. Münchner Medizinische Wochenschrift, 1985. 127: p. 171-172.
55. Motiejunas, L., et al., *Lyme borreliosis in Lithuania*. Scandinavian journal of infectious diseases, 1994. 26(2): p. 149-155.
56. Weisshaar, E., et al., *Tick bites and borreliosis in children attending forest kindergarten: a challenge for prevention*. Gesundheitswesen, 2006. 68(12): p. 775-9.
57. Schwartz, B.S. and M.D. Goldstein, *Lyme disease in outdoor workers: risk factors, preventive measures, and tick removal methods*. American journal of epidemiology, 1990. 131(5): p. 877-885.
58. Oteo, J., J.M. Casas, and V.M. de Artola, *Re: "Lyme disease in outdoor workers: risk factors, preventive measures, and tick removal methods"*. American journal of epidemiology, 1991. 133(7): p. 754-754.
59. Obermeier, O., *Vorkommen feinsten eine Eigenbewegung zeigender Faden im Blute von Rekurrenkranken*. Zbl. med. Wiss., 1873. 11: p. 145-155.
60. Southern, P.M., *Relapsing fever: A Clinical and Microbiological Review*. Medicine, 1969. 48(2): p. 129-150.
61. Toledo, A.e.a., *Phylogenetic Analysis of a Virulent Borrelia Species Isolated from Patients with Relapsing Fever*. Journal of Clinical Microbiology, 2010. 48(7): p. 2484-2489.
62. Kurtti, T.J., et al., *Colony formation and morphology in Borrelia burgdorferi*. J Clin Microbiol, 1987. 25(11): p. 2054-8.
63. Hyde, J.A., J.P. Trzeciakowski, and J.T. Skare, *Borrelia burgdorferi alters its gene expression and antigenic profile in response to CO2 levels*. J Bacteriol, 2007. 189(2): p. 437-45.
64. Preac-Mursic, V., B. Wilske, and S. Reinhardt, *Culture of Borrelia burgdorferi on six solid media*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 1991. 10(12): p. 1076-9.
65. Preac-Mursic, V., B. Wilske, and G. Schierz, *European Borrelia burgdorferi isolated from humans and ticks culture conditions and antibiotic susceptibility*. Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg A, 1986. 263(1-2): p. 112-8.
66. Barbour, A.G. and S.F. Hayes, *Biology of Borrelia species*. Microbiological Reviews, 1986. 50(4): p. 381-400.
67. Alan G. and M.D. Barbour, *Isolation and Cultivation of Lyme Disease Spirochetes*. The Yale Journal of Biology and Medicine, 1984. 57: p. 521-525.

68. Goldstein, S.F., N.W. Charon, and J.A. Kreiling, *Borrelia burgdorferi swims with a planar waveform similar to that of eukaryotic flagella*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1994. 91(8): p. 3433-7.
69. Motaleb, M.A., et al., *Borrelia burgdorferi periplasmic flagella have both skeletal and motility functions*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2000. 97(20): p. 10899-904.
70. Sadziene, A., et al., *A flagella-less mutant of Borrelia burgdorferi. Structural, molecular, and in vitro functional characterization*. J Clin Invest, 1991. 88(1): p. 82-92.
71. Goldstein, S.F., Buttle K. F., and N.W. Charon, *Structural analysis of the Leptospiraceae and Borrelia burgdorferi by high-voltage electron microscopy*. Journal of Bacteriology, 1996. 178(22): p. 6539-6545.
72. Rosa, P.A., K. Tilly, and P.E. Stewart, *The burgeoning molecular genetics of the Lyme disease spirochaete*. Nat Rev Microbiol, 2005. 3(2): p. 129-43.
73. Hettche, G., *Prinzipieller Aufbau einer Ixodes Zecke*. 16.07.2008, Dr. Fingerle, Volker Bayerisches Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit 2012: http://www.lgl.bayern.de/gesundheitschutz/infektionsschutz/infektionskrankheiten_a_z/borreliose/lyme_zecke.htm.
74. Sonenshine, D., *Biology of ticks. Volume I*. Biology of ticks. Volume I., 1991: p. 447 pp.
75. Eckert, J., et al., *Lehrbuch der Parasitologie für die Tiermedizin*. 2008: Enke.
76. Gray, J.S., *Biology of Ixodes species ticks in relation to tick-borne zoonoses*. Wiener Klinische Wochenschrift, 2002. 114(13-14): p. 473.
77. Fingerle, V. and B. Wilske, *Zeckenentfernung schnell und kompetent: Machen Sie dem Märchen vom Linksgewinde ein Ende*. MMW. Fortschritte der Medizin, 2006. 148(25): p. 30-32.
78. Barbour, A.G., et al., *A Borrelia-specific monoclonal antibody binds to a flagellar epitope*. Infect Immun, 1986. 52(2): p. 549-54.
79. Luft, B.J.e.a., *Biochemical and immunological characterization of the surface proteins of Borrelia burgdorferi*. Infection and Immunity, 1989. 57(11): p. 3637-3645.
80. Brandt, M.E.e.a., *Immunogenic integral membrane proteins of Borrelia burgdorferi are lipoproteins*. Infection and Immunity, 1990. 58(4): p. 983-991.
81. Kenedy, M.R., T.R. Lenhart, and D.R. Akins, *The role of Borrelia burgdorferi outer surface proteins*. FEMS Immunology & Medical Microbiology, 2012. 66(1): p. 1-19.
82. Schwan, T.G., W. Burgdorfer, and C.F. Garon, *Changes in infectivity and plasmid profile of the Lyme disease spirochete, Borrelia burgdorferi, as a result of in vitro cultivation*. Infect Immun, 1988. 56(8): p. 1831-6.
83. Thomas, D.D. and L.E. Comstock, *Interaction of Lyme disease spirochetes with cultured eucaryotic cells*. Infect Immun, 1989. 57(4): p. 1324-6.
84. Neelakanta, G.e.a., *Outer Surface Protein B is Critical for Borrelia burgdorferi Adherence and Survival within Ixodes Ticks*. PLoS Pathogens, 2007. 3(3): p. 33.
85. Yang, X.F., et al., *Essential role for OspA/B in the life cycle of the Lyme disease spirochete*. J Exp Med, 2004. 199(5): p. 641-8.
86. Pal, U., et al., *Attachment of Borrelia burgdorferi within Ixodes scapularis mediated by outer surface protein A*. Journal of Clinical Investigation, 2000. 106(4): p. 561-569.
87. Schwan, T.G. and J. Piesman, *Temporal changes in outer surface proteins A and C of the lyme disease-associated spirochete, Borrelia burgdorferi, during the chain of infection in ticks and mice*. J Clin Microbiol, 2000. 38(1): p. 382-8.
88. Anderson, J.F., et al., *Antigenically variable Borrelia burgdorferi isolated from cottontail rabbits and Ixodes dentatus in rural and urban areas*. J Clin Microbiol, 1989. 27(1): p. 13-20.
89. Pal, U.e.a., *OspC facilitates Borrelia burgdorferi invasion of Ixodes scapularis salivary glands*. Journal of CLinical Investigation, 2004. 113(2): p. 220-230.
90. De Silva, A.M. and E. Fikrig, *Growth and migration of Borrelia burgdorferi in Ixodes ticks during blood feeding*. Am J Trop Med Hyg, 1995. 53(4): p. 397-404.

91. Tilly, K., et al., *Borrelia burgdorferi* *OspC* protein required exclusively in a crucial early stage of mammalian infection. *Infection and immunity*, 2006. 74(6): p. 3554-3564.
92. Fingerle, V., et al., *Differential expression of outer surface proteins A and C by individual Borrelia burgdorferi in different genospecies*. *Medical microbiology and immunology*, 2000. 189(2): p. 59-66.
93. Fingerle, V., et al., *Expression of outer surface proteins A and C of Borrelia burgdorferi in Ixodes ricinus*. *Journal of clinical microbiology*, 1995. 33(7): p. 1867-1869.
94. Fingerle, V., et al., *Complementation of a Borrelia afzelii OspC mutant highlights the crucial role of OspC for dissemination of Borrelia afzelii in Ixodes ricinus*. *International journal of medical microbiology*, 2007. 297(2): p. 97-107.
95. Li, X.e.a., *Role of Outer Surface Protein D in the Borrelia burgdorferi Life Cycle*. *Infection and Immunity*, 2007. 75(9): p. 4237-4244.
96. Stevenson, B., K. Tilly, and P. Rosa, *A family of genes located on four separate 32-kilobase circular plasmids in Borrelia burgdorferi B31*. *Journal of Bacteriology*, 1996. 178(12): p. 3508-3516.
97. Lam, T.T.e.a., *Outer surface proteins E and F of Borrelia burgdorferi, the agent of Lyme disease*. *Infection and Immunity*, 1994. 62(1): p. 290-298.
98. Hellwege, J., et al., *The complement regulator factor H binds to the surface protein OspE of Borrelia burgdorferi*. *J Biol Chem*, 2001. 276(11): p. 8427-35.
99. Kraiczy, P., et al., *Immunological characterization of the complement regulator factor H-binding CRASP and Erp proteins of Borrelia burgdorferi*. *International Journal of Medical Microbiology Supplements*, 2004. 293: p. 152-157.
100. Eicken, C., et al., *Crystal structure of Lyme disease variable surface antigen VlsE of Borrelia burgdorferi*. *J Biol Chem*, 2002. 277(24): p. 21691-6.
101. Marconi, R.T., et al., *Molecular and evolutionary analyses of a variable series of genes in Borrelia burgdorferi that are related to ospE and ospF, constitute a gene family, and share a common upstream homology box*. *J Bacteriol*, 1996. 178(19): p. 5615-26.
102. Baril, C., et al., *Linear chromosome of Borrelia burgdorferi*. *Res Microbiol*, 1989. 140(8): p. 507-16.
103. Ferdows, M.S. and A.G. Barbour, *Megabase-sized linear DNA in the bacterium Borrelia burgdorferi, the Lyme disease agent*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1989. 86(15): p. 5969-73.
104. Bergstrom, S., et al., *Extrachromosomal elements of spirochetes*. *Res Microbiol*, 1992. 143(6): p. 623-8.
105. Casjens, S., et al., *A bacterial genome in flux: the twelve linear and nine circular extrachromosomal DNAs in an infectious isolate of the Lyme disease spirochete Borrelia burgdorferi*. *Mol Microbiol*, 2000. 35(3): p. 490-516.
106. Casjens, S.R., et al., *Genome stability of Lyme disease spirochetes: comparative genomics of Borrelia burgdorferi plasmids*. *PLoS One*, 2012. 7(3): p. e33280.
107. Hyde, F.W. and R.C. Johnson, *Genetic relationship of lyme disease spirochetes to Borrelia, Treponema, and Leptospira spp*. *J Clin Microbiol*, 1984. 20(2): p. 151-4.
108. Fraser, C.M., et al., *Genomic sequence of a Lyme disease spirochaete, Borrelia burgdorferi*. *Nature*, 1997. 390(6660): p. 580-6.
109. Schmid, G.P., et al., *DNA characterization of the spirochete that causes Lyme disease*. *J Clin Microbiol*, 1984. 20(2): p. 155-8.
110. Casjens, S., et al., *Linear chromosomes of Lyme disease agent spirochetes: genetic diversity and conservation of gene order*. *J Bacteriol*, 1995. 177(10): p. 2769-80.
111. Margos, G., et al., *MLST of housekeeping genes captures geographic population structure and suggests a European origin of Borrelia burgdorferi*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008. 105(25): p. 8730-5.
112. Wilske, B., et al., *Immunochemical and immunological analysis of European Borrelia burgdorferi strains*. *Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg A*, 1986. 263(1-2): p. 92-102.

113. Barbour, A.G., *Polymorphisms of major surface proteins of Borrelia burgdorferi*. Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg A, 1986. 263(1-2): p. 83-91.
114. Stanek, G., et al., *Lyme borreliosis: clinical case definitions for diagnosis and management in Europe*. Clinical Microbiology and Infection, 2011. 17(1): p. 69-79.
115. Baranton, G., et al., *Delineation of Borrelia burgdorferi sensu stricto, Borrelia garinii sp. nov., and group VS461 associated with Lyme borreliosis*. Int J Syst Bacteriol, 1992. 42(3): p. 378-83.
116. Margos, G.e.a., *Population genetics, taxonomy, phylogeny and evolution of Borrelia burgdorferi sensu lato*. Infect Genet Evol., 2011. 11(7): p. 1545-1563.
117. Smith, R.P., Jr., et al., *Borrelia garinii in seabird ticks (Ixodes uriae), Atlantic Coast, North America*. Emerg Infect Dis, 2006. 12(12): p. 1909-12.
118. Duneau, D., et al., *Prevalence and diversity of Lyme borreliosis bacteria in marine birds*. Infect Genet Evol, 2008. 8(3): p. 352-9.
119. Canica, M.M., et al., *Monoclonal antibodies for identification of Borrelia afzelii sp. nov. associated with late cutaneous manifestations of Lyme borreliosis*. Scand J Infect Dis, 1993. 25(4): p. 441-8.
120. Kawabata, H., T. Masuzawa, and Y. Yanagihara, *Genomic analysis of Borrelia japonica sp. nov. isolated from Ixodes ovatus in Japan*. Microbiol Immunol, 1993. 37(11): p. 843-8.
121. Marconi, R.T., D. Liveris, and I. Schwartz, *Identification of novel insertion elements, restriction fragment length polymorphism patterns, and discontinuous 23S rRNA in Lyme disease spirochetes: phylogenetic analyses of rRNA genes and their intergenic spacers in Borrelia japonica sp. nov. and genomic group 21038 (Borrelia andersonii sp. nov.) isolates*. J Clin Microbiol, 1995. 33(9): p. 2427-34.
122. Fukunaga, M., et al., *Borrelia tanukii sp. nov. and Borrelia turdae sp. nov. found from ixodid ticks in Japan: rapid species identification by 16S rRNA gene-targeted PCR analysis*. Microbiol Immunol, 1996. 40(11): p. 877-81.
123. Le Fleche, A., et al., *Characterization of Borrelia lusitaniae sp. nov. by 16S ribosomal DNA sequence analysis*. Int J Syst Bacteriol, 1997. 47(4): p. 921-5.
124. Wang, G., et al., *Genetic and phenotypic analysis of Borrelia valaisiana sp. nov. (Borrelia genomic groups VS116 and M19)*. Int J Syst Bacteriol, 1997. 47(4): p. 926-32.
125. Postic, D., et al., *Expanded diversity among Californian borrelia isolates and description of Borrelia bissettii sp. nov. (formerly Borrelia group DN127)*. J Clin Microbiol, 1998. 36(12): p. 3497-504.
126. Masuzawa, T., et al., *Borrelia sinica sp. nov., a lyme disease-related Borrelia species isolated in China*. Int J Syst Evol Microbiol, 2001. 51(Pt 5): p. 1817-24.
127. Richter, D., et al., *Delineation of Borrelia burgdorferi sensu lato species by multilocus sequence analysis and confirmation of the delineation of Borrelia spielmanii sp. nov.* Int J Syst Evol Microbiol, 2006. 56(Pt 4): p. 873-81.
128. Postic, D., M. Garnier, and G. Baranton, *Multilocus sequence analysis of atypical Borrelia burgdorferi sensu lato isolates--description of Borrelia californiensis sp. nov., and genomospecies 1 and 2*. Int J Med Microbiol, 2007. 297(4): p. 263-71.
129. Chu, C.Y., et al., *Novel genospecies of Borrelia burgdorferi sensu lato from rodents and ticks in southwestern China*. J Clin Microbiol, 2008. 46(9): p. 3130-3.
130. Rudenko, N., et al., *Delineation of a new species of the Borrelia burgdorferi Sensu Lato Complex, Borrelia americana sp. nov.* J Clin Microbiol, 2009. 47(12): p. 3875-80.
131. Rudenko, N., et al., *Borrelia carolinensis sp. nov., a new (14th) member of the Borrelia burgdorferi Sensu Lato complex from the southeastern region of the United States*. J Clin Microbiol, 2009. 47(1): p. 134-41.
132. Margos, G., et al., *A new Borrelia species defined by multilocus sequence analysis of housekeeping genes*. Appl Environ Microbiol, 2009. 75(16): p. 5410-6.
133. Margos, G., et al., *Multilocus sequence analysis of Borrelia bissettii strains from North America reveals a new Borrelia species, Borrelia kurtenbachii*. Ticks Tick Borne Dis, 2010. 1(4): p. 151-8.

134. Casjens, S.R., et al., *Whole genome sequence of an unusual Borrelia burgdorferi sensu lato isolate*. J Bacteriol, 2011. 193(6): p. 1489-90.
135. Ivanova, L.B., et al., *Borrelia chilensis, a new member of the Borrelia burgdorferi sensu lato complex that extends the range of this genospecies in the Southern Hemisphere*. Environmental microbiology, 2014. 16(4): p. 1069-1080.
136. Pritt, B.S., et al., *Identification of a novel pathogenic Borrelia species causing Lyme borreliosis with unusually high spirochaetaemia: a descriptive study*. The Lancet Infectious Diseases, 2016. 16(5): p. 556-564.
137. Rijpkema, S.G., et al., *Detection of Borrelia afzelii, Borrelia burgdorferi sensu stricto, Borrelia garinii and group VS116 by PCR in skin biopsies of patients with erythema migrans and acrodermatitis chronica atrophicans*. Clin Microbiol Infect, 1997. 3(1): p. 109-116.
138. Picken, R.N., et al., *Patient isolates of Borrelia burgdorferi sensu lato with genotypic and phenotypic similarities of strain 25015*. J Infect Dis, 1996. 174(5): p. 1112-5.
139. Strle, F., et al., *Clinical findings for patients with Lyme borreliosis caused by Borrelia burgdorferi sensu lato with genotypic and phenotypic similarities to strain 25015*. Clin Infect Dis, 1997. 25(2): p. 273-80.
140. Busch, U., et al., *Three species of Borrelia burgdorferi sensu lato (B. burgdorferi sensu stricto, B. afzelii, and B. garinii) identified from cerebrospinal fluid isolates by pulsed-field gel electrophoresis and PCR*. J Clin Microbiol, 1996. 34(5): p. 1072-8.
141. Liveris, D., et al., *Molecular typing of Borrelia burgdorferi from Lyme disease patients by PCR-restriction fragment length polymorphism analysis*. J Clin Microbiol, 1996. 34(5): p. 1306-9.
142. Collares-Pereira, M., et al., *First isolation of Borrelia lusitaniae from a human patient*. J Clin Microbiol, 2004. 42(3): p. 1316-8.
143. Rudenko, N., et al., *Detection of Borrelia bissettii in cardiac valve tissue of a patient with endocarditis and aortic valve stenosis in the Czech Republic*. J Clin Microbiol, 2008. 46(10): p. 3540-3.
144. Fingerle, V., et al., *Epidemiological aspects and molecular characterization of Borrelia burgdorferi s. l. from southern Germany with special respect to the new species Borrelia spielmanii sp. nov.* Int J Med Microbiol, 2008. 298(3-4): p. 279-90.
145. Maraspin, V., E. Ruzic-Sabljić, and F. Strle, *Lyme borreliosis and Borrelia spielmanii*. Emerg Infect Dis, 2006. 12(7): p. 1177.
146. Seinost, G., et al., *Four clones of Borrelia burgdorferi sensu stricto cause invasive infection in humans*. Infect Immun, 1999. 67(7): p. 3518-24.
147. Wormser, G.P., et al., *Borrelia burgdorferi genotype predicts the capacity for hematogenous dissemination during early Lyme disease*. J Infect Dis, 2008. 198(9): p. 1358-64.
148. Diza, E., et al., *Borrelia valaisiana in cerebrospinal fluid*. Emerging infectious diseases, 2004. 10(9): p. 1692.
149. Picken, R.N., et al., *Identification of three species of Borrelia burgdorferi sensu lato (B. burgdorferi sensu stricto, B. garinii, and B. afzelii) among isolates from acrodermatitis chronica atrophicans lesions*. Journal of investigative dermatology, 1998. 110(3): p. 211-214.
150. Wang, G., et al., *Molecular typing of Borrelia burgdorferi sensu lato: taxonomic, epidemiological, and clinical implications*. Clin Microbiol Rev, 1999. 12(4): p. 633-53.
151. Dolan, M.C., et al., *Vector competence of the blacklegged tick, Ixodes scapularis, for the recently recognized Lyme borreliosis spirochete Candidatus Borrelia mayonii*. Ticks and tick-borne diseases, 2016.
152. Barbour, A.G., R.A. Heiland, and T.R. Howe, *Heterogeneity of major proteins in Lyme disease borreliae: a molecular analysis of North American and European isolates*. J Infect Dis, 1985. 152(3): p. 478-84.

153. Wilske, B., et al., *An OspA serotyping system for Borrelia burgdorferi based on reactivity with monoclonal antibodies and OspA sequence analysis*. J Clin Microbiol, 1993. 31(2): p. 340-50.
154. Wilske, B., et al., *Immunological and molecular polymorphisms of OspC, an immunodominant major outer surface protein of Borrelia burgdorferi*. Infect Immun, 1993. 61(5): p. 2182-91.
155. Wilske, B.e.a., *Diversity of OspA and OspC among cerebrospinal fluid isolates of Borrelia burgdorferi sensu lato from patients with neuroborreliosis in Germany*. Medical Microbiology and Immunology, 1996. 184(4): p. 195-201.
156. Balmelli, T. and J.C. Piffaretti, *Association between different clinical manifestations of Lyme disease and different species of Borrelia burgdorferi sensu lato*. Research in Microbiology, 1995. 146(4): p. 329-340.
157. van Dam, A.P.e.a., *Different Genospecies of Borrelia burgdorferi Are Associated with Distinct Clinical Manifestations of Lyme Borreliosis*. Clinical Infectious Diseases, 1993. 17(4): p. 708-717.
158. Assous, M.V., et al., *Western blot analysis of sera from Lyme borreliosis patients according to the genomic species of the Borrelia strains used as antigens*. Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 1993. 12(4): p. 261-268.
159. Hu, C.M., et al., *Transmission of Borrelia garinii OspA Serotype 4 to BALB/c Mice by Ixodes ricinus Ticks Collected in the Field*. Journal of Clinical Microbiology, 2001. 39(3): p. 1169-1171.
160. Steere, A.C., et al., *Clinical manifestations of Lyme disease*. Zentralbl Bakteriell Mikrobiol Hyg A, 1986. 263(1-2): p. 201-5.
161. Wilske, B., et al., *Immunological and molecular variability of OspA and OspC. Implications for Borrelia vaccine development*. Infection, 1996. 24(2): p. 208-12.
162. Steere, A.C.e.a., *The clinical spectrum and treatment of Lyme disease*. Yale J Biol Med, 1984. 57(4): p. 453-464.
163. Asbrink, E. and I. Olsson, *Clinical manifestations of erythema chronicum migrans Afzelius in 161 patients. A comparison with Lyme disease*. Acta Derm Venereol, 1985. 65(1): p. 43-52.
164. Pfister, H.W., B. Wilske, and K. Weber, *Lyme borreliosis: basic science and clinical aspects*. Lancet, 1994. 343(8904): p. 1013-6.
165. Steere, A.C., *Lyme Disease*. N Engl J Med, 1989. 321: p. 586-596.
166. Satz, N.e.a., *Die Erythema-migrans-Krankheit*. Schweiz Med Wochenschr, 1986. 116: p. 763-769.
167. Weber, K.e.a., *Borrelia burgdorferi in a newborn despite oral penicillin for Lyme borreliosis during pregnancy*. Pediatric Infectious Disease Journal, 1988. 7(4): p. 286-288.
168. Weber, K., et al., *European erythema migrans disease and related disorders*. The Yale journal of biology and medicine, 1984. 57(4): p. 463.
169. Asbrink, E., A. Hovmark, and K. Weber, *Acrodermatitis chronica atrophicans, in Aspects of Lyme Borreliosis*. 1993, Springer. p. 193-204.
170. Herzer, P., *Joint manifestations, in Aspects of Lyme Borreliosis*. 1993, Springer. p. 168-184.
171. Stanek, G., *Lyme disease and related disorders*. Microbiol Sci, 1985. 2(8): p. 231-4.
172. Pfister, H., W. Kristoferitsch, and C. Meier, *Early neurological involvement (Bannwarth's syndrome), in Aspects of Lyme Borreliosis*. 1993, Springer. p. 152-167.
173. Steere, A.C., et al., *Erythema chronicum migrans and Lyme arthritis. The enlarging clinical spectrum*. Ann Intern Med, 1977. 86(6): p. 685-98.
174. Nadelman, R.B. and G.P. Wormser, *Erythema migrans and early Lyme disease*. The American Journal of Medicine, 1995. 98(4): p. 15S-24S.
175. Nadelman, R.B. and G.P. Wormser, *Lyme borreliosis*. The lancet, 1998. 352(9127): p. 557-565.

176. Weber, K.e.a., *Erythema-migrans-Krankheit: Beitrag zur Klinik und Beziehung zur Lyme-Krankheit*. Dtsch med Wochenschr, 1983. 108(31/32): p. 1182-1190.
177. CDC. *Erythema migrans*. 2007; Available from: <http://phil.cdc.gov/phil/details.asp?pid=9875>.
178. Asbrink, E., *Erythema chronicum migrans Afzelius and acrodermatitis chronica atrophicans. Early and late manifestations of Ixodes ricinus-borne Borrelia spirochetes*. Acta Derm Venereol Suppl (Stockh), 1985. 118: p. 1-63.
179. Muellegger, R., et al. *Erythema migrans multiloculare in an European area endemic for Lyme borreliosis (Styria/Austria)*. in *Journal of investigative dermatology*. 1996. Blackwell science inc 238 main ST, Cambridge, MA 02142.
180. Strle, F., et al., *Comparison of culture-confirmed erythema migrans caused by Borrelia burgdorferi sensu stricto in New York State and by Borrelia afzelii in Slovenia*. Annals of internal medicine, 1999. 130(1): p. 32-36.
181. Berger, B.W., *Erythema chronicum migrans of Lyme disease*. Arch Dermatol, 1984. 120(8): p. 1017-21.
182. Dermatology, G.P. <http://www.gramercyparkdermatology.com/img/library/blog/lymes.jpg>. 06.06.2013.
183. Koedel, U., V. Fingerle, and H.-W. Pfister, *Lyme neuroborreliosis [mdash] epidemiology, diagnosis and management*. Nature Reviews Neurology, 2015. 11(8): p. 446-456.
184. Hansen, K., et al., *Borrelia meningitis in Denmark*. Zentralblatt für Bakteriologie, Mikrobiologie und Hygiene. Series A: Medical Microbiology, Infectious Diseases, Virology, Parasitology, 1987. 263(3): p. 348-350.
185. Hansen, K. and A.-M. Lebech, *The clinical and epidemiological profile of Lyme Neuroborreliosis in Denmark 1985-1990 a prospective study of 187 patients with Borrelia burgdorferi specific intrathecal antibody production*. Brain, 1992. 115(2): p. 399-423.
186. Oschmann, P., et al., *Stages and syndromes of neuroborreliosis*. Journal of neurology, 1998. 245(5): p. 262-272.
187. Hänny, P. and H. Häuselmann, *Die Lyme-Krankheit aus der Sicht des Neurologen*. Schweiz Med Wochenschr, 1987. 117: p. 901-915.
188. Steere, A.C.e.a., *Lyme Carditis: Cardiac Abnormalities of Lyme Disease*. Annals of Internal Medicine, 1980. 93(1): p. 8-16.
189. Duray, P.H. and A.C. Steere, *The spectrum of organ and systems pathology in human lyme disease*. Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg A, 1986. 263(1-2): p. 169-178.
190. Weber, K. and U. Neubert, *Clinical features of early erythema migrans disease and related disorders*. Zentralblatt für Bakteriologie, Mikrobiologie und Hygiene. Series A: Medical Microbiology, Infectious Diseases, Virology, Parasitology, 1986. 263(1): p. 209-228.
191. Van der Linde, M., *Lyme carditis: clinical characteristics of 105 cases*. Scandinavian journal of infectious diseases. Supplementum, 1991. 77: p. 81.
192. Steere, A.C., et al., *Lyme carditis: cardiac abnormalities of Lyme disease*. Annals of Internal Medicine, 1980. 93(1_Part_1): p. 8-16.
193. Bäfverstedt, B., *Über lymphadenosis benigna cutis: eine klinische und pathologisch-anatomische Studie*. 1943, Norstedt.
194. Franz, J.K. and A. Krause, *Lyme disease (Lyme borreliosis)*. Best Practice & Research Clinical Rheumatology, 2003. 17(2): p. 241-264.
195. Weber, K., et al., *Lymphocytoma--a borreliosis?]*. Zeitschrift für Hautkrankheiten, 1985. 60(20): p. 1585.
196. Hovmark, A., E. Asbrink, and I. Olsson, *The spirochetal etiology of lymphadenosis benigna cutis solitaria*. Acta dermato-venereologica, 1986. 66(6): p. 479.
197. Paschoud, J., *Die Lymphadenosis benigna cutis als übertragbare Infektionskrankheit*. Hautarzt, 1957. 8: p. 197-211.

198. Jordan, P., u. K. Reichel: *Lymphadenosis benigna cutis (Bärfverstedt)*. Hautarzt, 1950. 1: p. 181.
199. Höfer, W., *Lymphadenosis benigna cutis*. Archiv für klinische und experimentelle Dermatologie, 1956. 203(1): p. 23-40.
200. Strle, F., et al., *Solitary borrelial lymphocytoma: report of 36 cases*. Infection, 1992. 20(4): p. 201-206.
201. Picken, R.N., et al., *Molecular subtyping of Borrelia burgdorferi sensu lato isolates from five patients with solitary lymphocytoma*. J Invest Dermatol, 1997. 108(1): p. 92-7.
202. Stanek, G. and F. Strle, *Lyme borreliosis*. The Lancet, 2003. 362(9396): p. 1639-1647.
203. Steere, A.C.e.a., *Chronic Lyme Arthritis: Clinical and Immunogenetic Differentiation from Rheumatoid Arthritis*. Annals of Internal Medicine, 1979. 90(6): p. 896-901.
204. Wilske, B., et al., *Immunochemische analyse der immunantwort bei spätmanifestationen der Lyme Borreliose: Immunochemical analysis of the immune response in late manifestations of Lyme Borreliosis*. Zentralblatt für Bakteriologie, Mikrobiologie und Hygiene. Series A: Medical Microbiology, Infectious Diseases, Virology, Parasitology, 1988. 267(4): p. 549-558.
205. Hauser, W., *Wahrscheinliche Infektionskrankheiten der Haut*, in *Infektionskrankheiten der Haut I*. 1965, Springer. p. 556-629.
206. Asbrink, E. and A. Hovmark, *Successful Cultivation of Spirochetes from Skin Lesions of Patients With Erythema Chronicum Migrans Afzelius and Acrodermatitis Chronica Atrophicans*. Acta Pathologica Microbiologica Scandinavia, 1985. 93B(1-6): p. 161-163.
207. Hopf, H. and G. Klingmüller, *Acrodermatitis chronica atrophicans mit Gelenkbeteiligung und neurologischen Ausfällen*. Nervenarzt, 1966. 36: p. 364-366.
208. Hovmark, A., E. Åsbrink, and I. Olsson, *Joint and bone involvement in Swedish patients with Ixodes ricinus-bomt Borrelia infection*. Zentralblatt für Bakteriologie, Mikrobiologie und Hygiene. Series A: Medical Microbiology, Infectious Diseases, Virology, Parasitology, 1986. 263(1): p. 275-284.
209. Ackermann, R., E. Gollmer, and B. Rehse-Küpper, *Progressive Borrelien-Enzephalomyelitis: Chronische Manifestation der Erythema-chronicum-migrans-Krankheit am Nervensystem*. Dtsch med Wochenschr, 1985. 110(26): p. 1039-1042.
210. Logigian, E.L., R.F. Kaplan, and A.C. Steere, *Chronic neurologic manifestations of Lyme disease*. New England Journal of Medicine, 1990. 323(21): p. 1438-1444.
211. Pfister, H., *Diagnosis and therapy of Lyme neuroborreliosis*. Therapeutische Umschau. Revue therapeutique, 1999. 56(11): p. 664.
212. Kaplan, R., et al., *Cognitive function in post-treatment Lyme disease Do additional antibiotics help?* Neurology, 2003. 60(12): p. 1916-1922.
213. Wilking, H., et al., *Antibodies against Borrelia burgdorferi sensu lato among Adults, Germany, 2008–2011*. Emerging infectious diseases, 2015. 21(1): p. 107.
214. Dehnert, M., et al., *Seropositivity of Lyme borreliosis and associated risk factors: a population-based study in children and adolescents in Germany (KiGGS)*. PLoS One, 2012. 7(8): p. e41321.
215. Fingerle, V. and B. Wilske, *Mikrobiologische Diagnostik der Lyme-Borreliose/Microbiological diagnostics of Lyme borreliosis*. LaboratoriumsMedizin, 2007. 31(3): p. 141-148.
216. Wilske, B. and V. Fingerle, *Therapy of Lyme borreliosis. Stage-appropriate antibiotic selection and dosage*. MMW Fortschr Med, 2000. 142(15): p. 32-3.
217. Barbour, A.G., *Laboratory aspects of Lyme borreliosis*. Clin Microbiology Reviewies, 1988. 1(4): p. 399-414.
218. Fingerle, E., Gessner, Göbel, Hofmann, Hunfeld, et al., *MiQ12 Lyme Borreliose*, in *MiQ: Qualitätsstandards in der mikrobiologisch-infektiologischen Diagnostik*, H.M. Podbielski A, Kniehl E, Mauch H, Rüssmann HH, Editor. 2016, Jena: Urban & Fischer.
219. Hofmann, H., Rauer, S. *Kutane Borreliose*. AWMF Leitlinie 2016; Available from: <http://www.awmf.org/leitlinien/detail/ll/013-044.html>:1-65.

220. Wilske, B., et al., *Diagnosis of Lyme neuroborreliosis. Detection of intrathecal antibody formation*. Fortschritte der Medizin, 1991. 109(22): p. 441.
221. Mygland, A., et al., *EFNS guidelines on the diagnosis and management of European Lyme neuroborreliosis*. European Journal of Neurology, 2010. 17(1): p. 8-e4.
222. Wilske, B. and V. Fingerle, *Lyme-Borreliose Diagnostik*. Mikrobiologie, 2005. 15(6): p. 209-220.
223. Bremell, D.e.a., *Cerebrospinal fluid CXCL13 in Lyme neuroborreliosis and asymptomatic HIV infection*. BMC Neurol., 2013.
224. Rupprecht, T., et al., *The chemokine CXCL13 (BLC): a putative diagnostic marker for neuroborreliosis*. Neurology, 2005. 65(3): p. 448-450.
225. Ljostad, U. and A. Mygland, *CSF B-lymphocyte chemoattractant (CXCL13) in the early diagnosis of acute Lyme neuroborreliosis*. Journal of neurology, 2008. 255(5): p. 732-737.
226. Steere, A.C., R.T. Schoen, and E. Taylor, *The clinical evolution of Lyme arthritis*. Annals of Internal Medicine, 1987. 107(5): p. 725-731.
227. Szer, I.S., E. Taylor, and A.C. Steere, *The long-term course of Lyme arthritis in children*. New England Journal of Medicine, 1991. 325(3): p. 159-163.
228. Neumann, R., E. Aberer, and G. Stanek, *Treatment and course of erythema chronicum migrans*. Zentralbl Bakteriell Mikrobiol Hyg A, 1987. 263(3): p. 372-6.
229. Cerar, D., et al., *Subjective symptoms after treatment of early Lyme disease*. The American journal of medicine, 2010. 123(1): p. 79-86.
230. Preac Mursic, V., et al., *Kill kinetics of Borrelia burgdorferi and bacterial findings in relation to the treatment of Lyme borreliosis*. Infection, 1996. 24(1): p. 9-16.
231. Luft, B.J., et al., *A perspective on the treatment of Lyme borreliosis*. Rev Infect Dis, 1989. 11 Suppl 6: p. S1518-25.
232. Rauer, S., Kaiser, R., Kölmel, HW, Pfister, HW, Wilske, B., *Leitlinie Neuroborreliose*. 2008; Available from: http://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/030-0711_S1_Neuroborreliose_2012_verlaengert.pdf:1-15.
233. Wormser, G.P., et al., *The clinical assessment, treatment, and prevention of Lyme disease, human granulocytic anaplasmosis, and babesiosis: clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America*. Clinical Infectious Diseases, 2006. 43(9): p. 1089-1134.
234. Fikrig, E., et al., *Protection of mice against the Lyme disease agent by immunizing with recombinant OspA*. Science, 1990. 250(4980): p. 553-6.
235. Control, C.f.D. and Prevention, *Availability of Lyme disease vaccine*. MMWR Morb Mortal Wkly Rep, 1999. 48(2): p. 35-6, 43.
236. Steere, A.C., et al., *Vaccination against Lyme disease with recombinant Borrelia burgdorferi outer-surface lipoprotein A with adjuvant*. Lyme Disease Vaccine Study Group. N Engl J Med, 1998. 339(4): p. 209-15.
237. Sigal, L.H., et al., *A vaccine consisting of recombinant Borrelia burgdorferi outer-surface protein A to prevent Lyme disease*. Recombinant Outer-Surface Protein A Lyme Disease Vaccine Study Consortium. N Engl J Med, 1998. 339(4): p. 216-22.
238. Busch, U., V.P. Mursic, and G. Will, *Immunological and molecular variability of OspA and OspC. implications for Borrelia vaccine development*. Infection, 1996. 24(2): p. 208-212.
239. Wressnigg, N., et al., *Safety and immunogenicity of a novel multivalent OspA vaccine against Lyme borreliosis in healthy adults: a double-blind, randomised, dose-escalation phase 1/2 trial*. Lancet Infect Dis, 2013.
240. Brissette, C.A., et al., *Borrelia burgdorferi RevA antigen binds host fibronectin*. Infect Immun, 2009. 77(7): p. 2802-12.
241. Brissette, C.A., et al., *The borrelial fibronectin-binding protein RevA is an early antigen of human Lyme disease*. Clin Vaccine Immunol, 2010. 17(2): p. 274-80.

242. Floden, A.M., et al., *Evaluation of RevA, a Fibronectin-Binding Protein of Borrelia burgdorferi, as a Potential Vaccine Candidate for Lyme Disease*. Clin Vaccine Immunol, 2013. 20(6): p. 892-9.
243. BZ, B. *Zecke übernimmt den U15 Job von Paldardai*. 2015; Available from: <http://www.bz-berlin.de/berlin-sport/hertha-bsc/zecke-uebernimmt-den-u15-job-von-pal-dardai>.
244. FAZ. *Mar'Cool und W'Lahtm*. 2009; Available from: <http://www.faz.net/aktuell/sport/fussball-glosse-mar-cool-und-w-lahm-1853498.html>.
245. Hayes, E.B. and J. Piesman, *How can we prevent Lyme disease?* New England Journal of Medicine, 2003. 348(24): p. 2424-2430.
246. Vázquez, M., et al., *Effectiveness of personal protective measures to prevent Lyme disease*. Emerging infectious diseases, 2008. 14(2): p. 210.
247. Wade, C.F., *Keeping lyme disease at bay: An integrated approach to prevention*. AJN The American Journal of Nursing, 2000. 100(7): p. 26-32.
248. Christiann, F., et al., *Intérêt d'un observatoire rural dans la surveillance épidémiologique d'une maladie émergente: la maladie de Lyme*. Médecine et maladies infectieuses, 1998. 28(4): p. 387-389.
249. Staub, D., et al., *Effectiveness of a repellent containing DEET and EBAAP for preventing tick bites*. Wilderness & environmental medicine, 2002. 13(1): p. 12-20.
250. Solberg, V., et al., *Field evaluation of deet and a piperidine repellent (AI3-37220) against Amblyomma americanum (Acari: Ixodidae)*. Journal of medical entomology, 1995. 32(6): p. 870-875.
251. Stanek, G. and O. Kahl, *Chemoprophylaxis for Lyme borreliosis?* Zentralblatt für Bakteriologie, 1999. 289(5): p. 655-665.
252. Kahl, O., et al., *Risk of Infection with Borrelia burgdorferi sensu lato for a Host in Relation to the Duration of Nymphal Ixodes ricinus Feeding and the Method of Tick Removal*. Zentralblatt für Bakteriologie, 1998. 287(1): p. 41-52.
253. Nadelman, R.B., et al., *Prophylaxis with single-dose doxycycline for the prevention of Lyme disease after an Ixodes scapularis tick bite*. N Engl J Med, 2001. 345(2): p. 79-84.
254. Sood, S.K., et al., *Duration of tick attachment as a predictor of the risk of Lyme disease in an area in which Lyme disease is endemic*. Journal of Infectious Diseases, 1997. 175(4): p. 996-999.
255. Piesman, J., et al., *Duration of tick attachment and Borrelia burgdorferi transmission*. Journal of Clinical Microbiology, 1987. 25(3): p. 557-558.
256. Needham, G.R., *Evaluation of five popular methods for tick removal*. Pediatrics, 1985. 75(6): p. 997-1002.
257. Prevention, C.f.D.C.a. <http://www.cdc.gov/lyme/removal/index.html>. 2011 November 15, 2011.
258. Ruffli, T. and Y. Mumcuoglu, *Dermatologische Entomologie*. Die praktisch-medizinische Bedeutung von Milben und Insekten in der Schweiz und in ihren angrenzenden Regionen, 1981. 18.
259. Keirans, J., G. Needham, and J. Oliver Jr. *The Ixodes ricinus complex worldwide: diagnosis of the species in the complex, hosts and distribution*. in *Symposia, Acarology*. 1999.
260. Filippova, N. *Systematic relationships of the Ixodes ricinus complex in the palearctic faunal region*. in *Acarology IX Symposia*. 1999.
261. Lane, R., J. Piesman, and W. Burgdorfer, *Lyme borreliosis: relation of its causative agent to its vectors and hosts in North America and Europe*. Annual review of entomology, 1991. 36(1): p. 587-609.
262. Postic, D., et al., *Borrelia burgdorferi sensu lato in Russia and neighbouring countries: high incidence of mixed isolates*. Research in microbiology, 1997. 148(8): p. 691-702.
263. Anderson, J.F., *Epizootiology of Borrelia in Ixodes tick vectors and reservoir hosts*. Review of Infectious Diseases, 1989. 11(Supplement 6): p. S1451-S1459.

264. Matuschka, F.R. and A. Spielman, *Zur Biologie der Lyme-Erkrankung in Nordamerika und Mitteleuropa*. *Biologie in unserer Zeit*, 1987. 17(6): p. 169-175.
265. Markowski, D., et al., *Reservoir Competence of the Meadow Vole (Rodentia: Cricetidae) for the Lyme Disease Spirochete Borrelia burgdorferi*. *Journal of medical entomology*, 1998. 35(5): p. 804-808.
266. Burgdorfer, W. and S.F. Hayes, *Vector—Spirochete Relationships in Louse-Borne and Tick-Borne Borrelioses with Emphasis on Lyme Disease*, in *Advances in disease vector research*. 1990, Springer. p. 127-150.
267. Gem, L. and P.-F. Huxnair, *Ecology of Borrelia burgdorferi sensu lato in Europe*. *The Encyclopedia of Arthropod-Transmitted Infections of Man and Domesticated Animals*, 2001: p. 149.
268. Balashov, Y.S., *Blood-sucking ticks (Ixodoidea)-vectors of diseases of man and animals*. *Krovososushchie kleshchi (Ixodoidea)-perenoschiki boleznei cheloveka i zhivotnkh.*, 1967.
269. Yuval, B. and A. Spielman, *Duration and regulation of the developmental cycle of Ixodes dammini (Acari: Ixodidae)*. *Journal of medical entomology*, 1990. 27(2): p. 196-201.
270. Padgett, K.A. and R.S. Lane, *Life cycle of Ixodes pacificus (Acari: Ixodidae): timing of developmental processes under field and laboratory conditions*. *Journal of medical entomology*, 2001. 38(5): p. 684-693.
271. Kahl, O. *Die Zecke als Vektor*. in *Durch Zecken übertragbare Erkrankungen*. 2. *Potsdamer Symposium*. Weller, Schriesheim. 1994.
272. Sonenshine, D.E., *Biology of ticks. Volume 2*. 1993: Oxford University Press.
273. Randolph, S., *Ticks are not insects: consequences of contrasting vector biology for transmission potential*. *Parasitology Today*, 1998. 14(5): p. 186-192.
274. Randolph, S., L. Gern, and P. Nuttall, *Co-feeding ticks: epidemiological significance for tick-borne pathogen transmission*. *Parasitology today*, 1996. 12(12): p. 472-479.
275. Bosler, E.M., et al., *Natural distribution of the Ixodes dammini spirochete*. *Science*, 1983. 220(4594): p. 321-322.
276. Rauter, C. and T. Hartung, *Prevalence of Borrelia burgdorferi sensu lato genospecies in Ixodes ricinus ticks in Europe: a metaanalysis*. *Applied and environmental microbiology*, 2005. 71(11): p. 7203-7216.
277. Falco, R.C., et al., *Temporal relation between Ixodes scapularis abundance and risk for Lyme disease associated with erythema migrans*. *American journal of epidemiology*, 1999. 149(8): p. 771-776.
278. Robertson, J., J. Gray, and P. Stewart, *Tick bite and Lyme borreliosis risk at a recreational site in England*. *European journal of epidemiology*, 2000. 16(7): p. 647-652.
279. Pallua, A., et al., *Infections following tickbites. Tick-borne encephalitis and Lyme borreliosis—a prospective epidemiological study from Tyrol*. *Infection*, 1988. 16(5): p. 269-272.
280. Mejlou, H. and T. Jaenson, *Questing behaviour of Ixodes ricinus ticks (Acari: Ixodidae)*. *Experimental & applied acarology*, 1997. 21(12): p. 747-754.
281. Tavanti, A., et al., *Optimization and validation of multilocus sequence typing for Candida albicans*. *Journal of clinical microbiology*, 2003. 41(8): p. 3765-3776.
282. Morehouse, E.A., et al., *Multilocus sequence typing suggests the chytrid pathogen of amphibians is a recently emerged clone*. *Molecular Ecology*, 2003. 12(2): p. 395-403.
283. Maiden, M.C., et al., *Multilocus sequence typing: a portable approach to the identification of clones within populations of pathogenic microorganisms*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1998. 95(6): p. 3140-3145.
284. Urwin, R. and M.C. Maiden, *Multi-locus sequence typing: a tool for global epidemiology*. *Trends Microbiol*, 2003. 11(10): p. 479-87.
285. Enright, M.C. and B. GARINII Spratt, *Multilocus sequence typing*. *Trends in microbiology*, 1999. 7(12): p. 482-487.

286. Sullivan, C.B., M.A. Diggle, and S.C. Clarke, *Multilocus sequence typing*. Molecular biotechnology, 2005. 29(3): p. 245-254.
287. Spratt, B. *GARINII, Multilocus sequence typing: molecular typing of bacterial pathogens in an era of rapid DNA sequencing and the internet*. Current opinion in microbiology, 1999. 2(3): p. 312-316.
288. Gevers, D., et al., *Re-evaluating prokaryotic species*. Nature Reviews Microbiology, 2005. 3(9): p. 733-739.
289. Hanage, W.P., C. Fraser, and Spratt, *Sequences, sequence clusters and bacterial species*. Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences, 2006. 361(1475): p. 1917-1927.
290. Bishop, C., et al., *Assigning strains to bacterial species via the internet*. BMC Biology, 2009. 7(1): p. 3.
291. Feil, E.J., et al., *Estimating recombinational parameters in Streptococcus pneumoniae from multilocus sequence typing data*. Genetics, 2000. 154(4): p. 1439-1450.
292. Maiden, M.C., *Multilocus sequence typing of bacteria*. Annu Rev Microbiol, 2006. 60: p. 561-88.
293. <http://www.wellcome.ac.uk/News/2002/Features/WTD004686.htm>. A molecular identity card MLST and bacterial typing 2002 01.02.2003.
294. Maiden, M.C., *High-throughput sequencing in the population analysis of bacterial pathogens of humans*. International journal of medical microbiology, 2000. 290(2): p. 183-190.
295. Pavón, A.B.I. and M.C. Maiden, *Multilocus sequence typing*, in *Molecular Epidemiology of Microorganisms*. 2009, Springer. p. 129-140.
296. Feil, E.J., et al., *eBURST: inferring patterns of evolutionary descent among clusters of related bacterial genotypes from multilocus sequence typing data*. Journal of bacteriology, 2004. 186(5): p. 1518-1530.
297. Aanensen, D.M. and Spratt, *The multilocus sequence typing network: mlst.net*. Nucleic acids research, 2005. 33(suppl 2): p. W728-W733.
298. Tübingen, U. <http://www.splitstree.org/>. 08.04.2013.
299. Alexandre, F. <http://www.phyloviz.net/wiki/>. 31.01.2013.
300. Jolley, K.A., et al., *Sequence type analysis and recombinational tests (START)*. Bioinformatics, 2001. 17(12): p. 1230-1231.
301. Jolley, K.e.a. <http://pubmlst.org/software/analysis/start2/>. 2001.
302. Hanincova, K., et al., *Multilocus sequence typing of Borrelia burgdorferi suggests existence of lineages with differential pathogenic properties in humans*. PLoS One, 2013. 8(9): p. e73066.
303. Strle, K., et al., *Borrelia burgdorferi RST1 (OspC type A) genotype is associated with greater inflammation and more severe Lyme disease*. The American journal of pathology, 2011. 178(6): p. 2726-2739.
304. Jungnick, S., et al., *Borrelia burgdorferi sensu stricto and Borrelia afzelii: Population structure and differential pathogenicity*. International Journal of Medical Microbiology, 2015. 305(7): p. 673-681.
305. Antonov, I. <http://www.genelink.com/tools/gl-oe.asp>. 2012.
306. Mullis, K., et al., *Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction*. Cold Spring Harb Symp Quant Biol, 1986. 51 Pt 1: p. 263-73.
307. Saiki, R.K., et al., *Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase*. Science, 1988. 239(4839): p. 487-91.
308. S., P. 2001 16.07.2016]; Available from: <http://edoc.hu-berlin.de/dissertationen/papadopoulos-sarantos-2001-03-19/HTML/object42.png>.
309. Kwok, S.a. and R. Higuchi, *Avoiding false positives with PCR*. Nature, 1989. 339: p. 237-238.
310. Neumeister, B., et al., *Mikrobiologische Diagnostik*. Vol. 2. 2009, Stuttgart: Thieme Verlag KG.

311. Gaertner, L. *nested PCR*. 16.07.2016]; Available from: http://www.labor-gaertner.de/uploads/pics/nested_primings.gif.
312. Wittwer, C., et al., *The LightCycler™: a microvolume multisample fluorimeter with rapid temperature control*. Biotechniques, 1997. 22(1): p. 176-181.
313. Higuchi, R., et al., *Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences*. Bio/technology, 1992. 10(4): p. 413-417.
314. Kobryn, K., D.Z. Naigamwalla, and G. Chaconas, *Site-specific DNA binding and bending by the Borrelia burgdorferi Hbb protein*. Molecular microbiology, 2000. 37(1): p. 145-155.
315. Ferdin, J., et al., *Evaluation of real-time PCR targeting hbb gene for Borrelia species identification*. Journal of microbiological methods, 2010. 82(2): p. 115-119.
316. Don, R., et al., *'Touchdown' PCR to circumvent spurious priming during gene amplification*. Nucleic Acids Research, 1991. 19(14): p. 4008.
317. Hecker, K.H. and K.H. Roux, *High and low annealing temperatures increase both specificity and yield in touchdown and stepdown PCR*. Biotechniques, 1996. 20(3): p. 478-485.
318. Rolfs, A., et al., *PCR: clinical diagnostics and research*. 1992: Springer-Verlag Berlin, Germany.
319. Midsci. *Gradienten PCR*. 16.07.2016]; Available from: <http://www.midsci.com/images/Applications/PCR%20Optimisation%20Using%20a%20gradient%20-%20Figure%201.JPG>.
320. <http://www.thermoscientificbio.com/nucleic-acid-electrophoresis/6x-orange-dna-loading-dye/>.
321. Sambrook, J., E.F. Fritsch, and T. Maniatis, *Molecular cloning*. Vol. 2. 1989: Cold spring harbor laboratory press New York.
322. Dugan, K.A., et al., *An improved method for post-PCR purification for mtDNA sequence analysis*. Journal of forensic sciences, 2002. 47(4): p. 811-818.
323. Werle, E., et al., *Convenient single-step, one tube purification of PCR products for direct sequencing*. Nucleic Acids Research, 1994. 22(20): p. 4354.
324. Silva Jr, W., et al., *PCR template preparation for capillary DNA sequencing*. BioTechniques, 2001. 30(3): p. 537, 540.
325. Hanke, M. and M. Wink, *Direct DNA sequencing of PCR-amplified vector inserts following enzymatic degradation of primer and dNTPs*. BioTechniques, 1994. 17(5): p. 858-860.
326. Affymetrix.
http://www.affymetrix.com/estore/browse/brand/usb/product.jsp?productId=131310#1_2. 2013 14.09.2013].
327. Rosenthal, A., O. Coutelle, and M. Craxton, *Large-scale production of DNA sequencing templates by microtitre format PCR*. Nucleic acids research, 1993. 21(1): p. 173-174.
328. Polson, A., et al., *The fractionation of protein mixtures by linear polymers of high molecular weight*. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects, 1964. 82(3): p. 463-475.
329. Sanger, F., et al., *Nucleotide sequence of bacteriophage (D X174 DNA*. 1977.
330. Sanger, F., S. Nicklen, and A.R. Coulson, *DNA sequencing with chain-terminating inhibitors*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 1977. 74(12): p. 5463-5467.
331. Maxam, A.M. and W. Gilbert, *A new method for sequencing DNA*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 1977. 74(2): p. 560-564.
332. Sanger, F. and A.R. Coulson, *A rapid method for determining sequences in DNA by primed synthesis with DNA polymerase*. Journal of molecular biology, 1975. 94(3): p. 441-448.
333. Atkinson, M.R., et al., *Enzymic synthesis of deoxyribonucleic acid. XXXIV. Termination of chain growth by a 2', 3'-dideoxyribonucleotide*. Biochemistry, 1969. 8(12): p. 4897-4904.

334. Swerdlow, H. and R. Gesteland, *Capillary gel electrophoresis for rapid, high resolution DNA sequencing*. Nucleic acids research, 1990. 18(6): p. 1415-1419.
335. Wang, G., et al., *Molecular Typing of Borrelia burgdorferi*. Current protocols in microbiology, 2014: p. 12C. 5.1-12C. 5.31.
336. Tamura, K., et al., *MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0*. Molecular biology and evolution, 2013. 30(12): p. 2725-2729.
337. Hanincová, K., et al., *Association of Borrelia afzelii with rodents in Europe*. Parasitology, 2003. 126(01): p. 11-20.
338. Kurtenbach, K., et al., *Distinct Combinations of Borrelia burgdorferi Sensu Lato Genospecies Found in Individual Questing Ticks from Europe*. Applied and environmental microbiology, 2001. 67(10): p. 4926-4929.
339. Habálek, Z. and J. Halouzka, *Distribution of Borrelia burgdorferi sensu lato genomic groups in Europe, a review*. European journal of epidemiology, 1997. 13(8): p. 951-957.
340. Chen, Y., et al., *Next generation multilocus sequence typing (NGMLST) and the analytical software program MLSTeZ enable efficient, cost-effective, high-throughput, multilocus sequencing typing*. Fungal Genetics and Biology, 2015. 75: p. 64-71.
341. Robles, J.C., et al., *Multilocus sequence typing is a reliable alternative method to DNA fingerprinting for discriminating among strains of Candida albicans*. Journal of clinical microbiology, 2004. 42(6): p. 2480-2488.
342. Coipan, E.C., et al., *Imbalanced presence of Borrelia burgdorferi sl multilocus sequence types in clinical manifestations of Lyme borreliosis*. Infection, Genetics and Evolution, 2016. 42: p. 66-76.
343. Vitorino, L.R., et al., *Fine-scale phylogeographic structure of Borrelia lusitaniae revealed by multilocus sequence typing*. PLoS One, 2008. 3(12): p. e4002.
344. Pitondo-Silva, A., et al., *Comparison of three molecular typing methods to assess genetic diversity for Mycobacterium tuberculosis*. Journal of microbiological methods, 2013. 93(1): p. 42-48.
345. Keim, P., et al., *Anthrax molecular epidemiology and forensics: using the appropriate marker for different evolutionary scales*. Infection, Genetics and Evolution, 2004. 4(3): p. 205-213.
346. Achtman, M., *Evolution, population structure, and phylogeography of genetically monomorphic bacterial pathogens*. Annu. Rev. Microbiol., 2008. 62: p. 53-70.
347. Boers, S.A., W.A. Van der Reijden, and R. Jansen, *High-throughput multilocus sequence typing: bringing molecular typing to the next level*. PLoS One, 2012. 7(7): p. e39630.
348. Heckman, J.J., *Sample selection bias as a specification error*. Female labor supply: Theory and estimation, 1980: p. 206-48.
349. Rudenko, N., et al., *Updates on Borrelia burgdorferi sensu lato complex with respect to public health*. Ticks Tick Borne Dis, 2011. 2(3): p. 123-8.
350. Strle, F. and G. Stanek, *Clinical manifestations and diagnosis of Lyme borreliosis*. Vol. 37. 2009: Karger Publishers.
351. Haven, J., et al., *Pervasive recombination and sympatric genome diversification driven by frequency-dependent selection in Borrelia burgdorferi, the Lyme disease bacterium*. Genetics, 2011. 189(3): p. 951-966.
352. Cerar, T., et al., *Differences in Genotype, Clinical Features, and Inflammatory Potential of Borrelia burgdorferi sensu stricto Strains from Europe and the United States*. Emerging infectious diseases, 2016. 22(5): p. 818.
353. Miklossy, J., et al., *Persisting atypical and cystic forms of Borrelia burgdorferi and local inflammation in Lyme neuroborreliosis*. J Neuroinflammation, 2008. 5(40): p. 1-18.
354. Murgia, R. and M. Cinco, *Induction of cystic forms by different stress conditions in Borrelia burgdorferi*. Apmis, 2004. 112(1): p. 57-62.

355. Nakao, M. and K. Miyamoto, *Mixed infection of different Borrelia species among Apodemus speciosus mice in Hokkaido, Japan*. Journal of clinical microbiology, 1995. 33(2): p. 490-492.
356. Demaerschalck, I., et al., *Simultaneous presence of different Borrelia burgdorferi genospecies in biological fluids of Lyme disease patients*. Journal of clinical microbiology, 1995. 33(3): p. 602-608.
357. Qiu, W., et al., *Wide distribution of high-virulence Borrelia burgdorferi clone in Europe and North America*. Emerging infectious diseases, 2008. 14(7): p. 1097.
358. Crowder, C.D., et al., *Genotypic variation and mixtures of Lyme Borrelia in Ixodes ticks from North America and Europe*. PLoS One, 2010. 5(5): p. e10650.
359. Margos, G., et al., *Two boundaries separate Borrelia burgdorferi populations in North America*. Applied and environmental microbiology, 2012. 78(17): p. 6059-6067.
360. Ras, N.M., et al., *Borrelia burgdorferi sensu stricto, a bacterial species "made in the USA"?* International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 1997. 47(4): p. 1112-1117.
361. Foretz, M., D. Postic, and G. Baranton, *Phylogenetic analysis of Borrelia burgdorferi sensu stricto by arbitrarily primed PCR and pulsed-field gel electrophoresis*. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 1997. 47(1): p. 11-18.
362. Mechai, S., et al., *Evidence for Host-Genotype Associations of Borrelia burgdorferi Sensu Stricto*. PloS one, 2016. 11(2): p. e0149345.
363. Castillo-Ramírez, S., et al., *Trans-Atlantic exchanges have shaped the population structure of the Lyme disease agent Borrelia burgdorferi sensu stricto*. Scientific reports, 2016. 6.
364. Vollmer, S.A., et al., *Host migration impacts on the phylogeography of Lyme borreliosis spirochaete species in Europe*. Environmental microbiology, 2011. 13(1): p. 184-192.
365. Vollmer, S.A., et al., *Spatial spread and demographic expansion of Lyme borreliosis spirochaetes in Eurasia*. Infect Genet Evol, 2013. 14: p. 147-55.
366. Gatewood, A.G., et al., *Climate and tick seasonality are predictors of Borrelia burgdorferi genotype distribution*. Applied and environmental microbiology, 2009. 75(8): p. 2476-2483.
367. Strle, F., et al., *Comparison of erythema migrans caused by Borrelia burgdorferi and Borrelia garinii*. Vector-Borne and Zoonotic Diseases, 2011. 11(9): p. 1253-1258.
368. Magnarelli, L.A., J.F. Anderson, and A.G. Barbour, *The etiologic agent of Lyme disease in deer flies, horse flies, and mosquitoes*. The Journal of infectious diseases, 1986. 154(2): p. 355-358.
369. Magnarelli, L.A. and J.F. Anderson, *Ticks and biting insects infected with the etiologic agent of Lyme disease, Borrelia burgdorferi*. Journal of clinical microbiology, 1988. 26(8): p. 1482-1486.
370. Fingerle, V., et al., *Lyme-Borreliose: Wissenswertes zum Vektor und die mikrobiologische Diagnostik*. Mikrobiologie, 2011. 21: p. 83-92.
371. Coipan, E.C., et al., *Geodemographic analysis of Borrelia burgdorferi sensu lato using the 5S-23S rDNA spacer region*. Infection, Genetics and Evolution, 2013. 17: p. 216-222.
372. Jacquot, M., et al., *Comparative population genomics of the Borrelia burgdorferi species complex reveals high degree of genetic isolation among species and underscores benefits and constraints to studying intra-specific epidemiological processes*. PloS one, 2014. 9(4): p. e94384.
373. Hubálek, Z., *Epidemiology of Lyme borreliosis*, in *Lyme borreliosis*. 2009, Karger Publishers. p. 31-50.
374. Pearson, T., et al., *Phylogeographic reconstruction of a bacterial species with high levels of lateral gene transfer*. BMC biology, 2009. 7(1): p. 78.

375. Qiu, W.-G., et al., *Genetic exchange and plasmid transfers in Borrelia burgdorferi sensu stricto revealed by three-way genome comparisons and multilocus sequence typing*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2004. 101(39): p. 14150-14155.
376. Dykhuizen, D.E. and G. Baranton, *The implications of a low rate of horizontal transfer in Borrelia*. Trends in microbiology, 2001. 9(7): p. 344-350.
377. Skotarczak, B., *Adaptation factors of Borrelia for host and vectors*. Annals of Agricultural and Environmental Medicine, 2009. 16(1): p. 1-8.
378. Spratt, B. and M.C. Maiden, *Bacterial population genetics, evolution and epidemiology*. Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences, 1999. 354(1384): p. 701-710.
379. Papke, R.T. and D.M. Ward, *The importance of physical isolation to microbial diversification*. FEMS Microbiology Ecology, 2004. 48(3): p. 293-303.
380. Wormser, G.P., et al., *Association of specific subtypes of Borrelia burgdorferi with hematogenous dissemination in early Lyme disease*. Journal of Infectious Diseases, 1999. 180(3): p. 720-725.
381. Barbour, A.G. and B. Travinsky, *Evolution and distribution of the ospC gene, a transferable serotype determinant of Borrelia burgdorferi*. MBio, 2010. 1(4): p. e00153-10.
382. Lin, T., J.H. Oliver Jr, and L. Gao, *Genetic diversity of the outer surface protein C gene of southern Borrelia isolates and its possible epidemiological, clinical, and pathogenetic implications*. Journal of clinical microbiology, 2002. 40(7): p. 2572-2583.
383. Burri, C., et al., *Pathogens of emerging tick-borne diseases, Anaplasma phagocytophilum, Rickettsia spp., and Babesia spp., in ixodes ticks collected from rodents at four sites in Switzerland (Canton of Bern)*. Vector-Borne and Zoonotic Diseases, 2011. 11(7): p. 939-944.
384. Belongia, E.A., *Epidemiology and impact of coinfections acquired from Ixodes ticks*. Vector-Borne and Zoonotic Diseases, 2002. 2(4): p. 265-273.
385. Hildenbrand, P., et al., *Lyme neuroborreliosis: manifestations of a rapidly emerging zoonosis*. American Journal of Neuroradiology, 2009. 30(6): p. 1079-1087.
386. Zollinger, T., et al., *Borrelia in granuloma annulare, morphea and lichen sclerosus: a PCR-based study and review of the literature*. Journal of cutaneous pathology, 2010. 37(5): p. 571-577.
387. Meis, J.F., et al., *No evidence for a relation between Borrelia burgdorferi infection and old lesions of localized scleroderma (morphea)*. Archives of dermatology, 1993. 129(3): p. 386-387.
388. Aberer, E., et al., *Evidence for spirochetal origin of circumscribed scleroderma (morphea)*. Acta dermato-venereologica, 1986. 67(3): p. 225-231.
389. Prinz, J.C., et al., *"Borrelia-associated early-onset morphea": A particular type of scleroderma in childhood and adolescence with high titer antinuclear antibodies?: Results of a cohort analysis and presentation of three cases*. Journal of the American Academy of Dermatology, 2009. 60(2): p. 248-255.
390. Ziemer, M., et al., *Granuloma annulare—a manifestation of infection with Borrelia?* Journal of cutaneous pathology, 2008. 35(11): p. 1050-1057.
391. Strle, F., et al., *Isolation of Borrelia burgdorferi from a skin lesion in a patient with granuloma annulare*. Infection, 1991. 19(5): p. 351-352.
392. Aberer, E., et al., *Molecular mimicry and Lyme borreliosis: a shared antigenic determinant between Borrelia burgdorferi and human tissue*. Annals of neurology, 1989. 26(6): p. 732-737.
393. Walther, L., et al., *Die Lyme-Borreliose-eine Ursache für „Hörsturz“ und „Vestibularisausfall“?* Laryngo-Rhino-Otologie, 2003. 82(04): p. 249-257.
394. Peltomaa, M., et al., *Lyme borreliosis, an etiological factor in sensorineural hearing loss?* European archives of oto-rhino-laryngology, 2000. 257(6): p. 317-322.

395. CDC. *Confirmed Lyme disease cases by age and sex*. 2015 11.2015; Available from: <http://www.cdc.gov/lyme/stats/graphs.html>.
396. Pfister, H.W., et al., *Randomized comparison of ceftriaxone and cefotaxime in Lyme neuroborreliosis*. J Infect Dis, 1991. 163(2): p. 311-8.
397. Diener, H.-C., *Leitlinien für Diagnostik und Therapie in der Neurologie: Herausgegeben von der Kommission "Leitlinien" der DGN*. 2012: Thieme.
398. Weber, K., et al., *A randomized trial of ceftriaxone versus oral penicillin for the treatment of early European Lyme borreliosis*. Infection, 1990. 18(2): p. 91-6.
399. Wormser, G.P., et al., *Practice guidelines for the treatment of Lyme disease*. Clinical infectious diseases, 2000. 31(Supplement 1): p. S1-S14.
400. Hansen, K., et al., *Roxithromycin in Lyme borreliosis: discrepant results of an in vitro and in vivo animal susceptibility study and a clinical trial in patients with erythema migrans*. Acta Derm Venereol, 1992. 72(4): p. 297-300.
401. Arnez, M., et al., *Comparison of cefuroxime axetil and phenoxymethyl penicillin for the treatment of children with solitary erythema migrans*. Wien Klin Wochenschr, 1999. 111(22-23): p. 916-22.
402. Bennet, L., S. Danell, and J. Berglund, *Clinical outcome of erythema migrans after treatment with phenoxymethyl penicillin*. Scand J Infect Dis, 2003. 35(2): p. 129-31.
403. Halperin, J.J., *Nervous System Lyme Disease: Diagnosis and Treatment*. Curr Treat Options Neurol, 2013.
404. Barsic, B., et al., *Comparison of azithromycin and doxycycline in the treatment of erythema migrans*. Infection, 2000. 28(3): p. 153-6.
405. Dotevall, L. and L. Hagberg, *Penetration of doxycycline into cerebrospinal fluid in patients treated for suspected Lyme neuroborreliosis*. Antimicrob Agents Chemother, 1989. 33(7): p. 1078-80.
406. Dotevall, L. and L. Hagberg, *Successful oral doxycycline treatment of Lyme disease-associated facial palsy and meningitis*. Clin Infect Dis, 1999. 28(3): p. 569-74.
407. Karkkonen, K., S.H. Stiernstedt, and M. Karlsson, *Follow-up of patients treated with oral doxycycline for Lyme neuroborreliosis*. Scand J Infect Dis, 2001. 33(4): p. 259-62.
408. Karlsson, M., et al., *Comparison of intravenous penicillin G and oral doxycycline for treatment of Lyme neuroborreliosis*. Neurology, 1994. 44(7): p. 1203-7.
409. Dattwyler, R.J., et al., *Ceftriaxone compared with doxycycline for the treatment of acute disseminated Lyme disease*. New England Journal of Medicine, 1997. 337(5): p. 289-295.
410. Pfister, H.-W., et al., *Cefotaxime vs penicillin G for acute neurologic manifestations in Lyme borreliosis: a prospective randomized study*. Archives of neurology, 1989. 46(11): p. 1190.
411. Gern, L., et al., *European Reservoir Hosts of Borrelia burgdorferi sensu lato*. Zentralblatt für Bakteriologie, 1998. 287(3): p. 196-204.
412. Richter, D. and F.-R. Matuschka, *Perpetuation of the Lyme disease spirochete Borrelia lusitaniae by lizards*. Applied and environmental microbiology, 2006. 72(7): p. 4627-4632.
413. Richter, D., D.B. Schlee, and F.-R. Matuschka, *Reservoir competence of various rodents for the Lyme disease spirochete Borrelia spielmanii*. Applied and environmental microbiology, 2011. 77(11): p. 3565-3570.
414. Gorelova, N.B., et al., *Small mammals as reservoir hosts for Borrelia in Russia*. Zentralblatt für Bakteriologie, 1995. 282(3): p. 315-322.
415. Nakao, M., K. Uchikawa, and H. Dewa, *Distribution of Borrelia species associated with Lyme disease in the subalpine forests of Nagano prefecture, Japan*. Microbiology and immunology, 1996. 40(4): p. 307.
416. Spielman, A., et al., *Ecology of Ixodes dammini-borne human babesiosis and Lyme disease*. Annual review of entomology, 1985. 30(1): p. 439-460.

417. Donahue, J.G., J. Piesman, and A. Spielman, *Reservoir competence of white-footed mice for Lyme disease spirochetes*. The American journal of tropical medicine and hygiene, 1987. 36(1): p. 92.
418. Brown, R.N. and R.S. Lane, *Reservoir competence of four chaparral-dwelling rodents for Borrelia burgdorferi in California*. The American journal of tropical medicine and hygiene, 1996. 54(1): p. 84-91.
419. Richter, D., et al., *Competence of American robins as reservoir hosts for Lyme disease spirochetes*. Emerging Infectious Diseases, 2000. 6(2): p. 133.
420. Kelly, R., *Cultivation of Borrelia hermsi*. Science, 1971. 173(3995): p. 443-444.

Anhang

Geographische Herkunft europäischer Patientenisolat

Tabelle 29: Geographische Herkunft in dieser Arbeit typisierter Patientenisolat aus Europa (vgl. Abb. 14 Geographische Herkunft mittels MLST typisierter *B. burgdorferi* s. s. und *B. afzelii* Patientenisolat aus Europa)

Geographische Herkunft	Anzahl der Isolate
Ammerland	1
Bad Mergentheim	4
Bayreuth	1
Berlin	1
Deggendorf	1
Dietenbronn	1
Düsseldorf	2
Garmisch-Partenkirchen	2
Gräfelfing	1
Hamburg	1
Hannover	1
Heidelberg	1
Innsbruck	1
Jena	1
Jugoslawien	2
Kassel	1
Kraichtal	1
Leverkusen	1
München	65
Münster	7
Nürnberg	1
Regensburg	3
Rosenheim	1
Sinsheim	1
Tübingen	6
Ulm	1
Warschau	1

Therapieschemata der Lyme Borreliose

Tabelle 30: Antibiotika zur Therapie der LB. (AS = Allgemeinsymptome - grippale Infektzeichen)

Antibiotikum	Dosierung	Applikationsform	Dauer (Abhängig von AS und Chronizität)	Klinische Manifestationen
Amoxicillin	3x 500 mg	p.o.	10-28 d	<ul style="list-style-type: none"> • EM mit und ohne AS • Borrelienlymphozytom • Arthritis (< 3 Monate) • Karditis (isolierter AV-Block) • Neuritis cranialis, Radikulitis • akut entzündliche Form der ACA
Doxycyclin	2x 100 mg	p.o.	10-28 d	<ul style="list-style-type: none"> • EM mit und ohne AS • Borrelienlymphozytom • Arthritis (< 3 Monate)
Penicillin	3x1000 mg	p.o.	10-28 d	<ul style="list-style-type: none"> • EM mit und ohne AS • Borrelienlymphozytom • Arthritis (< 3 Monate)
Cefuroxim	2x 500 mg	p.o.	10-28 d	<ul style="list-style-type: none"> • EM mit AS (kein Cefotaxim) • Chronisch atrophische ACA • Arthritis (> 3 Monate) • Akute und chronische Manifestationen des ZNS • Myoperikarditis, AV-Block
Penicillin G	4x 5 Mio E.	i.v.	14-28 d	<ul style="list-style-type: none"> • EM mit AS (kein Cefotaxim) • Chronisch atrophische ACA • Arthritis (> 3 Monate) • Akute und chronische Manifestationen des ZNS • Myoperikarditis, AV-Block
Ceftriaxon	1x 2 g	i.v.	14-28 d	<ul style="list-style-type: none"> • EM mit AS (kein Cefotaxim) • Chronisch atrophische ACA • Arthritis (> 3 Monate) • Akute und chronische Manifestationen des ZNS • Myoperikarditis, AV-Block
Cefotaxim	3-4x 2 g	i.v.	14-28 d	<ul style="list-style-type: none"> • EM mit AS (kein Cefotaxim) • Chronisch atrophische ACA • Arthritis (> 3 Monate) • Akute und chronische Manifestationen des ZNS • Myoperikarditis, AV-Block

Besonderheiten:

Kinder:

- Dosierung nach Körpergewicht
- Kontraindikation: Tetracycline unter 8-12 Jahren

Schwangerschaft/Stillzeit:

- Antibiotika 1. Wahl: Amoxicillin und Penicillin
- Kontraindikation: Tetracycline
- 1. Trimenon: Ceftriaxon und Cefuroxim nur unter besonderer Vorsicht

Tabelle 31: Therapieschema der LB nach Stadien

130

Stadium I	Amoxicillin	3x 500 mg	p.o.	14-21 d
	Doxycyclin	2x 100 mg	p.o.	10-21 d
	Penicillin	3x 1000 mg	p.o./i.v.	10-28 d
	Cefuroxim	2x 500 mg	p.o./i.v.	10-28 d
<hr/>				
Stadium II	siehe Stadium I und			
	Ceftriaxon	1x 2 g	i.v.	14-28 d
	Cefotaxim	3-4x 2 g	i.v.	14-28 d
	Penicillin G	4x 5 Mio. E	i.v.	14-28 d
<hr/>				
Stadium III	Siehe Stadium I+II	siehe oben	siehe oben	21-28 d

Modifiziert nach [50, 396-410]

Hauptwirte der Schildzecken

Tabelle 32: Hauptwirte der Schildzecken und vorrangig übertragene Erreger

Zeckenart	Hauptwirt	Erreger
<i>Ixodes ricinus</i> [411]	Kleine Nager und Säuger (v.a. Mäuse der Gattung Apodemus) Transportwirte: Rot- und Rehwild, Vögel	<i>B. burgdorferi</i> s. s., <i>B. garinii</i> , <i>B. afzelii</i> , <i>B. val</i> , <i>B. lusitaniae</i> und <i>B. spielmanii</i> (Hauptwirte: Siebenschläfer und Eidechsen) [412, 413]
<i>Ixodes persulcatus</i> [414, 415]	Kleine Nager, Nutzvieh, Ziegen und Vögel	<i>B. garinii</i> , <i>B. afzelii</i> , <i>B. valaisiana</i> , <i>B. bissettiae</i>
<i>Ixodes scapularis</i> [416, 417]	V.a. Weißfußmaus, kleine Säuger und Vögel Transportwirt: Weißwedelhirsch	<i>B. burgdorferi</i> s. s.
<i>Ixodes pacificus</i> [418, 419]	V.a. Reptilien, Rehwild, Hunde, Kojoten, Wildschweine, Pferde, kleine Nager (Känguru-/ Buschratte) und Vögel Transportwirt: Schwarzwedelhirsch	<i>B. burgdorferi</i> s. s.

Herstellung eines MKP-Mediums

Zur Herstellung des MKP-Mediums (modifiziertes Kelly-Medium nach Preac-Mursic) [65, 420] wurde zunächst ein Grundmedium hergestellt. Dessen pH-Wert wurde mit Hilfe von 5 M NaOH auf 7,6 eingestellt. Vor der Weiterverarbeitung erfolgte eine sterile Filtration.

Zusammensetzung des Grundmediums:

- 100 ml CMRL – 1066 (10x) ohne Glutamin
- 900 ml doppeltdestilliertes Wasser
- 3,0 g Neopepton
- 6,0 g Hepes
- 0,7 g Natriumcitrat
- 3,0 g Glucose
- 0,8 g Natriumpyruvat
- 0,4 g N-Acetylglucosamin
- 2,0 g Natriumbicarbonat

Im Folgenden wurden als Anreicherungs Zusätze 300 ml 7%-ige Gelatine (autoklaviert für 15 min bei 115 °C), 100 ml steriles Kaninchenserum partial hämolysiert (30 min bei 56 °C inaktiviert) und 100 ml 35%-iges Rinderserumalbumin zugegeben.

6,5 ml des MKP-Mediums wurden in 7 ml Glasröhrchen gefüllt und die Ränder der Glasröhrchen vor dem Verschließen, zur Sterilisation, mit Hilfe eines Bunsenbrenners abgeflammt. Bei 4 °C war das Medium 3 Wochen lang haltbar, wobei die Haltbarkeit des Grundmediums bei -20 °C mindestens 3 Monate betrug.

Primer

Tabelle 33: Primer der housekeeping Gene

Gen und Primer	Primer 5' nach 3'	Position (bp) Beginn	Länge (bp)	Produktlänge (bp)
<i>nifS</i>	-	-	-	719
inner forward	entspricht outer forward	-	-	-
inner reverse	GTTGGAGCAAGCATTTTATG	719	20	-
inner and outer forward	ATGGATTTCAAACAAATAAAAAG	1	23	-
outer reverse	GATATTATTGAATTTCTTTTAAG	1027	23	-
<i>clpA</i>	-	-	-	849
inner forward	GACAAAGCTTTTGATATTTAG	1255	24	-
inner forward alternative	AAAGCTTTTGATATTTAGATG	1258	22	-
inner reverse	CAAAAAAACATCAAATTTCTATCTC	2078	27	-
outer forward	AAAGATAGATTTCTTCCAGAC	1237	21	-
outer reverse	GAATTCATCTATTAAGCTTTC	2218	24	-
<i>pyrG</i>	-	-	-	706
inner forward	GATATGGAAAATATTTTATTTATTG	448	25	-
inner reverse	AAACCAAGACAAATCCAAG	1135	20	-
outer forward	GATTGCAAGTTCTGAGAATA	391	20	-
outer reverse	CAAACATTACGAGCAAATTC	1190	20	-

<i>recG</i>	-	-	-	741
inner forward	CTTTAATTGAAGCTGGATATC	917	21	-
inner reverse	CAAGTTGCATTTGGACAATC	1639	20	-
outer forward	CCCTTGTTGCCTTGCTTTC	890	19	-
outer reverse	GAAAGTCCAAAACGCTCAG	1694	19	-
<i>clpX</i>	-	-	-	721
inner forward	AATGTGCCATTTGCAATAGC	403	20	-
inner reverse	TTAAGAAGACCCTCTAAAATAG	1124	22	-
outer forward	GCTGCAGAGATGAATGTGCC	391	20	-
outer reverse	GATTGATTTTCATATAACTCTTTTG	1250	24	-
<i>pepX</i>	-	-	-	666
inner forward	TTATTCCAAACCTTGCAATCC	449	20	-
inner reverse	TGTGCCTGAAGGAACATTTG	1097	20	-
outer forward	ACAGAGACTTAAGCTTAGCAG	362	21	-
outer reverse	GTTC CAATGTCAATAGTTTC	1153	20	-
<i>uvrA</i>	-	-	-	677
inner forward	GCTTAAATTTTTAATTGATGTGG	1434	24	-
inner reverse	CCTATTGGTTTTTGGATTTATTG	2111	23	-
outer forward	GAAATTTTAAAGGAAATTTAAAAGTAG	1408	26	-
outer reverse	CAAGGAACAAAAACATCTGG	2299	20	-

<i>rplB</i>	-	-	-	720
inner forward	CGCTATAAGACGACTTTATC	40	19	-
inner reverse	entspricht outer reverse	-	-	-
outer forward	TGGGTATTAAGACTTATAAGC	2	21	-
outer reverse	GCTGTCCCCAAGGAGACA	743	18	-

Materialien

Tabelle 34: Materialien und Hersteller

Geräte und Verbrauchsmaterialien	Hersteller (Ort, Land – wenn keine Angabe Deutschland)
<u>Zentrifugen:</u>	
Mikrozentrifuge MiniStar Silverline	VWR International (Darmstadt)
Ultrazentrifuge ZK 401	BHG Hermle (Gosheim)
Centrifuge 5415D	Eppendorf (Engelsdorf)
Centrifuge 5810R	Eppendorf (Hanau)
<u>Reagenzmixer:</u>	
Vortexmixer 7-2020	neoLab (Heidelberg)
Lab dancer	IKA (Staufen)
Voretex-Genie 2	Scientific Industries (New York, USA)
<u>Thermocycler:</u>	
Mastercycler nexus gradient	Eppendorf (Hamburg)
Applied Biosystems 2720	Life Technologies (Darmstadt)
<u>Sterile Werkbank:</u>	
UV2 PCR Workstation	VWR (Ismaning)
MSC Advantage Class II	ThermoFisher Scientific (München)
<u>Gelkammern:</u>	
Sub-Cell Model 192 Cell	Bio-Rad (München)
PerfectBlue Gelsystem Mini L	Peqlab (Erlangen)

Elektrophoresezubehör:

PowerPac 3000

Bio-Rad (München)

Consort E143

Peqlab (Erlangen)

Kühl-/Gefrierschränke:

LKv 3910 MediLine

Liebherr (Ochsenhausen)

LKUv 1610 MediLine

Liebherr (Ochsenhausen)

New Brunswick Innova U725

Liebherr (Ochsenhausen)

Ultra-Low Temperture Freezer

Eppendorf (Hamburg)

Pipetten:

Multipette plus

Eppendorf (Hamburg)

Reference variable

Eppendorf (Hamburg)

Reference fix

Eppendorf (Hamburg)

Research plus

Eppendorf (Hamburg)

Transferringpipette 3,5ml

Sarstedt (Nümbrecht)

CAPP Multi-Channel Pipettes

Starlab (Milton Keynes, England)

Platten und Röhrchen:

96 Deep Well Plates

Nunc (Wiesbaden)

Twin tec PCR Plates 96

Eppendorf (Hamburg)

Falcon Tubes

BD Biosciences (Heidelberg)

Biopur Tubes DNA free

Eppendorf (Hamburg)

Nalgene Oak Ridge High-Speed Centrifuge Tubes

Thermo Scientific (Roichester, USA)

Kulturröhrchen mit Schraubkappe DURAN

Carl Roth (Karlsruhe)

Freeze dry vials

Scherf Präzision Europa GmbH
(Meiningen)

Pipettenspitzen:

epT.I.P.S Motion und Dualfilter

Eppendorf (Hamburg)

Sonstige Materialien:

Mikrowelle: HF 22024/02

Brutschrank: Function line

Brutschrank: Function line

Bunsenbrenner: FIREBOY plus

Einmalpasteurpipetten

Desinfektionsspray: LTK 008 PCR save

Metallblock: THERMOSTATE

Pippetierstation: epMotion 5070

Präzisionswaage: PES 6200 2M

Mikroskop: DIALUX 20

Basic imaging system

Nanodrop: 1000 Spektrometer

Siemens (München)

Kendro Laboratory Products (Hanau)

Heraeus (Hanau)

Integra Bioscience (Fernwald)

Sarstedt (Nümbrecht)

Biodelta GmbH (Löhne)

Liebisch Labortechnik (Bielefeld)

Eppendorf (Hamburg)

Kern (Balingen)

Leitz (Wetzlar)

LFT Labortechnik (Wasserburg)

Peqlab (Erlangen)

MKP-Kulturmedium

Neopepton

HEPES

Natriumcitrat

Glucose

Natriumpyrovat

N-Acetylglucosamin

Natriumbicarbonat

Gelatine

Kaninchenserum

Rinderserumalbumin

CMRL-1066

Difco (Augsburg)

Sigma (Deisenhofen)

Sigma (Deisenhofen)

Sigma (Deisenhofen)

Sigma (Deisenhofen)

Sigma (Deisenhofen)

Sigma (Deisenhofen)

Merck (Darmstadt)

Gibco (Eggenstein)

Sigma (Deisenhofen)

Gibco (Eggenstein)

Lösungen

Phosphate Buffered Saline (PBS): Merck (Darmstadt)

Natriumchlorid

Kaliumchlorid

Natriumdihydrogenphosphat

Kaliumdihydrogenphosphat

Incubation buffer D920B

RNAse A

PEG 8000 Lösung (20 %, 2,5 M NaCl): Carl Roth (München)

10 g Polyethylenglykol 8000

7,3 g NaCl

45 ml ddWasser

TBE Puffer (TRIS-Borat-EDTA Puffer): Biozym (Oldendorf)

0,089 M TRIS

0,089 M Borsäure (pH 8,3)

2 mM EDTA-Na₂

1 x TBE in destilliertem /deionisiertem
Wasser

Kits

Maxwell 16 FFS Nucleic Acid Extaction System Custom Kit Promega (Madison, USA)

BioSprint 96 Blood Kit Qiagen (Hilden)

Chemikalien und Enzyme

LE Agarose	Biozym (Oldendorf)
6x Orange LD	ThermoScientific (Waltham, USA)
O'Gene Ruler 50bp	ThermoScientific (Waltham, USA)
DNA Ladder Fermentas	ThermoScientific (Waltham, USA)
ExoSAP-IT For PCR Product clean up	Affymetrix (High Wycombe, England)
Quantitas DNA Marker: 100 bp-1kbp	Biozym (Oldendorf)

Zeckenkontakt auf Stadionrasen

(In den Jahren 2002 bis 2014 bestand erhöhte Gefahr des „Zeckenkontakts“ auch auf Stadionrasen. Zwar ist die Gefahr aktiv sportlicher Präsenz derzeit gebannt, als Trainer junger Zecken ist mit baldigem Nachwuchs jedoch zu rechnen [243, 244].)



Abbildung x: Zeckenkontakt auf Stadionrasen [244]

Überschneidungen von *Borrelia burgdorferi* sensu stricto und *Borrelia afzelii* Sequenztypen in Zecken und Patientenisolaten aus Europa

Tabelle 35: Überschneidungen von *B. burgdorferi* s. s. und *B. afzelii* ST in Zecken und Patientenisolaten aus Europa

Spezies (Anzahl [n] ST)	Überschneidungen von ST in Zecken und Patientenisolaten
<i>B. burgdorferi</i> s. s. (n = 4)	ST20 ST21 ST24 ST284
<i>B. afzelii</i> (n = 10)	ST75 ST80 ST171 ST335 ST347 ST348 ST349 ST353

Stammbäume mit Maßstab und Bootstrapwerten > 50%

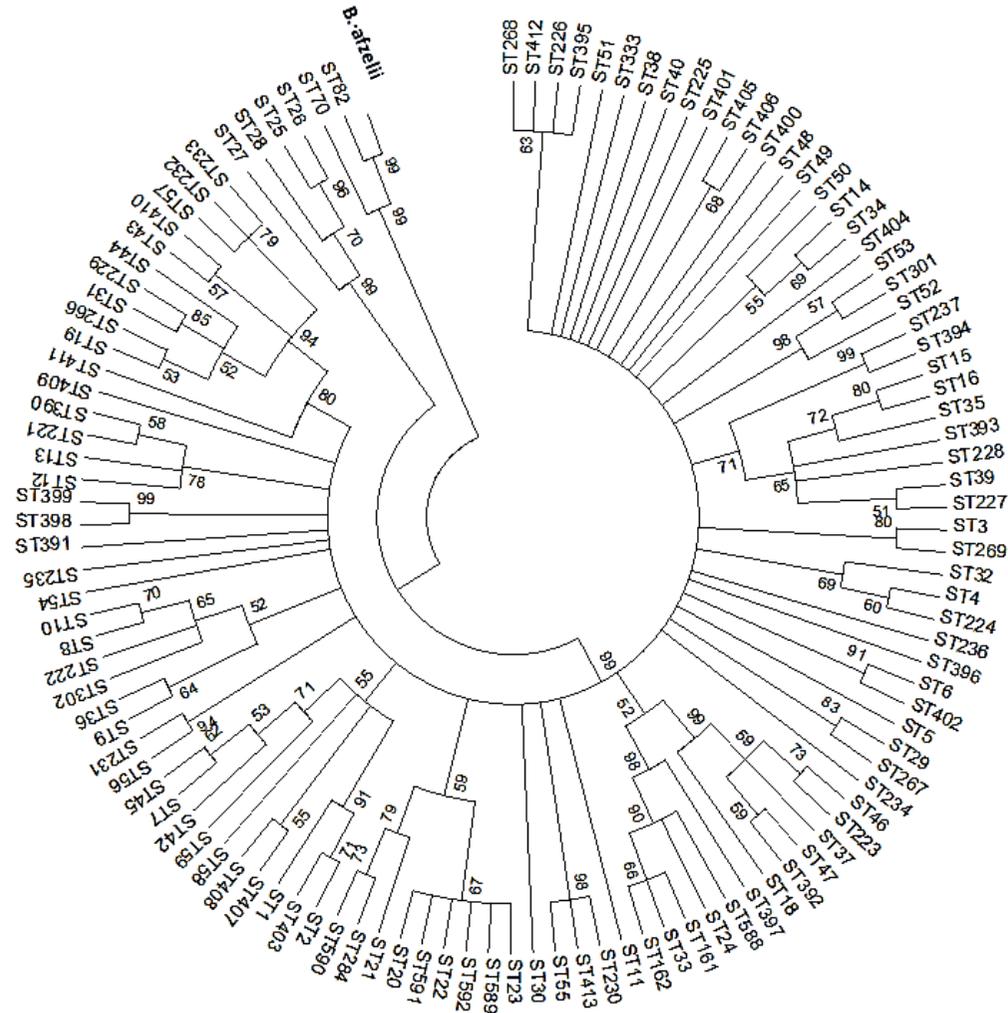
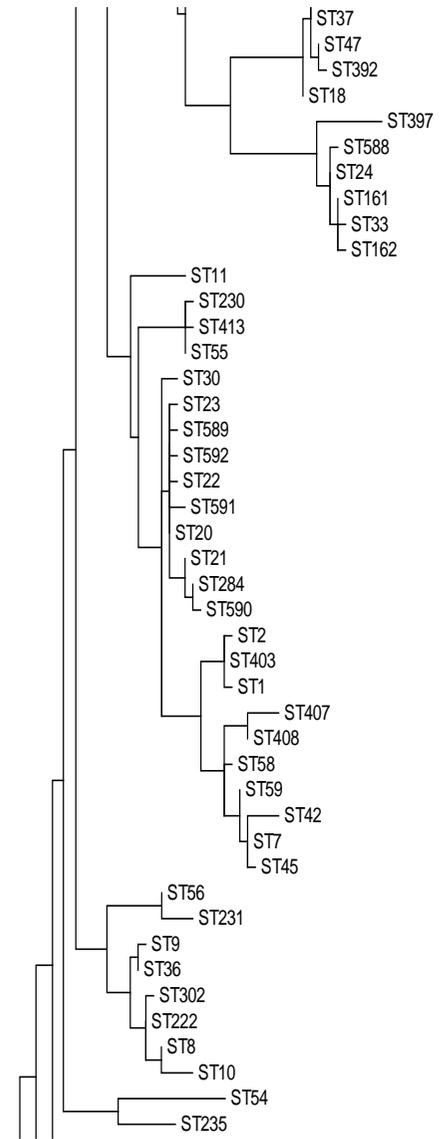


Abbildung 46: Phylogenetischer Baum aller *B. burgdorferi* s. s. ST mit Bootstrapwerten > 50%.



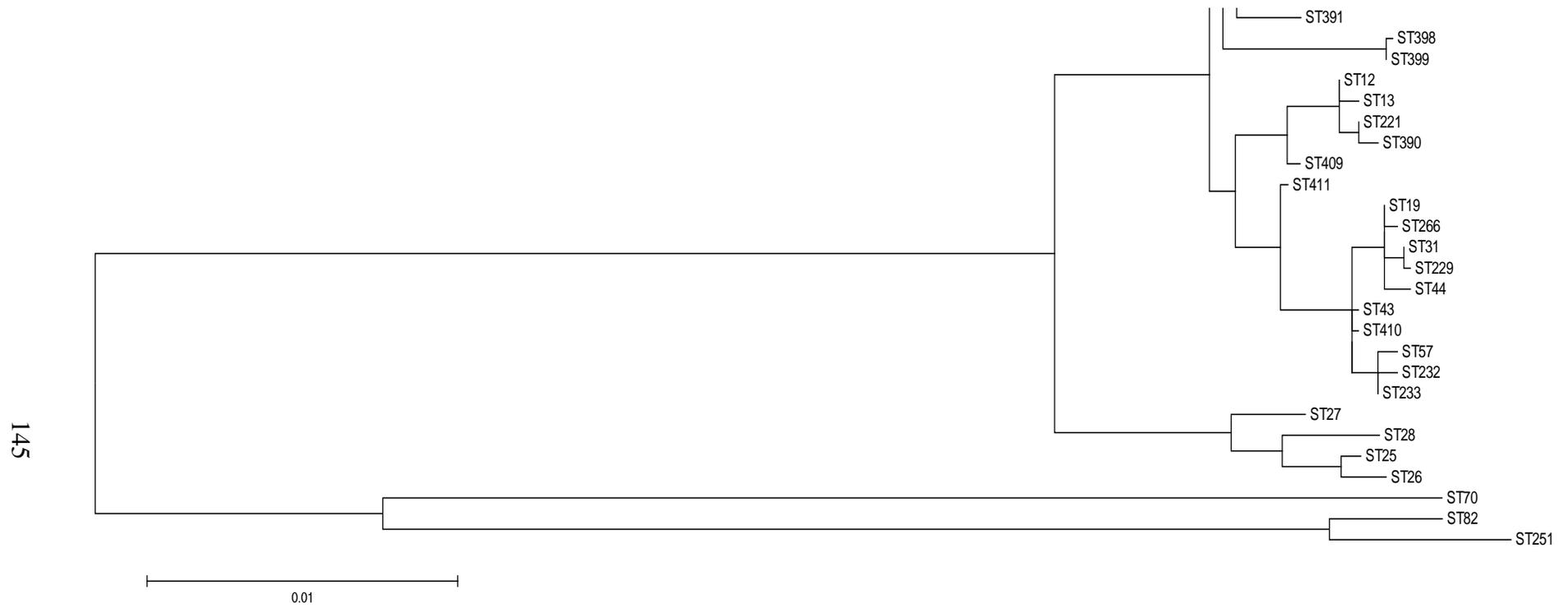


Abbildung 47: Phylogenetischer Baum aller *B. burgdorferi* s. s. ST mit Maßstab für Mutationen.

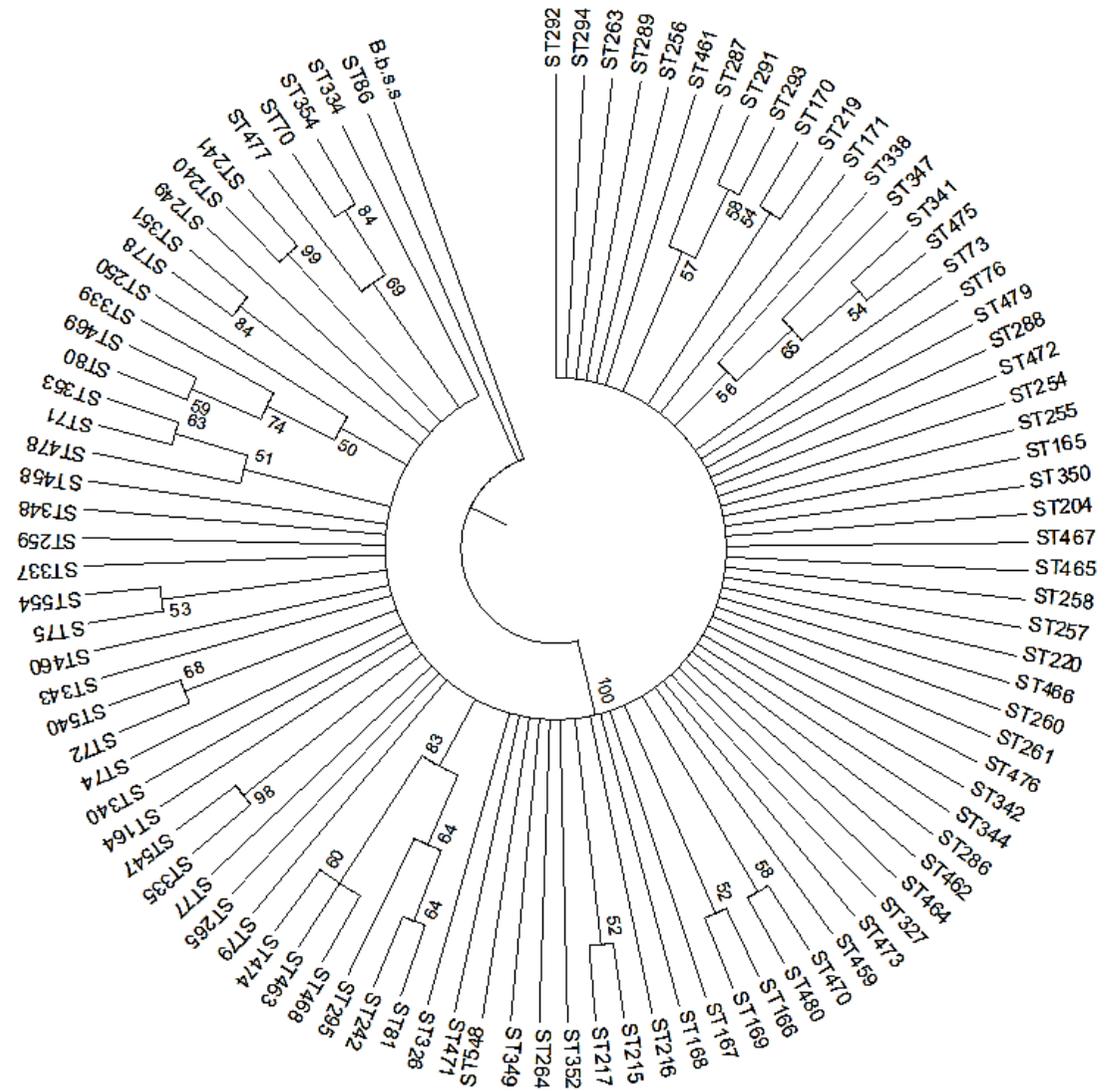


Abbildung 48: Phylogenetischer Baum aller *B. afzelii* ST mit Bootstrapwerten > 50%.

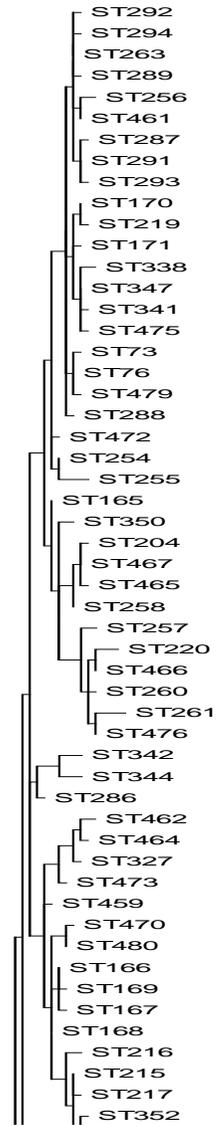




Abbildung 49: Phylogenetischer Baum aller *B. afzelii* ST mit Maßstab für Mutationen.

Übersicht analysierter Stämme

Tabelle 36: *B. burgdorferi* s. s. - Patientenisolat aus Europa. kA = keine Angabe, KGP = Kniegelenkspunktat, NB = Neuroborreliose, A = Arthritis, ACA = Acrodermatitis chronica atrophicans, MEM = Multiple erythemata migrantia, EM = Erythema migrans

149

Isolat	ST	Patienten- material	Manifest- ation	Art der Infektion beim Patienten	Jahr	Patienten -alter	Geo- graphische Herkunft	Spezies	Referenz
PBoe	1	KGP	A	Disseminiert	2002	70	München	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Jungnick et al. 2015
PSha	1	Myokard	Kardial	Disseminiert	1994	52	Heidelberg	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Jungnick et al. 2015
PWB	1	Haut	ACA	Disseminiert	1994	60	Rosenheim	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Jungnick et al. 2015
PShl	1	Haut	kA	kA	1992	38	Tübingen	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Jungnick et al. 2015
PDe	1	Liquor	NB	Disseminiert	1994	9	Kassel	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Jungnick et al. 2015
PAbe	1	Liquor	NB	Disseminiert	1997	63	München	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Jungnick et al. 2015
PHo	1	Liquor	NB	Disseminiert	1992	57	München	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Jungnick et al. 2015
PKa I	1	Liquor	NB	Disseminiert	1983	63	München	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Jungnick et al. 2015
PKa II	1	Liquor	NB	Disseminiert	1984	64	München	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Jungnick et al. 2015
PMu	1	Liquor	NB	Disseminiert	1994	67	München	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Jungnick et al. 2015
PTa	1	Liquor	NB	Disseminiert	1994	32	München	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Jungnick et al. 2015
PWag	1	Liquor	NB	Disseminiert	1994	37	München	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Jungnick et al. 2015
PHas	1	Liquor	NB	Disseminiert	1992	41	Ulm	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Jungnick et al. 2015
PAli	1	Auge	kA	Disseminiert	1994	37	Regensburg	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Jungnick et al. 2015
PLue	3	Haut	MEM	Disseminiert	1999	50	München	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Jungnick et al. 2015
PMeh	20	KGP	A	Disseminiert	1996	7	Garmisch	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Jungnick et al. 2015
PSst	20	Haut	ACA	Disseminiert	1993	12	Tübingen	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Jungnick et al. 2015
PBre	20	Haut	EM	Lokalisiert	1988	56	München	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Jungnick et al. 2015
PWbe	20	Haut	kA	kA	1995	15	Münster	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Jungnick et al. 2015

PKu	20	Liquor	NB	Disseminiert	1996	36	Mergentheim	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Jungnick et al. 2015
PSE	20	Liquor	NB	Disseminiert	1995	70	Mergentheim	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Jungnick et al. 2015
PSpm	20	Liquor	NB	Disseminiert	1995	26	Deggendorf	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Jungnick et al. 2015
PStm	20	Liquor	NB	Disseminiert	1992	kA	Dietenbronn	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Jungnick et al. 2015
PFra	20	Liquor	NB	Disseminiert	1991	63	München	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Jungnick et al. 2015
PMi	20	Liquor	NB	Disseminiert	1994	47	München	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Jungnick et al. 2015
PMey	20	Liquor	NB	Disseminiert	1994	61	Sinsheim	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Jungnick et al. 2015
PFheI	21	Haut (Brust)	BLZ	Disseminiert	2010	56	Biederstein	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Jungnick et al. 2015
PFheII	21	Haut (Knie)	BLZ	Disseminiert	2010	56	Biederstein	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Jungnick et al. 2015
PGI	21	Liquor	NB	Disseminiert	1993	33	Bayreuth	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Jungnick et al. 2015
PDri	24	Haut	EM	Lokalisiert	1988	46	München	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Jungnick et al. 2015
PKIF I	24	Haut (Brust)	kA	Disseminiert	1988	38	München	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Jungnick et al. 2015
PKIF II	24	Haut (Knie)	kA	Disseminiert	1988	38	München	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Jungnick et al. 2015
PFi I	284	Haut	ACA	Disseminiert	1985	55	München	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Jungnick et al. 2015

Tabelle 37: *B. afzelii* - Patientenisolat aus Europa. kA = keine Angabe, KGP = Kniegelenkspunktat, NB = Neuroborreliose, A = Arthritis, ACA = Acrodermatitis chronica atrophicans, MEM = Multiple erythematata migrantia, EM = Erythema migrans

Isolat	ST	Patienten- material	Manifestation	Art der Infektion beim Patienten	Jahr	Patienten- alter	Geographische Herkunft	Spezies	Referenz
PObf	71	Haut	kA	kA	1998	56	Mergentheim	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
PMup	71	Haut	EM	Lokalisiert	1989	60	Gräfelfing	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
PBil	71	Haut	EM	Lokalisiert	1988	46	München	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
PBuh	71	Haut	EM	Lokalisiert	1990	50	München	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
PHam	71	Haut	EM	Lokalisiert	1987	56	München	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
PKo	71	Haut	EM	Lokalisiert	1984	43	München	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
PMo	71	Haut	EM	Lokalisiert	1989	28	München	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
PKuk	71	Haut	EM	Lokalisiert	1998	66	Münster	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
PWo	71	Haut	kA	kA	1993	1	Münster	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
PHa	71	Liquor	NB	Disseminiert	1992	60	Hannover	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
PAlt	71	Liquor	NB	Disseminiert	1988	62	München	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
PKl	71	Liquor	NB	Disseminiert	1993	kA	München	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
PLap	71	Liquor	NB	Disseminiert	1988	63	München	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
PStb	71	Liquor	NB	Disseminiert	1987	58	München	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
PStw	71	Liquor	NB	Disseminiert	1994	54	München	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
PWes	71	Liquor	NB	Disseminiert	1994	18	München	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
PMel	71	Liquor	NB	Disseminiert	1990	24	Regensburg	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
PBabu	71	Knochen	Osteomyelitis	Disseminiert	2001	12	Leverkusen	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
PKli	72	Haut	EM	Lokalisiert	1991	47	München	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
PWmi	72	Haut	EM	Lokalisiert	1988	49	München	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015

PMuc I	75	Haut	ACA	Disseminiert	1987	73	München	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
PFoe	75	Haut	EM	Lokalisiert	1991	52	München	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
Pke	80	Haut	EM	Lokalisiert	1984	17	München	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
PBas	80	Haut	BLZ	Disseminiert	1989	7	München	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
PKk	171	Haut	ACA	Disseminiert	1986	53	München	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
PKra	335	Haut	EM	Lokalisiert	1990	22	Jugoslawien	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
PRec	335	Haut	EM	Lokalisiert	1988	53	München	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
PFri	347	Haut	EM	Lokalisiert	1986	44	München	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
PHac	347	Haut	EM	Lokalisiert	1989	26	München	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
PHak	347	Haut	EM	Lokalisiert	1987	46	München	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
PMul	347	Haut	EM	Lokalisiert	1987	55	Tübingen	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
PKr	347	Liquor	NB	Disseminiert	1992	49	München	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
PLan	348	Haut	EM	Lokalisiert	1995	30	Jena	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
PWil	349	Haut	EM	Lokalisiert	1987	51	München	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
PJa	353	Haut	EM	Lokalisiert	1994	48	Münster	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
PKer	458	Haut	EM	Lokalisiert	1992	kA	Regensburg	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
PWee	458	Liquor	NB	Disseminiert	1994	41	Mergentheim	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
PJe	458	Liquor	NB	Disseminiert	1992	65	Innsbruck	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
PBo	458	Liquor	NB	Disseminiert	1988	18	München	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
PWud I	459	Haut	EM	Lokalisiert	1988	43	München	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
PBoj	459	Liquor	NB	Disseminiert	1989	kA	Warschau	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
PBra	460	Haut	EM	Lokalisiert	1988	28	München	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
PDeg	461	Haut	EM	Lokalisiert	1991	69	Düsseldorf	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
PSp	462	KGP	A	Disseminiert	1993	17	Garmisch	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
PGa	462	Haut	EM	Lokalisiert	1985	61	München	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
PMer	462	Haut	EM	Lokalisiert	1988	61	München	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
PMes	462	Haut	EM	Lokalisiert	1987	36	München	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
PFes	462	Haut	BLZ	Disseminiert	1988	12	München	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015

PSpe	462	Liquor	NB	Disseminiert	1986	79	München	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
PLud	463	Haut	ACA	Disseminiert	1988	61	München	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
PHub	463	Haut	EM	Lokalisiert	1987	71	München	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
PDrp	463	Blut	EM	Disseminiert	1988	12	Nürnberg	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
PWoh	463	Haut	kA	kA	1988	52	Berlin	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
PKau	464	Haut	EM	Lokalisiert	1987	52	München	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
PKla	465	Haut	EM	Lokalisiert	1988	19	Tübingen	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
PLam	465	Liquor	NB	Disseminiert	1988	27	Tübingen	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
PKno	466	Haut	EM	Lokalisiert	1988	57	München	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
PLen	467	Haut	EM	Lokalisiert	1987	22	Tübingen	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
PMar	468	Haut	EM	Lokalisiert	1992	32	Münster	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
PMik	469	Haut	EM	Lokalisiert	1990	kA	Jugoslawien	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
PNad	470	Haut	EM	Lokalisiert	1988	84	München	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
PDoe	471	Haut	EM	Lokalisiert	1997	58	München	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
PMay	472	Haut	BLZ	Disseminiert	1992	64	Kraichtal	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
Pre	473	Haut	EM	Lokalisiert	1991	51	Münster	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
PTha	474	Haut	EM	Lokalisiert	1993	78	München	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
PWi	475	Haut	EM	Lokalisiert	1991	55	München	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
PWima	476	Haut	ACA	Disseminiert	1999	79	München	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
PSch	477	Haut	EM	Lokalisiert	1986	50	München	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
PFic	477	Haut	BLZ	Disseminiert	1990	76	München	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
PSte	478	Haut	EM	Lokalisiert	1992	41	Münster	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
PTie	479	Haut	EM	Lokalisiert	1988	51	Ammerland	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
PMom	479	Haut	EM	Lokalisiert	1988	44	München	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
PZi	480	Haut	EM	Lokalisiert	1991	64	München	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
PBec	540	Haut	ACA	Disseminiert	1988	79	Hamburg	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
PWat	547	Liquor	NB	Disseminiert	1994	87	München	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
PSto	548	Haut	ACA	Disseminiert	1986	61	München	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015

PArl	554	Haut	EM	Lokalisiert	1991	63	Düsseldorf	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
IBS-11	72	Mensch	kA	kA	kA	kA	Frankreich	<i>B. afzelii</i>	Margos et al. 2009
IBS-12	73	Mensch	kA	kA	kA	kA	Frankreich	<i>B. afzelii</i>	Margos et al. 2009
IBS-13	75	Mensch	kA	kA	kA	kA	Frankreich	<i>B. afzelii</i>	Margos et al. 2009

Tabelle 38: *B. burgdorferi* s. s. - Zecken aus Europa

154

Proben	ST	Biologische Quelle	Jahr	Geographische Herkunft	Spezies	Referenz
5BIII222	20	<i>Ixodes ricinus</i>	2011	Deutschland	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Overzier et al. 2013
4NA87	20	<i>Ixodes ricinus</i>	2011	Deutschland	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Overzier et al. 2013
5EGI8	20	<i>Ixodes ricinus</i>	2011	Deutschland	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Overzier et al. 2013
5BA322	20	<i>Ixodes ricinus</i>	2011	Deutschland	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Overzier et al. 2013
5TI24	20	<i>Ixodes ricinus</i>	2011	Deutschland	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Overzier et al. 2013
5TI25	20	<i>Ixodes ricinus</i>	2011	Deutschland	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Overzier et al. 2013
5TIII164	20	<i>Ixodes ricinus</i>	2011	Deutschland	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Overzier et al. 2013
6EGI5	20	<i>Ixodes ricinus</i>	2011	Deutschland	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Overzier et al. 2013
6DI61	20	<i>Ixodes ricinus</i>	2011	Deutschland	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Overzier et al. 2013
6TI14	20	<i>Ixodes ricinus</i>	2011	Deutschland	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Overzier et al. 2013
5TI35	20	<i>Ixodes ricinus</i>	2011	Deutschland	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Overzier et al. 2013
5KIII134	21	<i>Ixodes ricinus</i>	2011	Deutschland	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Overzier et al. 2013
6DII109	284	<i>Ixodes ricinus</i>	2011	Deutschland	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Overzier et al. 2013
4EGA133	284	<i>Ixodes ricinus</i>	2011	Deutschland	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Overzier et al. 2013
5BII96	284	<i>Ixodes ricinus</i>	2011	Deutschland	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Overzier et al. 2013
6EGIII57	284	<i>Ixodes ricinus</i>	2011	Deutschland	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Overzier et al. 2013
6BIII293	284	<i>Ixodes ricinus</i>	2011	Deutschland	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Overzier et al. 2013

6BIII295	588	<i>Ixodes ricinus</i>	2011	Deutschland	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Overzier et al. 2013
6DI63	589	<i>Ixodes ricinus</i>	2011	Deutschland	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Overzier et al. 2013
4NIII47	590	<i>Ixodes ricinus</i>	2011	Deutschland	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Overzier et al. 2013
4NA117	590	<i>Ixodes ricinus</i>	2011	Deutschland	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Overzier et al. 2013
4BII44	591	<i>Ixodes ricinus</i>	2011	Deutschland	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Overzier et al. 2013
5NA111	592	<i>Ixodes ricinus</i>	2011	Deutschland	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Overzier et al. 2013
IPT2	20	<i>Ixodes ricinus</i>	kA	Frankreich	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Margos et al. 2009
IPT23	20	<i>Ixodes ricinus</i>	kA	Frankreich	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Margos et al. 2009
IPT69	20	<i>Ixodes ricinus</i>	kA	Frankreich	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Margos et al. 2009
ITP190	20	<i>Ixodes ricinus</i>	kA	Frankreich	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Margos et al. 2009
IPT191	20	<i>Ixodes ricinus</i>	kA	Frankreich	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Margos et al. 2009
22521LT	20	<i>Ixodes ricinus</i>	kA	Lettland	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Margos et al. 2009
20604LT	20	<i>Ixodes ricinus</i>	kA	Lettland	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Margos et al. 2009
IPT19	21	<i>Ixodes ricinus</i>	kA	Frankreich	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Margos et al. 2009
21509LT	21	<i>Ixodes ricinus</i>	kA	Lettland	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Margos et al. 2009
IPT135	22	<i>Ixodes ricinus</i>	kA	Frankreich	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Margos et al. 2009
IPT137	23	<i>Ixodes ricinus</i>	kA	Frankreich	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Margos et al. 2009
IPT39	24	<i>Ixodes ricinus</i>	kA	Frankreich	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Margos et al. 2009
IPT58	24	<i>Ixodes ricinus</i>	kA	Frankreich	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Margos et al. 2009
IPT193	25	<i>Ixodes ricinus</i>	kA	Frankreich	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Margos et al. 2009
IPT198	25	<i>Ixodes ricinus</i>	kA	Frankreich	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Margos et al. 2009
NE49	26	<i>Ixodes ricinus</i>	kA	Schweiz	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Margos et al. 2009
Z41293	27	<i>Ixodes ricinus</i>	kA	Deutschland	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Margos et al. 2009
Z41493	28	<i>Ixodes ricinus</i>	kA	Deutschland	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Margos et al. 2009
20111LT	33	<i>Ixodes ricinus</i>	kA	Lettland	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Margos et al. 2009
71509L	161	<i>Ixodes ricinus</i>	kA	Lettland	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Margos et al. 2009
74306L	161	<i>Ixodes ricinus</i>	kA	Lettland	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Margos et al. 2009
72506L	162	<i>Ixodes ricinus</i>	kA	Lettland	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Margos et al. 2009

Tabelle 39: *B. afzelii* - Zecken aus Europa

Probe	ST	Biologische Quelle	Geographische Herkunft	Spezies	Referenz
DR18	263	<i>Ixodes ricinus</i>	Schottland	<i>B. afzelii</i>	James et al. 2014
LA25	263	<i>Ixodes ricinus</i>	Schottland	<i>B. afzelii</i>	James et al. 2014
M58	286	<i>Ixodes ricinus</i>	Schottland	<i>B. afzelii</i>	James et al. 2014
FZ48	287	<i>Ixodes ricinus</i>	Schottland	<i>B. afzelii</i>	James et al. 2014
M39	288	<i>Ixodes ricinus</i>	Schottland	<i>B. afzelii</i>	James et al. 2014
QC28	289	<i>Ixodes ricinus</i>	Schottland	<i>B. afzelii</i>	James et al. 2014
DR10	291	<i>Ixodes ricinus</i>	Schottland	<i>B. afzelii</i>	James et al. 2014
DR37	292	<i>Ixodes ricinus</i>	Schottland	<i>B. afzelii</i>	James et al. 2014
FZ49	293	<i>Ixodes ricinus</i>	Schottland	<i>B. afzelii</i>	James et al. 2014
LA22	294	<i>Ixodes ricinus</i>	Schottland	<i>B. afzelii</i>	James et al. 2014
SH21	295	<i>Ixodes ricinus</i>	Schottland	<i>B. afzelii</i>	James et al. 2014
BM40	326	<i>Ixodes ricinus</i>	Schottland	<i>B. afzelii</i>	James et al. 2014
FZ28	327	<i>Ixodes ricinus</i>	Schottland	<i>B. afzelii</i>	James et al. 2014
FZ25	327	<i>Ixodes ricinus</i>	Schottland	<i>B. afzelii</i>	James et al. 2014
61527BT	164	<i>Ixodes ricinus</i>	England	<i>B. afzelii</i>	Margos et al. 2008
6311BT	164	<i>Ixodes ricinus</i>	England	<i>B. afzelii</i>	Margos et al. 2008
6515BT	164	<i>Ixodes ricinus</i>	England	<i>B. afzelii</i>	Margos et al. 2008
VS461	70	<i>Ixodes ricinus</i>	Schweiz	<i>B. afzelii</i>	Margos et al. 2009
IPT118	74	<i>Ixodes ricinus</i>	Frankreich	<i>B. afzelii</i>	Margos et al. 2009
IPT154	76	<i>Ixodes ricinus</i>	Frankreich	<i>B. afzelii</i>	Margos et al. 2009
IPT109	77	<i>Ixodes ricinus</i>	Frankreich	<i>B. afzelii</i>	Margos et al. 2009
IPT122	77	<i>Ixodes ricinus</i>	Frankreich	<i>B. afzelii</i>	Margos et al. 2009
IPT164	77	<i>Ixodes ricinus</i>	Frankreich	<i>B. afzelii</i>	Margos et al. 2009
IPT179	77	<i>Ixodes ricinus</i>	Frankreich	<i>B. afzelii</i>	Margos et al. 2009

IPT138	78	<i>Ixodes ricinus</i>	Frankreich	<i>B. afzelii</i>	Margos et al. 2009
IPT152	79	<i>Ixodes ricinus</i>	Frankreich	<i>B. afzelii</i>	Margos et al. 2009
IPT142	80	<i>Ixodes ricinus</i>	Frankreich	<i>B. afzelii</i>	Margos et al. 2009
IPT110	81	<i>Ixodes ricinus</i>	Frankreich	<i>B. afzelii</i>	Margos et al. 2009
80401G	80	<i>Ixodes ricinus</i>	Deutschland	<i>B. afzelii</i>	Vollmer et al. 2011
71980B	164	<i>Ixodes ricinus</i>	England	<i>B. afzelii</i>	Vollmer et al. 2011
71086B	164	<i>Ixodes ricinus</i>	England	<i>B. afzelii</i>	Vollmer et al. 2011
74486B	164	<i>Ixodes ricinus</i>	England	<i>B. afzelii</i>	Vollmer et al. 2011
74586B	164	<i>Ixodes ricinus</i>	England	<i>B. afzelii</i>	Vollmer et al. 2011
76694B	164	<i>Ixodes ricinus</i>	England	<i>B. afzelii</i>	Vollmer et al. 2011
77680B	164	<i>Ixodes ricinus</i>	England	<i>B. afzelii</i>	Vollmer et al. 2011
78094B	164	<i>Ixodes ricinus</i>	England	<i>B. afzelii</i>	Vollmer et al. 2011
79080B	164	<i>Ixodes ricinus</i>	England	<i>B. afzelii</i>	Vollmer et al. 2011
71186B	164	<i>Ixodes ricinus</i>	England	<i>B. afzelii</i>	Vollmer et al. 2011
70587B	164	<i>Ixodes ricinus</i>	England	<i>B. afzelii</i>	Vollmer et al. 2011
63203L	165	<i>Ixodes ricinus</i>	Lettland	<i>B. afzelii</i>	Vollmer et al. 2011
64224L	165	<i>Ixodes ricinus</i>	Lettland	<i>B. afzelii</i>	Vollmer et al. 2011
64409L	165	<i>Ixodes ricinus</i>	Lettland	<i>B. afzelii</i>	Vollmer et al. 2011
75021L	165	<i>Ixodes ricinus</i>	Lettland	<i>B. afzelii</i>	Vollmer et al. 2011
61218L	166	<i>Ixodes ricinus</i>	Lettland	<i>B. afzelii</i>	Vollmer et al. 2011
71424L	166	<i>Ixodes ricinus</i>	Lettland	<i>B. afzelii</i>	Vollmer et al. 2011
60618L	167	<i>Ixodes ricinus</i>	Lettland	<i>B. afzelii</i>	Vollmer et al. 2011
70515L	168	<i>Ixodes ricinus</i>	Lettland	<i>B. afzelii</i>	Vollmer et al. 2011
60724L	169	<i>Ixodes ricinus</i>	Lettland	<i>B. afzelii</i>	Vollmer et al. 2011
63321L	170	<i>Ixodes ricinus</i>	Lettland	<i>B. afzelii</i>	Vollmer et al. 2011
63721L	170	<i>Ixodes ricinus</i>	Lettland	<i>B. afzelii</i>	Vollmer et al. 2011
75918L	170	<i>Ixodes ricinus</i>	Lettland	<i>B. afzelii</i>	Vollmer et al. 2011
74618L	171	<i>Ixodes ricinus</i>	Lettland	<i>B. afzelii</i>	Vollmer et al. 2011

91506G	204	<i>Ixodes ricinus</i>	Deutschland	<i>B. afzelii</i>	Vollmer et al. 2011
71618L	204	<i>Ixodes ricinus</i>	Lettland	<i>B. afzelii</i>	Vollmer et al. 2011
61918L	215	<i>Ixodes ricinus</i>	Lettland	<i>B. afzelii</i>	Vollmer et al. 2011
62218L	215	<i>Ixodes ricinus</i>	Lettland	<i>B. afzelii</i>	Vollmer et al. 2011
63521L	215	<i>Ixodes ricinus</i>	Lettland	<i>B. afzelii</i>	Vollmer et al. 2011
72721L	216	<i>Ixodes ricinus</i>	Lettland	<i>B. afzelii</i>	Vollmer et al. 2011
72915L	217	<i>Ixodes ricinus</i>	Lettland	<i>B. afzelii</i>	Vollmer et al. 2011
63424L	219	<i>Ixodes ricinus</i>	Lettland	<i>B. afzelii</i>	Vollmer et al. 2011
71924L	220	<i>Ixodes ricinus</i>	Lettland	<i>B. afzelii</i>	Vollmer et al. 2011
85620B	240	<i>Ixodes ricinus</i>	England	<i>B. afzelii</i>	Vollmer et al. 2011
80225B	241	<i>Ixodes ricinus</i>	England	<i>B. afzelii</i>	Vollmer et al. 2011
81705G	242	<i>Ixodes ricinus</i>	Deutschland	<i>B. afzelii</i>	Vollmer et al. 2011
80504G	249	<i>Ixodes ricinus</i>	Deutschland	<i>B. afzelii</i>	Vollmer et al. 2011
80710B	250	<i>Ixodes ricinus</i>	England	<i>B. afzelii</i>	Vollmer et al. 2011
80810B	250	<i>Ixodes ricinus</i>	England	<i>B. afzelii</i>	Vollmer et al. 2011
81310B	250	<i>Ixodes ricinus</i>	England	<i>B. afzelii</i>	Vollmer et al. 2011
81410B	250	<i>Ixodes ricinus</i>	England	<i>B. afzelii</i>	Vollmer et al. 2011
82516B	250	<i>Ixodes ricinus</i>	England	<i>B. afzelii</i>	Vollmer et al. 2011
91305G	254	<i>Ixodes ricinus</i>	Deutschland	<i>B. afzelii</i>	Vollmer et al. 2011
91206G	255	<i>Ixodes ricinus</i>	Deutschland	<i>B. afzelii</i>	Vollmer et al. 2011
91006G	256	<i>Ixodes ricinus</i>	Deutschland	<i>B. afzelii</i>	Vollmer et al. 2011
92906G	257	<i>Ixodes ricinus</i>	Deutschland	<i>B. afzelii</i>	Vollmer et al. 2011
90208G	258	<i>Ixodes ricinus</i>	Deutschland	<i>B. afzelii</i>	Vollmer et al. 2011
92405G	259	<i>Ixodes ricinus</i>	Deutschland	<i>B. afzelii</i>	Vollmer et al. 2011
90607G	260	<i>Ixodes ricinus</i>	Deutschland	<i>B. afzelii</i>	Vollmer et al. 2011
91505G	261	<i>Ixodes ricinus</i>	Deutschland	<i>B. afzelii</i>	Vollmer et al. 2011
703105B	263	<i>Ixodes ricinus</i>	Schottland	<i>B. afzelii</i>	Vollmer et al. 2011
710118B	263	<i>Ixodes ricinus</i>	Schottland	<i>B. afzelii</i>	Vollmer et al. 2011

702123B	264	<i>Ixodes ricinus</i>	Schottland	<i>B. afzelii</i>	Vollmer et al. 2011
82020B	265	<i>Ixodes ricinus</i>	England	<i>B. afzelii</i>	Vollmer et al. 2011
83519B	265	<i>Ixodes ricinus</i>	England	<i>B. afzelii</i>	Vollmer et al. 2011
84019B	265	<i>Ixodes ricinus</i>	England	<i>B. afzelii</i>	Vollmer et al. 2011
1001134A	75	<i>Ixodes ricinus</i>	Österreich	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
0600843I	215	<i>Ixodes ricinus</i>	Italien	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
0710966A	254	<i>Ixodes ricinus</i>	Österreich	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
0520660I	334	<i>Ixodes ricinus</i>	Italien	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
0510670I	334	<i>Ixodes ricinus</i>	Italien	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
0600839I	335	<i>Ixodes ricinus</i>	Italien	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
0500189I	335	<i>Ixodes ricinus</i>	Italien	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
0500190I	337	<i>Ixodes ricinus</i>	Italien	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
0500193I	337	<i>Ixodes ricinus</i>	Italien	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
0701012A	338	<i>Ixodes ricinus</i>	Österreich	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
0220348I	339	<i>Ixodes ricinus</i>	Italien	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
0210357I	340	<i>Ixodes ricinus</i>	Italien	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
1010718A	341	<i>Ixodes ricinus</i>	Österreich	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
1000737A	342	<i>Ixodes ricinus</i>	Österreich	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
1000971A	343	<i>Ixodes ricinus</i>	Österreich	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
0901023A	344	<i>Ixodes ricinus</i>	Österreich	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
1321099A	347	<i>Ixodes ricinus</i>	Österreich	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
0520658I	347	<i>Ixodes ricinus</i>	Italien	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
0510667I	347	<i>Ixodes ricinus</i>	Italien	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
0500676I	347	<i>Ixodes ricinus</i>	Italien	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
0600770I	347	<i>Ixodes ricinus</i>	Italien	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
0520664I	348	<i>Ixodes ricinus</i>	Italien	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
0510669I	348	<i>Ixodes ricinus</i>	Italien	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
0500675I	348	<i>Ixodes ricinus</i>	Italien	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015

1321098A	349	<i>Ixodes ricinus</i>	Österreich	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
0510672I	349	<i>Ixodes ricinus</i>	Italien	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
0510677I	349	<i>Ixodes ricinus</i>	Italien	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
1001072A	350	<i>Ixodes ricinus</i>	Österreich	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
0420464I	350	<i>Ixodes ricinus</i>	Italien	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
1311171A	351	<i>Ixodes ricinus</i>	Österreich	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
1311111A	352	<i>Ixodes ricinus</i>	Österreich	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
0701130A	353	<i>Ixodes ricinus</i>	Österreich	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
0210355I	354	<i>Ixodes ricinus</i>	Italien	<i>B. afzelii</i>	Jungnick et al. 2015
EU6-4	263	<i>Ixodes ricinus</i>	Deutschland	<i>B. afzelii</i>	Takano, Sato 2011

Tabelle 40: *B. burgdorferi* s. s. - Patientenisolat aus den USA. kA = keine Angabe

Isolat	ST	Patienten- material	Art der Infektion beim Patienten	Jahr	Geographische Herkunft	Spezies	Referenz
BL203	1	Blut	Disseminiert	1997	New York	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
BL206	1	Blut	Disseminiert	1997	New York	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
BL268	1	Blut	Disseminiert	1999	New York	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
B491	1	Haut	Disseminiert	2000	New York	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
B515	1	Haut	Lokalisiert	2000	New York	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
BL224	3	Blut	Disseminiert	1997	New York	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
BL608	3	Blut	Disseminiert	2004	New York	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
B435	3	Haut	Disseminiert	1999	New York	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
B504	3	Haut	Disseminiert	2000	New York	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013

B483	3	Haut	kA	2000	New York	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
B390	3	Haut	kA	1998	New York	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
BL546	4	Blut	Disseminiert	2002	New York	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
BL631	4	Blut	Disseminiert	2005	New York	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
B471	4	Haut	Disseminiert	2000	New York	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
B509	4	Haut	Disseminiert	2000	New York	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MR641	4	Haut	Disseminiert	2002	New York	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MR708	4	Haut	Disseminiert	2005	New York	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
B395	4	Haut	Lokalisiert	1998	New York	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MC104	4	Haut	Disseminiert	1998	Wisconsin	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
B365	7	Haut	Disseminiert	1997	New York	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
B373	7	Haut	Disseminiert	1997	New York	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MR623	7	Haut	Disseminiert	2001	New York	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
B416	7	Haut	kA	1998	New York	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
BL597	8	Blut	Disseminiert	2003	New York	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
B267	8	Haut	Lokalisiert	1995	New York	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
B353	8	Haut	Lokalisiert	1997	New York	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
B488	8	Haut	Lokalisiert	2000	New York	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MR627	8	Haut	Lokalisiert	2001	New York	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
B156	8	Haut	kA	1994	New York	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
B516	8	Haut	kA	2000	New York	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MR628	9	Haut	Disseminiert	2001	New York	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MR654	9	Haut	Disseminiert	kA	New York	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MR661	9	Haut	Disseminiert	2002	New York	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
BL515	11	Blut	Disseminiert	2001	New York	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
BL538	11	Blut	Disseminiert	2001	New York	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MR635	11	Haut	Disseminiert	2001	New York	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
BL522	12	Blut	Disseminiert	2001	New York	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013

B356	12	Haut	Disseminiert	1997	New York	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MR716	12	Haut	Disseminiert	2005	New York	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MR659	12	Haut	Lokalisiert	2002	New York	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MR670	12	Haut	Lokalisiert	2003	New York	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MR704	12	Haut	Lokalisiert	2005	New York	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MR726	12	Haut	Lokalisiert	2005	New York	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MC96	12	Haut	Disseminiert	1997	Wisconsin	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
BL630	14	Blut	Disseminiert	2005	New York	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
B268	14	Haut	Lokalisiert	1995	New York	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
B369	14	Haut	Lokalisiert	1997	New York	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
B385	14	Haut	Lokalisiert	1998	New York	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MR616	14	Haut	Lokalisiert	2001	New York	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
B327	14	Haut	kA	1996	New York	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
B500	15	Haut	Disseminiert	2000	New York	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
B361	16	Haut	Disseminiert	1997	New York	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
B331	16	Haut	kA	1996	New York	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
B408	16	Haut	kA	1998	New York	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
B143	18	Haut	Lokalisiert	1994	New York	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
B399	18	Haut	Lokalisiert	1998	New York	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
B485	18	Haut	Lokalisiert	2000	New York	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MR607	18	Haut	Lokalisiert	2001	New York	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MR662	18	Haut	Lokalisiert	2002	New York	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MR676	18	Haut	Lokalisiert	2003	New York	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
B348	19	Haut	Disseminiert	1997	New York	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
B418	19	Haut	Disseminiert	1998	New York	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MR640	19	Haut	Disseminiert	2002	New York	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
B351	19	Haut	Lokalisiert	1997	New York	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
B397	19	Haut	Lokalisiert	1998	New York	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013

CDC146	19	Haut	Lokalisiert	1991	New York	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MC111	29	Haut	Disseminiert	1998	Wisconsin	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MC125	29	Haut	Disseminiert	2000	Wisconsin	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MC93	29	Haut	Disseminiert	1997	Wisconsin	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MC89	29	Haut	Lokalisiert	1997	Wisconsin	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MC115	29	Haut	kA	1999	Wisconsin	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MC123	29	Haut	kA	1999	Wisconsin	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MC132	30	Haut	Disseminiert	2001	Wisconsin	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MC108	30	Haut	Lokalisiert	1998	Wisconsin	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MC112	32	Haut	Disseminiert	1999	Wisconsin	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MC113	32	Haut	Disseminiert	1999	Wisconsin	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MC130	32	Haut	Disseminiert	2000	Wisconsin	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MC139	32	Haut	Disseminiert	2001	Wisconsin	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MC105	32	Haut	Lokalisiert	1998	Wisconsin	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MC107	32	Haut	Lokalisiert	1998	Wisconsin	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MC143	32	Haut	Lokalisiert	2002	Wisconsin	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MC119	32	Haut	Lokalisiert	1999	Wisconsin	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
BL285	34	Blut	Disseminiert	1999	New York	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
CDC161	34	Haut	Disseminiert	1991	New York	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
B236	34	Haut	Lokalisiert	1995	New York	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
BL131	35	Blut	Disseminiert	1994	New York	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
BL324	36	Blut	Disseminiert	2000	New York	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MR731	37	Haut	Lokalisiert	2005	New York	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MR730	37	Haut	Lokalisiert	2005	New York	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
B75	38	Haut	Disseminiert	1993	New York	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
B477	38	Haut	Lokalisiert	2000	New York	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
B240	38	Haut	kA	1995	New York	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MR692	40	Haut	Lokalisiert	2003	New York	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013

BL325	42	Blut	Disseminiert	2000	New York	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MC82	43	Haut	Lokalisiert	1996	Wisconsin	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MC90	47	Haut	Lokalisiert	1997	Wisconsin	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MC97	48	Haut	Disseminiert	1997	Wisconsin	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MC91	48	Haut	Lokalisiert	1997	Wisconsin	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MC88	48	Haut	kA	1996	Wisconsin	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MC122	51	Haut	Lokalisiert	1999	Wisconsin	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MC131	51	Haut	Lokalisiert	2001	Wisconsin	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MC85	52	Haut	Lokalisiert	1996	Wisconsin	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MC121	55	Haut	Disseminiert	1999	Wisconsin	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MC133	55	Haut	Disseminiert	2001	Wisconsin	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MC98	55	Haut	Lokalisiert	1998	Wisconsin	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MC134	55	Haut	kA	kA	Wisconsin	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MC78	56	Haut	Lokalisiert	1996	Wisconsin	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MC73	56	Haut	kA	1995	Wisconsin	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MC79	221	Haut	Disseminiert	1996	Wisconsin	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MC95	221	Haut	Disseminiert	1997	Wisconsin	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MC149	221	Haut	Lokalisiert	2002	Wisconsin	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MC83	222	Haut	Disseminiert	1996	Wisconsin	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MC128	222	Haut	Lokalisiert	2000	Wisconsin	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MC127	223	Haut	Lokalisiert	2000	Wisconsin	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MC145	223	Haut	Lokalisiert	2002	Wisconsin	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MC75	224	Haut	Disseminiert	1995	Wisconsin	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MC77	224	Haut	Disseminiert	1996	Wisconsin	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MC80	224	Haut	Disseminiert	1996	Wisconsin	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MC74	224	Haut	Lokalisiert	1995	Wisconsin	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MC110	225	Haut	Lokalisiert	1998	Wisconsin	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MC120	225	Haut	Lokalisiert	1999	Wisconsin	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013

MC135	226	Haut	Lokalisiert	2001	Wisconsin	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MC114	227	Haut	Lokalisiert	1999	Wisconsin	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MC129	228	Haut	Lokalisiert	2000	Wisconsin	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MC101	229	Haut	Lokalisiert	1998	Wisconsin	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MC92	229	Haut	kA	1997	Wisconsin	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MC84	230	Haut	kA	1996	Wisconsin	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MC150	231	Haut	Lokalisiert	2003	Wisconsin	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MC117	232	Haut	Lokalisiert	1999	Wisconsin	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MC118	232	Haut	kA	1999	Wisconsin	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MC144	233	Haut	Lokalisiert	2002	Wisconsin	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MC146	233	Haut	Lokalisiert	2002	Wisconsin	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MC86	234	Haut	Disseminiert	1996	Wisconsin	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MC126	234	Haut	Lokalisiert	2000	Wisconsin	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MC81	234	Haut	Lokalisiert	1996	Wisconsin	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MC99	234	Haut	Lokalisiert	1998	Wisconsin	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MC76	234	Haut	kA	1996	Wisconsin	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MC109	235	Haut	Lokalisiert	1998	Wisconsin	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MC103	236	Haut	Disseminiert	1998	Wisconsin	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MC100	237	Haut	Lokalisiert	1998	Wisconsin	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MC102	302	Haut	Lokalisiert	1998	Wisconsin	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MC106	409	Haut	kA	1998	Wisconsin	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MC137	410	Haut	Disseminiert	2001	Wisconsin	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MC147	412	Haut	Lokalisiert	2002	Wisconsin	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013
MC148	413	Haut	Lokalisiert	2002	Wisconsin	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hanincova et al. 2013

Tabelle 41: *B. burgdorferi* s. s. - Zecken aus den USA

Probe	ST	Biologische Quelle	Geographische Herkunft	Spezies	Referenz
JG-07-9	3	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
JG-07-14	3	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
JG-07-20	3	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
JG-07-21	3	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
NF-07-2	3	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
NF-07-3	3	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
NF-07-11	3	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
FDR-07-1	3	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
FDR-07-2	3	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
FDR-07-8	3	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
FDR-07-11	3	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
FDR-07-14	3	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
FDR-07-15	3	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
FDR-07-33	3	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
FDR-07-38	3	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
FDR-07-42	3	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
FDR-07-49	3	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
FDR-07-61	3	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
FDR-07-65	3	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
FDR-07-73	3	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
FDR-07-81	3	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
FDR-07-82	3	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
FDR-07-85	3	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent

FDR-07-100	3	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
FDR-07-101	3	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
JB-07-3	3	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
JB-07-4	3	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
JB-07-8	3	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
JB-07-9	3	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
JB-07-16	3	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
JB-07-17	3	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
JB-07-19	3	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
JB-07-24	3	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
JB-07-36	3	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
JB-07-41	3	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
JB-07-42	3	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
JB-07-45	3	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
JB-07-51	3	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
YM-07-1	3	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
YM-07-4	3	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
YM-07-6	3	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
YM-07-9	3	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
YM-07-12	3	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
YM-07-13	3	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
YM-07-17	3	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
YM-07-18	3	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
YM-07-20	3	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
YM-07-22	3	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
YM-07-31	3	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
YM-07-49	3	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
YM-07-83	3	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent

GI-07-1	3	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
GL-07-1	3	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
GL-07-3	3	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
MO-07-13	3	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
MO-07-28	3	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
HH-07-1	3	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
MR-07-9	3	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
CP-07-6	3	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
CP-07-17	3	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
CP-07-22	3	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
CP-07-27	3	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
LG-07-3	3	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
LG-07-7	3	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
LG-07-10	3	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
LG-07-14	3	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
LG-07-17	3	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
LG-07-18	3	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
LG-07-20	3	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
LG-07-22	3	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
LG-07-24	3	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
JG-07-12	4	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
JG-07-16	4	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
FDR-07-36	4	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
FDR-07-90	4	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
FDR-07-98	4	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
YM-07-7	4	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
MO-07-3	4	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
CP-07-5	4	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent

CQ-07-9	4	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
JG-07-3	7	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
JG-07-4	7	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
JG-07-22	7	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
JG-07-23	7	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
FDR-07-7	7	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
FDR-07-10	7	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
FDR-07-20	7	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
FDR-07-24	7	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
FDR-07-44	7	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
FDR-07-47	7	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
FDR-07-60	7	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
FDR-07-63	7	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
FDR-07-72	7	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
FDR-07-74	7	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
FDR-07-78	7	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
FDR-07-88	7	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
JB-07-1	7	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
JB-07-32	7	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
JB-07-34	7	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
JB-07-35	7	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
JB-07-37	7	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
JB-07-40	7	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
JB-07-46	7	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
JB-07-53	7	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
MR-07-13	7	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
CP-07-14	7	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
CP-07-25	7	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent

CQ-07-7	7	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
CQ-07-18	7	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
CQ-07-25	7	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
CQ-07-26	7	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
CQ-07-28	7	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
CQ-07-29	7	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
CQ-07-32	7	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
CQ-07-34	7	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
CQ-07-37	7	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
CQ-07-41	7	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
CQ-07-42	7	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
CQ-07-43	7	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
CQ-07-45	7	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
CQ-07-46	7	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
CQ-07-48	7	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
CQ-07-52	7	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
CQ-07-53	7	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
CQ-07-55	7	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
CQ-07-56	7	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
CQ-07-57	7	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
CQ-07-67	7	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
FDR-07-99	8	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
JB-07-7	8	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
JB-07-13	8	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
YM-07-87	8	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
CP-07-8	8	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
CQ-07-21	8	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
CQ-07-62	8	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent

114311	11	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
JG-07-5	11	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
JG-07-19	11	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
JB-07-52	11	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
CP-07-1	11	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
CP-07-2	11	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
CP-07-3	11	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
CP-07-13	11	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
CQ-07-16	11	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
CQ-07-20	11	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
FDR-07-79	12	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
YM-07-14	12	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
YM-07-36	12	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
MO-07-7	12	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
MO-07-26	12	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
MR-07-4	12	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
JG-07-10	14	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
FDR-07-26	14	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
FDR-07-58	14	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
FDR-07-95	14	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
YM-07-8	14	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
YM-07-71	14	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
YM-07-73	14	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
YM-07-88	14	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
GL-07-5	14	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
MO-07-21	14	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
MR-07-12	14	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
CP-07-26	14	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent

FDR-07-21	16	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
YM-07-59	16	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
MO-07-1	16	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
MO-07-20	16	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
MO-07-27	16	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
MR-07-5	16	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
SG-07-1	16	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
JB-07-10	18	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
JB-07-14	18	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
JB-07-28	18	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
YM-07-34	18	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
YM-07-46	18	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
MR-07-6	18	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
MR-07-17	18	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
JG-07-1	19	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
FDR-07-22	19	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
FDR-07-51	19	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
FDR-07-69	19	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
FDR-07-71	19	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
FDR-07-87	19	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
FDR-07-97	19	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
YM-07-2	19	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
YM-07-52	19	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
MO-07-30	19	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
LG-07-15	19	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
YM-07-89	29	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
FDR-07-94	34	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
MO-07-17	34	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent

CQ-07-33	34	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
JB-07-6	36	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
GL-07-2	36	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
MO-07-6	36	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
YM-07-55	37	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
YM-07-63	37	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
YM-07-81	37	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
MO-07-2	37	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
MO-07-5	37	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
MO-07-9	37	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
MO-07-11	37	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
MO-07-12	37	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
MO-07-15	37	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
MO-07-29	37	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
MR-07-1	37	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
MR-07-19	37	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
CQ-07-19	37	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
CQ-07-60	37	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
FDR-07-41	38	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
JB-07-18	38	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
JB-07-23	38	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
JB-07-31	38	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
YM-07-61	38	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
YM-07-90	38	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
CP-07-23	38	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
LG-07-8	40	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
LG-07-9	40	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
CQ-07-17	50	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent

JG-07-2	59	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
JG-07-11	59	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
FDR-07-75	59	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
YM-07-5	59	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
YM-07-10	59	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
YM-07-11	59	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
YM-07-23	59	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
YM-07-24	59	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
YM-07-25	59	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
YM-07-26	59	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
YM-07-29	59	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
YM-07-33	59	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
YM-07-37	59	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
YM-07-39	59	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
YM-07-42	59	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
YM-07-53	59	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
YM-07-64	59	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
YM-07-69	59	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
YM-07-72	59	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
YM-07-75	59	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
YM-07-77	59	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
YM-07-78	59	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
YM-07-79	59	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
YM-07-80	59	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
YM-07-82	59	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
YM-07-85	59	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
YM-07-86	59	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
CP-07-21	59	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent

LG-07-21	59	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
YM-07-3	226	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
YM-07-19	226	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
YM-07-35	226	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
YM-07-38	226	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
YM-07-40	226	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
YM-07-43	226	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
YM-07-44	226	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
YM-07-48	226	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
YM-07-50	226	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
YM-07-66	226	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
YM-07-74	226	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
YM-07-93	226	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
WI91-23	228	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
CQ-07-38	266	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
CQ-07-8	267	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
CQ-07-24	267	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
CQ-07-51	268	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
MR-07-7	269	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
RN-07-2	1	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
FDR-07-3	1	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
FDR-07-13	1	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
FDR-07-23	1	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
FDR-07-25	1	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
FDR-07-27	1	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
FDR-07-28	1	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
FDR-07-29	1	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
FDR-07-32	1	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent

FDR-07-34	1	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
FDR-07-48	1	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
FDR-07-50	1	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
FDR-07-54	1	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
FDR-07-55	1	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
FDR-07-57	1	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
FDR-07-59	1	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
FDR-07-67	1	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
FDR-07-84	1	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
FDR-07-91	1	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
FDR-07-96	1	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
JB-07-5	1	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
JB-07-15	1	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
JB-07-22	1	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
JB-07-27	1	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
JB-07-38	1	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
JB-07-49	1	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
YM-07-15	1	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
YM-07-68	1	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
YM-07-91	1	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
GI-07-2	1	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
GL-07-4	1	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
MO-07-4	1	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
MR-07-11	1	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
MR-07-16	1	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
SG-07-2	1	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
CP-07-4	1	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
CP-07-7	1	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent

CP-07-11	1	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
CP-07-12	1	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
LG-07-5	1	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
LG-07-27	1	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
CQ-07-1	1	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
CQ-07-2	1	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
CQ-07-3	1	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
CQ-07-4	1	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
CQ-07-11	1	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
CQ-07-12	1	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
CQ-07-13	1	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
CQ-07-14	1	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
CQ-07-15	1	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
CQ-07-63	1	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Bent
16812	1	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hoен et al. 2009
1989503	1	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hoен et al. 2009
22906	3	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hoен et al. 2009
22925	3	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hoен et al. 2009
498801	3	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hoен et al. 2009
501604	3	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hoен et al. 2009
503205	3	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hoен et al. 2009
990504	3	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hoен et al. 2009
16901	4	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hoен et al. 2009
23009	7	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hoен et al. 2009
440607	7	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hoен et al. 2009
552301	7	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hoен et al. 2009
553413	7	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hoен et al. 2009
990503	8	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hoен et al. 2009

519508	12	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hoен et al. 2009
15912	14	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hoен et al. 2009
113616	14	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hoен et al. 2009
15702	18	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hoен et al. 2009
16201	18	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hoен et al. 2009
16305	18	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hoен et al. 2009
16909	18	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hoен et al. 2009
17311	18	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hoен et al. 2009
24602	18	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hoен et al. 2009
15903	19	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hoен et al. 2009
47703	29	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hoен et al. 2009
47803	29	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hoен et al. 2009
50901	29	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hoен et al. 2009
2080802	29	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hoен et al. 2009
2085801	29	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hoен et al. 2009
51405	30	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hoен et al. 2009
48102	31	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hoен et al. 2009
50302	31	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hoен et al. 2009
519014	32	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hoен et al. 2009
519512	32	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hoен et al. 2009
519519	32	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hoен et al. 2009
519612	32	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hoен et al. 2009
2207117	32	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hoен et al. 2009
2215505	32	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hoен et al. 2009
24209	34	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hoен et al. 2009
500203	36	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hoен et al. 2009
23509	37	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hoен et al. 2009
501442	37	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hoен et al. 2009

501614	37	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hoен et al. 2009
15905	38	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hoен et al. 2009
119909	38	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hoен et al. 2009
516113	38	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hoен et al. 2009
2007515	38	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hoен et al. 2009
1472505	39	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hoен et al. 2009
51108	43	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hoен et al. 2009
51803	43	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hoен et al. 2009
50103	44	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hoен et al. 2009
553701	45	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hoен et al. 2009
47902	46	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hoен et al. 2009
48803	46	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hoен et al. 2009
50306	46	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hoен et al. 2009
50609	46	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hoен et al. 2009
1476702	46	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hoен et al. 2009
47601	47	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hoен et al. 2009
48802	47	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hoен et al. 2009
1457401	48	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hoен et al. 2009
1468503	48	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hoен et al. 2009
2228004	48	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hoен et al. 2009
1468904	49	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hoен et al. 2009
501605	50	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hoен et al. 2009
424404	51	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hoен et al. 2009
2127701	52	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hoен et al. 2009
2207601	53	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hoен et al. 2009
2208804	53	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hoен et al. 2009
501427	54	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hoен et al. 2009
424401	55	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hoен et al. 2009

2206617	55	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hoен et al. 2009
1469205	56	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hoен et al. 2009
2250201	57	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hoен et al. 2009
114212	58	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hoен et al. 2009
1988101	59	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hoен et al. 2009
2251413	59	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Hoен et al. 2009
B31	1	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Margos et al. 2008
CA-4	2	<i>Ixodes pacificus</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Margos et al. 2008
CA-5	2	<i>Ixodes pacificus</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Margos et al. 2008
CA-6	2	<i>Ixodes pacificus</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Margos et al. 2008
FCR13	2	<i>Ixodes pacificus</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Margos et al. 2012
WTB-27	5	<i>Ixodes pacificus</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Margos et al. 2012
HPN91	6	<i>Ixodes pacificus</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Margos et al. 2012
RRA32	6	<i>Ixodes pacificus</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Margos et al. 2012
WTB-32	10	<i>Ixodes pacificus</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Margos et al. 2012
HRM49	10	<i>Ixodes pacificus</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Margos et al. 2012
JD1	11	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Margos et al. 2012
29805	12	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Margos et al. 2012
Mid327	12	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Margos et al. 2012
RRO17	13	<i>Ixodes pacificus</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Margos et al. 2012
N40	19	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Margos et al. 2012
C6	19	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Margos et al. 2012
Mid471	31	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Margos et al. 2012
Mid337	32	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Margos et al. 2012
C303	32	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Margos et al. 2012
Mid479	43	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Margos et al. 2012
Mid762	48	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Margos et al. 2012
C427	52	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Margos et al. 2012

C102	55	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Margos et al. 2012
Mid761	56	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Margos et al. 2012
Mid054	223	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Margos et al. 2012
Mid660	223	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Margos et al. 2012
C43	235	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Margos et al. 2012
Mid331	301	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Margos et al. 2012
Mid315	302	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Margos et al. 2012
C419	302	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Margos et al. 2012
HPS83	333	<i>Ixodes pacificus</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Margos et al. 2012
RCR57	333	<i>Ixodes pacificus</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Margos et al. 2012
Mid352	390	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Margos et al. 2012
Mid469	391	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Margos et al. 2012
Mid565	392	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Margos et al. 2012
Mid787	393	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Margos et al. 2012
Mid831	394	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Margos et al. 2012
C14	395	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Margos et al. 2012
C311	395	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Margos et al. 2012
C310	396	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Margos et al. 2012
C462	397	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Margos et al. 2012
WHE 69	398	<i>Ixodes pacificus</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Margos et al. 2012
HOPN87	398	<i>Ixodes pacificus</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Margos et al. 2012
MNR1	399	<i>Ixodes pacificus</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Margos et al. 2012
MWSRG4	400	<i>Ixodes pacificus</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Margos et al. 2012
HPN92	400	<i>Ixodes pacificus</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Margos et al. 2012
LAG24	401	<i>Ixodes pacificus</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Margos et al. 2012
DRG5	402	<i>Ixodes pacificus</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Margos et al. 2012
MML16	403	<i>Ixodes pacificus</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Margos et al. 2012
HWT77	404	<i>Ixodes pacificus</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Margos et al. 2012

BTW52	405	<i>Ixodes pacificus</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Margos et al. 2012
HRP22	406	<i>Ixodes pacificus</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Margos et al. 2012
MCCP6	407	<i>Ixodes pacificus</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Margos et al. 2012
MCCP84	408	<i>Ixodes pacificus</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Margos et al. 2012
MAW68	408	<i>Ixodes pacificus</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Margos et al. 2012
NF-07-10	1	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Ogden et al. 2011
NF-07-1	12	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Ogden et al. 2011
NF-07-5	36	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Ogden et al. 2011
NF-07-8	38	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Ogden et al. 2011
NF-07-4	54	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Ogden et al. 2011
NF-07-9	59	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Ogden et al. 2011
NF-07-13	59	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Ogden et al. 2011
CA11.2A	333	<i>Ixodes scapularis</i>	USA	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	Mongodin et al. 2013

Tabelle 42: Weitere, bisher nicht mittels MLST typisierte, *B. afzelii* Patientenisolat der Stammsammlung des NRZ (n = 50). kA = keine Angabe, KGP = Kniegelenkspunktat, NB = Neuroborreliose, A = Arthritis, ACA = Acrodermatitis chronica atrophicans, MEM = Multiple erythematosa migratoria, EM = Erythema migrans

Isolat	Patientenmaterial	Manifestation	Art der Infektion	Jahr	Spezies	Referenz
Ab	Haut	Haut	kA	1990	<i>B. afzelii</i>	Stammsammlung des NRZ
Beg	Haut	kA	kA	1989	<i>B. afzelii</i>	Stammsammlung des NRZ
Bog	Haut	kA	kA	1988	<i>B. afzelii</i>	Stammsammlung des NRZ
Cas	Haut	EM	Lokalisiert	1988	<i>B. afzelii</i>	Stammsammlung des NRZ
Di	Haut	ACA	Disseminiert	1990	<i>B. afzelii</i>	Stammsammlung des NRZ

Ebe	Haut	EM	Lokalisiert	1988	<i>B. afzelii</i>	Stammsammlung des NRZ
Fi II	Haut	ACA	Disseminiert	1992	<i>B. afzelii</i>	Stammsammlung des NRZ
Fuk	Haut	ACA	Disseminiert	1988	<i>B. afzelii</i>	Stammsammlung des NRZ
Gau	Haut	ACA	Disseminiert	1986	<i>B. afzelii</i>	Stammsammlung des NRZ
Go	KGP	A	Disseminiert	1991	<i>B. afzelii</i>	Stammsammlung des NRZ
Har	Haut	ACA	Disseminiert	2011	<i>B. afzelii</i>	Stammsammlung des NRZ
Hes	Haut	ACA	Disseminiert	1988	<i>B. afzelii</i>	Stammsammlung des NRZ
Hot	Haut	kA	kA	1987	<i>B. afzelii</i>	Stammsammlung des NRZ
Ju	Haut	kA	kA	1986	<i>B. afzelii</i>	Stammsammlung des NRZ
Kap	Haut	ACA	Disseminiert	1989	<i>B. afzelii</i>	Stammsammlung des NRZ
Kle	Liquor	NB	Disseminiert	1986	<i>B. afzelii</i>	Stammsammlung des NRZ
Kob	Haut	ACA	Disseminiert	1999	<i>B. afzelii</i>	Stammsammlung des NRZ
Kri	Haut	BLZ	Disseminiert	1990	<i>B. afzelii</i>	Stammsammlung des NRZ
Le	Haut	kA	kA	1984	<i>B. afzelii</i>	Stammsammlung des NRZ
Mea	Haut	EM	Lokalisiert	1992	<i>B. afzelii</i>	Stammsammlung des NRZ
Men	Haut	EM	Lokalisiert	1992	<i>B. afzelii</i>	Stammsammlung des NRZ
Mur	Haut	EM	Lokalisiert	1988	<i>B. afzelii</i>	Stammsammlung des NRZ
Ost	Haut	EM	Lokalisiert	1987	<i>B. afzelii</i>	Stammsammlung des NRZ
Pe	Haut	EM	Lokalisiert	1991	<i>B. afzelii</i>	Stammsammlung des NRZ
Per	Haut	EM	Lokalisiert	1990	<i>B. afzelii</i>	Stammsammlung des NRZ
Ri	Haut	EM	Lokalisiert	1986	<i>B. afzelii</i>	Stammsammlung des NRZ
Rin	Haut	EM	Lokalisiert	1992	<i>B. afzelii</i>	Stammsammlung des NRZ
Rui	Haut	ACA	Disseminiert	1985	<i>B. afzelii</i>	Stammsammlung des NRZ
SBH	Haut	EM	Lokalisiert	1997	<i>B. afzelii</i>	Stammsammlung des NRZ
Sca	Haut	EM	Lokalisiert	1991	<i>B. afzelii</i>	Stammsammlung des NRZ
Scd	Haut	EM	Lokalisiert	1989	<i>B. afzelii</i>	Stammsammlung des NRZ
Sci	Haut	EM	Lokalisiert	1989	<i>B. afzelii</i>	Stammsammlung des NRZ
Shg	Haut	ACA	Disseminiert	1989	<i>B. afzelii</i>	Stammsammlung des NRZ

Smx	Haut	ACA	Disseminiert	1989	<i>B. afzelii</i>	Stammsammlung des NRZ
Sri	Haut	EM	Lokalisiert	1989	<i>B. afzelii</i>	Stammsammlung des NRZ
St	Haut	EM	Lokalisiert	1985	<i>B. afzelii</i>	Stammsammlung des NRZ
Sta	Haut	EM	Lokalisiert	1988	<i>B. afzelii</i>	Stammsammlung des NRZ
Std	Haut	EM	Lokalisiert	1991	<i>B. afzelii</i>	Stammsammlung des NRZ
Ten	Haut	kA	kA	1997	<i>B. afzelii</i>	Stammsammlung des NRZ
The I	Haut	EM	Lokalisiert	1989	<i>B. afzelii</i>	Stammsammlung des NRZ
Thu	Haut	Myositis	Disseminiert	1991	<i>B. afzelii</i>	Stammsammlung des NRZ
Tr	Haut	ACA	Disseminiert	1984	<i>B. afzelii</i>	Stammsammlung des NRZ
Tru	Haut	EM	Lokalisiert	1992	<i>B. afzelii</i>	Stammsammlung des NRZ
VPM	Haut	EM	Lokalisiert	1989	<i>B. afzelii</i>	Stammsammlung des NRZ
We	Haut	ACA	Disseminiert	1987	<i>B. afzelii</i>	Stammsammlung des NRZ
Web	Haut	kA	kA	1990	<i>B. afzelii</i>	Stammsammlung des NRZ
Wei	Haut	EM	Lokalisiert	1990	<i>B. afzelii</i>	Stammsammlung des NRZ
Wem	Haut	ACA	Disseminiert	1988	<i>B. afzelii</i>	Stammsammlung des NRZ
Wer	Haut	kA	kA	1993	<i>B. afzelii</i>	Stammsammlung des NRZ
Wie	Haut	ACA	Disseminiert	1993	<i>B. afzelii</i>	Stammsammlung des NRZ

Danksagung

Die vorliegende Arbeit wurde im Zeitraum von April 2013 bis November 2016 am Nationalen Referenzzentrum für Borrelien des Bayerischen Landesamtes für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit in Oberschleißheim unter der Leitung von Prof. Dr. med. Dr. phil. Andreas Sing und Dr. med. Volker Fingerle durchgeführt.

Ich möchte mich bei Herrn **Prof. Dr. med Dr. phil. Andreas Sing** herzlich für die freundliche Überlassung dieses interessanten Themas bedanken. Durch die herzliche Aufnahme im Team fühlte ich mich von Anfang an willkommen. Vielen Dank für das Vertrauen und die äußerst freundliche und kompetente Betreuung.

Herrn **Dr. med. Volker Fingerle** gilt mein besonderer Dank für seine sowohl fachlich als auch menschlich hervorragende Unterstützung. Guter Rat und Lösungsvorschläge kombiniert mit der Freiheit, selbst einen Weg zu finden, waren stets eine sehr große Hilfe. Vielen Dank für die ausgezeichnete Unterstützung, die motivierenden Gespräche und Ihren jederzeit höchst fachlich kompetenten Rat bei Problemen.

Bei Frau **Dr. Gabriele Margos** möchte ich mich für die ausgesprochen vorbildliche wissenschaftliche Betreuung bedanken. Ihr außergewöhnliches Engagement für Doktoranden und ihre fachliche Kompetenz haben mich stets beeindruckt. Eine derartige ständige Ansprechbarkeit und Betreuung kann sich jeder Doktorand nur wünschen. Von Herzen vielen Dank.

Besonders hervorheben möchte ich weiterhin die unermüdliche und herzliche Hilfsbereitschaft von **Cecilia Hizo-Teufel**. Sie stand mir äußerst freundlich und geduldig mit Rat und Tat im Labor zur Seite. Ohne ihre Hilfe wäre der praktische Teil dieser Arbeit nicht möglich gewesen.

Für die fachliche Unterstützung im Bereich statistischer Auswertungen möchte ich **Johannes Koloczek, Thomas Maierhofer** (Stablab der LMU) und im Besonderen

Christiane Fuchs danken. Die grundlagenbasierte Einarbeitung in die Programmiersprache R, sowie der Einblick in statistische Arbeitsweisen waren sehr bereichernd.

Mein Dank für die Einarbeitung in die Datenbank „smartgene“ gilt **Herrn Steffan Emmler**.

Vielen Dank **Christine Hartberger, Daniela Sebah, Sabine Wolf und Jasmin Frassdorf** für die Möglichkeit, zusätzliches labortechnisches Equipment zu nutzen.

Für die Bereitstellung von Zecken aus Süddeutschland bedanke ich mich herzlich bei **Frau Evelyn Overzier**. Weiterhin gilt mein Dank **Frau Eldina Dzaferovic** für das Screening entsprechender Zecken mittels *hbb*-RTD-PCR.

Allen weiteren Mitarbeitern der Arbeitsgruppe des NRZ für Borrelien, insbesondere auch **Sylvia Stockmeier** und **Wiltrud Strehle** danke ich für die angenehme Zusammenarbeit und die jederzeit freundliche und hilfsbereite Unterstützung.

Ein besonderer Dank gilt an dieser Stelle auch **meinen Eltern**. Sie haben mich bei Allem was ich bisher getan habe stets bedingungslos und nach besten Kräften unterstützt. Ich weiß es sehr zu schätzen dass Ihr mir dieses unglaubliche Studium ermöglicht habt. Danke, dass ich immer auf Euch zählen kann.

Veröffentlichungen

1. **Jungnick S**, Margos G, Rieger M, Dzaferovic E, Bent SJ, Overzier E, Silaghi C, Walder G, Wex F, Koloczek J, Sing A und Fingerle V. *Borrelia burgdorferi* sensu stricto and *Borrelia afzelii*: Population structure and differential pathogenicity. International Journal of Medical Microbiology. 2015.
2. Wang G, Liveris D, Mukherjee P, **Jungnick S**, Margos G, Schwartz I. Molecular Typing of *Borrelia burgdorferi*. Current protocols in microbiology. 2014:12C. 5.1-C. 5.31.
3. Castillo-Ramírez S, Fingerle V. **Jungnick S**, Straubinger RK, Krebs S, Blum H, Meinel DM, Hofmann H, Guertler P, Sing A und Margos G. Trans-Atlantic exchanges have shaped the population structure of the Lyme disease agent *Borrelia burgdorferi* sensu stricto. Scientific reports, 2016. 6.
4. Margos G, Stockmeier S, Hizo-Teufel C, Hepner S, Fish D, Dautel H, Sing A, Dzaferovic E, Rieger M, **Jungnick S**, Binder K, Straubinger RK und Fingerle V. Long-term in vitro cultivation of *Borrelia miyamotoi*. Ticks and tick-borne diseases, 2015. 6(2): p. 181-184.

Kongressvortrag

Jungnick S MLST an *Borrelia burgdorferi* sensu stricto und *Borrelia afzelii*, 2. Süddeutscher Zeckenkongress Hohenheim 2013.

Posterpräsentationen und Abstracts

1. **Jungnick S**, Margos G, Rieger M, Sing A, Fingerle V. Relevante humanpathogene Sequenztypen der Spezies *B. burgdorferi sensu stricto* und *B. afzelii* - Gibt es einen Zusammenhang zwischen Patientensymptomatik und Borrelien-Sequenztyp?, 2. Süddeutscher Zeckenkongress Hohenheim 2013, sowie DVG-Fachtagung der Fachgruppe Bakteriologie und Mykologie, Freising, 2014.
2. **Jungnick S**, Margos G, Rieger M, Knoke L, Venczel R, Hizo-Teufel C, Sing A, Fingerle V. Investigation of human pathogenic sequence types of the species *Borrelia burgdorferi sensu stricto* and *Borrelia afzelii* using multilocus sequence analysis (MLSA), Microbiology and Infection, 66. Jahrestagung der DGHM, Dresden, 2014
3. Rieger M, Margos G, **Jungnick S**, Dzaferovic E, Binder K, Hizo-Teufel C, Sing A, Fingerle V. Gibt es eine Korrelation zwischen *Borrelia* Sequenztyp und Lyme Borreliose Symptomatik?, 2. Süddeutscher Zeckenkongress Hohenheim 2013, sowie DVG-Fachtagung der Fachgruppe Bakteriologie und Mykologie, Freising, 2014
4. Rieger M, Margos G, **Jungnick S**, Dzaferovic E, Binder K, Hizo-Teufel C, Sing A, Fingerle V. Is there a correlation between sequence type and symptomatik in Lyme borreliosis?. Microbiology and Infection, 66. Jahrestagung der DGHM, Dresden, 2014
5. Dzaferovic E, Binder K, **Jungnick S**, Rieger M, Silaghi C, Margos G, Hizo-Teufel C, Sing A, Fingerle V. Eignung der *hbb* real-time PCR zur *Borrelien* Speziesbestimmung. 2. Süddeutscher Zeckenkongress, Stuttgart-Hohenheim, 2014
6. Margos G, Wilske B, Sing A, **Jungnick S**, Rieger M, Dzaferovic E, Binder K, Scholz H, Straubinger R.K, Fingerle V, *Borrelia bavariensis* –geographische Verbreitung und Populationsstruktur. 2. Süddeutscher Zeckenkongress, Stuttgart-Hohenheim, 2014
7. **Jungnick S**, Margos G, Rieger M, Dzaferovic E, Bent S.J, Overzier E, Silaghi C, Walder G, Wex F, Koloczec J, Sing A, Fingerle V. *Borrelia burgdorferi sensu stricto* and *Borrelia afzelii*: Population structure and Differential pathogenicity. 14th International Conference on Lyme Borreliosis and other Tick-Borne Diseases Vienna 2015.

Eidesstattliche Erklärung

Jungnick, Sabrina

Name, Vorname

Ich erkläre hiermit, dass ich diese Dissertation zum Thema

„Multilocus Sequence Typing von *Borrelia burgdorferi* sensu stricto und *B. afzelii* Stämmen aus Europa und den USA: Populationsstruktur, Pathogenität und Patientensymptomatik“

selbstständig und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Quellen und Hilfsmittel verfasst habe. Alle wörtlich oder sinngemäß entnommenen Stellen der benutzten Quellen sind als solche einzeln kenntlich gemacht.

Diese Arbeit ist bislang in gleicher oder ähnlicher Form keiner anderen Prüfungsbehörde vorgelegt worden.

München, den 26.04.2018

Sabrina Jungnick
Unterschrift Doktorandin