

Arbobakterien (über Arthropoden übertragbare Bakterien)

Stellungnahmen des Arbeitskreises Blut des Bundesministeriums für Gesundheit

Der Arbeitskreis Blut des Bundesministeriums für Gesundheit gibt als nationales Beratungsgremium Stellungnahmen zu neuartigen Erregern ab, bewertet neue Erkenntnisse zu bekannten Erregern und erarbeitet entsprechende Empfehlungen für die Fachöffentlichkeit. Diese Serie von Stellungnahmen zu einzelnen Erregern wird als Zusammenfassung des aktuellen Wissensstandes veröffentlicht, speziell unter transfusionsmedizinisch relevanten Aspekten (Bundesgesundheitsbl 41: 53, 1998).

Frühere Beiträge befassten sich mit der *Creutzfeldt-Jakob-Erkrankung*, dem *Parvovirus B19* und dem *GB-Virus Typ C* (Hepatitis-G-Virus), (Bundesgesundheitsbl 41: 78–90, 1998), *HTLV-I/-II* (Bundesgesundheitsbl 41: 512, 1998), *Yersinia enterocolitica* (Bundesgesundheitsbl 42: 613, 1999), *TT-Virus* (Bundesgesundheitsbl 43: 154–156, 2000), *Hepatitis B Virus (HBV)*, (Bundesgesundheitsbl 43: 240–248, 2000) und *Humanes Cytomegalovirus (HCMV)*, (Bundesgesundheitsbl 43: 653–659, 2000), *Hepatitis A Virus* (Bundesgesundheitsbl 44: 844–850, 2001), *Treponema pallidum* (Bundesgesundheitsbl 45: 818–826, 2002), *Hepatitis-C-Virus* (Bundesgesundheitsbl 46: 712–722, 2003), *Humanes Immunschwächevirus (HIV)* (Bundesgesundheitsbl 47: 83–95, 2004), *Arboviren – durch Arthropoden übertragbare Viren* (Bundesgesundheitsbl 47: 910–918, 2004), *Coxiel-*

la burnetii – Erreger des Q-(query-)Fiebers (Bundesgesundheitsbl 48: 814–821, 2005), *Variante Creutzfeldt-Jakob-Krankheit* (Bundesgesundheitsbl 48: 1082–1090, 2005) und *Influenzaviren* (Bundesgesundheitsbl 50:1185–1193, 2007)

Anaplasma phagocytophilum, marginatum

Bartonella henselae

Borrelia burgdorferi, afzelii, garinii

Coxiella burnetii

Ehrlichia chaffeensis

Francisella tularensis

Rickettsia prowazekii, akari, rickettsii

Yersinia pestis

Die Krankheiten, die durch die genannten Bakterien ausgelöst werden, sind im Wesentlichen Zoonosen und als solche als vom Tier auf den Menschen übertragbare Krankheiten seit etwa 100 Jahren bekannt. Einzelne Erreger sind teils erst in den vergangenen Dekaden beschrieben worden. Aufgrund von molekularbiologischen Analysen werden *Rickettsia prowazekii*, *Ehrlichia* und *Anaplasma* in die Rickettsiales, *Bartonella* in die alpha-2-Proteobakterien und *Coxiella*, *Rickettsia grylli* und *Francisella tularensis* in die gamma-Proteobakterien und *Yersinia pestis* in die Enterobakterien klassifiziert [1].

Die meisten Arbobakterien wachsen vorzugsweise intrazellulär, Borrelien hingegen intra- und extrazellulär, und

Yersinia vorzugsweise extrazellulär. Die genannten Arbobakterien zeigen, wenn sie durch Zecken übertragen werden, saisonal gehäuftes Vorkommen und ein teils geändertes Antigenrepertoire in Vektor und Säuger. *Rickettsia prowazekii* wird über die Laus ganzjährig und weltweit übertragen.

Wesentliche gemeinsame klinische Symptome der Infektion sind Fieber, Exanthem, Kopfschmerzen und Lymphknotenschwellung, teils ein ausgeprägtes Erythem an der Einstichstelle und enzephalitische Erscheinungen. Neutropenie und Thrombozytopenie können folgen.

Therapie: Das Mittel der Wahl gegen die meisten dieser Bakterien ist Doxycyclin, gefolgt von Chloramphenicol und Cephalosporinen. Chinolone sind gegen *R. prowazekii* unwirksam. Mittel der Wahl gegen *Yersinia pestis* und *Francisella tularensis* sind Streptomycin oder Gentamicin, weiterhin wirksam sind Doxycyclin oder Ciprofloxacin.

Coxiella burnetii ist gesondert abgehandelt worden und wird in dieser Übersicht deswegen nicht aufgeführt [2], ebenso selten vorkommende bzw. reine Tropenerkrankungen. Der orientalische Rattenfloh (*Xenopsylla cheopsis*) soll *Yersinia pestis* am effektivsten übertragen. Des Weiteren sind über 30 Floharten bekannt, die als Zwischenwirte *Yersinia pestis* übertragen können, unter anderem

Pulex irritans (Menschenfloh), welcher bei Mensch-zu-Mensch-Übertragungen eine Rolle spielen kann. Die menschliche Laus kann ebenfalls ein Vektor zur Übertragung von *Yersinia pestis* sein [3].

Im Folgenden sind Ausführungen zum allgemeinen Wissensstand, zu den Erreger-eigenschaften, der Infektionskrankheit, der Epidemiologie, den Nachweisverfahren sowie dem Erregervorkommen in der Spenderpopulation erregerspezifisch einzeln abgehandelt, gefolgt von Ausführungen über Epidemiologie, Abwehrlage, Therapie und Prophylaxe in Empfängerkollektiven und einer zusammenfassenden Bewertung für alle Erreger. Die Nummerierung der Abschnitte folgt der in den Veröffentlichungen der Untergruppe des Arbeitskreises Blut „Bewertung Blut-Assoziierter Erreger“ verwendeten einheitlichen Struktur.

1 Anaplasma und Ehrlichia

1.1 Wissensstand über den Erreger

Die Einteilung erfolgt heute nach der Trennung von Ehrlichia und Anaplasma in:

Anaplasma: *A. phagocytophilum*, *platys*, *marginale*,

Ehrlichia: *E. chaffeensis* mit dem Hauptwirt Pferd und Infektion beim Menschen, *E. ewingii* und *E. canis* mit Hauptwirt Hund und selten Infektion beim Menschen.

Bis 1987 galt die Infektion mit Ehrlichia nur als Tierkrankheit. Die erste Beschreibung von Ehrlichiose beim Hund erfolgte 1935 in Algerien mit den charakteristischen Einschlüssen in Monozyten in der Giemsa-Färbung. Die erste menschliche Erkrankung wurde als Sennetsu Neorickettsiose aus Japan und Malaysia berichtet. Die erste Beschreibung aus USA-Arkansas nach Zeckenstich stammt aus dem Jahr 1986 [4].

1994 wurde *Anaplasma phagocytophilum* als unterschiedlicher Infektionserreger beschrieben und die zugeordnete Krankheit als human granulocytotropic anaplasmosis (HGA) bezeichnet [5].

1.1.1 Erreger-eigenschaften

1.1.1.1 Aufbau

Beide Erreger sind kleine, intrazellulär wachsende, Einschlusskörperchen bildende gramnegative Bakterien. Menschliche und tierische Zellen werden infiziert, bei überschüssigem Wachstum bilden sich sogenannte Morulazellen. Es können 2 Bakterienformen unterschieden werden, eine größere retikuläre Form und eine kleine mit dichter und dicker Zellwand. Die Zellwand enthält keine Lipopolysaccharide. Die in der Wand vorhandenen Oberflächen-Porinproteine können von vielen Genen codiert werden und bilden die Grundlage für die antigene Variabilität der Erreger. Adhäsine für Säugerzellen sind vorhanden, die ihrerseits hypervariable Regionen enthalten und einen sehr unterschiedlichen Anteil von Zuckern tragen, sodass Reinfektionen mit dem gleichen, immunologisch differenten Bakterium möglich sind.

1.1.1.2 Vermehrung

Anaplasma und Ehrlichia vermehren sich in Zellen von Nymphen- und adulten Zecken, Säugern wie Reh, Rind und Pferd und auch vom Menschen. Im Blut wird Anaplasma hauptsächlich in neutrophilen Granulozyten, Makrophagen und Monozyten gefunden, selten in Lymphozyten, während Ehrlichia vorzugsweise in Monozyten und Makrophagen wächst. In Zellkultur zeigt Ehrlichia einen direkten zytopathogenen Effekt, der auch für einen Teil der klinischen Manifestationen verantwortlich gemacht werden kann. Anaplasma kann innerhalb der neutrophilen Granulozyten nicht abgebaut werden, die Apoptose dieser Zellen ist verzögert, sodass eine Produktion von Bakterien über Wochen erfolgen kann.

1.1.2 Infektion und Infektionskrankheit

Nach dem Durchdringen der Haut erfolgen Wachstum und Verbreitung in weißen Blutzellen und Manifestation der Infektion in Organen wie Leber, Milz, Lymphknoten, auch Niere, Lunge, Herz und Hirn. Granulombildung ist eine typische Manifestationsform. Die Immunantwort ist vermindert, durch das intrazelluläre Wachstum und die Induktion von er-

niedriger Zahl an CD4-, CD8- und CD5-Zellen, weiters durch die eingeschränkte Funktion der T-Lymphozyten. Nach etwa 30 Tagen lässt sich die Immunantwort gegen den Erreger über die Bildung von spezifischen Antikörpern messen. Die mittlere Inkubationszeit ist 1–4 Wochen. Leitsymptome der Infektion sind Fieber, Kopfschmerzen, Myalgie und Unwohlsein. Bei Lungenbeteiligung lassen sich röntgenologisch Infiltrate nachweisen. Die mittlere Krankheitsdauer ist etwa 9 Tage mit einem Bereich von 1–60 Tagen. Der klinische Verlauf reicht von milden klinischen Symptomen bis zum tödlichen Ausgang. Mit höherem Alter treten vermehrt schwere Verläufe auf.

1.1.3 Epidemiologie

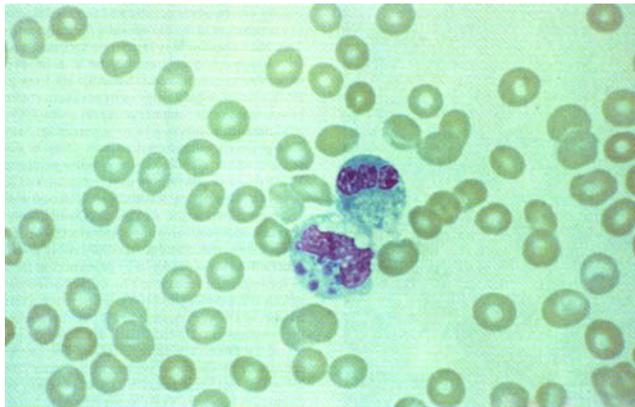
Die Übertragung von Ehrlichia ist an Zecken geknüpft mit einem saisonalen Gipfel von Mai bis August. Ehrlichia kann durch die Zeckenspezies *Amblyomma americanum*, *Dermatocenter* und *Ixodes* übertragen werden. Ehrlichia-Infektionen sind im Wesentlichen in Nordamerika und Südostasien gefunden worden. Anaplasma ist weltweit in Zonen mit Zeckenbefall verbreitet. Etwa 2 % der Zecken in Deutschland sind mit *Anaplasma phagocytophilum* befallen [6]. Je nach Region tragen in den Niederlanden *Ixodes ricinus*-Zecken Ehrlichia und Anaplasma zwischen 1–16 % mit den höchsten Infektionsraten in Zecken, die in Dünen leben [7].

1.1.4 Nachweisverfahren

Mikroskopie im Blutausstrich. Nach Giemsa-Färbung lassen sich die Morulae bei Ehrlichia als multiple, runde bis ovale, 1–3 µm großen Einschlusskörperchen im Zytoplasma von monozytoiden Zellen von Blut und Knochenmark nachweisen (■ **Abb. 1**). Das Verfahren ist mit einer Sensitivität von etwa 30 % sehr unsensitiv [8].

NAT. Für die klinische Diagnostik ist die Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR) gut geeignet, am häufigsten werden als Ausgangsmaterial 16s rRNA und für die Amplifikation die Primer HE1 und HE3 verwendet [9]. Da zwischen 1500 bp der 16s rRNA von Ehrlichia und Anaplasma nur wenige Nukleotid-Austausche vorhanden sind, kann zwischen beiden Er-

Abb. 1 ► **Mikroskopie im Blutausstrich.** [Nach Clin Micro Rev (2003); 16:39] Der Durchmesser der Erythrozyten entspricht einer Größe von 7 µm, im unteren Monozyten sind deutlich die für Ehrlichia typischen Einschlusskörperchen zu sehen.



regern mit dieser PCR kaum unterschieden werden. Für die Unterscheidung der Spezies sind spezifische Primer entwickelt worden [10].

Antikörpernachweis. Kommerziell erhältliche Immunfluoreszenz-Test-Objektträger stehen zur Verfügung. Um die Spezifität zu erhöhen, sind Immunoblots entwickelt worden [11]. Für Anaplasma wurden ELISA und Immunoblot beschrieben, ihre diagnostische Wertigkeit bleibt offen. Die serologische Kreuzreaktivität zwischen *A. marginale* und *A. phagocytophilum* im Rind beträgt 63 % [12].

1.2 Blut- und Plasmaspender

1.2.1 Prävalenz und Inzidenz bei Spenderkollektiven

Bis heute ist in Deutschland über keine transfusionsassoziierte Übertragung von Anaplasma oder Ehrlichia berichtet worden. Blutspender in Deutschland werden nicht auf Vorhandensein von Bakterium oder Antikörper gegen Anaplasma oder Ehrlichia untersucht. Ehrlichia ist in USA über Transplantation von Leber und ebenso Transplantation von Pankreas übertragen worden [13]. In Blutspendern mit Zeckenstichen in Zecken-Endemiegebieten in USA betrug die Prävalenz von Antikörpern gegen Anaplasma phagocytophila 0,9 % [14]. Im Englischen Garten in München wurde eine infizierte Zecke gefunden [15, 16].

1.2.2 Definition von Ausschlusskriterien

Es gelten die allgemeinen Ausschlusskriterien, die auf Übertragung einer Infektion hinweisen können, wie Temperatur-

erhöhung, Müdigkeit, Abgeschlagenheit, Muskelschmerzen und Anämie. Gegebenenfalls sollte nach einem Zeckenstich innerhalb der letzten 4 Wochen gefragt werden.

1.2.3 Spendertesting

1.2.3.1 Antikörperbestimmung

Eine Bestimmung von Antikörpern erfolgt nicht. Tests stehen zur Verfügung, siehe 1.1.4.

1.2.3.2 Nachweis von Anaplasma und Ehrlichia

Da die Anzucht sehr aufwendig und zu wenig sensitiv ist, ist die bei Bedarf angewendete Methode die PCR, siehe 1.1.4.

2 Bartonella

2.1 Wissensstand über den Erreger

Das Bakterium ist nach A.L. Barton benannt, der das intraerythrozytäre Vorkommen von *B. quintana* 1909 beschrieben hat. Bartonella ist der Auslöser der bacilliformen Angiomatose und der sog. Katzen-Kratzkrankheit. Humanpathogene Spezies sind: *B. bacilliformis*, *B. henselae* und *B. quintana*. Engere genetische Verwandtschaft besteht mit *Brucella* und *Agrobacterium*.

Bartonella bacilliformis kommt nur in den Anden in Südamerika zwischen 1000 und 3000 m vor und wird durch Zecken und Mücken (Spezies *Lutzomyia*) übertragen. Das klinische Bild ist als Oroya-Fieber oder Verucca peruana bekannt.

Bartonella quintana wird über die Laus (*Pediculus humanus*) übertragen und findet sich bei Personen mit niedrigem

Hygienestandard. *B. quintana* ist weltweit verbreitet.

Bartonella henselae ist ebenfalls weltweit verbreitet. Ein Tierreservoir scheint die Katze zu sein, bei der sich bei Ausbildung einer bacilliformen Angiomatose sehr häufig auch eine Bakteriämie findet. Die Übertragung von *B. henselae* auf den Menschen ist mit Kontakt zu Katzen assoziiert.

2.1.1 Erregerereigenschaften

2.1.1.1 Aufbau

Bartonella ist ein kleines 0,6–1,0 µm langes gramnegatives Stäbchen, das auch gebogen sein kann. Auf der Oberfläche finden sich Pili, aber keine Geißeln. Mit den Pili haftet das Bakterium an z. B. Endothelzellen.

2.1.1.2 Vermehrung

Bartonella vermehrt sich innerhalb und außerhalb von Zellen in Mensch, Tier und im Vektor. Außerhalb des Körpers zeigt *Bartonella* anspruchsvolles Wachstum. Innerhalb der Zelle zerstört *Bartonella* das Cytoskeletton. Der Befall von Endothelzellen ist in allen Säugern die Regel.

2.1.2 Infektion und Infektionskrankheit

Bartonella quintana und *B. henselae*.

Die Inkubationszeit beträgt 3–38 Tage. Akute Krankheitszeichen sind Schüttelfrost und Fieber, das Fieber hält für etwa 1–3 Wochen an. Fieber in Schüben kann 6 Wochen dauern. Weitere Krankheitsmanifestationen können sein: Kopfschmerz, Schmerzen im retrobulbären Bereich, geschwollene Lymphknoten, Nystagmus, Myalgie, Arthralgie, Hepatosplenomegalie. Chronische Infektionen mit Rückfallfieber-ähnlichen Episoden kommen häufig bei Patienten mit immunologischer Inkompetenz vor. *Bartonella* verursacht häufig eine Endocarditis, die betroffenen Patienten sind gewöhnlich afebril.

Lokal an der Haut oder im Lymphknoten bildet sich die epitheloide Angiomatose aus. Die Läsionen können wenige Millimeter bis Zentimeter betragen und dem Kaposi-Sarkom ähnlich sehen. Typisch für *Bartonella*-bedingte Hautläsionen sind geschwollene regionale Lymphkno-

ten. Enzephalopathie ist sehr selten, ebenso selten kommen Todesfälle durch *B. henselae*-Infektion vor. Ein chronischer Krankheitsprozess über viele Monate ist nur bei Immunsupprimierten (z. B. durch HIV) beschrieben worden.

Therapiemöglichkeit: Erste Wahl sind Tetracyclin, Rifampicin und Makrolide, hierunter vorzugsweise Azithromycin, weiterhin wirken Cephalosporine und Chinolone.

2.1.3 Epidemiologie

Wie oben beschrieben, kommt *B. bacilliformis* nur in den südamerikanischen Anden vor. Das Wildtierreservat für *B. bacilliformis* ist nicht identifiziert. *B. henselae* und *quintana* sind weltweit verbreitet. Wesentliches Tierreservoir für *B. henselae* sind Katzen. Prävention erfolgt über die Vermeidung von Kontakt mit den Vektoren oder direkt Katzen. Rückfälle nach antibiotischer Behandlung kommen vor, sodass ein Neuauftreten der Bartonella-Infektion nicht automatisch mit einer Neuinfektion gleichzusetzen ist.

In Italien wird die Prävalenz von *B. henselae*-Antikörpern in exponierten Patienten mit 6 % angegeben [17]. In schwedischen Eliterangern, die durch unerwartete kardiale Todesfälle aufgefallen waren, lag die Prävalenz bei 30 % für *B. elizabethae*, 3 % für *B. henselae* und 1 % für *B. quintana* [18].

2.1.4 Nachweisverfahren

Antikörper: IgG- und IgM-Westernblot-Tests sind entwickelt worden mit einer Spezifität von 70–95 % [19]. Am häufigsten wird der Nachweis über die Immunfluoreszenz geführt, mit intrazellulär (Vero-Zellen) wachsenden Bartonellen als Substrat. Die Sensitivität beträgt etwa 90 %. ELISA sind auf dem Markt erhältlich. Zwischen Antikörpern gegen *B. henselae* und *quintana* besteht hohe Kreuzreaktivität.

Anzucht in Kultur: Bartonellen wachsen auf anspruchsvollen Nährböden wie frischem Blutagar und Schokoladen-Agar, wenn die Transportzeit zum Labor kurz ist, als kleine gelblich scheinende, glatte, pleomorphe Kolonien. Blutkultur ist bei Bakteriämie positiv. Aus Geweben wie Leber, Milz, Lymphknoten und Haut ist *Bartonella* isoliert worden. Mikroskopisch

können gramnegative Stäbchen und auch Rundformen gesehen werden.

NAT. Eine PCR-Methode zur Unterscheidung der pathogenen Bartonellen ist von Handley und Regnery [20] beschrieben worden.

2.2 Blut- und Plasmaspender

2.2.1 Prävalenz und Inzidenz in Spenderkollektiven

Eine Bakteriämie kann sich in chronisch infizierten, über lange Zeit asymptomatischen Menschen entwickeln. Ein Bericht über die Übertragung von *Bartonella* über Bluttransfusion bei Katzen liegt vor [21]. Über die Prävalenz in Blutspendern in Deutschland liegen keine Untersuchungen vor, über Übertragungen ist auch nicht berichtet worden.

2.2.2 Definition von Ausschlusskriterien

Die typischen unspezifischen Symptome einer Infektion sind allgemeine Ausschlusskriterien. Hauteffloreszenzen, die einer Angiomatose entsprechen, sollten ein weiteres Kriterium für den temporären Ausschluss eines Spenders sein.

3 Borrelia

3.1 Wissensstand über den Erreger

Borrelien sind intrazellulär und extrazellulär wachsende Spirochäten-ähnliche Bakterien, die weltweit verbreitet sind und im Wesentlichen in Nordamerika, Europa und Asien über Zecken (Spezies *Ixodus* und *Dermatocentor*) übertragen werden. Die Assoziation von Zeckenstich, Infektion mit *Borrelia burgdorferi* und akuter Arthritis in Lyme wurde 1976 gefunden [22]. Bannwarth hat die durch Borrelien verursachte entzündliche Polyneuritis 1941 beschrieben [23], Herxheimer und Hartmann die *Acrodermatitis chronica atrophicans* 1902 [24] und Afzelius das *Erythema chronicum migrans* 1909 [25].

Unter *Borrelia burgdorferi sensu lato* werden 3 pathogene Gruppen unterschieden: *B. burgdorferi sensu strictu*, der einzige Stamm in Nordamerika, und zusätzlich die Gruppe *B. afzelii* und *B. garinii*

in Europa. *B. valaisiana* gilt bisher als apathogen.

3.1.1 Erregerigenschaften

3.1.1.1 Aufbau

Borrelien tragen eine zytoplasmatische Membran, die ummantelt wird von Periplasma, welches die Geißelinsertion enthält, und schließlich von der äußeren Membran, deren Komponenten nicht fest mit dem Periplasma verbunden sind. Borrelien haben einen Durchmesser von 0,3–0,5 µm, eine Länge von 8–30 µm und tragen 7–11 Geißeln. Das lineare Chromosom misst etwa 950 kb, zum Genom tragen 9 zirkuläre und 12 lineare Plasmide bei. Borrelien enthalten viele Lipoproteine wie *Osp A* bis *F* (outer surface protein) [26]. Während der Infektion werden verschiedene Proteine unterschiedlich exprimiert, wie z. B. *VlsE* (variable major protein like sequences expressed) [27] und *Salp15* [28].

3.1.1.2 Vermehrung

Borrelien wachsen unter microaerophilen und anaeroben Bedingungen auf Säugerzellrasen intra- und extrazellulär. In Kulturmedium des Barbour-Stoenner-Kelly-II-Mediums können Borrelien auch aus Biopsiematerial kultiviert werden, auf festen Nährböden konnten sie bisher nicht vermehrt werden. Generationszeit ist 7–20 Stunden bei 30–33°C [29]. Jede menschliche Zelle kann infiziert werden, einschließlich Synovialzellen.

3.1.2 Infektion und Infektionskrankheit

Die klinische Pathogenität resultiert teils aus der Expression von verschiedenen Proteinen. So ist z. B. *Osp C* kaum in der Zecke vorhanden, aber hoch exprimiert im Säuger, ebenso das *VlsE*. Da diese Antigene sich ständig ändern, wird die Immunantwort immer wieder unterlaufen. Die Infektion erfolgt über Zeckenstich, 3–32 Tage später vermehrt sich *Borrelia* im lokalen Gewebe, meist der Haut. Innerhalb von Tagen oder Wochen breiten sich Borrelien im Körper aus, was zu einer Bakteriämie und auch Befall des Zentralnervensystems führen kann. Myokard, Leber, Muskel, Retina und Milz sind weitere präferenzielle Replikationsorte.

Für die Induktion von Entzündungsmediatoren sind Osp C, DbpA und DbpB (decorin binding protein), fibronectin binding protein (BBK32 – 47KD protein) und VlsE (variable major protein like sequences expressed) je nach Stamm entscheidend. Die Krankheit wird in 3 Stadien eingeteilt:

Stadium 1: Lokale Infektion

In > 50 % der Infizierten entwickelt sich ein Erythema chronicum migrans, auch ohne dass ein Zeckenstich erinnerlich ist, da die Nymphen sich nach der Blutmahlzeit abfallen lassen. Das Zentrum des Erythems kann brennen bzw. jucken und muss nicht die typische Rötung haben.

Stadium 2: Disseminierte Infektion

Nach Tagen oder Wochen nach Zeckenstich entwickeln sich als Zeichen der hämatogenen Aussaat multiple Läsionen an der Haut, verbunden mit Fieber, Müdigkeit, Abgeschlagenheit und regionaler Lymphknotenschwellung. Meningeale Reizung kann vorhanden sein, auch Hepatitis, Splenomegalie, Kardiomyopathie, Osteomyelitis, Panophthalmitis.

Stadium 3: Persistierende Infektion

Monate oder Jahre nach Stich zeigen sich intermittierende Schwellung der Gelenke, Arthritis, axonale Neuropathie, Enzephalomyelitis mit Ataxie und kognitiven Störungen, oder Jahre nach Infektion die Akrodermatitis atrophicans mit roten schmerzhaften sklerotischen oder atrophischen Indurationen der Haut. Auch nach langer Persistenz kann in den betroffenen Geweben *Borrelia* nachgewiesen werden.

Während der Schwangerschaft kann *Borrelia* auf den Foeten übertragen werden [30].

3.1.3 Epidemiologie

Auf der nördlichen Hemisphäre sind *Borrelien* in Nordamerika, Europa einschließlich Skandinavien und Russland, China und Japan und weiteren Ländern verbreitet. Abhängig vom Endemiegebiet und der Lebensgewohnheit können 1–2 % der Menschen infiziert sein. Die Prävalenz unter Forstarbeitern liegt höher, im Bayerischen Wald z. B. bei 30 % [31], in

Italien bei 7 % gegenüber der Normalbevölkerung in der Toskana von 3 % [32]. In der Provinz um Madrid, Spanien, lag die Antikörperprävalenz in der Allgemeinbevölkerung ebenfalls bei 3 % [33].

Im Vorderen Orient und Vorderasien werden weitere *Borrelien*, z. B. *B. recurrentis*, als Auslöser des Rückfallfiebers meist über Zecken wie *Ornithodoros* und die Laus, *Pediculus humanus*, übertragen.

In Deutschland sind in allen Regionen, in denen Zecken leben, auch *Borrelien* vorhanden. Bis zu 30 % der Zecken können mit den 3 Spezies *B. burgdorferi sensu stricto*, *garii* und *azeli* befallen sein. Im Mittel sind 11 % der Zecken in Mittel- und Süddeutschland befallen, ältere Zecken haben eine höhere Infektionsrate. Unter den 3 *Borrelienarten* überwiegt *B. garinii* mit 60 %, gefolgt von *B. burgdorferi* mit 32 % und *B. afzelii* mit 18 % [6]. *B. valaisiana* kann in 6 % vorkommen, Doppel- und wenige 3-Fachinfektionen kommen ebenfalls vor [6]. In den Niederlanden liegt die Infektionsrate der Zecken zwischen 0,8 und 11,5 % [7]. Menschen in allen Altersgruppen werden infiziert, je nach geographischer Region dauert in Deutschland die saisonale Zeckenaktivität von Mai bis Oktober oder von März bis November.

3.1.4 Nachweismethoden

Antikörper. Als Screeningtest wird üblicherweise der ELISA verwendet, der je nach Hersteller Bakterien-Lysat oder rekombinante Proteine oder Kombinationen davon enthält. Es können IgG und IgM bestimmt werden; IgM kann über Monate bis wenige Jahre persistieren. Falsch positive Reaktionen sind nicht selten, folglich wird ELISA-Reaktivität über einen Immunoblot bestätigt. Für den Immunoblot sind Interpretationskriterien festgelegt worden [34].

Indirekter Immunfluoreszenztest: Der IIF dient der Spezifitätskontrolle. Patientenantikörper werden mit *Treponema phagedenis* absorbiert und nachfolgend auf Objektträgern mit in Medium kultivierten *Borrelien* inkubiert. Antikörpertiter müssen quantitativ bewertet werden. Für die Interpretation ist Erfahrung notwendig.

Immunoblot. Derzeit verwendete Immunoblot-Streifen sind mit rekombinanten VlsE supplementiert [27]. Die Hauptindikation zur Verwendung von Immunoblots ist die Abklärung von falsch-positiven ELISA-Ergebnissen und die serologische Abklärung einer Neuroborreliose.

Anzucht in Kultur. Die Anzucht kann gelingen in Barbour-Stoenner-KellyII-Medium [29]. Sie ist sehr zeit- und personalaufwendig und wird deswegen für Routinezwecke nicht angewendet.

Mikroskopie. Im mikroskopischen Präparat erscheinen *Borrelien* als schwach anfärbare, gramnegative geschlängelte Stäbchen. Im Blutausstrich ist *Borrelia recurrentis* normalerweise nur während der akuten Infektionsphase zu sehen.

NAT. Die PCR oder abgeleitete Methoden sind für den Nachweis von *Borrelia* die Methode der Wahl. Die PCR kann in allen Geweben, teils nach Anreicherung der 16s DNA, durchgeführt werden, die Sensitivität liegt zwischen 80 und 95 % [35], abhängig von der Primerwahl aus dem Osp-A-Bereich und der *Borrelie*ngruppe bei 50–70 % [36].

Tierversuch. *Borrelien* wachsen in Mäusen, besonders der Wüstenmaus (gerbil), Ratten und Hamstern.

3.2 Blut- und Plasmaspender

3.2.1 Prävalenz und Inzidenz bei Spenderkollektiven

Die Seroprävalenz von Blutspendern in Deutschland und der Schweiz unterscheidet sich nicht von der der lokalen Bevölkerung, sie lag in Hamburg und Würzburg bei 2,7 %, in Solothurn bei 33 % [37, 38, 39]. Neun Empfänger von Blut nach Serokonversion des Spenders hatten bei Nachtestung keine *Borrelia*-Antikörper [38], was auf eine geringe Übertragungseffizienz hinweist. Eine Übertragung von *Borrelia* über Transfusion in Deutschland ist bisher nicht berichtet worden.

Falls eine Bakteriämie besteht, kann *Borrelia* durchaus für den Lagerungszeitraum der Erythrozyten in der Konserve bei 4°C überleben, wie die Untersuchungen von Johnson et al. [40] und von

Tabelle 1

Vektoren für Arbobakterien					
Übertragung durch					
Bakterien	Zecke(n)	Mücke	Laus	Floh	Schmierinfektion
Anaplasma	A. phagocytophila				
Ehrlichia	E. chaffeensis E. ewingii				
Bartonella		B. bacilli-formis (Lutzomyia als Vektor)	B. quintana	B. henselae (Katzenfloh)	B. henselae B. Quintana B. bacilliformis
Borrelia	B. burgdorferi B. afzelii B. garinii		B. recurrentis		
Coxiella	C. burnetii				C. burnetii
Francisella	F. tularensis	F. tularensis			F. tularensis
Rickettsia	R. rickettsii R. conorii R. slovaca R. helvetica		R. prowazeki	R. typhi	
Yersinia			Y. pestis (experimentell)	Y. pestis (Xenopsylla cheopsis, Rattenfloh)	Y. pestis aus offenen Bubonen und bei Pest-Pneumonie (auch Tröpfchen- infektion)

Nadelman et al. [41] zeigen. Allerdings kam eine Studie in einer Endemieregion wie Connecticut zum Risiko der Übertragung von Borrelia durch Bluttransfusion zum Ergebnis, dass praktisch keine Übertragung stattfindet [42].

3.2.2 Definition von Ausschlusskriterien

Nachdem die Infektion mit Borrelia über Zeckenstich erfolgt und entweder lokale oder übliche allgemeine Entzündungszeichen auslöst, werden sich klinisch in Fieber, Müdigkeit, Abgeschlagenheit manifestierende Borreliosen durch die üblichen Ausschlusskriterien für Blutspender erfasst.

Wenn erforderlich, kann nach einem Zeckenstich innerhalb der letzten 6 Wochen gefragt werden; allerdings ist der wahrgenommene Zeckenstich kein zuverlässiges Ausschlusskriterium, da, wie oben erwähnt, die Nymphen nach Stich wieder abfallen, sodass der Stich un bemerkt bleibt.

3.2.3 Spendertesting und Aussagekraft

Blutspender werden bis heute nicht routinemäßig auf Vorhandensein von Borrelia-Antikörper untersucht. Die derzeitige epidemiologische Situation rechtfertigt weiterhin kein allgemeines Spender-Screening auf Borrelia [38].

3.2.3.1 Antikörperbestimmung

Borrelia-Antikörperbestimmung über ELISA ist sehr sensitiv, wenn eine Inkubationszeit von etwa 4–6 Wochen abgelaufen ist. Zur Abklärung falsch positiver Reaktionen wird der Immunoblot durchgeführt (siehe 3.1.4.)

3.2.3.2 Direktnachweis von Borrelia

Bei Verdacht auf Infektion erfolgt der Nachweis am günstigsten aus Plasma nach Anreicherung über Zentrifugation oder mittels Feinnadelbiopsie aus der entzündeten Haut um die Einstichstelle der Zecke. Eine allgemeine Spenderuntersuchung auf Borrelia über z. B. die PCR ist nicht erforderlich.

3.2.4 Spenderbefragung

Eine Befragung wegen einer möglichen Exposition nach Zeckenstich wird teilweise durchgeführt, sie ist in den Wintermo-

naten kaum weiterführend. Andere Zeichen der bakteriellen Infektion, wie z. B. Fieber, werden durch die üblichen Ausschlusskriterien für Blutspender erfasst.

3.2.5 Spenderinformation und -beratung

Eine ausführliche Beratung ist nur erforderlich, wenn ein Zeckenstich innerhalb der jüngsten 1–2 Monate erinnerlich ist. Die Beratung sollte neben der Information über Borrelien andere relevante Arbobakterien und auch Arboviren, wie z. B. FSME (Frühsommer-Meningoenzephalitis-Virus, siehe Übersichtsartikel Arboviren), mit einschließen.

4 Francisella tularensis

4.1 Wissensstand über den Erreger

Der Genus Francisella gehört zur Subklasse Gammaproteobakterien, Ordnung Thiotrichales und bildet hier eine eigene Familie Francisellaceae, die nahe verwandt ist mit der Familie Piscirickettsiaceae und nächste Verwandtschaft mit der Ordnung Legionellales (Coxiella, Rickettsiella) zeigt. Das Bakterium wurde 1910 von McCoy und Chapin aus einem toten Erdhörnchen aus Tulare in Kalifornien isoliert

[43]. Francis beschrieb das Krankheitsbild 10 Jahre später genauer als Hirschfliegenfieber und auch die menschliche Infektion [44]. Francisella ist auf der gesamten nördlichen Hemisphäre verbreitet, besonders in bodennahen Tieren wie Nagern und über 100 anderen Säugern endemisch vorhanden. Das natürliche Reservoir ist bisher nicht identifiziert, es wird jedoch vermutet, dass der Erreger in der Umwelt unter bestimmten Bedingungen und tierischen Organismen über Monate bis Jahre persistiert.

Neben der Übertragung durch den Kontakt mit infizierten Tieren, sind auch Laborinfektionen vorgekommen [45]. Francisella wird über Arthropoden als Vektor, unter ihnen auch Zecken und Mücken, durch den direkten Kontakt mit infizierten Tieren und kontaminierten Umweltmaterialien übertragen [46]. Eine Mensch-zu-Mensch-Übertragung ist unwahrscheinlich.

Innerhalb des Genus Francisella gibt es 2 Spezies philomiragia und tularensis. Letztere teilt sich in 4 Subspezies auf, wovon humanpathogen vorrangig *F. tularensis* ssp. *tularensis* (Vorkommen in Nordamerika) und ssp. *holarctica* (Vorkommen in Europa und der gesamten nördlichen Hemisphäre) sind [47]. Die Krankheitsbilder sind mit der Eintrittspforte des Erregers verbunden und häufig durch Lymphknotenschwellungen und Hautulcera charakterisiert. *F. philomiragia* wurde in Texas in Wasser- und Bodenproben gefunden [48].

Francisella tularensis ssp. *tularensis* gilt als potenzielles bioterroristisches Agens und erfordert bei Anzuchtung S3-Laborbedingungen.

4.1.1 Erregereigenschaften

4.1.1.1 Aufbau

Francisella ist ein relativ kleines, schwach anfärbares gramnegatives, coccoides, aerob wachsendes, weißlich-graue Kolonien bildendes, Katalase-positives Bakterium. Das Bakterium ist unbeweglich, bildet keine Sporen und besitzt eine elektronentransparente lipidreiche Kapsel, die zur Virulenz des Erregers beiträgt.



Abb.2 ◀ Cystein-Herz-Blutagar-Platte mit Kolonien von *F. tularensis* (PD R. Grunow, Robert Koch-Institut, Berlin)

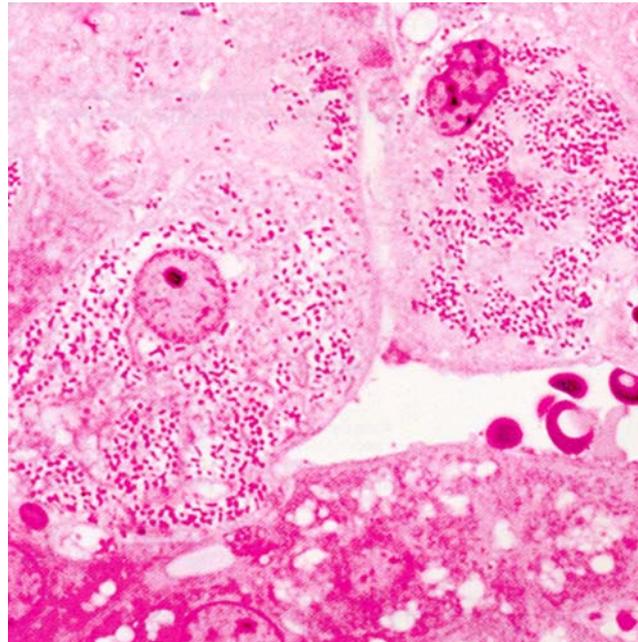


Abb.3 ◀ Intrazelluläres Wachstum von *F. tularensis* (nach ASM News (2003) 11:560 [49]). Der Durchmesser der Zelle entspricht etwa 20 µm, die Länge der Francisellen etwa 1 µm. Typisch für *F. tularensis* ist das intrazelluläre Wachstum, das schließlich zum Zelltod führt und große Mengen der Bakterien freisetzt

4.1.1.2 Vermehrung

Francisella wächst im Labor auf anspruchsvollen Nährböden mit Blut und einem hohen Cysteingehalt, am besten auf Herz-Cystein-Blut-Agar, aber auch auf Schokoladen-Agar und Thayer-Martin-Agar, der für die Anzucht von Gonokokken geeignet ist. Es wächst bei 37°C in feuchter Atmosphäre mit 5–10 % CO₂-Anteil innerhalb von 2–5 Tagen zu etwa 3–5 mm großen, weißlich-grauen, glänzenden Kolonien heran (▣ Abb. 2).

10–50 Organismen bilden 1 HID (human infektiöse Dosis) nach Inokulation

oder Inhalation. Etwa 10⁸ Organismen sind für die Infektion über Nahrung notwendig. Nach der Aufnahme vermehren sich die Bakterien intrazellulär in lymphoiden Geweben, die primären Zielzellen stellen Zellen des retikulohistozytären Systems dar, aber auch Hepatozyten werden infiziert (▣ Abb. 3) [49]. Die Immunabwehr ist vorrangig T-Lymphozyten vermittelt. Antikörper stellen einen Indikator für eine erfolgte Exposition dar. Charakteristisch sind Lymphknotenschwellungen, die im Spätstadium nekrotisieren können, Papel-, Ulcera- und Granulombildung.

Im Wasser kann sich *Francisella* in Amöben vermehren [50]. Befallene Amöben werden nicht abgetötet, *Francisella* verliert jedoch durch die Amöbenpassage nach mehreren Monaten an Virulenz im Maustest.

Unter kühlen und feuchten Bedingungen beträgt die Stabilität der Bakterien Wochen bis Monate. Gegenüber gängigen Desinfektionsmitteln und Hitzebehandlung ist der Erreger sensitiv. Typischerweise können die Bakterien bereits bei 60°C für eine Stunde abgetötet werden.

4.1.2 Infektion und Infektionskrankheit

Die klinische Manifestation hängt wesentlich von der Anzahl der inokulierten Bakterien, deren Virulenz und der Immunantwort des Wirtes ab. Das Krankheitsspektrum reicht von einer asymptomatischen Infektion, über eine schwere Sepsis bis zum Tod. Die Inkubationszeit beträgt im Mittel 3–5 Tage mit einem Bereich von 1–21 Tagen. Die Infektion kann mit plötzlichem Auftreten von Fieber, Schüttelfrost, Kopfschmerzen, Abgeschlagenheit, Husten, Myalgie, Atembeschwerden, Diarrhö verbunden sein. Fieber steigt über 39°C an und bleibt einige Tage bestehen. Die Aktivierung der *MgIA*-regulierten Gene bei Wachstum in Makrophagen ist für die Virulenz und Pathogenität bedeutend [51]. Die Erkrankung ist mit einer adäquaten antibiotischen Therapie in der Regel gut behandelbar. Je nach Erregertyp beträgt die Letalität unbehandelt bis zu 30 % oder mehr [52].

Die ulceroglanduläre Form entwickelt sich nach Inokulation des Erregers über Arthropoden oder direkten Kontakt mit kontaminierten Tieren, Kadavern, Ausscheidungsprodukten oder anderen Umweltmaterialien mit typischerweise Schwellung der regionalen Lymphknoten. Alle Entzündungszeichen begleiten das Hauptulkus, dessen Rand hart wird. Die Nekrose im Lymphknoten kann abszedieren und nach außen bzw. innen durchbrechen, Superinfektion mit weiteren Bakterien ist nicht selten.

Die okuloglanduläre Form tritt relativ selten auf und ist meist durch Schmierinfektionen bedingt. Selten scheinen kontaminierte Stäube oder Aerosole die Ursache zu sein.

Die oropharyngeale Tularämie bildet sich nach oraler Aufnahme von *Francisella* über Nahrung oder Wasser aus. Charakteristisch ist neben den Allgemeinsymptomen eine fast ausschließlich einseitige zervikale Lymphknotenschwellung.

Die respiratorische Tularämie tritt nach Inhalation von infizierten Stäuben und Aerosolen, meist bei Feldarbeiten, auf und stellt die schwerste Verlaufsform der Tularämie und kann sich neben den Allgemeinsymptomen mit dem Bild einer Pneumonie mit Husten, Brustschmerz und erhöhter Atemfrequenz manifestieren. *F. tularensis* kann sich nach Inhalation direkt in den alveolären Epithelzellen vermehren [53]. Eine sekundäre Pneumonie nach hämatogener Streuung des Erregers ist ebenfalls möglich. Bei längerem Bestehen der Pneumonie kann die Granulombildung im Röntgenbild dem Bild der Tuberkulose ähneln.

Der Begriff typhoidale Tularämie wurde früher angewendet, wenn typische äußere Zeichen der Tularämie nicht sichtbar waren. Derzeit sollte diese Bezeichnung nur noch bedingt angewendet werden, wenn die Infektionsroute nicht erkannt werden kann.

Bei einem Drittel der *Francisella* Infizierten treten 2–3 Wochen nach Infektion Hauterytheme auf, die Ausdruck der Bakterienverbreitung und angelaufenen Immunreaktion sind. Einschmelzende, abszedierende Lymphknoten treten auch dann noch auf, wenn die akuten Krankheitszeichen überwunden sind.

4.1.3 Epidemiologie

Francisella tularensis ist auf der gesamten nördlichen Hemisphäre verbreitet. Personen mit einem besonderen Risiko stellen Jäger, Feld- und Forstarbeiter und andere in der Natur exponierte Berufs- und Freizeitgruppen dar. Nager sind das bevorzugte Tierreservoir für *Francisella*, aber auch in anderen Säugetieren und Vögeln kommt *Francisella* vor. Bei der Übertragung auf den Menschen spielen neben dem direkten Kontakt Arthropoden als Vektoren eine wesentliche Rolle. Für europäische Zecken ist eine Prävalenz von 0,1–2 % beschrieben [54], z. B. sind in Tschechien und Österreich etwa 2 % der Zecken in Endemiegebieten mit *Francisella* infiziert [55]. Übertragung erfolgt

durch Zeckenstich der Spezies *Ixodes*, *Dermacentor*, *Amblyomma*, und durch Mücken der Spezies *Aedes*, *Culex* und *Anopheles* [46]. Ein Drittel von 27 Jägern und Treibern einer Hasenjagd erkrankte 2005 zum Teil mit akuten Erscheinungen an *Francisella tularensis* im Landkreis Darmstadt-Dieburg [56].

Auf das Vorkommen von *Francisella* in Süßwasseramöben und die Möglichkeit der Verbreitung durch Wasser ist unter 4.1.1.2. hingewiesen worden.

4.1.4 Nachweismethoden

Antikörper. Etwa 2 Wochen nach Auftreten der klinischen Symptome können IgG-, IgA- und IgM-Antikörper gleichzeitig nachgewiesen werden. Die gebildeten Antikörper persistieren länger als 10 Jahre. Als Schnelltest steht ein Röhrchen- bzw. Objektträger-Agglutinationstest zur Verfügung, dessen Sensitivität nicht 100 % erreicht [57]. Als Screening- und Bestätigungstests werden ELISAs und Westernblot verwendet. Diese Tests sind hoch sensitiv und spezifisch für die Subspecies *holarctica* und *tularensis*, sind derzeit jedoch nicht kommerziell verfügbar und je nach Bedarf auf europäische oder nordamerikanische *Francisella*-Stämme zu adaptieren [58, 59].

Anzucht in Kultur. In Standardbouillon, wie Luria Bertani (LB), wächst *Francisella tularensis* nicht. Auf mit Cystein angereicherten Blutnährböden wächst das Bakterium innerhalb von etwa 48 h zu Kolonien bei 37°C unter aeroben Bedingungen mit 5–10 % CO₂ aus. Im Fall von klinischen Proben ist am ehesten die Anzucht aus Abstrichen von Hautulcera oder Blut möglich. Die gezielte Anzucht erfordert für Labors die Sicherheitsstufe S₃ (die Subspecies *holarctica* ist in Deutschland allerdings als Erreger Risikogruppe 2 eingestuft). Begleitflora unterdrückt das Wachstum von *Francisellen*, geeignete Antibiotikacocktails zur Abschirmung der Kultur, insbesondere aus Umweltproben, befinden sich in der Entwicklung. Proben aus der Umwelt sollten über 0,45 µm oder 0,22 µm Filter konzentriert werden und das filtrierte Material kultiviert werden.

Tierversuch. Eine weitere Möglichkeit der Anzucht besteht in der Inokulation

Tabelle 2

Für Europa bedeutende Rickettsien		
Rickettsien	Vektor	Krankheit
R. akari	Milbe	Rickettsien-Pocken
R. conorii	Zecke	Boutonneuse-Fieber, Zeckenbissfieber
R. helvetica	Zecke	Fleckfieber mit langsam abheilenden Papeln
R. slovaca	Zecke	Fleckfieber mit langsam abheilenden Papeln
R. felis	Katzenfloh	Katzenfloh-Fleckfieber (Ausnahme Mensch)
R. prowazekii	Laus	Epidemisches Fleckfieber, Brill-Zinser-Krankheit, die Jahre nach Infektion auftritt, Kreuzreaktion mit Proteus OX19 (Weil-Felix-Reaktion). Die Laus stirbt an der R. Infektion, der Lauskot ist infektiös
R. sibirica	Laus, Zecke	Fleckfieber mit langsam abheilenden Papeln
R. typhi	Floh	Murines Fleckfieber
R. rickettsii	Zecke	Rocky-Mountains-spotted-Fieber (nur Nordamerika – Reiseanamnese)

von Untersuchungsmaterial in die Maus, in der *F. tularensis* innerhalb einer Woche anwächst.

NAT. Mehrere kommerzielle PCR-Tests für den Nachweis von *F. tularensis* weisen die genomische Region des Francisella outer membrane protein fopA [60] oder das 17-kDa Lipoprotein nach [61]. Mit der RD1-PCR gelingt in den meisten Fällen die Differenzierung der Subspezies [62]. Die PCR ist empfindlicher als die Anzucht, eine TaqMan-Methode zum Nachweis des Bakteriums in Säugern und Vektoren ist beschrieben [63]. Eine Reihe weiterer molekularbiologischer Verfahren zur Typisierung der Francisellen wurde beschrieben.

4.2 Blut- und Plasmaspender

4.2.1 Prävalenz und Inzidenz bei Spenderkollektiven

In Deutschland ist bis heute keine Übertragung von *F. tularensis* über Blut berichtet worden. Aus Saint Louis, USA, liegt ein Bericht über die Übertragung von *F. tularensis* über ein Nierentransplantat vor, bei der die Infektion im Empfänger nach Diagnostik im Spender erfolgreich mit Antibiotika behandelt wurde [64].

4.2.2 Definition von Ausschlusskriterien

Es gelten die allgemeinen Ausschlusskriterien für Spender mit Zeichen einer Infektion. Hauptursache für den Erwerb der Francisella-Infektion in Deutschland ist Verletzung bei der Ausweidung infizierter

Hasen oder der Verzehr kontaminierten Hasenfleisches [56].

4.2.3 Spendertestung und Aussagekraft

Aufgrund der epidemiologischen Situation mit sehr geringen Infektionszahlen und keiner bekannt gewordenen Übertragung über Blut in Deutschland ist eine Testung derzeit nicht erforderlich.

5 Rickettsia

5.1 Wissensstand über den Erreger

Rickettsien sind kleine gramnegative Bakterien mit obligatem intrazellulärem Wachstum im Säuger, die zu den alpha-Proteobakterien gehören. Aus der Familie der Rickettsien sind in jüngster Zeit aufgrund genetischer Analysen die Spezies Ehrlichia, Anaplasma und Orientia (*O. tsutsugamushi*) abgetrennt worden. Teils werden die verschiedenen Rickettsien in die spotted fever group (SFG – *R. africa*, *R. conorii*, *R. sibirica*, *R. slovaca*, *R. rickettsii*, *R. honei*, *R. japonica*) und die Typhus group (TG – *R. typhi* und *R. prowazekii*) eingeteilt, bisher ist diese Unterteilung nicht international anerkannt (■ Tabelle 2).

5.1.1 Erregerereigenschaften

5.1.1.1 Aufbau

Rickettsien sind 0,4 bis etwa 1,5 µm große, schwach anfärbbare gramnegative Stäbchen. Über die Gramfärbung sind Rickettsien sehr schwierig zu sehen, sodass meist

die Färbung mit Acridinorange bevorzugt wird. Das Genom ist mit 1,1–1,6 Mbp sehr klein. Die Zellwand enthält Lipopolysaccharide, Peptidoglycane und das Hauptoberflächenprotein (outer membrane protein P, *Omp P*) mit etwa 135 kDa, ein kleines Oberflächenprotein (*Omp A*) und ein 17 kDa Lipoprotein [65]. Die Proteine *Omp A* und *Omp B* werden nur zeitweise während der Reifung der Bakterien auf der Oberfläche exprimiert. Die Lipopolysaccharide der verschiedenen Rickettsien führen zu immunologischer Kreuzreaktion. Rickettsien tragen auf der Oberfläche eine Kohlenhydratschicht. Rickettsien können sich in der Säugerzelle frei bewegen. Im Vektor werden Rickettsien transovariell übertragen, sodass bei üppiger Besiedelung und Vermehrung eine horizontale Übertragung auf den befallenen Säuger ebenfalls stattfinden kann [66].

5.1.1.2 Vermehrung

Rickettsia vermehrt sich in Zellen des Vektors und in sehr vielen Zellen des infizierten Säugers. Im Labor kann Rickettsia auf Vero-, HEL- und L-929-Zellen angezüchtet und vermehrt werden.

5.1.2 Infektion und Infektionskrankheit

Bei Inokulation in die Haut werden Rickettsien über die Lymphbahn und den Blutweg weiter verbreitet. Über die Proteine *Omp A* und *Omp B* und Phospholipase heften sich Rickettsien an die Oberfläche von Endothelzellen und anderen Zellen und werden phagozytiert, entkommen der Lyse im Phagosom und

wandern in den Zellkern. Dort vermehren sie sich durch Längsspaltung, werden am Actinskelett zur Zelloberfläche geschleust und freigesetzt. Zell-zu-Zell-Übertragung, z. B. in Haut und Lunge, ist möglich. Die befallene Zelle stirbt nach Tagen ab, sodass bei Endothelzellsbefall Blutungsneigung resultiert. Das Überwinden der Infektion ist an die schnelle Bereitstellung von zytotoxischen CD8-T-Lymphozyten des Wirtes gebunden.

Manifestationsorte der R.-Infektion sind neben der Haut und dem Gefäßsystem eine interstitielle Pneumonie, interstitielle Myokarditis, perivaskuläre Einblutungen im Gehirn, Gastrointestinaltrakt und Niere.

Die Inkubationszeit beträgt 2–14 Tage, im Mittel 7 Tage. Die Temperatur steigt auf über 39°C.

Bei R. conorii-Infektion ist der Verlauf meist mild. Dieses Bakterium zeigt einen fleckfieberähnlichen Krankheitsverlauf. Vorkommen ist Südosteuropa, Afrika, Mittlerer Osten bis Zentralasien. Die Inkubationszeit beträgt 5–7 Tage. Klinisch auffälligstes Zeichen sind die geschwollenen Lymphknoten mit der Tendenz zu oberflächlicher Einblutung in die Haut an der Stichstelle. Die Verbreitung im Körper erfolgt hauptsächlich über die Blutbahn, die Endothelzellen sind massiv infiziert. Todesfälle kommen vor.

Für R. akari beträgt die Inkubationszeit 10–17 Tage. Das Bakterium kommt in Nordamerika und Zentraleuropa vor. Bei R. akari bildet sich pro Stich eine singuläre Papel aus, aus der sich ein Bläschen bildet, welches zentral einfällt, einblutet und verschorft. Regionale Lymphknoten sind geschwollen. Das Krankheitsbild wird als Rickettsien-Pocken beschrieben.

R. prowazekii ist Erreger des weltweit verbreiteten endemischen Fleckfiebers (Flecktyphus) mit fleckigem Hautauschlag und 8- bis 10-tägigem Fieber-Continua mit bis zu 40°C. Die Inkubationszeit beträgt 7–14 Tage. Typisch sind anfangs bohrende Kopf- und Gliederschmerzen, ab dem 4.–7. Tag das Haut-Exanthem. Je nach Ernährungslage der Infizierten besteht eine hohe Todesrate (Napoleonische Armee über 100.000 Tote). Häufig kommt es nicht zur kompletten Heilung, dann sind Rezidive häufig, sog. Brill-Zinsser-Krankheit (Erstbeschreibung des rezidi-

vierenden Krankheitsbildes durch Nathan Brill 1898 in New York [67], Herstellen des epidemiologischen Zusammenhangs durch Hans Zinsser 1933 [68]).

5.1.3 Epidemiologie

R. akari und R. prowazekii sind weltweit verbreitet. Die Übertragung hängt von der Verbreitung der Vektoren und den hygienischen Verhältnissen ab. Durch die transovarielle Übertragung bleiben die befallenen Vektorregionen jahrzehntelang infektiös, da auch Nutztiere des Menschen befallen sind [69]. Wildtierpopulationen sind nur teilweise befallen.

5.1.4 Nachweismethoden

Anzucht in Kultur. Bei anamnestischen Hinweisen auf Exposition und klinischen Symptomen sollte zum Nachweis der Rickettsien möglichst früh in der Infektionsphase Heparinblut abgenommen und auf Kulturzellen gebracht werden. Etwa 0,5 ml Heparinblut oder Extrakte von Gewebeproben werden auf Vero-, L929-, HEL- oder MRC5-Zellen gebracht, bevor mit der antibiotischen Doxycyclin-Therapie beim Patienten begonnen wird. Erstes Wachstum der Bakterien kann nach 2–3 Tagen gesehen werden. Der Nachweis der Rickettsien erfolgt über Immunfluoreszenz oder Immunperoxidase-Färbung. Für die Anzucht von Rickettsia sind S3-Laborbedingungen erforderlich.

Antikörper. Standard ist immer noch die indirekte Immunfluoreszenz mit kommerziell erhältlichen, Rickettsien-infizierten Zellen. IgM- und IgG-Nachweis erfolgen getrennt. Weiterhin können Antikörper über Latex-Agglutination (R. rickettsii) und ELISA nachgewiesen werden. ELISA für die verschiedenen Rickettsien, einschließlich Orienta tsutsugamushi werden kommerziell angeboten.

Bei der Beurteilung der Ergebnisse müssen die Kreuzreaktionen, wie Weil-Felix-Reaktion von Proteus vulgaris und mirabilis, mit berücksichtigt werden. Kreuzreaktionen zwischen Rickettsia und Ehrlichia kommen vor. Für den Nachweis einer akuten Infektion ist der Titeranstieg entscheidend.

NAT. Die PCR ist die zuverlässigste Methode, um Rickettsien nachzuweisen.

Verlässliche Ergebnisse werden erhalten, wenn das Gen des 17-kDa-Lipoproteins amplifiziert wird [70]. Ergebnisse können in Speziallabors innerhalb von 6 Stunden erhalten werden [71].

5.2 Blut- und Plasmaspender

5.2.1 Prävalenz und Inzidenz bei Spenderkollektiven

Eine routinemäßige Testung von Spendern auf Antikörper oder das Bakterium ist aufgrund der epidemiologischen Situation derzeit nicht angebracht. Antikörper gegen Rickettsia in Blutspendern sind in Südfrankreich, Prävalenz von 5–20% [72] und Malaysia, Prävalenz von 15% [73], bestimmt worden. Die Rickettsia-Antikörperprävalenz ist von der Region abhängig, so wurden in Nordgriechenland für R. conorii 8% und R. typhi 2% [74], in Zentralspanien für R. typhi 7% [75] und Westspanien für R. conorii 74% [76] beschrieben.

Da sich Rickettsien in Endothelzellen vermehren, können sie über Bluttransfusion in der akuten, präklinischen und auch rezidivierenden Phase übertragen werden. Ein Fall von Übertragung von R. rickettsiae durch Bluttransfusion, den der Empfänger bei antibiotischer Therapie überlebte, der Spender nicht, ist 1978 beschrieben worden [77].

5.2.2 Definition von Ausschlusskriterien

Anamnestische Angaben zu Zeckenstich, Lausstich und Lausbefall und Aufenthalt in endemischen Regionen sind valide Ausschlusskriterien, ebenso die typischen abheilenden Papeln und Kratzspuren an der Haut.

5.2.3 Spendertestung und Aussagekraft

Eine Testung der Spender auf Rickettsia-Antikörper oder Rickettsia-Nukleinsäure findet in Deutschland nicht statt, ist aufgrund der derzeitigen epidemiologischen Lage auch nicht erforderlich.

5.2.4 Spenderbefragung

Bei Verdacht können zielgerichtete Fragen nach Lausbefall und Zeckenstich zur Verhinderung der Übertragung von Rickettsia über eine Blutspende beitragen.

5.2.5 Spenderinformation und -beratung

Bei entsprechenden anamnestischen Angaben ist eine Beratung indiziert, die auch von Ärzten mit Fachwissen in einem externen Zentrum vorgenommen werden kann.

6 Yersinia pestis

6.1 Wissensstand über den Erreger

Yersinien sind Mitglieder der Familie der Enterobacteriaceae. Als psychrophile Bakterien sind Yersinien in der Lage, sich bei 4°C zu vermehren. Diese Fähigkeit spielt eine wichtige Rolle in der Transfusionsmedizin. Sie kann insbesondere bei Yersinia enterocolitica zur Vermehrung bei der Lagerung in Blutkonserven führen [78]. Yersinien leben im Erdboden, ebenso in Tieren wie Nagern, Schweinen, Vögeln [79]. Die Pest, ausgelöst durch Yersinia pestis, trat in der modernen Geschichte in 3 großen Pandemien auf: die justinianische Pest (531–580 n. Chr.), die Pest des 14. Jahrhunderts oder auch der „Schwarze Tod“ genannt und die Hongkongpest Ende des 19. Jahrhunderts, denen mehr als 100 Millionen Menschen zum Opfer fielen [80].

6.1.1 Erregerigenschaften

6.1.1.1 Aufbau

Yersinia pestis ist ein gramnegatives, unbewegliches Stäbchen mit bipolarer Anfärbung (Aussehen der Sicherheitsnadel,  **Abb. 4**). Es werden 3 Biovare unterschieden: Antiqua, Mediaevalis und Orientalis. Die Virulenz von Y. pestis ist an die Anwesenheit von verschiedenen Plasmiden gebunden. Das 70 kb Virulenzplasmid codiert für die Expression des Typ-III-Sekretionssystems, welches durch kontaktabhängige Injektion von Effektorproteinen in Makrophagen diese lysiert und für das V-Antigen. Das 110-kb-Plasmid codiert für den Faktor der antiphagocytischen Fraktion (Fra 1) und das 9,5 kb Plasmid für die temperaturabhängige Protease (Plasminogen activator protein – Pla Protease) [80, 81].



Abb. 4 ◀ **Yersinia pestis**, in der transmissionselektronenmikroskopischen Aufnahme. Die Länge des Bakteriums entspricht etwa 1–2 µm

6.1.1.2 Vermehrung

Yersinia pestis wächst schneller bei 28°C als bei 37°C und sollte mindestens 48 h kultiviert werden. Virulente Isolate wachsen bei 37°C als kleinere Kolonien im Vergleich mit avirulenten. Abhängig von der Wachstumstemperatur wird die Expression der Gene auf den Plasmiden gesteuert und somit die Virulenz beeinflusst.

6.1.1.3 Inaktivierbarkeit und Stabilität unter Umweltbedingungen

Allgemeines siehe unter 1.1.3. Ähnlich wie andere Arbobakterien, z. B. Coxiella burnetii und Francisella, ist Yersinia pestis sehr widerstandsfähig in der Umwelt. Das Bakterium wächst ab einer Temperatur von 0°C und vermehrt sich auch in geronnenem Blut. Jedoch ist der Erreger empfindlich gegenüber Sonnenlicht und wird leicht durch hohe Temperaturen und Desinfektionsmittel abgetötet.

6.1.2 Infektion und Infektionskrankheit

Die Pathogenität wird im Wesentlichen von der Art der Plasmidausstattung beeinflusst; dadurch erklärt sich, dass in geographisch begrenzten Regionen un-

terschiedlich pathogene Yersinia-pestis-Stämme unregelmäßig auftreten. Die Abwehrreaktion im Menschen beruht auf Antikörpern und auf der schnellen Bildung von zytotoxischen T-Lymphozyten, die gegen die Virulenzfaktoren, die von dem 70-kb-Plasmid kodiert werden, gerichtet sind [82], ferner gegen Caf1, welches von dem 110-kb-Plasmid kodiert wird, einem als Chaperon wirkenden Protein [83].

Rattenfloh. Bei Vorhandensein des 9,5-kb-Plasmids wird das aufgesaugte Blut im Floh von Y. pestis zur Gerinnung gebracht, Yersinia vermehrt sich im Koagulum. Dies führt zum Sistieren der Darmmotilität, sodass beim nächsten Blutsaugen regurgitiert wird und Tausende von Yersinien in die Haut der Ratte bzw. des Menschen injiziert werden.

Mensch. Bubonenpest. Sie ist die häufigste Form der Manifestation. Mit einer Inkubationszeit von 2–7 Tagen treten plötzlich Fieber (38,5–40°C) und Schüttelfrost auf. Innerhalb von Stunden treten schmerzhaft geschwollene Lymphknoten auf, die zum regionalen Abflussgebiet

des Einstiches des Rattenfloh gehören. Die Größe kann bis zu 10 cm betragen, die betroffenen Gliedmaßen – da der Stich meist an den Extremitäten erfolgt – werden geschont. Eitrige Ulceration des Lymphknotens kann auftreten. Benachbart vom Lymphknoten können Bläschen und Pusteln auftreten als Zeichen bakterieller Metastasen. Eine Bakteriämie ist in 80 % der Beulenpestfälle nachweisbar.

Septische Pest. Wenn die Bakterien nicht im Lymphknoten zurückgehalten werden können, tritt eine Sepsis auf. Die Patienten werden zügig moribund. Primäre Sepsis ohne die Phase der Lymphknotenschwellung oder der Pneumonie kommt vor. Ohne Therapie führt die Sepsis zum schnellen Tod, dessen Vorstadium intravasale Gerinnung ist, was zur peripheren Minderdurchblutung führt, die Haut bläulich aussehen lässt und diesem Krankheitsbild den Namen Schwarzer Tod gegeben hat.

Lungenpest. Durch Inhalation des Erregers oder über hämatogene Ausbreitung von *Y. pestis* wird die Lunge erreicht. Symptome sind Tachypnoe, Dyspnoe, Husten und blutiger Auswurf. Das Sputum ist purulent. *Y. pestis* kann durch die große Anzahl im Sekret und Auswurf direkt auf umgebende Personen über Schmier- oder durch Tröpfcheninfektion übertragen werden. Eine Mensch-zu-Mensch-Übertragung ist dennoch selten. Unbehandelt verläuft die Lungenpest tödlich.

Therapie von *Y. pestis*: Mittel der Wahl sind Streptomycin oder Gentamicin, weiterhin wirksam sind Doxycyclin und Ciprofloxacin, sowie Chloramphenicol bei Pestmeningitis. Resistente *Y.-pestis*-Stämme in Endemiegebieten sind sehr selten.

6.1.3 Epidemiologie

Die Pest ist eine typische, über den Vektorstich übertragene Zoonose. *Y. pestis* ist gegenwärtig in den Naturherden in vielen Ländern Afrikas, Amerikas und Asiens enzootisch verbreitet. Ausbrüche mit 100–1000 Betroffenen kommen jährlich vor. Endemische Herde für *Y. pestis* finden sich bis heute im südlichen Afrika einschließlich Madagaskar, von Südrussland bis nach Indien, in der Mongolei, China

und Indonesien und im Westen Nordamerikas und im mittleren Südamerika.

Wesentliche Wirte sind Ratten (*Rattus rattus*, *Rattus norvegicus*), wesentlichster Überträger ist der Rattenfloh (*Xenopsylla cheopis*). Weitere Tierwirte sind Erdhörnchen, Kaninchen, Feldmäuse und selten Dromedare. Andere epidemiologisch relevante Vektoren neben dem Floh sind nicht bekannt.

6.1.4 Nachweismethoden

Bei Verdacht auf Infektion mit *Y. pestis* muss die bakteriologische Diagnostik in einem Labor der Sicherheitsstufe 3 erfolgen.

Antikörper. Antikörper sind 1–2 Wochen nach Auftreten der Symptome nachweisbar. Bei ca. 5 % der Infizierten werden keine Antikörper gebildet. ELISA für IgM und IgG sind entwickelt worden.

Anzucht über Kultur. *Y. pestis* wächst auf den meisten Kulturmedien, wie oben erwähnt, besser bei 28°C als bei 37°C. Geeignete Nährböden sind McConkey-, Blut- und modifizierter CIN- (Cefsulodin Irganon Novobiocin-)Agar unter aeroben Bedingungen, je nach Temperatur sind die kleinen durchscheinenden Kolonien nach 24–48 h sichtbar. Die Differenzierung erfolgt über die biochemisch nachgewiesenen Enzymleistungen und fehlende Beweglichkeit von *Y. pestis* sowie molekularbiologische und immunologische Methoden.

NAT. Mehrere Methoden zum Nachweis über die PCR sind publiziert worden, vor allem unter dem Aspekt, dass *Y. pestis* als bioterroristische Waffe eingesetzt werden könnte. Vorteil der PCR gegenüber der langwierigen biochemischen Charakterisierung ist, dass der Nachweis direkt von dem Koloniematerial oder sogar direkt aus der Probe erfolgen kann und innerhalb von ca. 2–3 h eine Aussage über das Vorhandensein von *Y. pestis* getroffen werden kann. Mehrere Real-time-PCR-assays sind beschrieben: Chase et al. [84] nutzt als Nachweis den chromosomalen Marker *yp48* zur Abgrenzung von *Y. pestis* gegenüber anderen *Yersinien*. Andere Tests basieren auf dem Nachweis der *Y.-pestis*-spezifischen Plasmide [85, 86].

Nach Infektionsschutzgesetz § 6 ist der Nachweis, klinische Verdacht, Erkrankung, Tod durch *Yersinia pestis* meldepflichtig.

6.2 Blut- und Plasmaspender

6.2.1 Prävalenz und Inzidenz bei Spenderkollektiven

Da *Yersinia pestis* nur endemisch und außerhalb von Deutschland vorkommt, sind für Deutschland keine Zahlen erhoben. Der mit *Yersinia pestis* infizierte Patient zeigt Zeichen der akuten Entzündung und fällt somit unter den allgemeinen Spenderausschluss.

6.2.2 Definition von Ausschlusskriterien

Es gelten die allgemeinen Kriterien für Spender mit Zeichen einer Infektion. Lymphknotenschwellung und febrile Zeichen sind Anfangssymptome der Infektion. Nur für einen Teil der Rückkehrer aus Endemiegebieten gilt die Tropensperre, anamnestiche Fragen können einen Hinweis auf Infektion abklären.

6.2.3 Spendertestung und Aussagekraft

Aufgrund der epidemiologischen Situation sind keine Infektionen, die auf eine Blutspende zurückzuführen sind, in den vergangenen Jahrzehnten bekannt geworden. Somit ist eine Testung auf *Yersinia pestis* derzeit nicht erforderlich.

7 Gültig für alle Arbobakterien

7.1.1.3 Inaktivierbarkeit und Stabilität unter Umweltbedingungen

Arbobakterien können unter günstigen Bedingungen monatelang im Boden oder im Wasser in Süßwasserarmöben vermehrungsfähig bleiben und zeigen somit eine hohe Umweltresistenz. In Analogie zu anderen Nichtsporenbildnern sind Hitze- einwirkung bei 65–70°C für 10 min und chemische Behandlung mit 1 % Phenol, 5 % Wasserstoffperoxid, 5 % Chloroform, 0,5 % Hypochlorit, und 5 % Formaldehyd für 10–30 min als effektiv für eine Inaktivierung anzusehen. Desinfektion mit 70 % Ethanol für 1 min inaktiviert Arbobakterien.

7.3 Empfänger

7.3.1 Prävalenz und Inzidenz von Blut-assoziierten Infektionen und Infektionskrankheiten bei Empfängerkollektiven

Es liegen wenige Daten zur Prävalenz und Inzidenz bei Empfängern in Deutschland vor. Regional unterschiedliche Immunität besteht vor allem für Infektion mit *Borrelia*, die abhängig ist von der Zeckendichte, der Zeckendurchseuchung mit *Borrelia* und dem Freizeitverhalten und Beruf des Empfängers. Für *Anaplasma*, *Ehrlichia*, *Bartonella*, *Francisella* und *Rickettsia* liegt die Antikörperprävalenz im niedrigen Prozentbereich. Eine Exposition gegenüber *Yersinia pestis* ist für in Deutschland Lebende nicht anzunehmen.

Folgende Antikörper-Prävalenzen werden nach einer Studie in Frankreich von Raoult angegeben [1]:

Bartonella: 0,1–0,001 %,

Borrelia: 1–0,01 %,

Francisella: 0,1–0,001 %,

Rickettsia prowazekii: bis zu 35 % Durchseuchung in Obdachlosen,

Rickettsia typhi: 0,001 %,

Ehrlichia: 0,01 % in den USA [10].

7.3.2 Abwehrlage

Die Abwehrlage ist abhängig von allgemeinem Status des Infizierten, vorhandener Immunität, Immunreaktivität, Lebensalter und exogenen Faktoren. Der wesentliche Faktor für das Auslösen eines chronischen Verlaufs der Infektion durch Arbobakterien resultiert aus dem primär intrazellulären Wachstum der Arbobakterien und der kontinuierlichen Änderung des antigenen Oberflächenprofils. Die Infektiosität von Blut kann durch Leukozytendepletion nicht vollständig aus dem Blut entfernt werden, da die Bakterien auch extrazellulär vorhanden sind.

Geringe Mengen an freien Bakterien werden über unspezifische Abwehrmechanismen wie Komplement-Lyse, Opsonisierung und LPS (Lipopolysaccharid) gerichtete Phagozytose und weitere Mechanismen der angeborenen Immunabwehr entfernt. Da die Abwehrreaktion mit zunehmendem Lebensalter abnimmt muss nach Übertragung von Arbobakterien bei den über 60-Jährigen mit chronischem Verlauf und/oder Rezidiv der

Infektion gerechnet werden (siehe Brill-Zinsser-Krankheit unter *Rickettsia prowazekii*). Auch die möglichen Komplikationen wie Abszessbildung, Endokarditis, Myokarditis, Enzephalitis und immunreaktive Arthritis kommen bei alten Personen gehäuft vor.

Nach Transfusion einer bakteriell kontaminierten Konserve sind frühestens innerhalb von 2–3 Wochen erste Antikörper als messbare Immunantwort und der übertragene Erreger über die NAT zumindest in Speziallabors nachweisbar (siehe 6.1.4.). Fulminante und zügig tödliche Verläufe sind bei Immunschwäche, besonders ausgelöst durch HIV, bei *Bartonella*-, *Francisella*- und *Rickettsia*-Infektionen beschrieben worden [1]. Bei Patienten ohne Immunschwäche sind die primären Leitsymptome der Arbobakterienübertragung hohes, teils rezidivierendes Fieber besonders induziert über das freigesetzte Lipopolysaccharid (Endotoxin). Fieber kann bei Immunschwäche fehlen, ebenso die typische Lymphknotenschwellung [87].

Das weitere Schicksal des infizierten Empfängers wird im Wesentlichen von der zügig eingeleiteten antibiotischen Therapie bestimmt, wie das Beispiel der Übertragung von *Rickettsia rickettsii* durch Bluttransfusion zeigt [77].

Impfung. Nur gegen *Borrelia burgdorferi* ist ein Impfstoff entwickelt und an ca. 450.000 Probanden in den USA verimpft worden [88]. Dieser Impfstoff ist insbesondere wegen des Auftretens von ungeklärter Arthritis, die in fraglich kausalem Zusammenhang mit der Impfung stand, wieder vom Markt genommen worden. Gegen Infektion mit den weiteren Arbobakterien steht bisher kein Impfstoff für den Menschen zur Verfügung. Auch bei Tieren ist die Impfstoffentwicklung schwierig. So hat der Impfstoff gegen *Afipia* (*Bartonella*) *felis* bei Katzen und der gegen *Coxiella burnetii* bei Schafen keine allgemeine Anwendung gefunden.

Impfstoffe gegen *Rickettsia rickettsii* wurden u. a. aus militärischem Interesse vor und im 2. Weltkrieg in Deutschland entwickelt und auch getestet, konnten aber wegen mangelnder Schutzwirkung und nicht zu vernachlässigender Nebenwirkungen nicht zur Marktreife gelangen

[1], sodass heute kein Impfstoff zur Verfügung steht. Proteine, die die Pathogenität bei Infektion mit *Francisella tularensis* beeinflussen, sind in ersten Impfstoffversuchen erfolgreich gewesen [89]. Ein Lebendimpfstoff mit einem in den Purinstoffwechsel eingreifenden, deletierten Protein von *Francisella tularensis* erzeugt in Mäusen eine Immunität, die sie gegen eine tödliche Dosis des Wildbakteriums schützt [90]. Eine Teilimmunität gegen *Yersinia pestis* mit einem Impfstoff, bestehend aus dem Cafl-Protein, lässt sich in Mäusen erzeugen [83].

7.3.3 Schweregrad und Verlauf der Erkrankung

Etwa zwei Drittel der Infektionen durch Arbobakterien verlaufen in Immungesunden asymptomatisch und selbstlimitierend (siehe oben). Bei klinischer Manifestation ist, wie das Beispiel *Rickettsia rickettsii* zeigt, bei frühzeitiger Therapie (4. Tag) ein milder Krankheitsverlauf und Überleben des Empfängers möglich, während der Spender ohne Therapie verstorben ist [77]. Chronische Arbobakteriuminfektionen äußern sich mit den üblichen Zeichen einer durch bakterielle Toxine ausgelösten Entzündung wie unregelmäßige Fieberschübe, Nachtschweiß, Abgeschlagenheit, Müdigkeit, Lymphadenopathie, Arthritis der kleinen bzw. großen Gelenke bis hin zur Perivaskulitis, Endokarditis, Myokarditis und Enzephalitis. Anamnestisch sind Zeckenstiche bzw. Laus- und Flohstiche nicht immer zu eruieren. Da die Therapie effektiv und ohne große Nebenwirkungen ist, sollte bei Verdacht auf Infektion durch Arbobakterium eine zügige antibiotische Therapie auch ohne spezifischen Erregernachweis eingesetzt werden; die schnelle Therapie beeinflusst das Überleben besonders bei Infektion mit *Yersinia pestis*.

7.3.4 Therapie und Prophylaxe

7.3.4.1 Therapie

Mittel der Wahl bei unbekannter Arbobakteriuminfektion ist Doxycyclin, weiterhin sehr wirksam sind Chloramphenicol, Ampicillin und Cephalosporine. In der Regel sind Chinolone in hoher Dosierung (750 mg 2-mal täglich für 5–7 Tage) wirksam, bei *Rickettsien* wirken Chinolone

nur teilweise. Für Yersinien ist die Kombination von Doxycyclin plus Gentamicin derzeit wohl am wirksamsten.

Da die meisten Erreger, Ausnahme *Yersinia pestis*, intrazellulär wachsen, sollte die Therapie für 2–3 Wochen gegeben werden. Eine längere Gabe empfiehlt sich auch bei Beteiligung des Nervensystems. Nach wiederholter Infektion, wie z. B. mit Borrelien, bildet sich eine Teilimmunität aus, sodass die Borrelien bei Reinfektion über das Immunsystem inaktiviert bzw. eliminiert werden können, ohne dass klinische Symptome auftreten.

7.3.4.2 Prophylaxe

Entsprechend dem Hauptübertragungsweg ist die Exposition gegenüber Zecken und den anderen unter 1.1. wiedergegebenen Vektoren zu vermeiden und dadurch die Infektion zu verhindern. Eine Möglichkeit der Übertragung durch direkten Kontakt besteht bei *Bartonella*, *Coxiella*, *Francisella* und *Yersinia*, bei diesen Bakterien sind auch Laborkontaminationen vorgekommen.

7.3.5 Übertragbarkeit

Arbobakterien sind grundsätzlich über einen Vektor übertragbar – Ausnahme siehe 7.3.4.2. Alle Arbobakterien befallen zumindest zeitweise Endothelzellen, Makrophagen und neutrophile Granulozyten und können eine temporäre Bakteriämie verursachen. Besonders im anfänglichen akuten Stadium der Infektion sind sie über Blut bzw. Erythrozytenkonzentrate und Thrombozytenkonzentrate übertragbar. Infektionen durch Arbobakterien sind jedoch bisher in Deutschland nicht gemeldet worden.

7.3.6 Häufigkeit der Applikation sowie Art und Menge der Blutprodukte

Bisher ist eine Übertragung von Arbobakterien über Blut in Deutschland nicht bekannt geworden, sie wäre im akuten und im chronischen Stadium der Infektion möglich. Da die Erkrankung zu Entzündungszeichen führt und nach den allgemeinen Richtlinien den Spenderausschluss nach sich zieht, ist auch nicht mit einer großen Zahl nicht diagnostizierter und unregistrierter Übertragungen zu rechnen.

Die Übertragung von Arbobakterium über gefrorenes Frischplasma ist theoretisch möglich. Eine Übertragbarkeit durch Plasmaderivate ist aufgrund des Herstellungsprozesses ausgeschlossen, da die Bakterien abgereichert und vollständig inaktiviert werden. Bei Plasmakomponenten führt sowohl die Inaktivierung durch Hitze als auch die Behandlung mit Detergenz zum Infektionsverlust von Arbobakterien.

7.4 Blutprodukte

7.4.1 Belastung des Ausgangsmaterials und Testmethoden

Die Belastung von Blut oder Plasma mit Arbobakterien ist unbekannt, sie ist jedoch in Deutschland aus infektionsepidemiologischen Aspekten als äußerst gering anzusehen. Für die nur über Zecken übertragbaren Bakterien sollte, wenn überhaupt, eine saisonale Häufung vorkommen, die bisher nicht beobachtet wurde.

Da alle Arbobakterien auch intrazellulär wachsen und extrazellulär vorkommen, sind sie aus Blut oder zellhaltigen Blutkomponenten nicht zu entfernen.

7.4.2 Möglichkeiten zur Abtrennung und Inaktivierung von Infektionserregern

7.4.2.1 Abtrennung

Aus Blut oder zellhaltigen Blutkomponenten sind Arbobakterien nicht zu entfernen. Eine Leukozytendepletion kann zur Abreicherung führen, z. B. bei *Ehrlichia*, *Francisella* oder *Rickettsia*, jedoch keine vollständige Entfernung der Bakterien bewirken.

Aus Plasma können Bakterien grundsätzlich durch hochtourige Zentrifugation oder durch Filtration über 0,22 µm Filter entfernt werden, beide Möglichkeiten sind für gefrorenes Frischplasma nicht praktikabel. Kleine Bakterien wie *Coxiella*, *Rickettsia* und weitere Arbobakterien, nicht jedoch *Borrelia* und *Yersinia*, können auch Filter mit dieser Porengröße penetrieren [2].

7.4.2.2 Inaktivierung

Arbobakterien sind über Hitzeeinwirkung > 65°C oder durch Pasteurisierung z. B. 60°C für 10 Stunden zu inaktivieren. Bei

den gramnegativen Bakterien wird durch die Hitzeeinwirkung Lipopolysaccharid aus der Zellwand freigesetzt, welches intravenös verabreicht zur Endotoxin-induzierten febrilen Reaktion bis hin zum Endotoxinschock führen kann.

In Thrombozytenkonzentraten sind Arbobakterien durch Behandlung mit Psoralen oder ähnlichen Substanzen inaktivierbar.

7.4.3 Praktikabilität und Validierbarkeit der Verfahren zur Elimination/Inaktivierung von Infektionserregern

Arbobakterien können teilweise in Zellkultur zu Mengen vermehrt werden, die ein Speiken von Blut bzw. Plasma erlauben. Für *Francisella tularensis* subsp. *tularensis*, fast alle *Rickettsien* und *Yersinia pestis* sind S₃-Bedingungen nach Biostoff-Verordnung erforderlich, S₂-Bedingungen sind erforderlich für *Anaplasma*, *Bartonella*, *Borrelia* und *Ehrlichia*.

Derzeit ist keine Notwendigkeit einer Validierung aus infektionsepidemiologischen Gründen gegeben, auch deswegen, da keine durch Blut übertragenen Arbobakterium-Infektionen bekannt geworden sind.

7.5 Bewertung

Arbobakterien sind intrazellulär wachsende Erreger, die sich auch in Endothelzellen und Makrophagen bzw. Granulozyten vermehren können und über Blut übertragbar sind. Bei Übertragung können sie schwere, auch tödliche Infektionen auslösen, bei chronischem Verlauf zu konsumierender Erkrankung mit Beeinträchtigung von Organfunktion führen.

Die Prävalenz von Arbobakteriuminfektionen ist in Deutschland sehr gering, mit der Ausnahme von Infektionen mit *Borrelia burgdorferi*, *B. afzelii* und *B. garinii*, welche eine Prävalenz von 10–30 %, besonders in Endemiegebieten, erreichen kann.

Das im Allgemeinen geringe Risiko der Übertragung von Arbobakterien lässt sich weiter vermindern, wenn Spender mit gemindertem Hygienestatus von der Spende ausgeschlossen werden. Akut und chronisch infizierte Blutspender werden über die klinische Symptomatik durch

die allgemeinen Spenderausschlusskriterien erfasst, und die Ausschlusskriterien haben sich als wirksam erwiesen.

Die geringe Bedeutung der Übertragung von Arbobakterien wird dadurch belegt, dass in den letzten 30 Jahren in Deutschland keine transfusionsbedingten Übertragungen berichtet worden sind. Derzeit haben Arbobakterien für die Sicherheit von Blutprodukten und Plasmaprodukten in Deutschland keine Bedeutung.

Dieses Papier wurde am 19.3.2007 fertiggestellt und vom Arbeitskreis Blut am 30.5.2007 verabschiedet. Es wurde erarbeitet von den Mitgliedern der Untergruppe „Bewertung Blut-assoziiertes Krankheits-erregers“ des Arbeitskreises Blut:

Dr. Johannes Blümel, Prof. Dr. Reinhard Burger, Dr. Christian Drost, Dr. Albrecht Gröner, Prof. Dr. Lutz Gürtler, Dr. Margarethe Heiden, Dr. Walter Hitzler, Prof. Dr. Dr. Bernd Jansen, Dr. Horst Klamm, Prof. Dr. Wolf-Dieter Ludwig, Dr. Thomas Montag-Lessing, Dr. Ruth Offergeld, Prof. Dr. Georg Pauli, Prof. Dr. Rainer Seitz, Dr. Uwe Schlenkrich, Dr. Volkmar Schottstedt, Dr. Hannelore Willkommen.

Literatur

- Raoult D (2005) Introduction to Rickettsiosis and Ehrlichiosis. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds) Principles and practice of infectious diseases, 6th edn. Elsevier, Philadelphia, pp 2284–2287
- Arbeitskreis Blut, Untergruppe „Bewertung Blut-assoziiertes Krankheits-erregers“ (2005) Coxiella burnetii – Erreger des Q- (query) Fiebers. Bundesgesundheitsbl Gesundheitsforsch Gesundheitsschutz 48:814–821
- Houhamdi L, Lepidi H, Drancourt M, Raoult D (2006) Experimental model to evaluate the human body louse as a vector of plague. J Infect Dis 194: 1589–1596
- Maeda K, Markowitz N, Hawley RC, et al. (1987) Human infection with Ehrlichia canis, a leukocytic Rickettsia. N Engl J Med 316:853–856
- Walker DH, Dumler JS (2005) Ehrlichia chaffeensis (human monocytotropic Ehrlichiosis), Anaplasma phagocytophilum (human granulocytotropic Anaplasmosis) and other Ehrlichiae. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds) Principles and practice of infectious diseases, 6th edn. Elsevier, Philadelphia, pp 2310–2318
- Hildebrandt A, Schmidt KH, Wilske B, et al. (2003) Prevalence of four species of Borrelia burgdorferi sensu lato and coinfection with Anaplasma phagocytophilum in Ixodes ricinus ticks in central Germany. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 22:364–367
- Wielinga PR, Gaasenbeek C, Fonville M, et al. (2006) Longitudinal analysis of tick densities and Borrelia, Anaplasma and Ehrlichia infections of Ixodes ricinus ticks in different habitat areas in The Netherlands. Appl Environ Microbiol 72: 7594–7601
- Standaert SM, Yu T, Scott MA, et al. (2000) Primary isolation of Ehrlichia chaffeensis from patients with febrile illness: clinical and molecular characteristics. J Infect Dis 181:1082–1088
- Anderson BE, Sumner JW, Dawson JE, et al. (1992) Detection of the etiologic agent of human ehrlichiosis by polymerase chain reaction. J Clin Microbiol 30:775–780
- Standaert SM, Dawson JE, Schaffner W, et al. (1995) Ehrlichiosis in a golf oriented retirement community. N Engl J Med 333:420–425
- Brouqui P, Lecam C, Olson J, Raoult D (1994) Serologic diagnosis of human monocytic Ehrlichiosis by immunoblot analysis. Clin Diag Lab Immunol 1:645–649
- Dreher UM, Fuente JDL, Hofmann-Lehmann R, et al. (2005) Serologic cross-reactivity between Anaplasma marginale and Anaplasma phagocytophilum. Clin Diag Lab Immunol 12:1177–1183
- Trofe J, Reddy KS, Stratta RJ, et al. (2001) Human granulocytic ehrlichiosis in pancreas transplant recipients. Transpl Infect Dis 3:34–39
- Leiby DA, Chung AP, Cable RG, et al. (2002) Relationship between tick bites and the seroprevalence of Babesia microti and Anaplasma phagocytophilum (previously Ehrlichia sp) in blood donors. Transfusion 42:1585–1591
- Fingerle V, Goodman JL, Johnson RC, et al. (1997) Human granulocytic ehrlichiosis in Southern Germany; increased seroprevalence in high risk groups. J Clin Microbiol 35:3244–3247
- Fingerle V, Munderloh UG, Liegl G, Wilske B (1999) Coexistence of ehrlichia of the phagocytophilum group with Borrelia burgdorferi in Ixodes ricinus from Southern Germany. Med Microbiol Immunol 188:145–149
- Del Prete R, Fumarola D, Fumarola L, et al. (1999) Prevalence of antibodies to Bartonella henselae in patients with suspected cat scratch disease (CSD) in Italy. Eur J Epidemiol 15:583–587
- McGill S, Wesslen L, Hjelm E, et al. (2001) Serological and epidemiological analysis of the prevalence of B spp antibodies in Swedish elite orienteers 1992–93. Scand J Infect Dis 33:423–428
- Mallqui V, Speelman EC, Verastegui M, et al. (2000) Sonicated diagnostic immunoblot for bartonellosis. Clin Diagn Lab Immunol 7:1–5
- Handley SA, Regnery RL (2000) Differentiation of pathogenic Bartonella species by infrequent restriction site PCR. J Clin Microbiol 38:3010–3015
- Kordick DL, Breitschwerdt EB (1997) Relapsing bacteremia after blood transfusion of Bartonella henselae to cats. Am J Vet Res 58:492–497
- Steere AC, Malawista SE, Snyderman DR, et al. (1977) Lyme arthritis: an epidemic of oligoarticular arthritis in children and adults in three Connecticut communities. Arthritis Rheum 20:7–17
- Bannwarth A (1941) Chronische lymphozytäre Meningitis, entzündliche Polyneuritis und „Rheumatismus“. Arch Psychiatr Nervenkrankh 111:284–376
- Herxheimer K, Hartmann K (1902) Über Acrodermatitis chronica atrophicans. Arch Dermatol Syph 61:57–76, 255–300
- Afzelius A (1910) Bericht der Verhandlungen der Dermatologischen Gesellschaft zu Stockholm am 16. Dezember 1909. Arch Dermatol Syph 101:405
- Fraser CM, Casjens S, Huang WM, et al. (1997) Genomic sequence of a Lyme disease spirochete, Borrelia burgdorferi. Nature 390:580–586
- Schulte-Spechtel U, Lehnert G, Liegl G, et al. (2003) Significant improvement of the recombinant Borrelia-specific immunoglobulin G immunoblot test by addition of VlsE and a DbpA homologue derived from Borrelia garinii for diagnosis of early neuroborreliosis. J Clin Microbiol 41:1299–1303
- Ramamoorthi N, Narasimhan S, Pal U, et al. (2005) The Lyme disease agent exploits a tick protein to infect the mammalian host. Nature 436:573–577
- Wilske B, Schriefer ME (2003) Borrelia. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH et al. (eds) Manual of Clin Microbiol, 8th edn. ASM press, pp 937–954
- Steere AC (1989) Lyme disease. N Engl J Med 321:586–596
- Wilske B, Münchhoff P, Schierz G, et al. (1985) Zur Epidemiologie der Borrelia burgdorferi-Infektion. Münch Med Wochenschr 127:171–172
- Tomao P, Ciceroni L, Ovidio MCD, et al. (2005) Prevalence and incidence of antibodies to Borrelia burgdorferi and to tick-borne encephalitis virus in agricultural and forestry workers from Tuscany, Italy. Eur J Clin Microbiol Infect 24:457–463
- Lledo L, Gegundez MI, Saz JV, Beltran M (2004) Screening of the prevalence of antibodies to Borrelia burgdorferi in Madrid province, Spain. Eur J Epidemiol 19:471–472
- Hauser U, Lehnert G, Lobentanzer R, Wilske B (1997) Interpretation criteria for standardized western blots for three European species of Borrelia burgdorferi sensu lato. J Clin Microbiol 35:1433–1444
- Nocton JJ, Dressler F, Rutledge BJ, et al. (1994) Detection of Borrelia burgdorferi DNA by polymerase chain reaction in synovial fluid from patients with Lyme arthritis. N Engl J Med 330:229–234
- Vasiliiu V, Herzer D, Rössler D, et al. (1998) Heterogeneity of Borrelia burgdorferi sensu lato demonstrated by an OspA type specific PCR in synovial fluid from patients with Lyme arthritis. Med Microbiol Immunol 187:97–102
- Nadal D, Wunderli W, Briner H, Hansen K (1989) Prevalence of antibodies to Borrelia burgdorferi in forestry workers and blood donors from the same region in Switzerland. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 8:992–995
- Bohme M, Schwenecke S, Fuchs E, et al. (1992) Screening of blood donors and recipients for Borrelia antibodies: no evidence of B. burgdorferi infection transmitted by transfusion. Infusionsther Transfusionsmed 19:204–207
- Weiland T, Kühnl P, Laufs R, Heesemann J (1992) Prevalence of Borrelia burgdorferi antibodies in Hamburg blood donors. Beitr Infusionsther 30: 92–95
- Johnson SE, Swaminathan B, Moore P, et al. (1990) Borrelia burgdorferi: survival in experimentally infected human blood processed for transfusion. J Infect Dis 162:557–559
- Nadelman RB, Sherer C, Mack L, et al. (1990) Survival of Borrelia burgdorferi in human blood stored under blood banking conditions. Transfusion 30:298–301
- Gerber MA, Shapiro ED, Krause PJ, et al. (1994) The risk of acquiring Lyme disease or babesiosis from a blood transfusion. J Infect Dis 170:231–234
- McCoy GM, Chapin CW (1912) Bacterium tularense the cause of a plaque-like disease of rodents. US Public Health Hosp Bull 53:17–23
- Francis E (1921) The occurrence of tularemia in nature as a disease of man. US Public Health Rep 36:1731–1738

45. Penn RL (2005) *Francisella tularensis* (Tularemia). In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds) Principles and practice of infectious diseases, 6th edn. Elsevier, Philadelphia, pp 2674–2685
46. Ellis J, Oyston PC, Green M, Titball RW (2002) Tularemia. *Clin Microbiol Rev* 15:631–646
47. Petersen JM, Schriefer ME (2005) Tularemia: emergence/re-emergence. *Vet Res* 36:455–467
48. Barns SM, Grow CC, Okinaka RT, et al. (2005) Detection of diverse new *Francisella* like bacteria in environmental samples. *Appl Environ Microbiol* 71:5494–5500
49. Titball RW, Sjöstedt A (2003) *Francisella tularensis*: an overview. *ASM News* 11:558–563
50. Berdal BP, Mehl R, Meidell NK, et al. (1996) Field investigations of tularemia in Norway. *FEMS Immunol Med Microbiol* 13:191–195
51. Brotcke A, Weiss DS, Kim CC, et al. (2006) Identification of *MglA*-regulated genes reveals novel virulence factors in *Francisella tularensis*. *Infect Immun* 74:6642–6655
52. Staples JE, Kubota KA, Chalcraft LG, et al. (2006) Epidemiologic and molecular analysis of human tularemia, United States, 1964–2004. *Emerg Infect Dis* 12:1113–1118
53. Hall JD, Craven RR, Fuller JR, et al. (2007) *Francisella tularensis* replicates within alveolar type II epithelial cells in vitro and in vivo following inhalation. *Infect Immun* 75:1034–1039
54. Gurycova D, Kocianova E, Vyrostekova V, Rehacek J (1995) Prevalence of ticks infected with *Francisella tularensis* in natural foci of tularemia in western Slovakia. *Eur J Epidemiol* 11:469–474
55. Hubalek Z, Sixl W, Halouzka J (1998) *Francisella tularensis* in Dermacentor reticularis ticks from the Czech Republic and Austria. *Wien Klin Wochenschr* 110:909–910
56. Robert Koch-Institut (2005) Tularämie: Ausbruch unter Teilnehmern einer Hasen-Treibjagd im Landkreis Darmstadt-Dieburg, 2005. *Epidemiol Bull* 50:465–466
57. Tärnvik A (1989) Nature of protective immunity to *Francisella tularensis*. *Rev Infect Dis* 11:440–451
58. Porsch-Ozcurumez M, Kischel N, Priebe H, et al. (2004) Comparison of enzyme-linked immunosorbent assay, Western blotting, microagglutination, indirect immunofluorescence assay, and flow cytometry for serological diagnosis of tularemia. *Clin Diagn Lab Immunol* 11:1008–1015
59. Bevanger L, Maeland JA, Naess AI (1989) Competitive enzyme immunoassay for antibodies to a 43,000 molecular weight *Francisella tularensis* outer membrane protein for the diagnosis of tularemia. *J Clin Microbiol* 27:922–926
60. Fulop M, Leslie D, Titball R (1996) A rapid, highly sensitive method for the detection of *Francisella tularensis* in clinical samples using the polymerase chain reaction. *Am J Trop Med Hyg* 54:364–366
61. Grunow RW, Spletstoesser W, McDonald S, et al. (2000) Detection of *Francisella tularensis* in biological specimens using a capture enzyme-linked immunosorbent assay, an immunochromatographic handheld assay, and a PCR. *Clin Diagn Lab Immunol* 7:86–90
62. Broekhuijsen M, Larsson P, Johansson A, et al. (2003) Genome-wide DNA microarray analysis of *Francisella tularensis* strains demonstrates extensive genetic conservation within the species but identifies regions that are unique to the highly virulent *F. tularensis* subsp. *tularensis*. *J Clin Microbiol* 41:2924–2931
63. Higgins JA, Hubalek Z, Halouzka J, et al. (2000) Detection of *Francisella tularensis* in infected mammals and vectors using a probe-based polymerase chain reaction. *Am J Trop Med Hyg* 62:310–318
64. Khoury JA, Bohl DL, Hersh MJ, et al. (2005) Tularemia in a kidney transplant recipient: an unsuspected case and literature review. *Am J Kidney Dis* 45:926–929
65. Vishwanath S (1991) Antigenic relationships among the rickettsiae of the spotted fever and typhus group. *FEMS Microbiol Lett* 81:341–344
66. McDade JE, Shepard CC, Redus MA, et al. (1980) Evidence of *Rickettsia prowazekii* infections in the United States. *Am J Trop Med Hyg* 29:277–284
67. Brill NE (1910) An acute infectious disease of unknown origin. *Am J Med Sci* 139:484–502
68. Zinsser H (1934) Varieties of typhus virus and the epidemiology of the American form of European typhus fever (Brill's disease). *Am J Hyg* 20:513–532
69. Dupont HT, Brouqui P, Faugere B, Raoult D (1995) Prevalence of antibodies to *Coxiella burnetii*, *Rickettsia conorii*, and *Rickettsia typhi* in seven African countries. *Clin Infect Dis* 21:1126–1133
70. Schriefer ME, Sacci JB, Dumler JS, et al. (1994) Identification of a novel rickettsial infection in a patient diagnosed with murine typhus. *J Clin Microbiol* 32:949–954
71. Tzianabos T, Anderson BE, McDade JE (1989) Detection of rickettsial DNA in clinical specimens by using polymerase chain reaction technology. *J Clin Microbiol* 27:2866–2868
72. Raoult D, Toga B, Chaudet H, Chiche-Portiche C (1987) Rickettsial antibody in southern France: antibodies to *Rickettsia conorii* and *Coxiella burnetii* among urban, suburban and semi-rural blood donors. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 81:80–81
73. Tay ST, Kamalanathan M, Rohani MY (2003) Antibody prevalence of *Orientia tsutsugamushi*, *Rickettsia typhi* and T118 spotted fever group rickettsiae among Malaysian blood donors and febrile patients in the urban areas. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 34:165–170
74. Daniel SA, Manika K, Arvanmoudou M, Antoniadis A (2002) Prevalence of *Rickettsia conorii* and *Rickettsia typhi* infections in the population of Northern Greece. *Am J Trop Med Hyg* 66:76–79
75. Lledo L, Gegundez MI, Saz JV, Beltran M (2001) Prevalence of antibodies to *Rickettsia typhi* in an area of the center of Spain. *Eur J Epidemiol* 17:927–928
76. Ruiz-Beltran R, Herrero-Herrero JL, Martin-Sanchez AM, Martin-Gonzales JA (1990) Prevalence of antibodies to *Rickettsia conorii*, *Coxiella burnetii* and *Rickettsia typhi* in Salamanca Province (Spain). Serosurvey in the human population. *Eur J Epidemiol* 6:293–299
77. Wells GM, Woodward TE, Fiset P, Hornick BB (1978) Rocky mountain spotted fever caused by blood transfusion. *J Am Med Ass* 239:2763–2765
78. Arbeitskreis Blut, Untergruppe „Bewertung Blut-assoziierter Krankheitserreger“ (1999) *Yersinia enterocolitica*. *Bundesgesundheitsbl Gesundheitsforsch Gesundheitschutz* 42:613–621
79. Butler T, Dennis DT (2005) *Yersinia* species, including plague. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds) Principles and practice of infectious diseases, 6th edn. Elsevier, Philadelphia, pp 2691–2708
80. Prentice MB, Rahalison L (2007) Plague. *Lancet* 369:1196–1207
81. Perry RD, Fetherston JD (1997) *Yersinia pestis* – etiologic agent of plague. *Clin Microbiol Rev* 10:35–66
82. Saikh KU, Kissner TL, Dyas B, et al. (2006) Human cytolytic T cell recognition of *Yersinia pestis* virulence proteins that target innate immune response. *J Infect Dis* 194:1753–1760
83. Chalton DA, Musson JA, Smith HF, et al. (2006) Immunogenicity of a *Yersinia pestis* vaccine antigen monomerized by circular permutation. *Infect Immun* 74:6624–6631
84. Chase CJ, Ulrich MP, Wasieleski LP, et al. (2005) Real time PCR assays targeting a unique chromosomal sequence of *Yersinia pestis*. *Clin Chem* 51:1778–1785
85. Loiez C, Herwegh S, Wallet F, et al. (2003) Detection of *Yersinia pestis* in sputum by real-time PCR. *J Clin Microbiol* 41:4873–4875
86. Tomaso H, Reisinger EC, Aldahouk S, et al. (2003) Rapid detection of rapid detection of *Yersinia pestis* with multiplex real-time PCR assays using fluorescent hybridisation probes. *FEMS Immunol Med Microbiol* 38:117–126
87. Hansmann Y, DeMartino S, Piémont Y, et al. (2005) Diagnosis of cat scratch disease with detection of *Bartonella henselae* by PCR: a study of patients with lymph node enlargement. *J Clin Microbiol* 43:3800–3806
88. Simon MM, Birkner N, Lamers R, Wallich R (2006) Outer surface lipoproteins of *Borrelia burgdorferi*: role in virulence, persistence of the pathogen and protection against Lyme disease. In: Cabello FC, Hulinska D, Godfrey HP (eds) Molecular biology of spirochetes. *Nato Science Series, I: Life and Behavioural Sciences* 373: 383–392 IOS Press, Fairfax, VA-USA
89. Hepburn MJ, Purcell BK, Lawler JV, et al. (2006) Live vaccine strain *Francisella tularensis* is detectable at the inoculation site but not in blood after vaccination against tularemia. *Clin Infect Dis* 43:711–716
90. Pechoux R, Celli J, Penoske R, et al. (2006) Construction and characterization of an attenuated purine auxotroph in a *Francisella tularensis* live vaccine strain. *Infect Immun* 74:4452–4461