

# Aachener Schriftenreihe zur Präventivmedizin Band 4

Herausgegeben von Thomas Kraus und Thomas Küpper



Simone Kattner

## Humanpathogene Rickettsien in Zecken des östlichen Sambias



Aus dem Institut für Arbeitsmedizin und Sozialmedizin  
(Direktor Universitätsprofessor Dr. med. Thomas Kraus)

## Humanpathogene Rickettsien in Zecken des östlichen Sambias

Von der Medizinischen Fakultät der Rheinisch-Westfälischen Technischen  
Hochschule Aachen zur Erlangung des akademischen Grades einer Doktorin  
der Medizin genehmigte Dissertation

vorgelegt von  
Simone Kattner

aus  
Langenfeld

Berichter: Herr Professor  
Dr. med. Thomas Küpper

Herr Professor  
Dr. med. dent. Christian Apel

Tag der mündlichen Prüfung: 21. November 2019



Aachener Schriftenreihe zur Präventivmedizin

Band 4

**Simone Kattner**

**Humanpathogene Rickettsien in Zecken  
des östlichen Sambias**

Shaker Verlag  
Düren 2020

**Bibliografische Information der Deutschen Nationalbibliothek**

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.d-nb.de> abrufbar.

Zugl.: D 82 (Diss. RWTH Aachen University, 2019)

Copyright Shaker Verlag 2020

Alle Rechte, auch das des auszugsweisen Nachdruckes, der auszugsweisen oder vollständigen Wiedergabe, der Speicherung in Datenverarbeitungsanlagen und der Übersetzung, vorbehalten.

Printed in Germany.

ISBN 978-3-8440-7144-3

ISSN 2194-5721

Shaker Verlag GmbH • Am Langen Graben 15a • 52353 Düren

Telefon: 02421 / 99 0 11 - 0 • Telefax: 02421 / 99 0 11 - 9

Internet: [www.shaker.de](http://www.shaker.de) • E-Mail: [info@shaker.de](mailto:info@shaker.de)

Teile der Dissertation wurden in den folgenden Publikationen veröffentlicht:

Chitimia-Dobler L., Dobler G., Schaper S., Kupper T., Kattner S., Wolfel S.  
“First detection of *Rickettsia conorii* ssp. *caspia* in *Rhipicephalus sanguineus*  
in Zambia.”

*Parasitology Research* 2017 Nov;116(11): 3249-3251.

doi: 10.1007/s00436-017-5639-z.

Chitimia-Dobler L., Langguth J., Pfeffer M., Kattner S., Kupper T., Friese D.,  
Dobler G., Guglielmone A.A., Nava S.

“Genetic analysis of *Rhipicephalus sanguineus sensu lato* ticks parasites of  
dogs in Africa north of the Sahara based on mitochondrial DNA sequences.”

*Veterinary Parasitology* 2017 May 30; 239: 1-6.

doi: 10.1016/j.vetpar.2017.04.012.



**Inhaltsverzeichnis**

<b>1</b>	<b>Einleitung .....</b>	<b>1</b>
1.1	Sambia: Einordnung der Untersuchungsregion.....	1
1.2	Zecken.....	2
1.2.1	Die Gattung <i>Amblyomma</i> .....	3
1.2.2	Die Gattung <i>Rhipicephalus</i> .....	4
1.2.3	Die Gattung <i>Haemaphysalis</i> .....	6
1.3	Bakterien der Gattung <i>Rickettsia</i> .....	6
1.3.1	Zeckenbissfieber in der Reisemedizin.....	6
1.3.2	Mittelmeer-Fleckfieber: <i>Rickettsia conorii</i> ssp.....	8
1.3.3	Afrikanisches Zeckenbissfieber: <i>Rickettsia africae</i> .....	8
1.3.4	Zeckenbissfieber: <i>Rickettsia massiliae</i> .....	9
1.3.5	Hinweise auf <i>Rickettsia</i> spp. in Sambia.....	9
1.4	Zecken als Krankheitsvektor, wie z. B. <i>Rickettsia</i> spp.....	10
1.5	Labormethoden.....	11
1.5.1	DNA Extraktion aus Gewebe.....	11
1.5.2	Polymerase Kettenreaktion (PCR).....	11
1.5.3	Gelelektrophorese.....	15
1.5.4	Sanger Sequenzierung.....	16
1.5.5	Phylogenetische Stammbäume.....	17
1.5.6	Zellkultur.....	19
<b>2</b>	<b>Zielsetzung.....</b>	<b>21</b>
<b>3</b>	<b>Material und Methoden.....</b>	<b>22</b>
3.1	Akquirierung der Proben im South Luangwa Tal.....	22
3.2	DNA-Extraktion.....	24



## Inhaltsverzeichnis

---

3.3	Speziesbestimmung der Zecken .....	25
3.3.1	Morphologische Zeckenspeziesbestimmung .....	25
3.3.2	16S rRNA-PCR zur Zeckenspeziesbestimmung .....	25
3.3.3	Genetische Analyse von <i>Rhipicephalus sanguineus</i> .....	27
3.4	Pan- <i>Rickettsia</i> real-time PCR.....	27
3.5	Untersuchungen zur Identifikation von <i>Rickettsia</i> spp. ....	28
3.5.1	PCR der 23S-5S Intergenische Region.....	29
3.5.2	rOmpA-PCR .....	31
3.5.3	<i>Rickettsia</i> subspecies Bestimmung .....	32
3.5.4	Agarose Gelelektrophorese .....	33
3.5.5	DNA Aufreinigung nach erfolgter Gelelektrophorese .....	34
3.5.6	DNA-Aufreinigung als Gelpräparation .....	34
3.5.7	Sequenzierung der PCR Produkte .....	34
3.5.8	Zuordnung der Sequenzen.....	34
3.6	Phylogenetische Analyse von <i>Rickettsia</i> spp. ....	35
3.7	Zellkultur .....	35
3.7.1	Zelllinien, Kultivierung und Infektion .....	35
3.7.2	Überprüfung des Rickettsienwachstums .....	37
3.8	Datenauswertung.....	37
<b>4</b>	<b>Ergebnisse</b> .....	<b>38</b>
4.1	Örtliche Verteilung der Probenentnahmestellen .....	38
4.2	Umgebung der Probeentnahmestellen .....	39
4.3	Zecken: Spezies und Verbreitung.....	40
4.4	Rickettsien .....	44
4.5	Vermehrungsfähigkeit in der Zellkultur .....	47

## Inhaltsverzeichnis

---

4.6	Statistische Analyse mit dem Chi <sup>2</sup> -Test und Kontingenzkoeffizient nach Pearson .....	48
4.7	Phylogenetische Analyse .....	49
<b>5</b>	<b>Diskussion.....</b>	<b>53</b>
5.1	Verbreitung der Zeckenspezies und Infektion mit <i>Rickettsia</i> spp.....	53
5.2	Vorkommen von <i>Rickettsia africae</i> in Zecken.....	58
5.3	Vorkommen von <i>Rickettsia conorii</i> ssp. <i>caspia</i> .....	60
5.4	Vorkommen von <i>Rickettsia massiliae</i> in Zecken .....	61
5.5	Phylogenetische Analyse .....	63
5.6	Vermehrungsfähigkeit in der Zellkultur.....	63
5.7	Relevanz für die Bevölkerung.....	64
5.8	Relevanz für die Reisenden .....	65
5.9	Beratung in der Reisemedizin.....	66
5.10	Methodenkritik.....	69
5.11	Schlussfolgerung.....	70
<b>6</b>	<b>Zusammenfassung.....</b>	<b>72</b>
<b>7</b>	<b>Abbildungsverzeichnis.....</b>	<b>74</b>
<b>8</b>	<b>Tabellenverzeichnis .....</b>	<b>75</b>
<b>9</b>	<b>Literaturverzeichnis.....</b>	<b>77</b>
<b>10</b>	<b>Anhang.....</b>	<b>85</b>
10.1	Probenliste aus Chieftdom Jumbe, Ward Jumbe.....	85
10.2	Probenliste aus Chieftdom Jumbe, Ward Mphomwa.....	86
10.3	Proben mit sequenzierter Rickettsienspezies.....	87
10.4	Positive Proben ohne Sequenzierung .....	88
10.5	Probenliste: Zellkultur Vero E6 mit Wachstum.....	90

## Inhaltsverzeichnis

---

10.6	Probenliste: Zellkultur Vero E6 ohne Wachstum.....	91
11	<b>Danksagung</b> .....	<b>92</b>
12	<b>Erklärung § 5 Abs. 1 zur Datenaufbewahrung</b> .....	<b>93</b>
13	<b>Eidesstattliche Erklärung gemäß § 5 Abs. (1) und § 11 Abs. (3) 12. der Promotionsordnung</b> .....	<b>94</b>

## Abkürzungsverzeichnis

A.	Amblyomma
ABAM	Antibiotic-Antimycotic
ATBF	African Tick Bite Fever
B.	Boophilus
BLAST	Basic Local Alignment Search Tool
bp	Basenpaare
CO <sub>2</sub>	Kohlenstoffdioxid
CPE	Zytopathologische Effekte
C <sub>T</sub>	Cycle Threshold
DNA	Deoxyribonucleic Acid
dNTP	Deoxyribonucleosid Triphosphate
dpi	days post inoculation / Tage nach Inokulation
FKS	Fetales Kälberserum
FRET	Förster oder Fluoreszenz-Resonanzenergietransfer
FUO	Fever of Unknown Origin
gltA	Citratsynthasegen
GPS	Global Positioning System
H.	Haemaphysalis
HK	Handling Kontrolle
IgG	Immunglobulin G
kb	kilo-base pair
MEGA	Molecular Evolutionary Genetics Analysis Software
MEM	Minimum Essential Media
MgCl <sub>2</sub>	Magnesiumchlorid
MGP	Magnetic Glas Particle
MgSO <sub>4</sub>	Magnesiumsulfat
MP	Trimethoprim
NASA	National Aeronautics and Space Administration
NCBI	National Center of Biotechnology Information
NEAA	Non-Essential Amino Acid Solution

## Abkürzungsverzeichnis

---

NK	Negativkontrolle
PCR	Polymerase Chain Reaction
PK	Positivkontrolle
qPCR	quantitative oder real-time Polymerase Kettenreaktion
R.	Rickettsia
Rh.	Rhipicephalus
RNA	Ribonucleic Acid
rOmpA	rickettsiales Oberflächenprotein OmpA
rOmpB	rickettsiales Oberflächenprotein OmpB
rRNA	Ribosomal Ribonucleic Acid
rRNA	ribosomale Ribonucleic Acid
s.l.	sensu lato
s.s.	sensu stricto
SFG	Spotted Fever Group
spp.	species pluralis
SRTM	Shuttle Radar Topography Mission
ssp.	subspecies
SXT	Sulfamethoxazol
TAE	Tris-Acetat-Ethylendiamintetraacetat
Taq	Thermus aquaticus
TBD	Tick-borne diseases
UDG	Uracil-DNA Glykosidase
UV	Ultraviolettes Licht