

Aus dem Department für Parasitologie  
der Veterinärmedizinischen Universität Wien

Institut für Parasitologie  
Leiterin: Univ.Prof. Dr.med.vet. Anja Joachim

**TRYPANOSOMATIDAE & FILARIEN  
IN DROSSELN (TURDIDAE) IN ÖSTERREICH**

Diplomarbeit

Veterinärmedizinische Universität Wien

vorgelegt von  
Katrín Schuster

Wien, September 2020

Betreuer:

Priv. Doz. Dr. Hans-Peter Fuehrer  
Institut für Parasitologie  
Department für Pathobiologie  
Veterinärmedizinische Universität Wien

Begutachterin:

AO Prof. Dr. Alexandra Scope  
Vogel und Reptilienklinik  
Veterinärmedizinische Universität Wien

# INHALTSVERZEICHNIS

<b>1</b>	<b>EINLEITUNG.....</b>	<b>1</b>
1.1	Fragestellung & Ziel.....	1
<b>2</b>	<b>MATERIAL &amp; METHODIK - ALLGEMEIN.....</b>	<b>3</b>
2.1	PCR.....	3
2.1.1	Konventionelle PCR.....	3
2.1.2	Nested PCR.....	4
2.2	Gelelektrophorese.....	4
<b>3</b>	<b>TURDIDAE.....</b>	<b>5</b>
3.1	Amsel – Turdus merula .....	5
3.2	Wacholderdrossel – Turdus pilaris.....	6
3.3	Singdrossel – Turdus philomelos.....	6
<b>4</b>	<b>VEKTOREN.....</b>	<b>8</b>
4.1	Stechmücken – Allgemeines & Lebenszyklus.....	8
4.2	Stechmücken als Krankheitsüberträger .....	10
4.3	Stechmücken in Österreich .....	11
4.3.1	Hausmücken.....	11
4.3.2	Überschwemmungsmücken .....	11
<b>5</b>	<b>TRYPANOSOMATIDAE .....</b>	<b>12</b>
5.1	Allgemein.....	12
5.2	Trypanosomen beim Vogel: Arten, Vektoren, Übertragungswege.....	14
5.3	Trypanosoma culicavium.....	16
<b>6</b>	<b>FILARIEN .....</b>	<b>17</b>
6.1	Allgemein.....	17
6.2	Filarien beim Vogel.....	19
<b>7</b>	<b>MATERIAL &amp; METHODIK .....</b>	<b>21</b>

7.1	Sammeln der Blutproben & DNA Extraktion.....	21
7.2	PCR - Trypanosomatidae.....	21
7.2.1	Pipettierschema Nest 1 - Trypanosomatidae .....	21
7.2.2	Pipettierschema Nest 2 – Trypanosomatidae.....	23
7.3	PCR Filarioidea.....	24
7.3.1	Primerdesign & Pipettierschema - Chand .....	24
7.3.2	Primerdesign & Pipettierschema – COIint .....	25
7.4	Gelelektrophorese.....	26
7.5	Sequenzierung.....	27
7.6	Mikroskopie der Blutausstriche .....	27
<b>8</b>	<b>ERGEBNISSE.....</b>	<b>28</b>
8.1	Blutparasiten .....	29
<b>9</b>	<b>DISKUSSION .....</b>	<b>32</b>
<b>10</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG.....</b>	<b>35</b>
	<b>ABSTRACT.....</b>	<b>36</b>
<b>11</b>	<b>VERZEICHNISSE .....</b>	<b>37</b>
11.1	Abbildungsverzeichnis .....	43
11.2	Tabellenverzeichnis.....	43
<b>12</b>	<b>ANHANG.....</b>	<b>44</b>

## ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

Abb.	Abbildung
bp	Basenpaare
DNA	Desoxyribonukleinsäure
dNTP	Desoxynukleosid-Triphosphat
PCR	Polymerasekettenreaktion
Tab.	Tabelle
U/min	Umdrehungen pro Minute
mm	Millimeter
km/h	Kilometer pro Stunde
mg	Milligramm
g	Gramm
ca	Circa
µl	Mikroliter
ml	Milliliter
°C	Grad Celcius
V	Volt
Nr	Nummer

# 1 EINLEITUNG

## 1.1 Fragestellung & Ziel

Generell wird Filarien und Trypanosomen eher eine geringe Pathogenität bei Drosselartigen (Turdidae) zugesprochen (Cooper et al., 2002). Dennoch sind nicht nur einzelne Tiere, sondern oft ganze Populationen von diesen Parasiten betroffen. Aviäre Trypanosomen sind, obwohl sie mit Ausnahme der Polargebiete weltweit vorkommen, eine eher weniger bekannte Gruppe. Bisher wurden 100 verschiedene Arten beschrieben (Baker, 1976; Podlipaev, 1990; Sehgal et al., 2001). Im Gegensatz zu den Trypanosomen, die vor allem Säugetiere als ihre Wirte nutzen, sind die Trypanosomen die Vögel als Wirte verwenden in den meisten Fällen harmlos und Schaden ihren Wirten nicht (Macfie and Thomson, 1929; Baker, 1976). Es gibt jedoch auch Beweise, dass sich Blutparasiten nachteilig auf die Gesundheit und das Wohlbefinden der Tiere auswirken können. Je nach Parasiten können die Tiere verschiedenste Symptome zeigen. Unter anderem zeigen betroffene Vögel Symptome wie Anorexie, Apathie, Anämie, Gewichtsverlust sowie verringerte Flugkraft und -geschwindigkeit (Valki nas 2005). Nach Besiedelung der Gelenke mit Filarien treten Lahmheiten mit fluktuierenden Schwellungen auf und nach chronischem Verlauf können auch Arthrosen auftreten. Im Bereich der Augen kann es durch Filarien zu Tränenabflussstörungen, Konjunktivitis oder Iridozyklitis kommen (Kaleta et al., 2011).

Durch die Veränderung der klimatischen Bedingungen in Österreich kommt es auch immer häufiger zur Verbreitung von neuen Vektoren und dadurch auch von Parasiten, in vorher für diese Parasiten nicht typischen Regionen (Atkinson et al., 2008). Außerdem trägt auch der steigende Personenverkehr stark zur Ausbreitung von Parasiten bei (Atkinson et al., 2008, Cooper et al., 2002).

Heimvögel können im Unterschied zu Wildvögeln, zumindest teilweise, geschützt werden (Bush 1990). Einige der Krankheitserreger, die von Vektoren wie Stechmücken übertragen werden (z.B. das West-Nil Virus) und vorwiegend Vögel betreffen sind auch für den Menschen pathogen. Daher ist es wichtig, einen Überblick über die derzeitige Lage an von Vektoren übertragenen Parasiten in Österreich zu erhalten (Simón et al., 2012).

Im Zuge dieser Diplomarbeit wurden Trypanosomen und Filarien in Turdiden aus Österreich bearbeitet, um mehr über die parasitäre Fauna in den unterschiedlichen Drosselarten zu

erfahren. Hierfür wurden DNA-Proben von Amseln, Wacholderdrosseln und Singdrosseln auf Trypanosomen und Filarien, sowie Blutausstriche auf das Vorhandensein der Erreger untersucht.

## 2 MATERIAL & METHODIK - ALLGEMEIN

### 2.1 PCR

#### 2.1.1 Konventionelle PCR

Die Polymerase Kettenreaktion (PCR = „Polymerase Chain Reaction“) ist eine der wichtigsten Methoden der modernen Molekularbiologie. Sie wird verwendet, um in vitro vorher genau definierte Teile eines DNA-Stranges zu vervielfältigen. Die Produkte vorheriger Zyklen dienen als Ausgangsstoffe für die nächsten Zyklen, daher der Begriff Kettenreaktion. Durch diese Kettenreaktion ist eine exponentielle Vervielfältigung möglich. In der Praxis wird die PCR zum Beispiel für die Erkennung von Erbkrankheiten oder Virusinfektionen verwendet.

Benötigt werden für die PCR spezifische Primer, 4 Nukleotide (dNTP: Adenin, Cytosin, Guanin und Thymin), ein Puffer und eine DNA Polymerase. Die Primer sind kurze Oligonukleotide, welche den zu amplifizierenden DNA Abschnitt flankieren. Außerdem wird noch Wasser benötigt. All diese Bestandteile werden nach einem standardisierten Protokoll verarbeitet. Es wird eine Master-Mix Lösung erstellt und diese wird dann den zu untersuchenden DNA Proben hinzugefügt.

Der gesamte PCR Prozess besteht aus etwa 20-50 Zyklen, die in einem Thermocycler durchgeführt werden. Jeder Zyklus besteht aus drei Schritten: Denaturierung, Primerhybridisierung und Elongation. Bei der Denaturierung (=Schmelzen) wird die doppelsträngige DNA auf 94-96 °C erhitzt, um die Stränge voneinander zu trennen. Die Wasserstoffbrückenbindungen, die die Stränge zusammenhalten werden aufgebrochen. Im ersten Zyklus dauert die Denaturierung meistens länger, um sicherzustellen, dass sich die Ausgangs DNA und die Primer vollständig voneinander trennen. Anschließend erfolgt die Primerhybridisierung (Annealing). Dieser Prozess dauert etwa 30 Sekunden. Hier lagern sich die jeweiligen Primer bei der für sie spezifischen Temperatur an die DNA an. Diese Temperatur liegt in etwa 5-10 °C unter deren Schmelzpunkt.

Danach findet die Elongation statt. Bei der Elongation werden die fehlenden Stränge mit freien Nukleotiden aufgefüllt. Sie beginnt am 3'Ende des Forward Primers und folgt dem DNA Strang in Richtung des 5'Endes. Der Vorgang verhält sich genau umgekehrt an der Bindungsstelle des Reverse Primers, d.h. die DNA Stränge werden in der Richtung 5' - 3' mit Nukleotiden aufgefüllt. Die Temperatur hängt vom Arbeitsoptimum der verwendeten DNA Polymerase ab (68-72 °C).

Nach Abschluss des letzten Zyklus findet eine finale Elongation statt.

Vor allem in den späteren Zyklen häufen sich kurze Fragmente an und können dann durch Fehlpaarung der Primer auch zu falschen PCR Produkten werden. Daher durchläuft die PCR meist nicht mehr als 40 Zyklen.

Ein PCR Produkt kann anschließend durch die Gelelektrophorese anhand seiner Größe identifiziert werden. Unter 2.2 Gelelektrophorese wird dieser Prozess genauer erläutert.

### **2.1.2 Nested PCR**

Eine Nested PCR eignet sich sehr gut, wenn nur geringe Mengen an der zu amplifizierenden DNA vorhanden ist, zum Beispiel bei Trypanosomen im Blut. Es ist eine Sonderform der konventionellen PCR und wird auch als verschachtelte PCR bezeichnet. Hierbei werden zwei PCRs hintereinander ausgeführt. Zunächst wird eine konventionelle PCR durchgeführt. Das dadurch erhaltene Produkt dient dann beim zweiten Durchgang als Matrize. An dieser Matrize bindet dann das Primerpaar der zweiten PCR. Unspezifische Produkte können bei dieser Taktik nicht amplifiziert werden, was ein großer Vorteil der Nested PCR ist. Man hat dadurch eine sehr hohe Spezifität.

## **2.2 Gelelektrophorese**

Hierbei wird die DNA in ein vorher vorbereitetes Agarosegel eingebracht. Anschließend wird das Gel einem elektrischen Gleichstromfeld ausgesetzt. Dadurch bewegen sich die kleineren, negativ geladenen DNA Fragmente schneller als die größeren, negativ geladenen Fragmente auf den Pluspol zu. Je weniger Basenpaare das Produkt enthält umso schneller bewegt es sich im Feld. Alle Produkte mit gleicher Ladung sammeln sich auf einem Punkt und eine Bande wird sichtbar.

Zusätzlich zu den DNA Produkten wird auf jedem Gel auch die Positiv und Negativ Kontrolle aufgetragen und eine DNA Leiter (Ladder). Diese DNA Leiter enthält Fragmente bekannter Größe und da sie parallel zu den Proben mitläuft kann dann ein Vergleich gemacht werden.

### 3 TURDIDAE

Die Drosseln (Turdidae) gehören der Ordnung der Sperlingsvögel (Passeriformes) an und beinhalten rund 175 verschiedenen Arten (Slotta-Bachmayr und Winding, 1994). Drosseln leben sowohl auf Bäumen als auch am Boden. Zu ihrer Hauptnahrungsquelle zählen meist Wirbellose wie Würmer, Arthropoden (z.B. Stechmücken) oder Schnecken. Zudem fressen die Drosseln auch Beeren. Deren Samen werden unverdaut ausgeschieden und so werden diese Pflanzen verbreitet (Zoochorie) (Winkler et al., 2014).

Die wichtigsten drei Arten der Turdidae in Mitteleuropa, sowie in Bezug auf diese Arbeit, waren *Turdus merula* (Amsel), *Turdus pilaris* (Wacholderdrossel) sowie *Turdus philomelos* (Singdrossel).

#### 3.1 Amsel – *Turdus merula*

Die Amsel, auch Schwarzdrossel genannt, zählt zu den am weitesten verbreiteten Vertretern der Familie der Turdidae (Wysocki, 2002). In Europa brütet die Amsel nahezu flächendeckend, nur nicht im hohen Norden und im äußersten Südosten (Winkler et al., 2014). Darüber hinaus kommt sie in Teilen Nordafrikas und Asiens vor (Sehgal et al., 2001). In Mitteleuropa verlässt ein Teil der Vögel im Winter das Brutgebiet und zieht nach Südeuropa oder Nordafrika (Slotta-Bachmayr und Winding, 1994). Die Amsel ist sowohl in Wäldern, als auch in Parks und Gärten und sogar in Stadtzentren zu finden (Winkler et al., 2014). Ihre Hauptnahrungsquelle suchen sie am Boden, vor allem fressen sie Regenwürmer oder Käfer. Je nach Verfügbarkeit steigt aber auch der Anteil an Beeren und Früchten (Graczyk, 1961). Die meiste Zeit verbringen die Tiere also am bzw. in der Nähe des Bodens. Im Gegensatz zu den Singdrosseln, die mit ihren längeren und spitzeren Flügeln bessere Streckenflieger sind, sind Amseln aufgrund der ausgeprägten Spaltflügel wendiger (Winkler et al., 2014).

Bei den Amseln gibt es Teilzieher, Zugvögel und Standvögel. Je nach Gegend verhalten sich die Tiere unterschiedlich. Die Zahl der wegziehenden Tiere liegt in Mitteleuropa nur bei 25 %. Erste Zugbewegungen sind ab Juli erkennbar (Winkler et al., 2014). Hauptdurchzug findet im September bis Mitte Oktober statt. Die heimziehenden Amseln treffen in Mitteleuropa zwischen Mitte Februar und Mitte April ein (Wysocki, 2002).

### 3.2 Wacholderdrossel – *Turdus pilaris*

Die ursprünglich in der Taiga Mittel- und Westsibiriens brütende Wacholderdrossel breitet ihr Verbreitungsgebiet immer weiter aus und ist mittlerweile auch schon nördlich der Alpen beschrieben (Slotta-Bachmayr und Winding, 1994). Die Wacholderdrossel ist ein Brut-, Sommer- oder Jahresvogel sowie häufiger Durchzügler und in vielen Regionen Europas sogar Wintergast. Während der Brutzeit nutzt die Drossel halboffene Landschaft an Waldrändern oder Gebüschgruppen mit angrenzendem Grünland und Äckern für die Nahrungssuche. Außerhalb der Brutzeit werden vor allem Grünflächen besiedelt, im Herbst und Winter auch Areale mit Beeren und Fallobst (Winkler et al., 2014). Hauptnahrungsquelle der Wacholderdrossel sind Regenwürmer sowie Wirbellose, aber auch Beeren und Obst (Slotta-Bachmayr und Winding, 1994). In Nord- und Mitteleuropa wandert die Drossel je nach Futterangebot unterschiedlich weit, sie wird dadurch auch als Kurzstreckenzieher bezeichnet (Wysocki, 2002).

Mit der Eiablage beginnen die Vögel je nach Wetterlage ab Ende März bis Mitte April. Die Hauptbrutperiode ist mit Mitte Juli meist abgeschlossen. Ab September setzt der Herbst-Abzug ein und im November kehren die Wintergäste ein (Wysocki, 2002). Das Wintergebiet erstreckt sich über Portugal und Spanien, Island, Großbritannien, der Nordseeküste, dem europäischen Mittelmeerraum bis nach Kleinasien, Israel und Ägypten (Winkler et al., 2014). Im Frühling beginnt ab Anfang März die mittlere Erstankunft in Österreich (Slotta-Bachmayr und Winding, 1994).

### 3.3 Singdrossel – *Turdus philomelos*

Die Singdrossel trägt ihren Namen zu Recht, da sie zu den besten Sängern der einheimischen Singvögel gehört (Okulewicz, 1979). Sie zählt zu den Brut-, Sommer- oder Jahresvögeln sowie zu den Durchzüglern. In wintermilden Gegenden bleibt sie auch oft als Wintergast (Winkler et al., 2014). Im Westen und Südwesten Europas ist die Singdrossel als Standvogel bis Kurzstreckenzieher vertreten (Slotta-Bachmayr und Winding, 1994).

In Mitteleuropa brütet sie vom Tiefland in Wäldern und Parks, bis hin zur Waldgrenze in geschlossenen Nadelwäldern. In baumfreien Gebieten ist die Singdrossel nicht vertreten.

Mit der Eiablage beginnt die Drossel ab Mitte April. Danach ab Mitte August setzt der Herbst-Abzug nach Westen bis Südwesten ein. Hauptdurchzugszeit ist in Mitteleuropa von Mitte September bis Mitte Oktober. Der Heimzug nach Österreich beginnt ab Februar, wobei Anfang März die ersten Tiere ankommen (Winkler et al., 2014). Viele der in Österreich bringenden

Singdrosseln wurden als Totfund gemeldet, daher ist die genaue Lage der Winterquartiere der Tiere noch nicht geklärt (Schmidt et al., 2014).

Die Hauptnahrungsquelle der Singdrosseln sind Würmer, Schnecken, Insekten, Samen, Früchte und Beeren. Letztere beiden werden von den Tieren eher im Herbst und Winter aufgenommen (Okulewicz, 1979). Sie suchen sich ihr Futter am Boden. Die Vögel haben bestimmte Plätze (Drosselschmiede genannt), an denen sie z.B. Schneckenhäuser auf Steinen zerkleinern, um diese dann problemlos zu verspeisen (Slota-Bachmayr und Winding, 1994).

## 4 VEKTOREN

Da sowohl Trypanosomatidae als auch Filarien von Vektoren übertragen werden und bei den meisten dieser Vertreter bei Turriden der Vektor nicht bekannt ist, wird in Folge nur auf eine Gruppe von potentiellen Vektoren eingegangen.

### 4.1 Stechmücken – Allgemeines & Lebenszyklus

Stechmücken (Culicidae) sind eine Familie von Insekten, die zur Ordnung der Zweiflügler (Diptera) gehören (Niewiadomska und Pojmańska, 2004). Weltweit gibt es mehr als 3000 Stechmückenarten (Schoener et al., 2018).

Erwachsene Stechmücken sind je nach Art und Ernährung unterschiedlich groß, selten größer als 15 mm (Zittra, 2013). Ihre Flügel sind häutig, teilweise beschuppt. Sie wiegen etwa 2 bis 2,5 mg.

Die Männchen sind kleiner als die Weibchen, man erkennt sie vor allem an ihren buschigeren Fühlern (Mohrig, 1969). Stechmücken können mit einer Geschwindigkeit von 1,5 – 2,5 km/h fliegen. Die Flughöhe ist abhängig von der jeweiligen Mückenart, der Höhe des Aufenthaltsortes über dem Meeresspiegel, vom Wetter, vom Luftdruck, der Temperatur und den Lichtverhältnissen. Bei warmem, windstillem Wetter mit leichter Bewölkung ohne starke, direkte Sonneneinstrahlung sind die Stechmücken am aktivsten (Zittra, 2013).

Mit Hilfe spezialisierter Mundwerkzeuge, dem stechend-saugenden Rüssel, können weibliche Stechmücken die Haut ihrer Wirte durchstechen und so Blut saugen. Die weiblichen Tiere benötigen die mit der Blutmahlzeit aufgenommenen Proteine für die Produktion der Eier. Ansonsten ernähren sich weibliche, als auch männliche Tiere, von Nektar und anderen zuckerhaltigen Pflanzensäften (Mohrig, 1969). Unterschiedliche Stechmückenarten können auf verschiedene Wirte oder Wirtsgruppen spezialisiert sein. Ornithophile Arten saugen vorzugsweise Blut an Vögeln, anthropophile an Menschen und mammalophile an anderen Säugetierarten (Becker et al., 2010).

In einer Studie wurde bewiesen, dass Stechmücken dank ihrer geringen Masse Kollisionen mit Regentropfen überstehen. Dabei verkraften sie Beschleunigungen zwischen 100 und 300 g, die höchste Beschleunigung im Tierreich (Dickerson et al., 2012).

Die Paarung erfolgt bei bestimmten Arten (wie z.B. bei *Cx. pipiens* biotype *pipiens*) in so genannten Paarungsschwärmen, meist zur Dämmerung. Die Schwärme bestehen zum größten Teil aus Männchen, sich nähernde Weibchen fliegen in den Schwarm hinein und werden so

begattet. Dabei orientieren sich die Männchen am Summton der Weibchen, den sie mit speziellen Hörorganen an der Basis ihrer buschigen Antennen wahrnehmen (Zittra, 2013).

Das Leben einer Stechmücke gliedert sich in verschiedene Stadien: Ei, Larve, Puppe und Imago. Wie alle Zweiflügler unterlaufen Stechmücken eine komplette Metamorphose. Nachdem die Larven aus den Eiern geschlüpft sind durchlaufen sie vier Stadien (L1-L4). Nach der letzten Häutung werden sie zur Puppe, aus der dann die adulte Stechmücke (Imago) schlüpft (Peus, 2003). Der genaue Ablauf kann auch in der Abbildung 1 nachvollzogen werden.

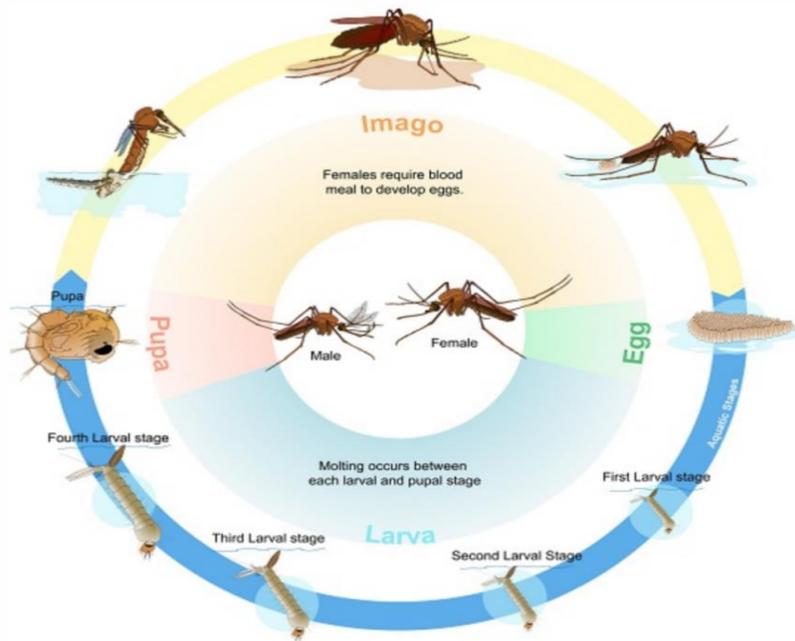


Abbildung 1 - Lebenszyklus der Stechmücke (<https://www.biogents.com/life-cycle-mosquitoes/>).

Wie bereits erwähnt benötigen die meisten weiblichen Stechmücken zur Eiablage eine vorangegangene Blutmahlzeit. Zwei bis vier Tage danach werden die Eier (50-500 Stück) abgelegt (Mohrig, 1969). Die Eier werden entweder einzeln oder in Bündeln/Eipaketen auf der Wasseroberfläche abgelegt. Die geschlüpften Larven halten sich auf, beziehungsweise knapp unter, der Wasseroberfläche auf und haben je nach Stechmückenart unterschiedliche Strategien um Sauerstoff zu atmen (Peus, 2003). Als Nahrung dienen Algen, Mikroorganismen, Protozoen oder kleine Teile von anderen Larven und Insekten (Zittra, 2013). Die Puppe ist ebenso aquatisch, benötigt aber keine Nahrung und ist relativ resistent gegen Umwelteinflüsse. Es dauert in etwa zwei Tage bis die komplette Metamorphose abgeschlossen ist. Nach Abschluss der Metamorphose dauert es noch ca. ein bis eineinhalb Tage bis sich der Metabolismus der adulten Stechmücke vollständig entwickelt hat (Peus, 2003).

Je nach Art gestaltet sich der Entwicklungszyklus anders. Es hängt aber auch stark von anderen Umwelteinflüssen wie Temperatur, Nahrungsangebot und Feuchtigkeit ab. In manchen Fällen dauert die Entwicklung vom Eistadium zum Imago nur wenige Tage, in anderen mehrere Wochen, wenn nicht sogar Jahre (Zittra, 2013). Bei optimalen Bedingungen ist die vollständige Entwicklung im Durchschnitt in 10-14 Tagen abgeschlossen (Becker et al., 2010).

## **4.2 Stechmücken als Krankheitsüberträger**

Durch den Stich können mit dem Speichel der Stechmücke Krankheitserreger wie Viren, Bakterien oder einzellige und mehrzellige Parasiten übertragen werden. Diese Erreger wurden von der Mücke bei einer vorangegangenen Blutmahlzeit aufgenommen. Die Krankheitserreger vermehren sich in der Stechmücke und wandern in die Speicheldrüsen (Becker et al., 2010). Die Mücke muss ebenfalls infiziert werden, um den Erreger weiter zu verbreiten. Deshalb kann nicht jede Mücke jeden Erreger übertragen (Zittra, 2013). Die Zeitspanne zwischen der Aufnahme eines Krankheitserregers und der Möglichkeit, ihn weiterzugeben, wird bei Stechmücken und anderen Krankheitsvektoren „extrinsische Inkubationszeit“ genannt. Sie ist temperaturabhängig und dauert meistens zwischen 10 und 14 Tagen. Sticht ein infizierter Vektor also vor Ablauf der extrinsischen Inkubationszeit einen Wirt, kann die Krankheit noch nicht weitergegeben werden (Becker et al., 2010).

Wie bei allen Vektoren ist potentiell auch eine mechanische Übertragung durch Erregeranhaftung (Kontamination) des Stechrüssels der Stechmücke möglich, wenn das Insekt während der Nahrungsaufnahme bei einem infizierten Wirt gestört wird und alsbald auf einem anderen, nicht infizierten Wirt weitersaugt (Peus, 2003). In Realität ist jedoch eine erhebliche Menge von Erregern für eine Infektion erforderlich. Ob diese Mindestmenge nur durch eine Kontamination des Stechrüssels erreicht werden kann ist fraglich (Becker et al., 2010).

Einige der wichtigsten von Stechmücken übertragenen Krankheitserregern sind das West-Nil-Virus, das hauptsächlich Vögel und Pferde betrifft, aber auch bei Menschen Fieber auslösen kann, verschiedene Wurmerkrankungen (Filariose, Dirofilariose), die Vogel malaria und humane Malaria (Plasmodien) (Van Dyken et al., 2006). Die humane Malaria wurde in den 1950er bis 1960er Jahren durch das gute Gesundheitssystem hierzulande ausgerottet, einige hiesige Stechmücken hätten aber weiterhin das Potential, Malaria bei Menschen zu übertragen (Valki nas, 2005).

## 4.3 Stechmücken in Österreich

Von den weltweit knapp 3000 Arten Stechmücken sind in Europa 104 und in Österreich 51 zu finden. Die bekanntesten davon sind die Haus- und Überschwemmungsmücken.

Durch die globale Erwärmung kommen aber auch immer mehr gebietsfremde Arten nach Österreich, wie zum Beispiel die Japanische Buschmücke (*Aedes japonicus*). Diese hat sich im Osten bereits etabliert und vom südlichen Burgenland nordwärts bis Niederösterreich ausgebreitet. Die Asiatische Tigermücke (*Aedes albopictus*) ist vorwiegend in Tirol entlang der Inntalautobahn auf dem Weg von Italien nach Deutschland zu finden, meistens jedoch nur in Form von Larven und Eiern. Von ihr gibt es noch keine stabilen Populationen, die in Österreich überwintern. Bei weiterer Erwärmung könnte sie sich aber auch etablieren (Becker et al., 2010; Dzika, 2003, Schoener et al., 2018).

### 4.3.1 Hausmücken

Zu den Hausmücken zählen vor allem die *Culex*-Arten. Sie sind typische Kulturfolger, die in die Häuser der Menschen eindringen und als erwachsene Tiere in deren Wohnbereichen oder Kellern überwintern. Sie sind dämmerungsaktiv und benötigen keine Überschwemmungsgebiete zur Eiablage. Ihnen reichen dafür kleinste Wassermengen wie Wasserlacken, Blumenuntersetzer oder Vogeltränken. Hausmücken legen mehrmals pro Jahr ihre Eier abhängig von den vorherrschenden Klimabedingungen ab. Die Weibchen überwintern, wie oben schon kurz erwähnt, in frostfreien Räumen wie Kellern, Dachböden, Schuppen, Baumritzen oder Erdlöchern (Becker et al., 2010; Mohrig, 1969; Zित्रa, 2013).

### 4.3.2 Überschwemmungsmücken

Zu den Überschwemmungsarten zählen vor allem die *Aedes*- und *Ochlerotatus*-Arten. Für die Eiablage benötigen sie trockenliegende Überschwemmungsgebiete. Die Eier können über mehrere Jahre im feuchten Boden überleben. Wenn der Wasserpegel nach dem nächsten Hochwasser wieder zu sinken beginnt schlüpfen sie oft massenhaft. Die Überschwemmungsmücken treten daher vor allem nach Überflutungen in den Auen auf.

Die Adulten dieser Arten bleiben für gewöhnlich in der Nähe ihrer Brutstätten. Sie sterben spätestens im Herbst, wenn nicht schon beim nächsten Wetterumschwung, ab (Becker et al. 2010; Mohrig, 1969; Zित्रa, 2013).

## 5 TRYPANOSOMATIDAE

### 5.1 Allgemein

Trypanosomen zählen zu den Protozoen und gehören zum Stamm der Euglenozoa (Abb. 2). Sie wurden erstmals von David Gruby vor mehr als 150 Jahren beschrieben (Gruby, 1843).

Trypanosomen sind einzellige, geißeltragende und daher bewegliche Einzeller und kommen weltweit vor. Sie haben einen schlanken Zellkörper und besitzen eine Geißel, auch Flagellum genannt. Außerdem besitzen sie als eigenständige Substruktur des Mitochondriums einen Kinetoplasten, ein Organell, das eine große Anzahl verketteter DNA Zyklen mit autonomer Replikation enthält (Eckert et al., 2012; Gruby, 1843).

Trypanosomen leben parasitär in verschiedensten Wirbeltieren, von Fischen bis hin zu Säugetieren und auch Reptilien, und werden vorwiegend von Insekten übertragen. Jede Trypanosomen Art hat ein begrenztes Spektrum von Zwischenwirten und daher können die jeweiligen Arten nur in Gebieten existieren in denen auch der Zwischenwirt vorkommt. Als Vektoren und Zwischenwirte kommen unter anderem Raubwanzen, Bremsen, Tsetsefliegen, Kriebelmücken, Stechmücken, Lausfliegen und Flöhe vor (Eckert et al., 2012; Svobodová et al., 2015).

Alle Trypanosomen leben parasitär und machen einen Wirtswechsel zwischen einem Wirbeltierwirt und einem Arthropoden durch. Im Vektor findet meist die Vermehrung statt. Sie vermehren sich durch Längs- und Mehrfachteilung. Im Darmtrakt der Insekten befinden sich in der Regel die epimastigoten Formen, während sich im Wirbeltierwirt die trypomastigoten Formen befinden. Im Endwirt leben die Trypanosomen in Körperflüssigkeiten wie im Blut, in der Lymphe, in der Herzbeutelflüssigkeit oder auch im Liquor cerebrospinalis (Ecker et al., 2012; Gruby 1843).

Eine Besonderheit der Trypanosomen ist, dass sie zu einer Antigenvariation fähig sind. Diese Vorgänge sind am besten an den afrikanischen Trypanosomen untersucht. Grund ist der, dass ihre gesamte Zelloberfläche durch ein variables Glykoprotein abgedeckt ist. Dieses Protein kann leicht abgespalten und durch ein neues ersetzt werden, mit dem der Wirt bisher noch nicht konfrontiert wurde. Dadurch entziehen sich die Parasiten der sonst effizienten humoralen Abwehr des Wirtes (Eckert et al., 2012).

Unter dem Begriff Trypanosomase/-ose werden Infektionskrankheiten, die durch Trypanosomen ausgelöst werden, zusammengefasst. Sie können ernsthafte Erkrankungen beim Menschen, als auch beim Heim- und Nutztier auslösen und werden daher gründlich erforscht.

Die bedeutendsten Krankheiten beim Menschen sind die Schlafkrankheit und die Chagas Krankheit. Beim Tier sind die Wichtigsten Nagana, Surra und Dourine (Balakrishnan and Zumla, 2001; Kirchhoff, 2001; Taylor et al., 2007).

Im Gegensatz zu den Trypanosomen die vor allem Säugetiere als ihre Wirte nutzen sind die Trypanosomen die Vögel als Wirte verwenden in den meisten Fällen harmlos und Schaden ihren Wirten nicht (Macfie and Thomson, 1929; Baker, 1976).

<b>Stamm: Euglenozoa</b>		
<b>Unterstamm: Kinetoplasta, Klasse: Kinetoplastea</b>		
Trypanosomatida	Trypanosomatidae	<i>Trypanosoma</i> , <i>Leishmania</i>
Bodonida	Bodonidae	<i>Cryptobia</i> , <i>Ichthyobodo</i> , <i>Trypanoplasma</i>

Abbildung 2 - Stamm der Euglenozoa

Im Zuge einer Studie in den Jahren 2014-2015 wurde das Auftreten und die Vielfalt von Trypanosomatiden in Stechmücken in Österreich untersucht (Schoener et al., 2018). Es wurden insgesamt 29.975 Moskitos von 19 Arten gefangen und genauer untersucht. Es waren 298 (17,7 %) positiv auf Trypanosomatiden-DNA. Die Mehrheit der hier nachgewiesenen Trypanosomen Arten infizieren Säugetiere (Zidkova et al., 2011).

Die Übertragung von vielen Trypanosomatiden erfolgt entweder durch den Stich der blutsaugenden Vektoren, in denen sich Parasiten im vorderen Teil des Verdauungstraktes der Vektoren oder in den Speicheldrüsen der Vektoren (z.B. *Trypanosoma brucei* in Tsetsefliegen) befinden, oder durch die Kontamination der Wirtshaut und/oder Bindehaut durch Vektorfäkalien während und nach dem Blutsaugen.

Da die morphologische Differenzierung von Trypanosomen unmöglich ist (Desquesnes & Dávila, 2002), kann man nur mittels molekularer Techniken die verschiedenen Trypanosomen auf Artniveau identifizieren.

## 5.2 Trypanosomen beim Vogel: Arten, Vektoren, Übertragungswege

Nach jüngsten molekularphylogenetischen Studien (Votýpka et al., 2002, 2004; Hamilton et al., 2007) bilden Vogel-Trypanosomen verschiedene Kladen, die nach den wichtigsten Arten benannt sind: *Trypanosoma avium*, *Trypanosoma corvi* und *Trypanosoma bennetti*.

*T. avium* kommt weltweit auf allen Kontinenten vor, mit Ausnahme der Polargebiete (Baker, 1976; Apanius, 1991; Bennett et al., 1992; Allander and Bennett, 1994).

Manche Vögel sind mehr betroffen als andere. Singvögel und Greifvögel am häufigsten, während Gänse, Enten und Sperlinge eher selten infiziert werden (Kucera, 1983).

Die meisten Beschreibungen von *Trypanosoma avium* stammen aus den Jahren 1900-1921 (Podlipaev, 1990). Ein Vogel kann verschiedene Trypanosoma-Arten beherbergen (Zídková et al., 2011). Aviäre Trypanosomen sind eine viel weniger bekannte Gruppe von Trypanosomen, obwohl bisher beinahe 100 verschiedene Trypanosomenarten beschrieben wurden (Baker, 1976; Podlipaev, 1990; Sehgal et al., 2001).

Generell sind Moskitos weltweit eine der wichtigsten Vektoren von diversen Pathogenen. Im Vergleich zu anderen blutsaugenden Arthropoden sind Moskitos aber schlechte Vektoren von Trypanosomen (Votýpka et al., 2012). Die Biologie der aviären Trypanosomen (Vektoren, Lebenszyklen, Wirts- und Vektorspezifität) ist wenig bekannt, obwohl einige Arten für ihren Wirt pathogen sein könnten (Molyneux et al., 1983).

In einer Studie wurde die experimentelle Übertragung von aviären Trypanosomen von Insektenvektoren auf Vogelwirte (Amseln) mit *Eusimulium latipes* (Votýpka & Svobodová, 2004) und *Simulium rugglesi* (Desser et al., 1975) erreicht, während die Lausfliege (*Ornithomyia avicularia*) Parasiten der *Trypanosoma corvi*-Klade übertragen konnte (Baker, 1956; Mungomba et al., 1989).

Obwohl Moskitos mehrfach als Vektoren von Vogeltrypanosomen angesehen wurden (erstmalig 1904 von Schaudinn), und mehrere Übertragungsversuche mit Moskitos und Vögeln durchgeführt wurden (David und Nair, 1955; Bennett, 1961; Chatterjee, 1977), ist die Rolle der Moskitos bei der Übertragung von Vogel-Trypanosomen in der Natur noch nicht eindeutig nachgewiesen (Votýpka et al., 2012).

Ein Übertragungsweg ist die orale Aufnahme infizierter Vektoren. Außerdem kann es zu einer Kontamination abgeschürfter Haut- oder Wirtskonjunktiven kommen. Dies kann durch Parasiten die in Vektorfäkalien vorhanden sind passieren (Baker, 1956; Mungomba et al., 1989; Desser et al., 1975; Votýpka & Svobodová, 2004).

Die bei Vögeln vorkommende Spezies *Trypanosoma culicavium* wurde nur in Moskitos der Gattung *Culex* nachgewiesen.

Die Identifizierung von Vogel-Trypanosomen und deren Übertragungswege erfordert, dass die in Vektoren gefundenen Trypanosomen mit denen von Wirbeltierwirten verglichen werden (Votýpka et al., 2012). In einer vorherigen Studie (Votýpka et al., 2002) werden kleinunterteilte (SSU) rRNA-Gensequenzen verglichen, um ornithophile Simuliidae als wahrscheinliche Vektoren von Vogel-Trypanosomen nachzuweisen, was später experimentell auch bestätigt wurde (Votýpka & Svobodová, 2004). Darüber hinaus gehörte ein Moskito-Isolat, das als CUL1 markiert war, zur Gattung *Trypanosoma*, war aber nicht vergleichbar mit *T. avium sensu stricto*, das von Bremsen isoliert wurde (Votýpka et al., 2002).

Es wurde also eine neuartige Trypanosomen-Art, *Trypanosoma culicavium* sp. nov., beschrieben (Votýpka et al., 2012).

Vogel-Trypanosomen werden also durch verschiedenste Wege und Vektoren übertragen; jedoch wird der Vogel durch das bloße Vorhandensein von Trypanosomen in einem blutsaugenden Wirbellosen nicht infiziert. Nur wenn sich die Parasiten im Vektor erfolgreich vermehren können, kann es zu einer Übertragung auf Wirbeltierwirte kommen (Votýpka et al., 2012). Dies konnte in einem Versuch mit Bussarden gezeigt werden. Denn trotzdem die Prävalenz von Trypanosomen in Moskitos im betrachteten Zeitraum bis zu 10 % betrug waren alle Bussarde negativ auf *T. culicavium* (Votýpka et al., 2012).

Diese Ergebnisse, zusammen mit Transmissionsexperimenten auf Kanarienvögel sowie der Isolierung von *T. culicavium* ausschließlich aus mückenfressenden Passerinen, deuten darauf hin, dass die Infektion durch einen Stich keine wesentliche Rolle bei der natürlichen Übertragung spielt und dass *T. culicavium* in der Tat in erster Linie durch die orale Aufnahme von infizierten Mücken übertragen wird (Votýpka et al., 2012).

*T. culicavium* wird vor allem in passerinen Vögeln nachgewiesen und von Stechmücken der Gattung *Culex* übertragen. *T. avium* hingegen besitzt ein weites Wirtsspektrum und kann mehrere Vogelordnungen und Familien befallen. *T. avium* wird vor allem über Kriebelmücken (*Simulium* spp.) übertragen (Schoener et al. 2018).

### 5.3 *Trypanosoma culicavium*

Ein neuartiges Vogel-Trypanosom, *Trypanosoma culicavium* sp. nov., wurde anhand von natürlich und experimentell infizierten Vektoren und Vogelwirten beschrieben. *Trypanosoma culicavium* wurde aus *Culex*-Mücken isoliert (Votýpka et al., 2012).

Diese Studie lieferte die erste umfassende Beschreibung einer Trypanosomenart, die von Moskitos übertragen wird. Die Übertragung von Parasiten auf Vogelwirte erfolgte ausschließlich durch die Aufnahme von experimentell infizierten *Culex*-Mückenweibchen durch Kanarienvögel (*Serinus canaria*) (Votýpka et al., 2012).

Transmissionsexperimente und die Identität von Isolaten aus Halsbandschnäppern (*Ficedula albicollis*) und *Culex*-Mücken legen nahe, dass die natürlichen Wirte von *T. culicavium* insektenfressende Singvögel (*Passeriformes*) sind. Analysen von kleinunterteilter rRNA und glykosomalen Glycerinaldehyd-3-phosphat-Dehydrogenase-Gensequenzen zeigten, dass *T. culicavium* sp. nov. mehr mit *Trypanosoma corvi* verwandt ist als mit anderen aviären Trypanosomen (z.B. *Trypanosoma avium* und *Trypanosoma bennetti*).

Das erste Isolat von *Trypanosoma culicavium* (Isolat ICUL/CZ/1998/CUL1) wurde 1998 aus der Stomodalklappe eines *Culex pipiens* (Culicidae, Diptera) isoliert, das in Südmähren gefangen wurde (Votýpka et al., 2012).

Vogel-Trypanosomen werden, wie in dieser Arbeit bereits erwähnt, also durch verschiedenste Wege und Vektoren übertragen; jedoch wird der Vogel durch das bloße Vorhandensein von Trypanosomen in einem blutsaugenden Wirbellosen nicht unbedingt infiziert. Nur wenn sich die Parasiten im Vektor erfolgreich ansiedeln können, kann es zu einer Übertragung auf Wirbeltierwirte kommen.

Bussarde, die leicht von *Culex* Mücken gestochen wurden, wurden untersucht und waren alle negativ auf *T. culicavium*, obwohl die Prävalenz von Trypanosomen in den Moskitos bis zu 10 % betrug (Votýpka et al., 2012).

Diese Ergebnisse, zusammen mit Transmissionsexperimenten auf Kanarienvögel sowie der Isolierung von *T. culicavium* ausschließlich aus mückenfressenden Passerinen, deuten darauf hin, dass die Infektion durch einen Stich keine wesentliche Rolle bei der natürlichen Übertragung spielt und dass *T. culicavium* in der Tat in erster Linie durch die orale Aufnahme von infizierten Mücken übertragen wird (Votýpka et al., 2012).

## 6 FILARIEN

### 6.1 Allgemein

Die Filarien zählen zu den Nematoden (Fadenwürmer), die die Familien Filariidae und Onchocercidae umfassen. Aviäre Filarien werden vorwiegend bei Staren (Sturnidae), Drosseln (Turdidae) und Rabenvögeln (Corvidae) gefunden. Filarien sind schlanke, fadenförmige Würmer mit einem abgerundeten Vorderende. Sie können, je nach Art, unterschiedlich lang (2-50 cm) werden. Die Larvenstadien der Filarien sind viel kleiner und werden als Mikrofilarien bezeichnet (Simón et al., 2012; Boch und Supperer, 2000).

Filarien leben in Blut- und Lymphgefäßen von Wirbeltieren, als auch in Bindegewebsspalten. Sie sind meist lebendgebärend und setzen ihre Larven, die Mikrofilarien oder embryonierten Eier direkt in Gefäße oder Gewebe ab. Diese Mikrofilarien, Erstlarven L1, werden von blutsaugenden Arthropoden aufgenommen und entwickeln sich dort zu den infektiösen Larven (L3) weiter. Über den Speichel werden sie dann auf den Endwirt übertragen. Die Entwicklung vom ersten Larvenstadium zur infektiösen Larve erfolgt über zwei Häutungen im Zwischenwirt. Übertragen werden sie durch blutsaugende Insekten wie Mücken, Bremsen, Zecken oder Gnitzen (Atkinson et al., 2008; Simón et al., 2012; Eckert et al., 2012; Zittra, 2015).

Erkrankungen, die auf die Infektion mit Filarien zurückgehen werden als Filariosen bezeichnet. Die wichtigsten Erreger beim Menschen und bei Tieren werden in den Tabellen 1 und 2 gezeigt (Simón et al., 2012).

Tabelle 1 - Krankheitserreger beim Menschen

<b>Erreger</b>	<b>Vektor</b>	<b>Erkrankung</b>
<i>Wuchereria bancrofti</i>	Culiciden	lymphatische Filariose
<i>Brugia malayi</i>	Culiciden	lymphatische Filariose
<i>Brugia timori</i>	Culiciden	lymphatische Filariose
<i>Loa loa</i>	Bremsen	Loiasis
<i>Onchocerca volvulus</i>	Kriebelmücken	Onchozerkose

Tabelle 2 - Krankheitserreger bei Tieren

<b>Erreger</b>	<b>Vektor</b>	<b>Erkrankung</b>	<b>Wirte</b>
<i>Dirofilaria immitis</i>	Culiciden	Herzwurm	Hunde, Katzen, Frettchen, Füchse, Kojoten, Wölfe, Dingos
<i>Dirofilaria repens</i>	Culiciden	Hautwurm	Katzen, Füchse, Hunde
<i>Onchocerca tubingensis</i>	Gnitzen, Kriebelmücken	Unterhautfilarie	Rothirsch
<i>Parafilaria multipapillosa</i>	Culiciden	Unterhautfilarie	Pferde

Durch die klimatischen Veränderungen kommt es zu einer Veränderung der Parasitenfauna. Das liegt daran, dass sich die Anwesenheit der Arthropoden, die als Vektoren dienen, verändern (Joachim, 2008).

Im Fall der Filarien dienen die Insekten nicht nur als Vektoren, sondern auch als Zwischenwirte. Durch Moskitos übertragene Krankheiten zählen zu den besonders klimaabhängigen Krankheiten. Nicht nur die Stechmücken zieht es in die wärmer werdenden Gebiete, auch die Entwicklung der Mikrofilarien zu infektiösen Larven ist temperaturabhängig. Ferner ist die Stich- und Saugfrequenz bei höheren Temperaturen erhöht (Atkinson et al., 2008). Somit ist eine Ausbreitung nach Norden auch bei den Filarien zu erwarten, wie bereits bei *Dirofilaria repens* schon nachweislich geschehen (Simón et al., 2012) (Abb. 3).

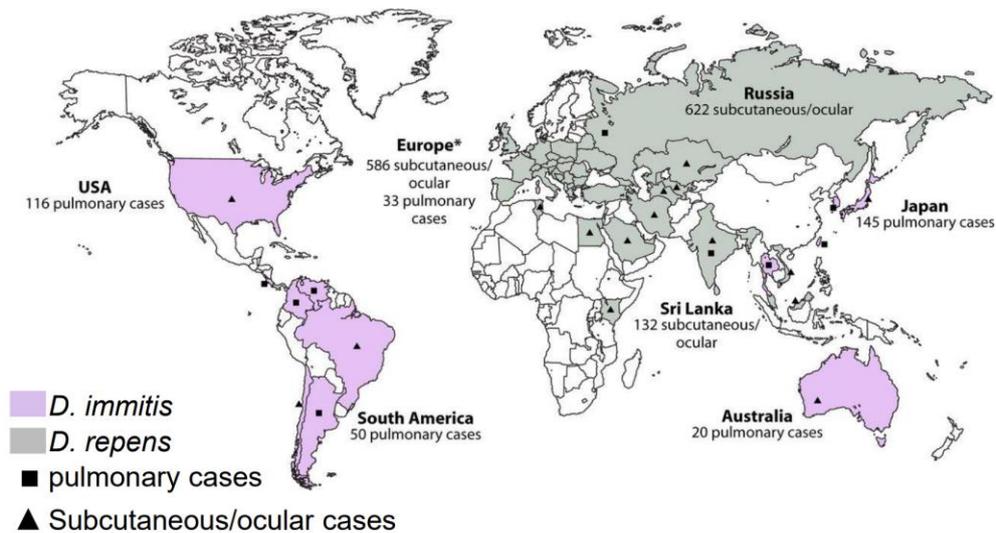


Abbildung 3 - *D. immitis* und *D. repens* (Simón et al., 2012)

## 6.2 Filarien beim Vogel

In der Tschechischen Republik wurden Blutproben von mehr als 1.100 Passerineformen von 40 verschiedenen Arten auf das Vorkommen von Mikrofilarien untersucht und das Vorkommen in den verschiedenen Jahren verglichen. Im Jahr 2005 waren drei von 677 Vögeln mit 31 Arten (Prävalenz 0,4 %) in der Nachnistzeit mit Mikrofilarien infiziert. Während der Vornistzeit im Jahr 2007 waren elf von 438 Vögeln von 31 Arten mit Mikrofilarien infiziert (Prävalenz 2,5 %) (Haas et al., 2011). Sowohl die Vor- als auch die Nachnestsuntersuchungen wurden am gleichen Ort im Nordosten der Tschechischen Republik durchgeführt. Die Mikrofilarien der Arten *Eufilaria delicata* und *Ornithofilaria mavis* wurden in *Turdus merula*, *Turdus philomelos* und *Erithacus rubecula* gefunden. Einzelne Vogelindividuen von *Poecile montanus* waren mit unbestimmten Mikrofilarien infiziert (Haas et al., 2011).

Des Weiteren wurde im Nordwesten von Polen 2014 eine Studie durchgeführt, um die parasitäre Fauna von städtischen und ländlichen Amselpopulationen zu vergleichen (Rząd et al., 2014).

Insgesamt wurden 24 Helminthenarten in 98 Amseln gefunden. In der Waldpopulation der Amsel (23 Arten) wurde ein höherer Artenreichtum festgestellt als in der städtischen Population (14 Arten). Die meisten parasitologischen Parameter wurden durch den städtischen Lebensraum stark reduziert. Außerdem wurde im Frühjahr ein höherer Artenreichtum festgestellt (17 Arten) als im Herbst (14 Arten). Die Helminthen-Fauna der Amsel scheint also ein guter Indikator für die Umweltqualität zu sein (Rząd et al., 2014). Dass Parasiten ein guter Indikator für die

Umweltqualität sein können, wurde auch schon durch die Erforschung der parasitären Fauna von Fischen festgestellt (Dzika, 2003).

Eine vergleichende Studie über die Nematodenfauna von Amseln in städtischen und forstlichen Lebensräumen wurde schon von Okulewicz A. (1979) durchgeführt. Die städtische und ländliche Amselpopulation unterscheidet sich in Bezug auf biologische und ethologische Merkmale, einschließlich des Umfangs der saisonalen Migrationen, der Ernährung und der Art und Weise der Nahrungsbeschaffung (Rzad et al., 2014).

Während die meisten Amseln aus den ländlicheren Teilen für den Winter wandern, sind die städtischen Amseln eher sesshaft, da ihr Drang zur Migration verschwunden ist (Graczyk, 1961). Wie von Bush (1990) festgestellt, ist ein saisonaler Charakter der Umweltqualität einer der Faktoren, die eine wichtige Rolle bei der Helminthenverteilung spielen können. Dies ist besonders wichtig bei Zugvögeln, da die Frühjahrs- und Herbstwanderungen die Möglichkeit bieten, zahlreiche Parasitenarten zu übertragen (Niewiadomska und Pojmańska, 2004).

Darüber hinaus sind auch das Alter und das Geschlecht des Wirtes Faktoren, die häufig die Struktur einer Parasitengemeinschaft mitbestimmen. (Bush, 1990). Amseln sind die einzige Drosselart, die sexuellen Dimorphismus zeigt. Aufgrund dieser Tatsache wurde nur bei ihnen auf Unterschiede in Körpergröße und Gewicht von Männchen und Weibchen geachtet. Die Ergebnisse sind jedoch ähnlich (Wysocki, 2002). Nur die Weibchen bauen Nester, aber sonst führen beide Geschlechter einen ähnlichen Lebensstil. Es wurden keine Unterschiede zwischen Weibchen und Männchen in Bezug auf Filarien festgestellt (Rzad et al., 2014).

## **7 MATERIAL & METHODIK**

### **7.1 Sammeln der Blutproben & DNA Extraktion**

An der Veterinärmedizinischen Universität in Wien wurden diverse Drosseln beprobt. Es waren Amseln, Singdrosseln und Wacholderdrosseln von denen Daten gesammelt wurden. Die Proben wurden in der Abteilung für Pathobiologie (Institut für Pathologie) von toten Vögeln zwischen 2003 und 2007 während eines Projekts gesammelt, das die Prävalenz des Usutu-Virus in österreichischen Singvögeln untersucht (Chvala et al., 2007). Gewebeproben wurden aus Organen (Gehirn, Leber und Milz) von toten Vögeln entnommen, die bei -80 °C gelagert wurden.

An der Internen Medizin für Kleintiere, Service für Vögel und Reptilien, wurden 2017 und 2018 Blutproben von lebenden Vögeln entnommen, indem die V. jugularis dextra durchstoßen und heparinisierte Mikrokapillaren verwendet wurden. Ein Tropfen Blut wurde auf Filterpapier übertragen, aus denen später die Vogel DNA extrahiert wurde.

Die Vogel DNA wurde entweder aus gefrorenem Lebergewebe oder Blutropfen auf Filterpapier mit dem DNeasy Blood & Tissue Kit (QIAGEN, Venlo, Niederlande) isoliert. Es wurde dem Herstellerprotokoll für die Isolierung von DNA aus Gewebe gefolgt, jedoch wurden zwei Eluate von je 100 µl aus derselben Säule hergestellt, das erste mit 8000 U/min, das zweite mit 13000 U/min. Das zweite Eluat, welches zur Verfügung gestellt wurde, wurde für die PCRs verwendet. Die DNA-Proben wurden vom Institut für Pathologie für die Analyse auf Trypanosomen und Filarien zur Verfügung gestellt.

### **7.2 PCR - Trypanosomatidae**

#### **7.2.1 Pipettierschema Nest 1 - Trypanosomatidae**

Der Nachweis von Trypanosomen wurde mittels Nested-PCR durchgeführt, also zwei PCR Durchgänge waren dafür notwendig. Das Primerpaar für das Nest 1 ist in Tab. 3 ersichtlich. Es wurden Primer verwendet, die an das 18S-Gen binden und so den Nachweis von Trypanosomatidae ermöglichen (Hamilton et al., 2007).

Es wurden 24 µl Mastermix mit 1 µl Proben DNA versetzt. Die genauen Reagenzien und Mengenangaben sind in Tab. 4 zu finden. Mit den zu untersuchenden Proben wurde auch immer

eine Positiv- und eine Negativ-Kontrolle mitverarbeitet. Als Positivkontrolle wurde *T. culicavium* und *T. avium* verwendet. Die Temperaturkurve wurde laut Tab. 5 eingestellt.

Nach dem initialen Auftrennen der DNA Doppelstränge (Denaturierung) folgen die Schritte Annealing und Elongation. Der gesamte Vorgang wird nach 30 solcher Zyklen mit der finalen Elongation abgeschlossen. Die Reaktion dauert 2:10 h.

Die erwartete Nest 1 Produktgröße für Trypanosomen beträgt ~2000 bp.

Tabelle 3 - Primer zur Verifizierung von Trypanosomatidae Nest 1

Primer Nest 1	Name	Sequenz (5'-3')
Forward	S762F	5'-GACTTTTGCTTCCTCTA(A/T)TG-3'
Reverse	S763R	5'-CATATGCTTGTTTCAAGGAC-3'

Tabelle 4 - Pipettierschema der PCR zur Verifizierung von Trypanosomatidae Nest 1

Reagenzien	Menge (µl)	
	1 Tube	10 Tubes
H <sub>2</sub> O	14,750	147,50
5x green Reaction Buffer	5	50,0
dNTP's (25mM)	0,2	20,0
TaqPolymerase (GoTaq)	0,2	20,0
Primer Forward (10pmol/µl)	2	20,0
Primer Reverse (10pmol/µl)	2	20,0
Template	1	10x1
Gesamt	25	250

Tabelle 5 - Temperaturprofil der PCR zur Verifizierung von Trypanosomatidae

Phase	Dauer (min)	Temperatur (°C)	
Initiale Denaturierung	5:00	94	
Denaturierung	1:00	94	30 Zyklen
Annealing	1:30	64	
Elongation	1:30	72	
Finale Elongation	5:00	72	
Verweilzeit	∞	15	

### 7.2.2 Pipettierschema Nest 2 – Trypanosomatidae

In Tab. 6 findet man das Primerpaar, welches für die zweite PCR Reaktion - Nest 2 - verwendet wurde.

Hierfür wurden 24 µl Mastermix mit 1 µl des Produktes aus der ersten PCR versetzt. Die genauen Angaben der Reagenzien und die Mengen dazu sind in der Tab. 7 ersichtlich. Die Temperaturkurve wurde laut Tab. 8 eingestellt.

Die Reaktion dauert, genau wie bei Nest 1, 2:10 h.

Die erwartete Nest 2 Produktgröße für Trypanosomen beträgt ~2000 bp.

Tabelle 6 - Primer zur Verifizierung von Trypanosomatidae Nest 2

Primer Nest 2	Name	Sequenz (5'-3')
Forward	TRnSSU-F2	5'-GARTCTGCGCATGGCTCATTACATCAGA-3'
Reverse	TRnSSU-R2	5'-CRCAGTTTGATGAGCTGCGCCT-3'

Tabelle 7 - Pipettierschema der PCR zur Verifizierung von Trypanosomatidae Nest 2

Reagenzien	Menge (µl)	
	1 Tube	10 Tubes
H <sub>2</sub> O	14,750	147,50
5x green Reaction Buffer	5	50
dNTP's (25mM)	0,2	20
TaqPolymerase (Go Taq)	0,2	20
Primer Forward (10pmol/µl)	2	20
Primer Reverse (10pmol/µl)	2	20
Template	1	10x1
Gesamt	25	250

Tabelle 8 - Temperaturprofil der PCR zur Verifizierung von Trypanosomatidae

Phase	Dauer (min)	Temperatur (°C)	
Initiale Denaturierung	5:00	94	
Denaturierung	1:00	94	30 Zyklen
Annealing	1:30	64	
Elongation	1:30	72	
Finale Elongation	5:00	72	
Verweilzeit	∞	15	

### 7.3 PCR Filarioidea

Für den Nachweis von Filarien wurden alle Proben mit den Primern COInt und Chand untersucht. Da die Primer unterschiedliche Filarien binden, ist eine Kombination nötig, um möglichst viele Filarien abzudecken.

#### 7.3.1 Primerdesign & Pipettierschema - Chand

Der Mastermix wurde laut Tab. 9 erstellt und mit 1 µl DNA versetzt.

Das Temperaturprofil ist in der Tab. 10 ersichtlich.

Die erwartete Produktgröße beträgt 580 bp.

Tabelle 9 - Pipettierschema der PCR zur Verifizierung von Filarioidea

Reagenzien	Menge (µl)
H <sub>2</sub> O	14,675
5x green Buffer	5
dNTP Mix	0,2
Go Taq Polymerase	0,125
Chand_FO	2
Chand_RO	2
DNA	1
Gesamt	25,00

Tabelle 10 - Temperaturprofil der PCR zur Verifizierung von Filarioidea

Phase	Dauer (min)	Temperatur (°C)	
Initiale Denaturierung	2:00	94	
Denaturierung	0:30	94	39 Zyklen
Annealing	0:30	57	
Elongation	1:30	72	
Finale Elongation	7:00	72	
Verweilzeit	∞	15	

### 7.3.2 Primerdesign & Pipettierschema – COInt

Der Mastermix wurde laut Tab. 11 erstellt und mit 2 µl DNA versetzt.

Das Temperaturprofil ist in der Tab. 12 ersichtlich.

Die erwartete Produktgröße beträgt 668 bp.

Tabelle 11 - Pipettierschema der PCR zur Verifizierung von Filarioidea

Reagenzien	Menge (µl)
H <sub>2</sub> O	14,675
5x green Buffer	5
dNTP Mix	0,2
Go Taq Polymerase	0,125
COInt_F	1
COInt_R	1
DNA	2
Gesamt	25,00

Tabelle 12 - Temperaturprofil der PCR zur Verifizierung von Filarioidea

Phase	Dauer (min)	Temperatur (°C)	
Initiale Denaturierung	2:00	94	
Denaturierung	0:45	94	
Annealing	0:45	51	8x um 0,5 ° C für jeden Zyklus reduziert
Elongation	1:30	72	
Finale Elongation	0:45	94	
Verweilzeit	0:45	45	25 Zyklen

## 7.4 Gelelektrophorese

Zur Herstellung des Agarosegels wurden bei beiden Nachweisverfahren 1,8 g des Polysaccharids Agarose mit 100 ml einfachen TRIS-Borat-EDTA-Buffer (TBE-Buffer) und 35 ml destilliertem Wasser vermischt. Dieses Gemisch wurde dann für 10 Minuten in der Mikrowelle erhitzt. Nach Abkühlen auf etwa 60°C wurden 4,2 µl Midori Green Advance (Biozym Scientific GmbH, Deutschland) dazu gegeben. Das fluoreszierende Midori Green ist notwendig, um später die entstehenden DNA Banden auf dem fertigen Gel mittels UV Licht sichtbar zu machen.

Die Gelkammern wurden mit Probenaschenkammern vorbereitet und anschließend wurde das noch flüssige Gel eingegossen. Nach dem Aushärten des Agarosegels wurde es in eine Elektrophorese-Kammer überführt und mit einem TBE Puffer vollkommen bedeckt.

Jede erste Tasche eines Kammes wurde mit der DNA Leiter (Ladder) bestückt.

Zur Identifikation von Filarien und von Trypanosomen wurde eine 1000 Basenpaare-Leiter (Promega Pre Mix) hergestellt. Die restlichen Taschen, bis auf die letzten beiden Taschen eines Feldes, bzw. eines Kammes, wurden mit den PCR Produkten aufgefüllt. In die letzten beiden Taschen wurden die Negativ-Kontrolle und die Positiv-Kontrolle hinein pipettiert. Die Positiv-Kontrolle dient auch dazu, um die korrekte Funktion der PCR zu bestätigen.

Danach wurde die Elektrophorese-Kammer einem 120V Gleichstromfeld ausgesetzt. Zur Auswertung der Banden wurde ein UV-Lichtscanner (Chemibis genXpress®, DNR Bio-Imaging Systems Ltd, Israel) und die GelCapture Software Version 5.0 (DNR Bio-Imaging Systems Ltd) verwendet.

## **7.5 Sequenzierung**

Proben, die nach PCR und Gelelektrophorese positive Banden zeigten, wurden zu LGC Genomics nach Deutschland zur Sequenzierung geschickt.

## **7.6 Mikroskopie der Blutausstriche**

Außerdem wurden 35 Blutausstrichproben, welche vorher mittels HE Färbung (Hämotoxylin-Eosin Färbung) angefärbt wurden, mit dem Mikroskop Nikon Alphaphot-2 YS2-T untersucht. Anfangs wurde, um sich einen Überblick zu verschaffen, mit der 100-fachen Vergrößerung mäanderförmig die gesamten Präparate durchsucht. Bei Besonderheiten oder Auffälligkeiten wurde dann genauer geprüft, und zwar mit der 200-fachen Vergrößerung. Dabei wurde gezielt auf Filarien und Trypanosomen geachtet.

## 8 ERGEBNISSE

Es wurden die Proben von insgesamt 343 Vögeln untersucht. Darunter waren Wacholderdrosseln (*Turdus pilaris*) (n = zwei), Singdrosseln (*Turdus philomelos*) (n = 36), und Amseln (*Turdus merula*) (n = 305).

Es wurden keine Trypanosomen, sowohl bei den PCRs der DNAProben, als auch bei der Mikroskopie der Blutausstriche, in den 343 Vogelproben gefunden. Im Gegensatz dazu wurden Filarien in insgesamt 39 Vogelproben gefunden. Davon waren 33 Proben von Amseln, wobei 17 Proben positiv mit dem Chand Primer getestet wurden und 13 positiv mit dem COLint Primer. Drei Amselproben waren sowohl mit dem Chand Primer, als auch mit dem COLint Primer positiv. Außerdem wurden noch Filarien in sechs Proben von Singdrosseln gefunden. Hier waren wiederum drei Proben positiv mit dem Chand Primer und drei andere Proben positiv mit dem COLint Primer. Nun sieht man wiederum wie wichtig es ist, die Testverfahren zu kombinieren, um möglichst viele positive Ergebnisse zu erhalten und um möglichst wenig Pathogene zu übersehen.

Eine tabellarische Übersicht über die Ergebnisse ist im Anhang zu finden.

Bei der Mikroskopie wurden nur im Ausstrich einer Singdrossel (AHI652) (n = eins) Mikrofilarien gefunden. In den Abbildungen werden die bei der Mikroskopie ermittelten Mikrofilarien gezeigt.

Insgesamt waren also drei der 39 als positiv bewerteten Proben sowohl mit dem Chand Primer, als auch mit dem COLint Primer positiv. Dies bestätigt wiederum, dass die Tests auf unterschiedliche Filarien spezialisiert sind, und zur Diagnose immer mehrere Testverfahren notwendig sind, um so viele Parasiten wie möglich zu finden.

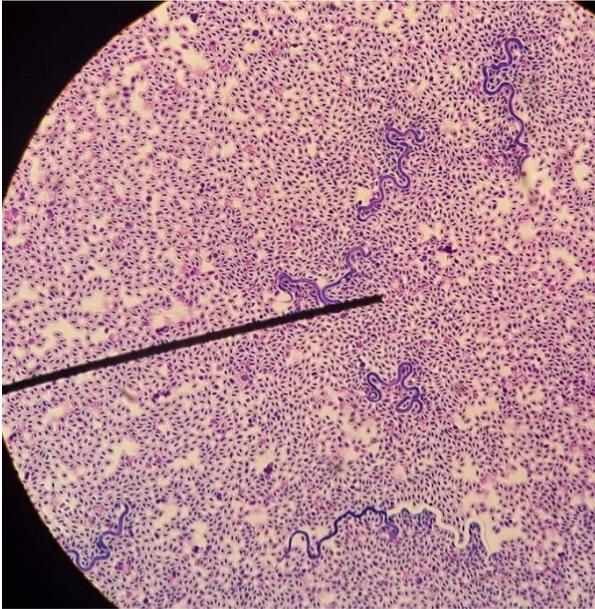


Abbildung 4 - 100fach Vergrößerung Mikroskop Mikrofilarien

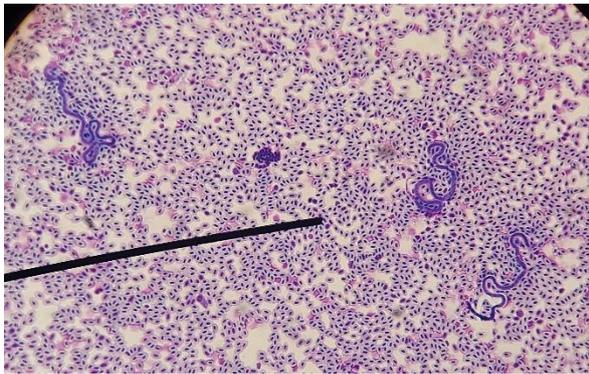


Abbildung 5 - 100fach Vergrößerung Mikroskop Mikrofilarien

## 8.1 Blutparasiten

Wie vorher bereits erwähnt waren von den 343 untersuchten Vogelproben alle in PCR und Gelelektrophorese negativ auf Trypanosomatidae.

Außerdem waren bei der PCR auf Filarien mit dem Chand Primer-Set 23 Vogelproben positiv, bzw. leicht positiv. Die PCR mit den COLint war bei 19 Proben positiv, bzw. leicht positiv. Drei der 343 untersuchten Vogelproben waren sowohl beim Chand Primer-Set als auch beim COLint Primer-Set positiv.

Alle 39 positiv getesteten Proben wurden weiter zur Sequenzanalyse geschickt und durch Sequenzvergleich auf Artniveau bestimmt.

Mittels dieser Sequenzanalyse konnten 13 Proben positiv auf Filarien bzw. Nematoden bestätigt werden. Bei den restlichen Proben war eine erfolgreiche Sequenzierung trotz Wiederholungen nicht möglich, was nun darauf hindeutet, dass diese Ergebnisse falsch positiv waren.

Bei der Artbestimmung wurden in vier Proben Onchocercidae, in einer Probe *Cardiofilaria pavlovsky*, in zwei Proben Filarioidea und Onchocercidae, in einer Probe Onchocercidae und *Cardiofilaria pavlovsky* und als Nebenbefund in fünf Proben Ascarididae nachgewiesen (Tab. 13).

Wie man auch in Tabelle 13 sehen kann wurden nach Sequenzierung zwölf der 23 eingeschickten Vogelproben, die mit dem Chand Primer-Set bearbeitet wurden, als positiv bestätigt. Von den 19 positiven Proben, die mit dem COLint Primer-Set bearbeitet wurden, wurden nur vier Proben als positiv nach der Sequenzierung bestätigt. Dies deutet darauf hin, dass das Chand Primer-Set für das Finden von Filarien wohl besser geeignet ist, als das COLint Primer-Set.

Zwei der drei Vogelproben (AH0824 und AH0830), die in der PCR sowohl mit dem Chand Primer-Set, als auch mit dem COLint Primer-Set als positiv getestet wurden, wurden auch bei der Sequenzierung als positiv bestätigt.

Tabelle 13 - Positive Ergebnisse nach Sequenzierung

ID	Art	Datum	Material	Ergebnisse	
				Chand	COlint
AH0064	<i>T. merula</i>	2014	FFPE	Ascaridae	-
AH0430	<i>T. philomelos</i>	2017	Leber	Onchocercidae sp.	Onchocercidae - <i>Cardiofilaria pavlovskyi</i>
AH0551	<i>T. merula</i>	2017	Blut	Onchocercidae sp.	-
AH0623	<i>T. merula</i>	2004	Tissue	Ascaridae	-
AH0809	<i>T. merula</i>	2017	Blut	Onchocercidae sp.	-
AH0824	<i>T. merula</i>	2017	Blut	Onchocercidae sp.	Filarioidea
AH0830	<i>T. merula</i>	2017	Tissue	Onchocercidae sp.	Filarioidea
AH0835	<i>T. merula</i>	2017	Blut	Onchocercidae sp.	-
AH1026	<i>T. merula</i>	2006	Tissue	Ascaridae	-
AH1044	<i>T. merula</i>	2003	Tissue	Onchocercidae sp.	-
AH1099	<i>T. merula</i>	2003	Tissue	Ascaridae	-
AH1516	<i>T. merula</i>	2016	Leber	Ascaridae	-
AH1652	<i>T. philomelos</i>	2018	Blut	-	Onchocercidae- <i>Cardiofilaria pavlovskyi</i>

## 9 DISKUSSION

Im Rahmen dieser Studie wurde die Trypanosomen- und Filarien-Fauna von Turdidae in Österreich untersucht. Es wurden verschiedenste Drosseln (n = 343) beprobt (Amseln, Singdrosseln und Wacholderdrosseln). In keiner der 343 Vogelproben konnten Trypanosomen gefunden werden und nur in wenigen Proben (n = 39) konnten Filarien gefunden werden.

Wie schon bereits erwähnt sind Moskitos weltweit eine der wichtigsten Vektoren von Pathogenen. Die Übertragung von vielen Trypanosomatiden erfolgt entweder durch den Stich der blutsaugenden Vektoren oder durch die Kontamination der Wirtshaut und/oder Bindehaut durch Vektorfäkalien während und auch noch nach dem Blutsaugen (Baker, 1956; Mungomba et al., 1989; Desser et al., 1975; Votýpka & Svobodová, 2004). In einer österreichischen Studie konnte *T. avium* nur in drei Mücken-Proben nachgewiesen werden obwohl die Prävalenz zwischen 1-87,2 % beträgt (Schoener et al. 2018). Des Weiteren konnte in dieser Arbeit in keiner der DNA-Proben der Vögel mittels Nested-PCR Trypanosomen nachgewiesen werden. Auch wurden in den Blutausstrichen mittels Mikroskop keine Trypanosomen gefunden. Und dass, obwohl zwei der drei hier besprochenen Drosselarten gerne Stechmücken fressen. Die Hauptnahrungsquelle der Wacholderdrossel - *Turdus pilaris* - sind Regenwürmer sowie Wirbellose (Slotta-Bachmayr und Winding, 1994). Die Singdrossel, *Turdus philomelos*, frisst am liebsten Insekten, Würmer und Schnecken (Okulewicz, 1979).

Da Trypanosoma-Infektionen für gewöhnlich lebenslang bestehen (Svobodová 2015), und die Prävalenz in Mücken, wie oben bereits erwähnt, zwischen 1-87,2 % liegt (Schoener et al. 2018) bedeutet das negative Gesamtergebnis, dass in den Turdiden dieser Region im Untersuchungszeitraum Trypanosomen nicht präsent waren. Da sich die Drosseln jedoch nur an Vektoren infizieren können, in welchen sich die Parasiten erfolgreich angesiedelt haben (Votýpka et al., 2012), kann es auch sein, dass sich in Österreich die Zahl der Mücken, in denen sich die Parasiten ansiedeln und vermehren können in Grenzen hält, da in Österreich die klimatischen Bedingungen doch noch andere sind als in südlicheren Ländern, wo mehr Mückenarten präsent sind. Es könnte aber auch sein, dass die orale Aufnahme der Vektoren und die Infektion des Vogels doch nicht zu den Hauptübertragungsquellen zählt, und eine andere Art der Übertragung wichtiger ist.

Im Gegensatz zu den Trypanosomen stehen die Filarien, die in 13 von 343 Proben in dieser Arbeit nachgewiesen werden konnten. Das sind prozentual ausgedrückt 3,79 %. Im Fall der Filarien dienen die Insekten als Vektoren und auch als Zwischenwirte. Jedoch könnte es sein, dass die Zahl an Erkrankungen in Österreich noch gering ist, weil die durch Moskitos übertragene Krankheiten zu den besonders klimaabhängigen zählen, und auch die Entwicklung der Mikrofilarien zur infektiösen Larve temperaturabhängig ist (Atkinson et al., 2008).

Beim Mikroskopieren der Blutausschläge konnte in dieser Arbeit die Blutprobe einer *Turdus philomelos* deutlich positiv auf Filarien bestätigt werden. Diese Probe konnte dann auch mittels PCR mit dem COLint Primer und Sequenzierung positiv bestätigt werden.

Außerdem wurden im Zuge dieser Arbeit weitere Vögel, Amseln (n = elf) und Singdrosseln (n = zwei), positiv mittels PCR auf Filarien getestet.

In fünf der 343 Proben wurden als Beibefund auch Ascarididae nachgewiesen. Dies könnte eventuell ein Hinweis darauf sein, dass Ascariden drosselartige Vögel als parentische Zwischenwirte nutzen können. Dies müsste allerdings genauer untersucht werden, da eine Bestimmung der Ascariden auf Artniveau mit den hier verwendeten Primern nicht möglich war (100%ige Übereinstimmung mit diversen Ascariden).

Viele Proben konnten mittels Molekularbiologie nur auf die Überfamilie Filarioidea bestimmt werden, wobei andere als Onchocercidae bestimmt werden konnten. Dies ist auf das Fehlen von Vergleichssequenzen in diversen Gen-Datenbanken zurück zu führen. Die Kombination von zwei Untersuchungstechniken erlaubte teilweise zwar eine genauere Artbestimmung, jedoch bleibt immer ein gewisser Faktor an eventuell nicht entdeckten Pathogenen übrig. Es wurde, wie oben bereits detailliert beschrieben, mit zwei unterschiedlichen Primern gearbeitet - Chand und COLint. Es wurde mit zwei Primern gearbeitet, weil die unterschiedlichen Primer verschiedene Filarien binden. Eine additive Kombination der beiden Primer ist notwendig, um möglichst viele Filarien abzudecken. Wenn man nun die Beiden vergleicht, dann stellt man bei den Ergebnissen fest, dass mittels COLint Primer weniger Proben als positiv getestet wurden, als mit dem Chand Primer. So wurden in sieben Proben Onchocercidae sp. gefunden – wobei eine anhand von Morphologie und Vergleichssequenzen bestimmt wurde - *Cardiofilaria pavlovskyi*. Gold Standard zur Diagnose sollte aber auf jeden Fall eine Kombination aus mehreren Untersuchungstechniken sein.

Infektionen eines Tieres mit mehr als einem Erreger waren bei diesen Untersuchungen nicht nachweisbar, was jedoch nicht bedeutet, dass dies nicht möglich wäre. Denn das Risiko einer Infektion mit weiteren Blutparasiten steigt, wenn ein Vogel schon durch einen anderen infiziert ist (Scaglione et al. 2015). Es sollte daher immer zusätzlich eine mikroskopische Untersuchung durchgeführt werden, damit so viele Pathogene als nur möglich erkannt werden können (Schmid et al. 2017, Valki nas et al. 2006), so wie es auch in dieser Arbeit gemacht wurde.

Der hauptsächliche Unterschied zwischen den Amselpopulationen in der Stadt und am Land liegt in der Ernährung sowie in der Art und Weise, wie die Tiere den Winter verbringen. Die Amseln aus der Stadt bleiben teilweise den Winter über in Österreich, während die Amseln vom Land zu den Zugvögeln zählen und Österreich verlassen. Diese Tiere verbringen dann den Winter in wärmeren Gebieten, was wiederum die Zahl der infizierten Tiere mit verschiedensten Krankheiten im darauffolgenden Jahr erhöht (Rzad et al., 2014). Durch den Klimawandel und dadurch immer wärmer werdende Jahreszeiten verändert sich auch die Diversität der Vektoren, und atypische Arthropoden siedeln sich in neuen Gebieten an. Dadurch steigt die Gefahr, dass sich Erreger und Krankheiten, die bisher in unseren Breiten nicht heimisch waren, auch bei uns weiter ausbreiten können (Mata et al., 2015).

Außerdem zählen die Drosseln, wie vorher bereits besprochen, teilweise zu den Zugvögeln. Dies bedeutet theoretisch, dass sie auch Krankheitserreger aus dem Süden nach dem Winter mit nach Österreich bringen können. Trotz dieser Tatsache waren nur wenige Vögel positiv beim Nachweis von Filarien.

Trotzdem ist es wichtig, einen Überblick über die parasitäre Situation in den Singvögeln in Österreich zu behalten. Es ist daher von Interesse sowohl die Filarien- als auch die Trypanosomenfauna in Turdiden, aber auch anderen Vogelgruppen, zu ermitteln, zu erfassen und zu dokumentieren, um generell einen Überblick über diverse Pathogene zu behalten.

## 10 ZUSAMMENFASSUNG

Ziel dieser Diplomarbeit war es, die parasitäre Fauna der Turdidae in Österreich genauer zu erörtern. DNA-Proben von Amseln, Wacholderdrosseln und Singdrosseln wurden mittels Mikroskopie und molekularen Verfahren auf Trypanosomen und Filarien untersucht.

Einer der Hauptvektoren für Blutparasiten bei Drosseln sind die Stechmücken. In Österreich sind von den weltweit knapp 3000 Mückenarten 51 verschiedene zu finden. Krankheitserreger wie Viren, Bakterien oder einzellige und mehrzellige Parasiten können entweder direkt über den Stich, die orale Aufnahme der Vektoren, oder indirekt durch mechanische Übertragung verbreitet werden.

Die zu den Protozoen zählenden Trypanosomen werden vorwiegend über Insekten übertragen. Moskitos zählen weltweit zu den wichtigsten Vektoren von Pathogenen, sie sind aber schlechte Vektoren von Trypanosomen.

Im Rahmen dieser Diplomarbeit wurden Proben von der Pathobiologie (Institut für Pathologie) aus den Jahren 2003 und 2007, sowie Blutproben aus den Jahren 2017 und 2018 von der Vogel- und Reptilienklinik auf Trypanosomen und Filarien untersucht. Alle 343 Proben waren nach PCR und Gelelektrophorese negativ auf Trypanosomatidae. Beim Mikroskopieren war eine Probe deutlich positiv auf Filarien. Sechzehn Proben konnten auf Filarien bzw. Nematoden mittels Sequenzierung bestätigt werden.

Da Stechmücken auch als Überträger diverser Krankheitserreger für den Menschen relevant sind, ist eine andauernde, systemische Überwachung wichtig. Der Klimawandel und auch die direkte Einflussnahme des Menschen verändern die Verbreitung vieler Arthropoden und die damit verbundenen Infektionsrisiken für die von ihnen übertragenen Krankheiten (Mata et al., 2015; Joachim A. 2008).

## ABSTRACT

The aim of this study was to examine the blood parasite fauna of Turdidae in Austria in more detail. DNA samples from blackbirds, juniper thrushes and song thrushes were examined for trypanosomes and filarioid helminths.

One of the main vectors of blood parasites at Turdidae are mosquitoes. In Austria 51 different mosquito species are known (of almost 3000 species worldwide). Pathogens such as viruses, bacteria or protozoan and helminth parasites can either be transmitted directly via the mosquito blood meal, the oral uptake of the vectors, or indirectly by mechanical transmission.

Trypanosomes are mainly transmitted via insect vectors. Mosquitoes are among the most important vectors of pathogens worldwide, but they are less competent vectors for trypanosomes.

Within this diploma thesis, thrush samples collected at the Institute of Pathology from 2003 to 2007, and blood samples from 2017 and 2018 from the bird and reptile clinic were examined for trypanosomes and filarioid helminths.

All 343 samples were negative for Trypanosomatidae using PCR and gel electrophoresis.

Microscopically one sample was positive for filarioid helminths. Sixteen samples were confirmed for the presence of filarioid helminths or ascarid nematodes at sequencing.

Since mosquitoes are also relevant for the transmission of various pathogens to humans, continuous, systemic monitoring is important. Climate change, but also the direct influence of humans, lead to a spread of many arthropods and influence the associated infection risks for diseases they transmit (Mata et al., 2015; Joachim A. 2008).

## 11 VERZEICHNISSE

Atkinson C.T., Thomas N.J., Hunter D.B., Hrsg. 2008. Parasitic diseases of wild birds. Erste Auflage. Wiley-Blackwell. 27-89

Allander K., Bennett, G.F., 1994. Prevalence and intensity of haematozoan infection in a population of great tits *Parus major* from Gotland, Sweden. *J. Avian Biol.* 25, 69-74

Apanius V., 1991. Avian trypanosomes as models of hemolagellate evolution. *Parasitol. Today* 7, 87-90

Baker J.R., 1976. Biology of the trypanosomes of birds. Lumsden, W.H.R., Evans, D.A. (Eds.), *Biology of the Kinetoplastida*. Academic Press, London/New York/San Francisco. 131-174

Baker J.R., 1956. Studies on *Trypanosoma avium* Danilewsky 1885 III. Life Cycle in vertebrate and invertebrate hosts 335-352

Becker N., Petric D., Zgomba M., Boase C., Madon M., Dahl C., Kaiser A. 2010 Mosquitoes and their control. Zweite Auflage. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag. 39-59

Bennett G.F., Montgomerie, R., Seutin, G., 1992. Scarcity of hematozoa in birds breeding on the Arctic Tundra of North-America. *Condor* 94, 289-292

Bennett G. F. 1961. On the specificity and transmission of some avian trypanosomes. *Can J Zool* 39: 17-33

Boch, Supperer 2000. *Veterinärmedizinische Parasitologie*, Kapitel 8.1 Parasitosen der Wildwiederkäuer, Parey Buchverlag Berlin, 5. Auflage, 782-783

Bush A. O. 1990. Helminth communities in avian hosts: determinants of a pattern. *Parasite Communities: Patterns and Processes*. London: Chapman & Hall. 197-232

Chatterjee D. K. 1977. Development of *Trypanosoma avium bakeri*; Chatterjee and Ray in *Aedes albopictus* and its subsequent transmission to birds. *Parasitol* 1: 97-100

Chvala S., Bakonyi T., Bukovsky C., Meister T., Brugger K., Rubel F., Nowotny N., Weissenböck H. 2007. Monitoring of Usutu virus activity and spread by using dead bird surveillance in Austria, 2003–2005. *Vet Microbiol.* 2007; 45-237

Cooper J.E., Cooper M.E., Krone O., Newton I., Peakall D.B., Zucca P. 2002. *Birds of Prey: Health and Disease*. Dritte Auflage. Oxford: Blackwell Science. 234-270

David A.; Nair C. P. 1955. Observations on a natural (cryptic) infection of trypanosomes in sparrows (*Passer domesticus* Linnaeus). I. Susceptibility of birds and mammals to the trypanosomes. *Indian J Malariol* 9: 95-98

Desser S. S., McIver S. B., Jez D. 1975. Observations on the role of simuliids and culicids in the transmission of avian and anuran trypanosomes. *Int J Parasitol* 5: 507-509

Desquesnes M., Dávila A. M. R. 2002. Applications of PCR-based tools for detection and identification of animal trypanosomes: a review and perspectives. *Vet Parasitol* 109: 213–231

Dickerson Andrew K., Peter G. Shankles, Nihar M. Madhavan, David L. Hua. 2012. Mosquitoes survive raindrop collisions by virtue of their low mass. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences* 4-7

Dzika, E. 2003. Parasites (Metazoa) of the common roach *Rutilus rutilus* (L.) in lakes of the Masurian Lake District as a quality indicator of an aquatic environment. Olsztyn, Poland: Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, 81 pp

Eckert J., Deplazes P., Samson-Himmelstjerna G., Zahner H. 2012. *Lehrbuch der Parasitologie für die Tiermedizin*. Dritte Auflage. Stuttgart: Enke Verlag. 12 pp

Graczyk, R. 1961. Studies on the variability, biology and economic significance of the blackbird (*Turdus merula*) *Ekol. Pol. A*, IX, 23: 453–485

Gruby, D. 1843. *Forschung und Beobachtungen an einer neuen Hämatozoenart, Trypanosoma sanguinis*. *Serie III Life Sciences* 17: 1134-1136

Haas M., Barus V., Benedikt V., Literák I., 2011. Microfilariae in birds in Czech Republic, including a note on adult nematodes *Eufilaria delicata* in a song thrush *Turdus philomelos*. Parasitol. Res 109: 645-655

Hamilton P. B., Gibson W. C., Stevens J. R. 2007. Patterns of co-evolution between trypanosomes and their hosts deduced from ribosomal RNA and protein-coding gene phylogenies. Mol Phylogenet Evol 44: 15-25

Rzad I., Sitko J., Salamantin R., Wysocki D. 2014. Helminth fauna of the blackbird seems to be a good indicator of environmental quality. Helminthologia 51, 129-131

Joachim A. 2008. Klimawandel, Globalisierung und arthropodenübertragene Infektionen bei Tieren in Mitteleuropa (<https://www.vetmeduni.ac.at/>; [http://www.oegtpm.at/wp/wp-content/uploads/oegtp\\_290108\\_joachim.pdf](http://www.oegtpm.at/wp/wp-content/uploads/oegtp_290108_joachim.pdf))

Kaleta Erhard F., Maria-Elisabeth Krautwald-Junghanns 2011. Kompendium der Ziervogelkrankheiten, Schlütersche Verlag, 203-204

Kucera J., 1983. Incidence and some exological aspects of avian trypanosomes in Czechoslovakia. Folia Parasitol. 30, 209-222

Mata VA, da Silva LP, Lopes RJ, Drovetski SV. 2015. The Strait of Gibraltar poses an effective barrier to host-specialised but not to host-generalised lineages of avian Haemosporidia. International Journal of Parasitology, 45 (11): 711-719

Misof K. 2005. Eurasian Blackbirds (*Turdus merula*) and their gastrointestinal parasites: A role for parasites in lifehistory decisions? Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität, Bonn 1-115

Mohrig W. 1969. Die Culiciden Deutschlands. Untersuchungen zur Taxonomie, Biologie und Ökologie der einheimischen Stechmücken. Veb Gustav Fischer Verlag Jena, Parasitologische Schriftenreihe, 18

Molyneux D.H., Cooper J.E., Smith W.J. 1983. Studies on the pathology of an avian trypanosome (*T. bouffardi*) infection in experimentally infected canaries. *Parasitology* 87: 49-54

Mungomba L. M., Molyneux D. H., Wallbanks K. R. 1989. Host-parasite relationship of *Trypanosoma corvi* in *Ornithomyia avicularia*. *Parasitol Res* 75: 167-174

Niewiadomska, K., Pojmańska, T. 2004. Parasitic organisms: Why their occurrence should be monitored. *Biuletyn Monitoringu Przyrody* 43–51

Okulewicz, A. 1979. Nematoda of blackbird (*Turdus merula*) and mavis (*Turdus philomelos*) from the Wrocław region. I und II, Faunistic studies and Ecological study. *Wiad. Parazytol.*, 25 (3, 4): 468–486

Peus, F. 2003. Stechmücken. VerlagsKG Wolf, 2. Auflage, Nachdruck von 195. 29-67

Podlipaev, S.A., 1990. Catalogue of world fauna of trypanosomatidae (Protozoa), USSR academy of sciences, Leningrad. *Insect Trypanosomatids: the Need to Know More*. Vol 95(4): 517-522

Rzad, J. Sitko, R. Salamatin, D. Wysocki, 2014. Helminth community structure study on urban and forest blackbird (*Turdus merula*) populations in relation to seasonal bird migration on the south Baltic Sea coast (NW Poland). *Helminthologia* 51, 117-129

Scaglione F.E., Pregel P., Cannizzo F.T., Pérez-Rodríguez A.D., Ferroglio E., Bollo E. 2015. Prevalence of new and known species of haemoparasites in feral pigeons in northwest Italy. *Malaria Journal*, 14-99

Schaudinn F. 1904. Generation und Wirtswechsel bei *Trypanosoma* und *Spirochaeta*. *Arb K Gesundheitsamte* 20: 387-439

Schmid S., Facht K., Dinkel A., Mackenstedt U., Woog F. 2017. Carrion crows (*Corvus corone*) of southwest Germany: important hosts for haemosporidian parasites. *Malaria Journal*, 16-369

Schoener E., Uebeleis S.S., Cuk C., Nawratil M., Obwaller A.G., Zechmeister T., Lebl K., Rádová J., Zitra C., Votýpka J., Fuehrer HP. 2018. Trypanosomatid parasites in Austrian Mosquitoes. PLoS ONE, 1-13

Sehgal R. N. M., Jones H. I., Smith T. B. 2001. Host specificity and incidence of *Trypanosoma* in some African rainforest birds: a molecular approach. Mol Ecol 10: 2319-2327

Simón F., Siles-Lucas M., Morchón R, González-Miguel J., Mellado I., Carretón E., Montoya-Alonso J.A. 2012. Human and animal dirofilariasis: the emergence of a zoonotic mosaic. Clinical Microbiology Reviews. 25: 44-507

Slotta-Bachmayr, L. & Winding, N. 1994. Zum quantitativen Auftreten von Ring-, Mistel- und Wacholderdrossel (*Turdus torquatus*, *T. viscivorus*, *T. pilaris*) im Bereich der alpinen Waldgrenze während der Vegetationsperiode. Egretta, 2, 37, 71-77

Svobodová M, Volf P, Votýpka J. 2015. Trypanosomatids in ornithophilic bloodsucking Diptera. Medical and Veterinary Entomology, 29: 444-447

Valki nas G. 2005. Avian malaria parasites and other haemosporidia. Erste Auflage. Florida: CRC Press. 460-567

Valkiūnas G., Bensch S., Iezhova T.A., Krizanauskienė A., Hellgren O., Bolshakov C.V. 2006. Nested cytochrome b polymerase chain reaction diagnostics underestimate mixed infections of avian blood haemosporidian parasites: microscopy is still essential. The Journal of Parasitology, 92: 22-418

Van Dyken M., Bolling B. G., Moore C. G., Blair C. D., Beaty B. J., Black W. C. IV, Foy B. D. 2006. Molecular evidence for trypanosomatids in *Culex* mosquitoes collected during a West Nile virus survey. Int J Parasitol 36: 1015—1023

Votýpka, J., Szabová, J., Rádová, J., Zídková, L., Svobodová, M., 2012. *Trypanosoma culicavium* sp. nov., an avian trypanosome transmitted by *Culex* mosquitos. 232-234

Votýpka J., Svobodová M. 2004. *Trypanosoma avium*: experimental transmission from black flies to canaries. *Parasitol Res* 92: 147-151

Votýpka J., Oborník M., Volf P., Svobodová M., Lukeš J. 2002. *Trypanosoma avium* of raptors (Falconiformes): phylogeny and identification of vectors. *Parasitology* 125: 253–263

Winkler H.C., Vogl W., Schmidt M., 2014. Grundlagen zur Erforschung des Vogelzuggeschehens in Österreich, Teil I Allgemeine Ergebnisse und Artauswertungen. 4-6, 13-15, 104-107

Wysocki, D. 2002. Biometrical analysis of an urban population of the blackbird (*Turdus merula*) in Szczecin (NW Poland). *Ring*, 24: 69–76

Zídková, L., Cepicka, I., Szabová, J., Svobodová, M., 2011. Biodiversity of avian trypanosomes. *Infection, Genetics and Evolution* 12. 102-112

Zittra C. 2013. Grundlagenwissen über Stechmücken (Culicidae: Diptera) des Nationalparks Donau-Auen. *Nationalpark Donau-Auen* 19: 1-9

## 11.1 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1 - Lebenszyklus der Stechmücke.....	9
Abbildung 2 - Stamm der Euglenozoa .....	13
Abbildung 3 - <i>D. immitis</i> und <i>D. repens</i> (Simón et al., 2012) .....	19
Abbildung 4 - 100fach Vergrößerung Mikroskop Mikrofilarien.....	29
Abbildung 5 - 100fach Vergrößerung Mikroskop Mikrofilarien.....	29

## 11.2 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 - Krankheitserreger beim Menschen .....	17
Tabelle 2 - Krankheitserreger bei Tieren.....	18
Tabelle 3 - Primer zur Verifizierung von Trypanosomatidae Nest 1 .....	22
Tabelle 4 - Pipettierschema der PCR zur Verifizierung von Trypanosomatidae Nest 1 .....	22
Tabelle 5 - Temperaturprofil der PCR zur Verifizierung von Trypanosomatidae.....	22
Tabelle 6 - Primer zur Verifizierung von Trypanosomatidae Nest 2 .....	23
Tabelle 7 - Pipettierschema der PCR zur Verifizierung von Trypanosomatidae Nest 2.....	23
Tabelle 8 - Temperaturprofil der PCR zur Verifizierung von Trypanosomatidae.....	24
Tabelle 9 - Pipettierschema der PCR zur Verifizierung von Filarioidea.....	24
Tabelle 10 - Temperaturprofil der PCR zur Verifizierung von Filarioidea .....	25
Tabelle 11 - Pipettierschema der PCR zur Verifizierung von Filarioidea.....	25
Tabelle 12 - Temperaturprofil der PCR zur Verifizierung von Filarioidea .....	26
Tabelle 13 - Positive Ergebnisse nach Sequenzierung .....	31

## 12 ANHANG

## Ergebnisse Mikroskopie Blutausstriche

Nr.	Art	Trypanosomen	Filarien
AH028	<i>Turdus philomelos</i>	Negativ	Negativ
AH029	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ
AH0035	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ
AH0036	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ
AH0052	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ
AH024	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ
AH053	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ
AH0054	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ
AH0035	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ
AH128	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ
AH510	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ
AH520	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ
AH523	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ
AH524	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ
AH526	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ
AH534	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ
AH535	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ
AH550	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ
AH551	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ
AH552	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ
AH558	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ
AH798	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ
AH800	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ
AH809	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ
AH813	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ
AH836	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ
AH945	<i>Turdus philomelos</i>	Negativ	Negativ
AH997	<i>Turdus philomelos</i>	Negativ	Negativ
AH1005	<i>Turdus philomelos</i>	Negativ	Negativ

AH1008	<i>Turdus philomelos</i>	Negativ	Negativ
AH1010	<i>Turdus philomelos</i>	Negativ	Negativ
AHI535	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ
AHI652	<i>Turdus philomelos</i>	Negativ	Positiv
AH1919	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ
AH1531	<i>Turdus pilaris</i>	Negativ	Negativ
AH1944	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ

### Ergebnisse PCR Turdidae

Nr.	Art	Trypanosomen	Filarien – Chand	Filarien - COlint
1	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
2	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
3	<i>Turdus philomelos</i>	Negativ	Negativ	Positiv
4	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
5	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
6	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
7	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
8	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
9	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Positiv
10	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
11	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
12	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
14	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Positiv
15	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
16	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
17	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
18	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Positiv
19	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
20	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Positiv
21	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ

22	<i>Turdus philomelos</i>	Negativ	Negativ	Negativ
23	<i>Turdus philomelos</i>	Negativ	Negativ	Negativ
24	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
26	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
27	<i>Turdus philomelos</i>	Negativ	Negativ	Positiv
28	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
29	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
30	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
31	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Positiv
32	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Positiv
33	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
34	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Positiv
35	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Positiv
36	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Positiv
37	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Positiv
40	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
41	<i>Turdus philomelos</i>	Negativ	Negativ	Negativ
42	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
43	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
44	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
45	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
46	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
47	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
48	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Positiv
49	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
50	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
51	<i>Turdus philomelos</i>	Negativ	Negativ	Negativ
52	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
53	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
54	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Positiv
55	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Positiv	Negativ
56	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
57	<i>Turdus philomelos</i>	Negativ	Positiv	Negativ

58	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
59	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
60	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
61	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
62	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Positiv	Negativ
63	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
64	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Positiv	Negativ
65	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
66	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
67	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Positiv
68	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
69	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
70	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
71	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
72	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
73	<i>Turdus philomelos</i>	Negativ	Negativ	Negativ
74	<i>Turdus philomelos</i>	Negativ	Negativ	Negativ
75	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
76	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
77	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
78	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
79	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
80	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
81	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
82	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
83	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
84	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
85	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
86	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
87	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
88	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
89	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Positiv	Negativ
90	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ

91	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
92	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
93	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
94	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
95	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
96	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
97	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
98	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
99	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
100	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
101	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
102	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
103	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
104	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
105	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
106	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
107	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
108	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
109	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
110	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
111	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
112	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
113	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
114	<i>Turdus philomelos</i>	Negativ	Negativ	Negativ
115	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
116	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
117	<i>Turdus philomelos</i>	Negativ	Negativ	Negativ
118	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
119	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
120	<i>Turdus philomelos</i>	Negativ	Negativ	Negativ
121	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
122	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
123	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ

124	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
125	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
126	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
127	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
128	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
129	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
130	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
131	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
132	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
133	<i>Turdus philomelos</i>	Negativ	Positiv	Negativ
134	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
135	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
136	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Positiv	Negativ
137	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Positiv	Negativ
138	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
139	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
140	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
141	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Positiv	Negativ
142	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Positiv	Negativ
143	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
144	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
145	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
146	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
147	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
148	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
149	<i>Turdus philomelos</i>	Negativ	Negativ	Negativ
150	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Positiv	Negativ
151	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Positiv	Negativ
152	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
153	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
154	<i>Turdus philomelos</i>	Negativ	Positiv	Negativ
155	<i>Turdus philomelos</i>	Negativ	Negativ	Negativ
156	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ

157	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
158	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Positiv	Positiv
159	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
160	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
161	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Positiv	Positiv
162	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Positiv	Negativ
163	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Positiv	Negativ
164	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
165	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
166	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
167	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Positiv	Positiv
168	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
169	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
170	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
171	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
172	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
174	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
175	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
176	<i>Turdus philomelos</i>	Negativ	Negativ	Negativ
177	<i>Turdus philomelos</i>	Negativ	Negativ	Negativ
178	<i>Turdus philomelos</i>	Negativ	Negativ	Negativ
179	<i>Turdus philomelos</i>	Negativ	Negativ	Negativ
180	<i>Turdus philomelos</i>	Negativ	Negativ	Negativ
181	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
182	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
183	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
184	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
185	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
186	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
187	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
188	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
189	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
190	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ

191	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
192	<i>Turdus philomelos</i>	Negativ	Negativ	Negativ
193	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
194	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
195	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
196	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
197	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
198	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
199	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
200	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
201	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
202	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
203	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Positiv	Negativ
204	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
205	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
206	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
207	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
208	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
209	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
210	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
211	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
212	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Positiv	Negativ
213	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
214	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
215	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
216	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
217	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
218	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
219	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
220	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
221	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
222	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
223	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ

224	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
225	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
226	<i>Turdus philomelos</i>	Negativ	Negativ	Negativ
227	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
228	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
229	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
230	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
231	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
232	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Positiv	Negativ
233	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
234	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Positiv	Negativ
235	<i>Turdus philomelos</i>	Negativ	Negativ	Negativ
236	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
237	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
238	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
239	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
240	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
241	<i>Turdus philomelos</i>	Negativ	Negativ	Negativ
242	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
243	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
244	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
245	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
246	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
247	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
248	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
249	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
250	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
251	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
252	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
253	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
254	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
255	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
256	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ

257	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
258	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
259	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
260	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
261	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
262	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
263	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
264	<i>Turdus philomelos</i>	Negativ	Negativ	Negativ
265	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
266	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
267	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
268	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
270	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
271	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
272	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
273	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
275	<i>Turdus philomelos</i>	Negativ	Negativ	Negativ
276	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
278	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
279	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
280	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
281	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
282	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
283	<i>Turdus philomelos</i>	Negativ	Negativ	Negativ
284	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
285	<i>Turdus philomelos</i>	Negativ	Negativ	Negativ
286	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
287	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
288	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
289	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
290	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
291	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
292	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ

293	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
294	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
295	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
296	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
297	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
298	<i>Turdus philomelos</i>	Negativ	Negativ	Negativ
299	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
300	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
302	<i>Turdus philomelos</i>	Negativ	Negativ	Negativ
303	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
304	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
305	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
306	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
307	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
308	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
309	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
310	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
311	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
312	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
313	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
314	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
315	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
316	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
317	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Positiv	Negativ
318	<i>Turdus pilaris</i>	Negativ	Negativ	Negativ
319	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
320	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
321	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
322	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
323	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
324	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
325	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
326	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ

327	<i>Turdus philomelos</i>	Negativ	Negativ	Negativ
328	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
329	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
330	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
331	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
332	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
333	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
334	<i>Turdus philomelos</i>	Negativ	Negativ	Negativ
335	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
336	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
337	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
338	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
339	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
340	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
341	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
342	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
343	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
344	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
345	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
346	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
347	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
348	<i>Turdus philomelos</i>	Negativ	Negativ	Positiv
349	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
351	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ
352	<i>Turdus merula</i>	Negativ	Negativ	Negativ

## DANKSAGUNG

Am Ende meiner Arbeit möchte ich mich bei allen bedanken, die mich während der Anfertigung dieser Diplomarbeit unterstützt haben.

Besonderer Dank gilt meinem Betreuer Herrn Dr. Hans-Peter Fuehrer, der mir immer mit fachlicher und persönlicher Unterstützung zur Seite gestanden hat und der mir dieses interessante Thema überhaupt erst bereitgestellt hat.

Des Weiteren möchte ich mich bei Bita Shahi Barogh für ihre geduldige Unterstützung bei meiner Arbeit im Labor bedanken.

Außerdem möchte ich mich auch beim Institut der Pathologie bedanken, im Besonderen bei Herrn Dr. Harl Josef und Prof. Herbert Weissenböck, für die Bereitstellung der Samples.