

Aus dem Department für Pathobiologie  
der Veterinärmedizinischen Universität Wien

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

**Blutparasiten und andere von Vektoren übertragene Erreger in Europäischen  
Dachsen (*Meles meles*)**

Diplomarbeit

Veterinärmedizinische Universität Wien

vorgelegt von  
Sebastian Brandstetter

Wien, im Juni 2023

Betreuer: PD Mag. Dr. Hans-Peter Fuehrer  
Institut für Parasitologie  
Department für Pathobiologie  
Veterinärmedizinische Universität Wien

BegutachterIn: Ao.Univ.-Prof. Dr.med.vet. Peter Paulsen, Dipl.ECVPH  
Institut für Fleischhygiene  
Abteilung für Hygiene und Technologie von Lebensmitteln  
Veterinärmedizinische Universität Wien

# Inhaltsverzeichnis

<b>Abkürzungsverzeichnis</b> .....	
<b>1. Einleitung und Fragestellung</b> .....	1
<b>2. Der Europäische Dachs (<i>Meles meles</i>)</b> .....	2
2.1 Taxonomie .....	2
2.2 Lebensweise und Ernährung.....	3
<b>3. Trypanosomatida</b> .....	3
3.1 Taxonomie und Morphologie .....	3
3.2 Lebenszyklus und Übertragung.....	4
<b>4. Filarioidea</b> .....	4
4.1 Taxonomie und Morphologie .....	4
4.2 Lebenszyklus und Übertragung.....	5
<b>5. Piroplasmida</b> .....	6
5.1 Taxonomie und Morphologie .....	6
5.1 Lebenszyklus und Übertragung.....	6
<b>6. Rickettsiales</b> .....	7
6.1 Taxonomie und Morphologie .....	7
6.2 Lebenszyklus und Übertragung.....	7
<b>7. <i>Mycoplasma</i></b> .....	8
7.1 Taxonomie und Morphologie .....	8
7.2 Lebenszyklus und Übertragung.....	8
<b>8. <i>Bartonella</i></b> .....	9
8.1 Taxonomie und Morphologie .....	9
8.2 Lebenszyklus und Übertragung.....	9
<b>9. <i>Borrelia</i></b> .....	10
9.1 Taxonomie und Morphologie .....	10
9.2 Lebenszyklus und Übertragung.....	10

<b>10. Material &amp; Methoden</b> .....	11
10.1 Material .....	11
<b>11. Molekulare Analyse</b> .....	16
11.1 DNA-Extraktion .....	16
11.2 PCR-Protokolle .....	17
11.2.1 Trypanosomatida NEST1.....	17
11.2.2 Trypanosomatida NEST2.....	18
11.2.3 Filarioidea (Nematoda) .....	19
11.2.4 Piroplasmida (Apicomplexa) NEST1 .....	20
11.2.5 Piroplasmida (Apicomplexa) NEST2.....	21
11.2.6 <i>Rickettsia</i> (Alphaproteobacteria).....	22
11.2.7 Hämotrope Mycoplasmen .....	23
11.2.8 <i>Bartonella</i> spp.....	24
11.2.9 Anaplasmataceae (Rickettsiales).....	25
11.2.10 <i>Borrelia</i> (Spirochaetae) .....	26
11.3 Herstellung des Gels .....	27
11.4 Durchführung der Gelelektrophorese .....	27
11.5 Sequenzierung .....	28
<b>12. Ergebnisse</b> .....	29
<b>13. Diskussion</b> .....	36
<b>14. Zusammenfassung</b> .....	40
<b>15. Summary</b> .....	41
<b>16. Literaturverzeichnis</b> .....	42
<b>17. Abbildungsverzeichnis</b> .....	51
<b>18. Tabellenverzeichnis</b> .....	52
<b>19. Anhang</b> .....	53
<b>20. Danksagung</b> .....	72

## Abkürzungsverzeichnis

°C	Grad Celsius
BOLD	Barcode of Life Database
bp	Basenpaare
DNA	Desoxyribonukleinsäure
min.	Minute(n)
ml	Milliliter
mm	Millimeter
µl	Mikroliter
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
sek.	Sekunde(n)
sp.	Spezies (Singular)
spp.	Spezies (Plural)
TBE-Puffer	TRIS-Borat-EDTA-Puffer
U/min	Umdrehungen pro Minute

## 1. Einleitung und Fragestellung

Sogenannte „vector-borne diseases“, also Krankheiten die von vektorübertragenen Erregern, verursacht werden gewinnen immer mehr an Bedeutung und stellen eine größer werdende Herausforderung für das Gesundheitswesen, sowohl in der Human- als auch in der Veterinärmedizin, dar. Nicht nur in tropischen und subtropischen Gebieten, sondern auch innerhalb Europas kämpft man mit den neu oder wieder auftretenden Erkrankungen (Savić et al. 2014). Erforderlich für die Übertragung von vektorübertragenen Erregern sind eine eingeführte und/oder etablierte Vektorpopulation, zumeist Arthropoden, ein Erreger und ganz besonders geeignete Umwelt- und Klimabedingungen über den gesamten Übertragungszyklus auf den Wirt. Diese beeinflussen das Überleben des Vektors, das Wachstum & Überleben des Pathogens im Wirt und die Vektoraktivität.

Doch nicht nur der Klimawandel spielt hierbei eine wichtige Rolle, sondern auch die Globalisierung, der internationale Handel und Reisen scheinen die Verbreitung und Einbringung von exotischen Krankheitserregern und deren Vektoren zu erleichtern. Der Klimawandel wirkt sich vor allem auf die saisonale Fluktuation im Verbreitungsgebiet sowie die Inkubationszeit der Pathogene und deren Lebenszyklus aus, sodass sich das Risiko einer Übertragung erhöht (Semenza und Suk 2018).

In Europa sind auch frei lebende Wildtiere, besonders Fleischfresser, ein wichtiger Faktor für das Auftreten von neu auftretenden Zoonoseerregern (Battisti et al. 2020).

Die Wildtierpopulation fungiert als natürliches Reservoir für die vektorübertragenen Erreger die oftmals auch Heimtiere und Menschen infizieren können (Duscher et al. 2015).

Aufgrund von Waldrodungen und anderen landschaftlichen Veränderungen sowie steigendem Interesse an körperlicher Aktivität in der Natur von Menschen mit ihren Haustieren nähert sich der Lebensraum von Mensch und Dachs immer weiter an und so steigt auch das Risiko einer Infektion mit Blutparasiten.

Diese Diplomarbeit beschäftigt sich mit dem molekularen Nachweis der Erreger *Trypanosoma* sp., *Filarioidea* sp., *Piroplasmida* sp. (*Babesia* sp.), *Rickettsia* sp., *Mycoplasma* sp., *Bartonella* sp., *Anaplasmataceae* (*Ehrlichia* sp.) sowie *Borrelia* sp. aus Milzproben des Europäischen Dachses (*Meles meles*).

Im Zuge dessen werden neben der Taxonomie und Morphologie auch die Lebenszyklen und Übertragungswege erörtert.

## 2. Der Europäische Dachs (*Meles meles*)

### 2.1 Taxonomie

Der Europäische Dachs (*Meles meles*) gehört zur Familie der Marder (Mustelidae) aus der Ordnung der Raubtiere (Carnivora) (Piza Roca et al. 2014). Die Systematik innerhalb der Gattung *Meles* unterlag häufigen Änderungen, so schreiben zum Beispiel Abramov & Puzachenko im Jahr 2009, dass die Gattung aus drei Arten besteht, dem Asiatischen Dachs (*M. leucurus*), dem Japanischen Dachs (*M. anakuma*) und dem Europäischen Dachs (*M. meles*), welcher weiter in vier Unterarten unterteilt werden kann. Der skandinavische *M. m. meles*, der in Schweden, Finnland und im östlichen Norwegen verbreitet ist, der norwegische *M. m. milleri*, der europäische *M. m. taxus*, der auf den britischen Inseln und Kontinentaleuropa bis zur Wolga im Osten zu finden ist, sowie der südwestasiatische *M. m. canescens*, im Kaukasus und Nahen Osten heimisch (Abramov et al. 2009). Aktuellere Studien ordnen *M. m. canescens* allerdings als eigene Art der Gattung *Meles* ein (Abramov und Puzachenko 2013; Sato 2016). Das Aussehen des Europäischen Dachses wird in Abbildung 1 veranschaulicht.



**Abbildung 1:** Junger Europäischer Dachs (*Meles meles*) (File:Badger-badger.jpg - Wikimedia Commons, 14.06.2023)

## 2.2 Lebensweise und Ernährung

Der Europäische Dachs lebt vorzugsweise in Laubwäldern mit Lichtungen oder auf Weideflächen mit kleineren Waldstücken. Er ist aber auch häufig in Misch- oder Nadelwäldern, in Gebüsch, Vorstädten oder Parks anzutreffen. Er gräbt unter dem Schutz der Vegetation unterirdische Bauten (Piza Roca et al. 2014). Eine soziale Gruppe, die aus etwa drei bis sechs adulten Dachsen besteht, hat üblicherweise mehrere Bauten in ihrem Territorium (Byrne et al. 2012). Diese werden auch regelmäßig gewechselt, wohl auch, um eine Anhäufung von Ektoparasiten zu vermeiden (Brøseth et al. 1997). Bauten, die der Fortpflanzung dienen, sind relativ komplex und bestehen aus mehreren Tunneln, Kammern und Eingängen. Sie werden bei Bedarf erweitert und sind daher oftmals über mehrere Generationen im Einsatz. Dadurch sind sie ein wichtiger Teil des Ökosystems und werden auch von anderen Tieren, wie Amphibien, Reptilien oder anderen Säugetieren, wie Füchsen genutzt (Nowakowski et al. 2020).

Als opportunistischer Sammler ändert sich die Ernährung des europäischen Dachses mit den Jahreszeiten. Der Hauptteil der Nahrung besteht aus pflanzlichen Bestandteilen, wie Gras, Blättern und Wurzeln, Regenwürmern (Lumbricidae) und Insekten. Je nach Verfügbarkeit ernährt er sich auch von Froschlurchen (Anura), kleinen Säugetieren, Obst und Getreide (Cleary et al. 2009). Auch Vogeleier und Küken stehen auf dem Speiseplan. Das Klima und die Umgebung beeinflussen die Ernährung stark, in kühleren Regionen frisst der Dachs hauptsächlich Regenwürmer, in trockeneren Gebieten hat er sich auf Hasen und Kaninchen (Lagomorpha) und Obst, wie zum Beispiel Oliven, spezialisiert (Piza Roca et al. 2014).

## 3. Trypanosomatida

### 3.1 Taxonomie und Morphologie

Trypanosomen sind eine Gruppe parasitär lebender einzelliger Flagellaten, die in Wirbeltieren vorkommen und von belebten Vektoren übertragen werden. Sie gehören zur Gruppe Trypanosomatida (Sgroi et al. 2021). Die Vertreter dieser Gruppe kann man in dixene Arten, also in ihrem Lebenszyklus von zwei Wirten abhängig, und in monoxene Arten, die nur einen Wirt benötigen, unterteilen. Dixene Arten wechseln zwischen Wirbellosen, wie Insekten oder Blutzucker, und Wirbeltieren oder Pflanzen. Monoxene Arten sind auf Wirbellose beschränkt (Votýpka et al. 2015). Einige Vertreter besitzen ein großes zoonotisches Potential und spielen aufgrund ihrer hohen Morbidität und Mortalität eine bedeutende Rolle für das

öffentliche Gesundheitswesen. Zu bekannten Vertretern zählen *Trypanosoma cruzi*, Erreger der Chagas-Krankheit oder *Trypanosoma brucei*, Auslöser der Schlafkrankheit. In der Veterinärmedizin sind zum Beispiel *T. brucei*, *T. equiperdum* und *T. evansi* von Bedeutung (SgROI et al. 2021). Der europäische Dachs ist von *Trypanosoma pestanai* betroffen, eine Infektion mit diesem Erreger wurde aber auch schon bei einem Hund in Deutschland nachgewiesen, welches seine Relevanz auch für Heimtierhalter unterstreicht (Dyachenko et al. 2017).

### 3.2 Lebenszyklus und Übertragung

Die genauen Übertragungswege für *T. pestanai* auf den europäischen Dachs sind noch nicht geklärt, es wird aber angenommen, dass Schildzecken (Ixodidae) ursächlich sein könnten. Argumente dafür sind die phylogenetischen Verwandtschaft mit anderen Trypanosomen, die in Zecken nachgewiesen wurden oder die geographische Verbreitung (Koual et al. 2023). Andere Studien sehen den Dachsfloh (*Paraceras melis*) als wirbellosen Endwirt, da die Prävalenz unter europäischen Dachsen hoch ist und die Wirtsspezifität mit der evolutionären Beziehung mit *T. pestanai* übereinstimmt. Die genaueren Mechanismen und Entwicklungszyklen im Wirt sind noch ungeklärt, es wird aber durch den Vergleich mit *T. lewisi* angenommen, dass der Erreger eine Phase der zyklischen Entwicklung im Floh durchmacht um metazyklische Formen, die ansteckend für Säugetiere sind, zu produzieren. Die Übertragung erfolgt dann über die Aufnahme von Flohkot oder intakten Flöhen, zum Beispiel bei der intensiven Fellpflege, die Dachse betreiben (Lizundia et al. 2011).

## 4. Filarioidea

### 4.1 Taxonomie und Morphologie

Filarioidea sind eine Überfamilie von parasitischen Nematoden, die sich aus mehreren Familien zusammensetzt. Eine dieser ist die der Onchocercidae, die etwa 70 bis 80 Gattungen beinhaltet, unter anderem Erreger von verheerenden parasitären Erkrankungen des Menschen, wie Lymphatische Filariose, Onchozerkose oder Loiasis. Eine Gattung, die besonders von veterinärmedizinischer Bedeutung ist, sind die Dirofilarien, im speziellen die Arten *Dirofilaria repens*, ein Parasit des Unterhautgewebes mit zoonotischem Potential, und *Dirofilaria immitis*, dem Herzwurm (Pietikäinen et al. 2017, Schoch et al. 2020).

## 4.2 Lebenszyklus und Übertragung

Verschiedene Gattungen von Stechmücken (Culicidae), wie *Culex*, *Aedes*, oder *Anopheles*, fungieren als Zwischenwirt und Überträger für *D. immitis* und *D. repens* (Morchón et al. 2012). Die weiblichen Würmer der Dirofilarien sind vivipar, nach der Paarung gelangen Mikrofilarien in den peripheren Blutkreislauf, die dann wiederum vom Zwischenwirt bei der Blutmahlzeit aufgenommen werden. Kurz nach der Aufnahme wandern die Larven durch den Verdauungstrakt und entwickeln sich zu den Larvenstadien L2 und L3, die dann infektiös sind. Diese wandern dann aktiv durch die Körperhöhle und den Thorax der Stechmücke bis in den Rüssel, von wo aus sie dann beim nächsten Stich den Endwirt infizieren. Diese Entwicklung ist temperaturabhängig und dauert bei Temperaturen zwischen 27-30 °C nur etwa acht bis dreizehn Tage. Im Endwirt migrieren die L3 Larven dann entweder in das Unterhautgewebe, so bei *D. repens*, oder in das Herz, bei *D. immitis*. Dort unternehmen sie noch zwei Entwicklungsschritte, zu L4 Larven und preadulten Würmern, bis sie dann endgültig zu adulten Dirofilarien reifen (Capelli et al. 2018). Dies wird in Abbildung 2 veranschaulicht.

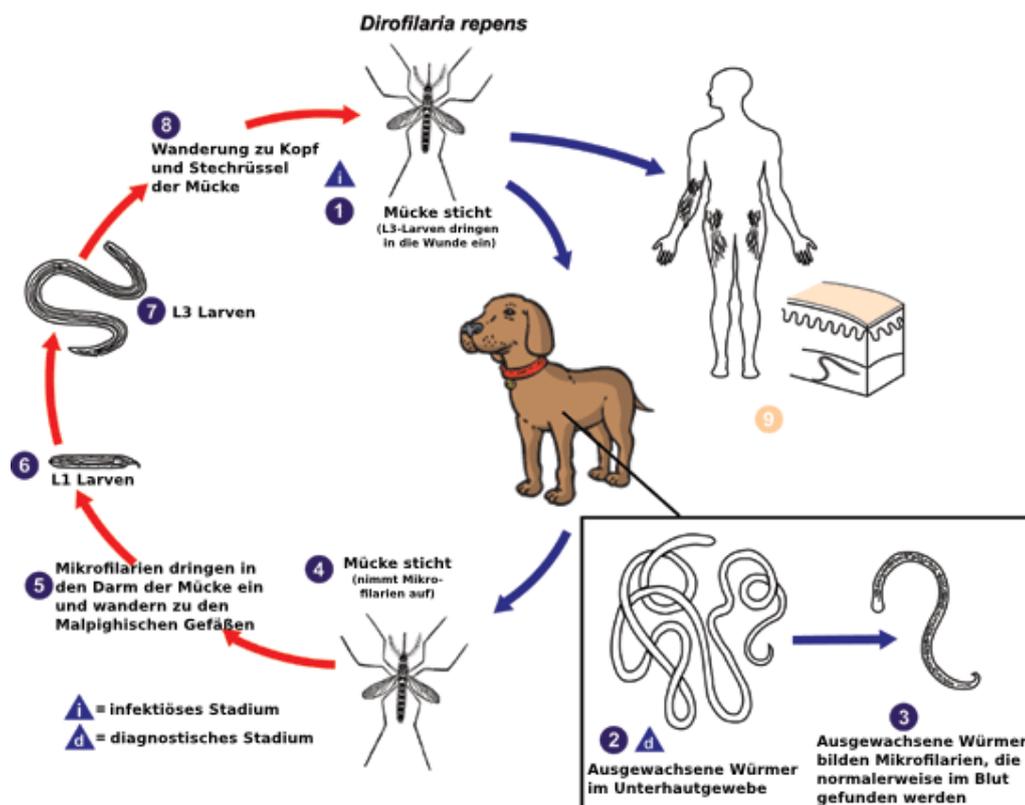


Abbildung 2: Lebenszyklus von *D. repens* (*Dirofilaria repens* – Wikipedia, 14.06.2023)

## 5. Piroplasmida

### 5.1 Taxonomie und Morphologie

Die Ordnung der Piroplasmida beinhaltet drei Gattungen, *Babesia*, *Cytauxzoon*, und *Theileria*. Diese sind dixene Hämoprotzoen die von Schildzecken (Ixodidae) auf Vögel oder Säugetiere übertragen werden. Die Piroplasmen sind nach ihrem birnenförmigen intraerythrozytären Stadium benannt (Schnittger et al. 2022). Piroplasmen gehören zu den häufigsten Blutparasiten in Säugetieren und haben erhebliche ökonomische, sowie veterinär- und humanmedizinische Auswirkungen. Nicht nur im Viehbestand, wo die bovine Babesiose erhöhte Sterblichkeit, Aborte und verringerte Fleisch- und Milchproduktion verursacht, sondern auch beim Menschen gilt sie als aufkommende Zoonose (Hunfeld et al. 2008, Jalovecka et al. 2018).

### 5.1 Lebenszyklus und Übertragung

Alle Parasiten der Ordnung der Piroplasmida reproduzieren sich intrazellulär durch eine asexuelle Vermehrung in den Blutzellen des Wirbeltier-Wirts (Jalovecka et al. 2018). Die Übertragung erfolgt durch den Zeckenstich, bei dem Sporozoiten in den Wirt gelangen. Bei Babesien infizieren diese ausschließlich Erythrozyten, in denen sie sich dann zu Trophozoiten entwickeln um die Zelle zu verlassen und weitere zu infizieren. Bei Theilerien erfolgt zunächst noch ein weiterer Entwicklungsschritt in Lymphozyten oder Makrophagen. Aus den Trophozoiten entstehen dann einerseits Merozoiten, die die Reproduktion im Wirt neu initiieren, andererseits auch Gametozyten, die eine Infektion in der Zecke auslösen können. Die Gamogonie, also die sexuelle Vermehrung erfolgt im Magen der Zecke, dort entstehen aus den Gametozyten Strahlenkörper, die zu Zygoten fusionieren aus denen sich Kineten entwickeln. Wenn diese dann in die Speicheldrüsen der Zecken eindringen findet die Sporogonie statt, bei der ein mehrkerniger Sporoblast entsteht, Dadurch können dann neu entwickelte Sporozoiten durch den Speichel beim nächsten Zeckenstich übertragen werden (Hunfeld et al. 2008).

## 6. Rickettsiales

### 6.1 Taxonomie und Morphologie

Die Rickettsiales sind eine Ordnung obligat intrazellulärer Bakterien die sich aus drei monophyletischen Familien, Rickettsiaceae, Anaplasmataceae, und *Candidatus* Midichloriaceae, und mehreren Kladen aus der Familie der Holosporaceae zusammensetzen (Schoch et al. 2020, Szokoli et al. 2016). Die Anaplasmataceae beinhalten die Gattungen *Anaplasma*, *Ehrlichia*, *Neorickettsia* und *Wolbachia*. Die Rickettsien zählen neben den *Orientia* zu den Rickettsiaceae (Dumler et al. 2001, Ferla et al. 2013).

### 6.2 Lebenszyklus und Übertragung

*Ehrlichia canis*, Erreger der monozytären Ehrlichiose des Hundes, der auch in europäischen Dachsen schon nachgewiesen wurde, wird durch den durch den Stich von Zecken, hauptsächlich der braunen Hundezecke, *Rhipicephalus sanguineus*, übertragen (Millán et al. 2016, Santoro et al. 2016). Die kleinen gram-negativen obligat intrazellulär lebenden Bakterien befinden sich in membran-gebundenen Vakuolen im Zytoplasma von Blutzellen oder Endothelzellen der Blutgefäße. Das Reproduktionsstadium findet sowohl in Schildzecken, die als Vektoren agieren, als auch in Wirbeltieren statt. Dort können sie eine persistente Infektion auslösen. Die Zecken können *Ehrlichia* transstadial, also von der Larve zur Nymphe und von der Nymphe zu Adulten, übertragen und Zecken die zuvor noch nicht infiziert waren, können beim Stich eines infizierten Wirbeltieres selbst Träger werden und andere Wirbeltiere anstecken. Die primäre Replikation findet im Verdauungstrakt der Zecke statt, die dann weiter in die Speicheldrüsen wandert, wo sie den zweiten Replikationszyklus unterlaufen und dann über die Sekretion von Speichel beim Biss übertragen werden (Rar und Golovljova 2011).

Rickettsien sind ebenfalls gram-negative obligat intrazelluläre Bakterien, die von hämatophagen Arthropoden, wie Zecken, Milben, Läusen oder Flöhen, übertragen werden. Die Übertragung erfolgt durch die Blutmahlzeit oder durch Kot von infizierten Läusen oder Flöhen. Sowohl die transovariale, also die direkte Übertragung durch infizierte Nachkommen, als auch die transstadiale Übertragung wurde nachgewiesen. Nach der Infektion durch den Biss dringen die Rickettsien in Endothelzellen ein und replizieren innerhalb des Zytoplasmas, dadurch erhöhen sie die vaskuläre Permeabilität und können so zu erythematösem

Ausschlag, disseminierte Vaskulitis, und Meningoenzephalitis bis hin zum Multiorganversagen führen (Kim 2022, Obiegala et al. 2017).

## **7. *Mycoplasma***

### 7.1 Taxonomie und Morphologie

Bei der Gattung *Mycoplasma* aus der Familie der Mycoplasmataceae handelt es sich um gram-positive zellwandlose Bakterien mit einem breiten Umwelt- und Wirtsspektrum. Sie gehören zu den kleinsten und einfachsten Prokaryoten, die trotz ihres reduzierten Genoms sehr vielseitige Transkriptome und Proteome besitzen (Thompson et al. 2011). Haemotrope Mykoplasmen, auch als Haemoplasmen bezeichnet, sind entweder fakultativ erythrozytär oder schwimmen frei im Blutkreislauf und infizieren Säugetiere, unter anderem auch Heimtiere und Menschen. Die meisten Hämoplasma-Arten besitzen den taxonomischen Status *Candidatus*, da sie noch nicht ex vivo kultiviert wurden oder ihre Artdefinitionen noch nicht vollständig festgelegt sind. Ihnen fehlen einige Stoffwechselwege, die andere Bakterien zur Energieerzeugung und Synthese von Zellbestandteilen verwenden, daher sind sie vollständig abhängig von Erythrozyten und Wachstumsfaktoren des Wirts (Millán et al. 2021).

### 7.2 Lebenszyklus und Übertragung

Die Epidemiologie und die genauen Übertragungswege von Haemoplasmen sind noch nicht geklärt, einige Studien haben allerdings die Erreger in verschiedenen Vektoren, wie Zecken (*Amblyomma* sp.) und Läusen (*Polyplax spinulosa*) von Nagern nachgewiesen. Andere Studien sehen auch Flöhe als potentielle Überträger. Dabei konnte jedoch nicht geklärt werden, ob die nachgewiesene DNA von der Blutmahlzeit und somit vom Wirt stammt. Es wird angenommen, dass belebte Vektoren zwar eine Rolle spielen, aber auch die direkte Übertragung bei sozialen Kontakten, Revier- oder Rankkämpfen, die Aufnahme über Beutetiere oder auch die vertikale Übertragung für die Verbreitung der Haemoplasmen wichtig sind (Millán et al. 2021, Sacristán et al. 2019). Mitunter auch aufgrund der Schwierigkeit Mykoplasmen in vitro zu kultivieren, konnten ihre wesentlichen biologischen Merkmale, insbesondere ihre Pathogenese und Immunologie, noch nicht vollständig geklärt werden. Ebenso sind die Mechanismen der Adhäsion und Replikation, sowie der metabolische Austausch mit Erythrozyten unklar (Hoelzle 2008).

## 8. *Bartonella*

### 8.1 Taxonomie und Morphologie

*Bartonella* ist die einzige Gattung innerhalb der Familie der Bartonellaceae, dabei handelt es sich um gram-negative, fakultativ intrazelluläre Bakterien. Bekannte Vertreter dieser Gattung sind *B. henselae*, Erreger der sogenannten Katzenkratzkrankheit, *B. bacilliformis* und *B. quintana*, für das Fünf-Tage-Fieber verantwortlich. Von den etwa 30 Arten sind 14 für den Menschen pathogen (Gerrikagoitia et al. 2012).

### 8.2 Lebenszyklus und Übertragung

Die Übertragung der Bartonellen erfolgt durch blutsaugende Parasiten, wie zum Beispiel Zecken, Sandfliegen, Flöhe oder Kleiderläuse. Diese Vektoren besitzen nachgewiesene Vektorkompetenz, bei anderen wie Fliegen wird ein Vektorpotential vermutet, der definitive Beweis ist aber noch nicht erfolgt (Billeter et al. 2008). *Bartonella henselae* wurde in einer Studie in *Ixodes ricinus* gefunden, dabei konnte die Übertragung über verschiedene Entwicklungsstadien sowie die Replikation nachgewiesen werden (Cotté et al. 2008).

Bartonellen können in vier tief verzweigte Abstammungslinien (L1-L4) eingeteilt werden, sie sind in hohem Maße an einen oder wenige Säugetier-Reservoirwirte angepasst. Gattungen aus L3, zu denen auch *B. henselae* gehört, können eine größere Vielfalt an Wirten infizieren. Die Bakterien besiedeln den Mitteldarm der Arthropoden und werden entweder direkt über einen Stich übertragen oder werden über den Kot auf die Säugetierhaut abgesetzt und dann durch Kratzen oder Beißen in die Lederhaut aufgenommen. Dort können sie dann wandernde Immunzellen kolonisieren bis sie dann über das lymphatische System in den Blutkreislauf gelangen und dort die Endothelzellen infizieren. Von dort gelangen regelmäßig weitere Bakterien in Erythrozyten, wo sie sich vermehren und persistieren. Dadurch sind sie für die gesamte Lebenszeit des roten Blutkörperchens geschützt vor Antikörpern oder anderen Immunreaktionen. Ein geeigneter Vektor kann nun bei der nächsten Blutmahlzeit Bartonellen aufnehmen und so den Infektionszyklus schließen (Wagner und Dehio 2019).

## 9. *Borrelia*

### 9.1 Taxonomie und Morphologie

Borrelien sind relativ große, schrauben- bzw. spiralförmige gramnegative Bakterien aus der Gruppe der Spirochäten. Der bekannteste Vertreter ist *Borrelia burgdorferi* s.l., Erreger der Lyme-Borreliose, der mehrere Bakterienarten umfasst. Die häufigsten Krankheitserreger beim Menschen sind dabei *B. burgdorferi* s.s., *B. afzelii*, und *B. garinii* (Rudenko et al. 2011, Wang et al. 1999).

### 9.2 Lebenszyklus und Übertragung

Die Hauptvektoren für die Übertragung von *Borrelia burgdorferi* in Europa sind Schildzecken, allen voran *Ixodes ricinus*, aber auch andere Vertreter (Mannelli et al. 2012). Mehr als 100 Wirbeltier-Arten gelten als Reservoir-Wirte, darunter Nagetiere, Insektenfresser, und Vögel, aber auch Hunde (Margos et al. 2011). *Ixodes ricinus* benötigt für alle seine Entwicklungsstadien, Larve, Nymphe und Adulte, Wirbeltierblut. Die Aufrechterhaltung von *B. burgdorferi* s.l. hängt von kleineren Säugetieren, Vögeln und Reptilien ab, die die Infektion von den Nymphen erwerben und sie anschließend auf die Larven übertragen. Gerade in kleinen Nagetieren könnte die transovariale Übertragung, von weiblichen Zecken auf Larven, eine große Rolle spielen. Die systemische Infektion der Wirbeltiere ist dann der Schlüssel für die Übertragung von *B. burgdorferi* s.l. auf naive Zecken (Mannelli et al. 2012). Diese können bei einem Stich Spirochäten aufnehmen, die dann mit der Hämolymphe in den Mitteldarm wandern, wo sie in den nachfolgenden Lebensstadien verbleiben. Verschiedene Studien beschreiben ein höheres Risiko für eine Infektion bei Wirbeltieren, je länger die Zecke am Wirt saugt. Die meisten Infektionen fanden nach 24-48 Stunden statt, vermutlich weil sich die Spirochäten erst aus dem Mitteldarm in die Speicheldrüsen ausbreiten müssen, bevor sie in die Epidermis injiziert werden, wobei Borrelien auch in anderen Organen nachgewiesen wurden (Cook 2015). Ein wichtiger Teil bei der Transmission und Replikation von *B. burgdorferi* spielt die Motilität, die den Spirochäten durch die Geißeln ermöglicht wird. Dadurch können sie sowohl zwischen dem Arthropoden und dem Wirbeltier-Wirt wandern, als auch innerhalb der Zecke selbst (Sultan et al. 2013).

## 10. Material & Methoden

### 10.1 Material

Im Zeitraum von 07.02.2018 bis 07.11.2020 wurden 133 Milzproben von tot aufgefundenen Europäischen Dachsen (*Meles meles*) aus sieben verschiedenen Ländern Europas entnommen, in Ethanol konserviert und gekühlt an die Veterinärmedizinische Universität Wien gesendet. Organisiert wurde die Beschaffung und der Versand der Proben von Mike Heddergott vom Musée national d'histoire naturelle de Luxembourg.

Tabelle 1 enthält die wichtigsten Informationen zu den untersuchten Dachsen, wie ID, Funddatum und Herkunft. Bis zum Beginn der Untersuchungen am Institut für Parasitologie der Veterinärmedizinischen Universität Wien wurden die Proben in mit 70 %igem Ethanol aufgefüllten 1,5 ml Eppendorf Tubes gekühlt aufbewahrt.

**Tabelle 1:** Herkunft der Milzproben

ID.	Datum	Land	Fundort	District
MM1	03.06.2019	Deutschland	Schmelz	Bayern
MM2	11.08.2020	Deutschland	Unterwössen	Bayern
MM3	16.08.2020	Deutschland	Gassau	Bayern
MM4	15.09.2020	Deutschland	Bergen	Bayern
MM5	15.08.2020	Deutschland	Reit	Bayern
MM6	12.04.2020	Deutschland	Glottertal	Baden-Württemberg
MM7	02.05.2020	Deutschland	Elzach	Baden-Württemberg
MM8	10.06.2020	Deutschland	Wieden	Baden-Württemberg
MM9	13.06.2020	Deutschland	Elzach	Baden-Württemberg
MM10	21.06.2020	Deutschland	Kandern	Baden-Württemberg
MM11	03.07.2020	Deutschland	Hertingen	Baden-Württemberg
MM12	17.07.2020	Deutschland	Badenweiler	Baden-Württemberg
MM13	21.07.2020	Deutschland	St. Peter	Baden-Württemberg
MM14	08.08.2020	Deutschland	Sulzburg	Baden-Württemberg
MM15	10.09.2020	Deutschland	Elzach	Baden-Württemberg
MM16	23.10.2020	Deutschland	Weitenau	Baden-Württemberg
MM17	10.06.2018	Bosnien &	Ključ	Una-Sana

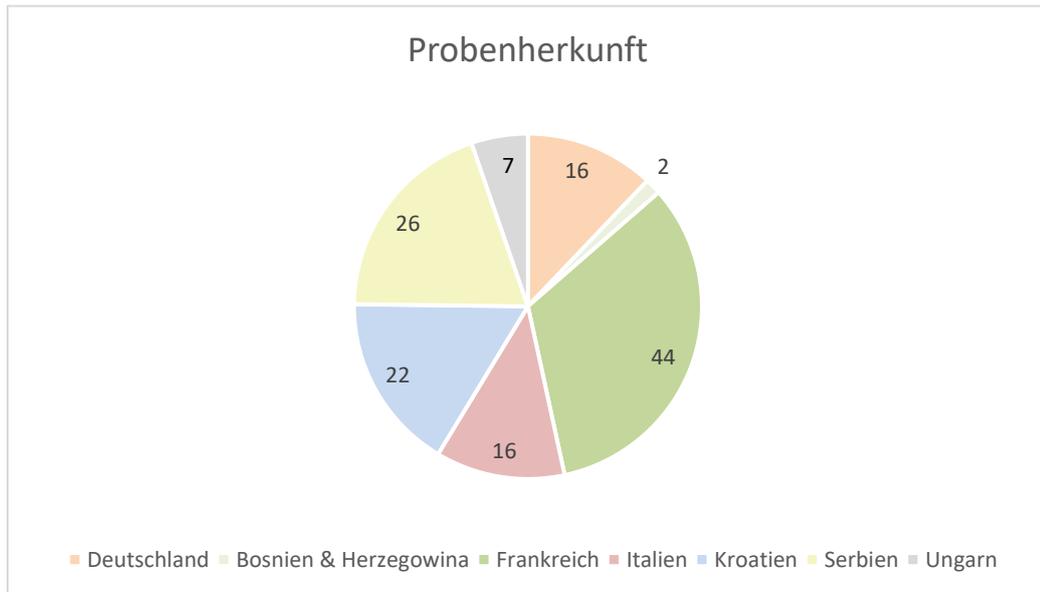
		Herzegowina		
MM18	02.07.2018	Bosnien & Herzegowina	Ključ	Una-Sana
MM19	31.05.2020	Frankreich	Mouais	Loire-Atlantique
MM20	13.06.2020	Frankreich	Bais	Ille-et-Vilaine
MM21	05.07.2020	Frankreich	La Meilleraye-de-Bretagne	Loire-Atlantique
MM22		Frankreich	Prince	Ille-et-Vilaine
MM23	?	Frankreich	Guérande	Loire-Atlantique
MM24	06.06.2020	Frankreich	Domalain	Ille-et-Vilaine
MM25	30.05.2020	Frankreich	Guéméné Penfao	Loire-Atlantique
MM26	25.06.2020	Frankreich	Gaël	Ille-et-Vilaine
MM27	30.05.2020	Frankreich	Guéméné Penfao	Loire-Atlantique
MM28	28.06.2020	Frankreich	St-Ouen_des-Alleux	Ille-et-Vilaine
MM29	27.05.2020	Frankreich	Nozai	Loire-Atlantique
MM30	01.06.2020	Frankreich	Prince	Ille-et-Vilaine
MM31	27.05.2020	Frankreich	Nozai	Loire-Atlantique
MM32	30.05.2020	Frankreich	Chapelle Erbrée	Ille-et-Vilaine
MM33	30.05.2020	Frankreich	Chapelle Erbrée	Ille-et-Vilaine
MM34	06.06.2020	Frankreich	Sens-de-Bretagne	Ille-et-Vilaine
MM35	?	Frankreich	Guérande	Loire-Atlantique
MM36	13.06.2020	Frankreich	Coesmes	Ille-et-Vilaine
MM37	31.05.2020	Frankreich	Port St Père	Loire-Atlantique
MM38	Jun.20	Frankreich	Chapelle de Brain	Ille-et-Vilaine
MM39	?	Frankreich	Guérande	Loire-Atlantique
MM40	06.06.2020	Frankreich	Olivet	Ille-et-Vilaine
MM41	?	Frankreich	Vieillevigne	Loire-Atlantique
MM42	06.06.2020	Frankreich	Doalain	Ille-et-Vilaine
MM43	30.05.2020	Frankreich	St Georges de Chesnég	Ille-et-Vilaine
MM44	13.06.2020	Frankreich	Bais	Ille-et-Vilaine
MM45	13.06.2020	Frankreich	Visseiche	Ille-et-Vilaine
MM46	13.06.2020	Frankreich	Coesmes	Ille-et-Vilaine

MM47	25.06.2020	Frankreich	Gaël	Ille-et-Vilaine
MM48	30.05.2020	Frankreich	Val d'Izé	Ille-et-Vilaine
MM49	13.06.2020	Frankreich	Retier	Ille-et-Vilaine
MM50	13.06.2020	Frankreich	Visseiche	Ille-et-Vilaine
MM51	30.05.2020	Frankreich	Guéméné Penfao	Loire-Atlantique
MM52	05.07.2020	Frankreich	La Meilleraye-de-Bretagne	Loire-Atlantique
MM53	03.07.2020	Frankreich	Noyal-sur-Brutz	Loire-Atlantique
MM54	07.07.2020	Frankreich	St-Philbert-de-Grand-Lieu	Loire-Atlantique
MM55	28.06.2020	Frankreich	Petit Auverné	Loire-Atlantique
MM56	31.05.2020	Frankreich	Port St Père	Loire-Atlantique
MM57	05.07.2020	Frankreich	La Meilleraye-de-Bretagne	Loire-Atlantique
MM58	07.06.2020	Frankreich	Treillières	Loire-Atlantique
MM59	04.06.2020	Frankreich	Treillières	Loire-Atlantique
MM60	Jul.20	Frankreich	La Planche	Loire-Atlantique
MM61	05.09.2020	Frankreich	Rougé	Loire-Atlantique
MM62	?	Frankreich	Guérande	Loire-Atlantique
MM63	?	Italien	Sedilis	Friaul-Julisch Venetien
MM64	?	Italien	Artegna	Friaul-Julisch Venetien
MM65	Okt.20	Italien	Cividale del Friuli	Friaul-Julisch Venetien
MM66	12.07.2020	Italien	Görz	Friaul-Julisch Venetien
MM67	Okt.20	Italien	Belluno	Venetien
MM68	Apr.20	Italien	Belluno	Venetien
MM106	?	Italien	?	Campania
MM108	?	Italien	?	Campania
MM109	?	Italien	?	Campania
MM110	14.02.2020	Italien	?	Campania
MM111	?	Italien	?	Campania
MM112	17.11.2019	Italien	Castel morrone	Campania
MM113	24.10.2019	Italien	Vallo della lucania	Campania
MM114	?	Italien	?	Campania

MM115	?	Italien	?	Campania
MM116	?	Italien	?	Campania
MM69	?	Kroatien	Lipik	Požega-Slawonien
MM70		Kroatien	Križevci	Koprivnica-Križevci
MM71	?	Kroatien	Našice	Osijek-Baranja
MM72	?	Kroatien	Našice	Osijek-Baranja
MM73	14.06.2020	Kroatien	Sv. Jana	Zagreb
MM74	15.06.2020	Kroatien	Sv. Jana	Zagreb
MM75	?	Kroatien	Bistra	Zagreb
MM76	?	Kroatien	Bistra	Zagreb
MM77	?	Kroatien	Virje	Koprivnica-Križevci
MM78	?	Kroatien	Virje	Koprivnica-Križevci
MM79	?	Kroatien	Virje	Koprivnica-Križevci
MM80	?	Kroatien	Virje	Koprivnica-Križevci
MM81	?	Kroatien	Virje	Koprivnica-Križevci
MM82	?	Kroatien	Virje	Koprivnica-Križevci
MM83	?	Kroatien	Virje	Koprivnica-Križevci
MM84	?	Kroatien	Virje	Koprivnica-Križevci
MM85	26.07.2010	Kroatien	Sv. Jana	Zagreb
MM86	03.07.2011	Kroatien	Sv. Jana	Zagreb
MM87	?	Kroatien	Jasenovac	Sisak-Moslavina
MM88	?	Kroatien	Jasenovac	Sisak-Moslavina
MM89	?	Kroatien	Jasenovac	Sisak-Moslavina
MM90	?	Kroatien	Jasenovac	Sisak-Moslavina
MM91	02.06.2020	Serbien	Novi Sad	Vojvodina
MM92	14.06.2020	Serbien	Novi Sad	Vojvodina
MM93	03.07.2020	Serbien	Novi Sad	Vojvodina
MM94	24.08.2020	Serbien	Novi Sad	Vojvodina
MM95	10.09.2020	Serbien	Novi Sad	Vojvodina
MM96	15.09.2020	Serbien	Novi Sad	Vojvodina
MM97	03.10.2020	Serbien	Novi Sad	Vojvodina
MM98	07.10.2020	Serbien	Novi Sad	Vojvodina
MM117	26.11.2019	Serbien	Valjevo	Kolubara

MM118	24.01.2020	Serbien	Boljevci	Zaječar
MM119	03.02.2018	Serbien	Donja Livadica	Velika Plana
MM120	21.02.2018	Serbien	Opova	Južni Banat
MM121	13.02.2018	Serbien	Sopot	Belgrad
MM122	18.02.2018	Serbien	Boljevci	Zaječar
MM123	07.02.2018	Serbien	Markovac	Južni Banat
MM124	10.10.2020	Serbien	Prijepolje	Zlatibor
MM125	26.02.2019	Serbien	Jakovo	Belgrad
MM126	02.11.2019	Serbien	Bač	Južna Bačka
MM127	24.01.2020	Serbien	Boljevci	Zaječar
MM128	01.10.2020	Serbien	Glandoš	?
MM129	04.11.2019	Serbien	Bač	Južna Bačka
MM130	07.02.2018	Serbien	Vraneši	Raška
MM131	18.02.2018	Serbien	Boljevci	Zaječar
MM132	05.06.2020	Serbien	Rogačica	Zlatibor
MM133	07.02.2018	Serbien	Markovac	Južni Banat
MM134	06.03.2019	Serbien	Jakovo	Belgrad
MM99	15.05.2020	Ungarn	Szulok	Somogy
MM100	07.11.2020	Ungarn	Abaliget	Baranya
MM101	05.08.2020	Ungarn	Mánfa	Baranya
MM102	19.09.2020	Ungarn	Mánfa	Baranya
MM103	21.09.2020	Ungarn	Kadarkút	Somogy
MM104	Sep.20	Ungarn	Kadarkút	Somogy
MM105	Jul.20	Ungarn	Hetvehely	Baranya

In Abbildung 3 sind die Herkunftsländer der Milzproben noch einmal anteilmäßig in ganzen Zahlen dargestellt.



**Abbildung 3:** Herkunftsländer der Milzproben anteilmäßig dargestellt.

## 11. Molekulare Analyse

### 11.1 DNA-Extraktion

Die Extraktion der DNA erfolgte mithilfe des DNeasy<sup>®</sup> Blood& Tissue Kit der Firma Qiagen<sup>®</sup>. Zunächst wurde mit einem Skalpell ein etwa stecknadelkopf-großes Stück Milz jeder Probe auf einer Petrischale unter Zuhilfenahme einer Pinzette herausgeschnitten. Danach wurden die Stücke in zuvor beschriftete Eppendorf-Tubes verbracht und eine Stunde lang mit geöffnetem Deckel bei 55 °C und 350 U/min auf den Eppendorf Thermomixer<sup>®</sup> gestellt. Dies diente dazu, das restliche Ethanol in den Milzproben zu verdampfen. Nach Ablauf der Zeit wurden in jedes Tube 180 µl Buffer ATL und 20 µl Proteinase K hinzupipettiert. Nachdem der Inhalt der geschlossenen Eppendorf-Tubes für 10 sek auf einem Vortexer durchmischt wurden, inkubierten die Tubes bei 56 °C für 24 h auf dem Thermomixer<sup>®</sup>.

Nach Entnahme der Tubes aus dem Inkubator am nächsten Tag wurde der Inhalt für 15 s auf dem Vortexer durchmischt und anschließend bei 8000 U/min für 60 sek zentrifugiert. Jeweils nach der Zugabe von 200 µl Buffer AL und 200 µl 99,9%iges Ethanol wurde der Inhalt auf dem Vortexer durchmischt.

Als nächster Schritt wurde der gesamte Inhalt mit einer Pipette aufgezogen und in die beschrifteten DNeasy<sup>®</sup> Minispinn columns verbracht. Diese Filtergefäße wurden anschließend für eine Minute bei 8000 U/min zentrifugiert. Der mit überschüssiger Flüssigkeit gefüllte Sammelbehälter im unteren Bereich wurde anschließend verworfen. Der obere Teil wurde in

neue Sammelbehälter gesteckt und es wurden 500 µl Buffer AW1 hinzupipettiert. Nach einer erneuten Zentrifugation mit denselben Einstellungen wurden die Sammelbehälter abermals verworfen und durch ein neues ersetzt. Nach Zugabe von 500 µl Buffer AW2 wurden die Gefäße für 3 min bei 14000 U/min zentrifugiert.

Zuletzt wurden die Filtergefäße in ein neues 1,5 ml Eppendorf Tube überführt. Dieses wurde zuvor ebenfalls beschriftet und zusätzlich mit einem A versehen. Hier wurden dann 100 µl Buffer AE direkt auf die DNeasy® Membran pipettiert. Nach einer Inkubationszeit von einer Minute bei Raumtemperatur wurden die Tubes bei 8000 U/min für eine Minute zentrifugiert. Die Filtergefäße wurden erneut in ein 1,5 ml Eppendorf Tube gesteckt und der Vorgang wiederholt. Diesmal wurden die Gefäße aber mit einem B beschriftet. Nach dem letzten Schritt wurden die Filtergefäße entsorgt und die beschrifteten Tubes mit der extrahierten DNA bis zur Durchführung der PCR bei -20 °C im Kühlschrank aufbewahrt.

## 11.2 PCR-Protokolle

### 11.2.1 Trypanosomatida NEST1

Forward Primer: S762F: 5'- GACTTTTGCTTCCTCTA(A/T)TG -3'

Reverse Primer: S763R: 5'- CATATGCTTGTTTCAAGGAC -3'

**Tabelle 2:** Mastermix Trypanosomatida NEST1

Mastermix		
Reagens	Menge in µl für 1 Tube	Menge in µl für 10 Tubes
Wasser	14,675 µl	146,75 µl
5X Green Reaction Buffer	5 µl	50,0 µl
dNTP's (Nucleotide)	0,2 µl	2,0 µl
TaqPolymerase (GoTaq)	0,125 µl	1,25 µl
Forward Primer	2 µl	20,0 µl
Reverse Primer	2 µl	20,0 µl
Template	1 µl	10 x 1 µl

**Tabelle 3:** Temperaturkurve PCR Trypanosomatida NEST 1

Temperaturkurve		
94 °C	5 min	Initiale Denaturierung
94 °C	1 min	30 x
64 °C	1,5 min	
72 °C	1,5 min	
72 °C	5 min	Finale Elongation
15 °C	Lagerung	

Erwartetes Produkt: ca. 2000 bp

### 11.2.2 Trypanosomatida NEST2

Forward Primer: S755: 5'- CATATGCTTGTTTCAAGGAC -3'

Reverse Primer: S823: 5'- CGAAYAACTGCYCTATCAGC -3'

**Tabelle 4:** Mastermix Trypanosomatida NEST2

Mastermix		
Reagens	Menge in µl für 1 Tube	Menge in µl für 10 Tubes
Wasser	14,675 µl	146,75 µl
5X Green Reaction Buffer	5 µl	50,0 µl
dNTP's (Nucleotide)	0,2 µl	2,0 µl
TaqPolymerase (GoTaq)	0,125 µl	1,25 µl
Forward Primer	2 µl	20,0 µl
Reverse Primer	2 µl	20,0 µl
Template	1 µl	10 x 1 µl

**Tabelle 5:** Temperaturkurve PCR Trypanosomatida NEST 2

Temperaturkurve		
96 °C	5 min	Initiale Denaturierung
94 °C	1 min	35 x
58 °C	1,5 min	
72 °C	1,5 min	
72 °C	5 min	Finale Elongation
15 °C	Lagerung	

Erwartetes Produkt: 326 bp

(Maslov et al. 1996)

### 11.2.3 Filarioidea (Nematoda)

Forward Primer: COLint-F: 5' - TGATTGGTGGTTTTGGTAA -3'

Reverse Primer: COLint-R: 5' - ATAAGTACGAGTATCAATATC -3'

**Tabelle 6:** Mastermix Filarioidea

Mastermix		
Reagens	Menge in µl für 1 Tube	Menge in µl für 10 Tubes
Wasser	13,675 µl	136,75 µl
5X Green Reaction Buffer	5 µl	50,0 µl
dNTP's (Nucleotide)	0,2 µl	2,0 µl
TaqPolymerase (GoTaq)	0,125 µl	1,25 µl
Forward Primer	2 µl	20,0 µl
Reverse Primer	2 µl	20,0 µl
Template	2 µl	10 x 2 µl

**Tabelle 7:** Temperaturkurve PCR Filarioidea

Temperaturkurve		
94 °C	2 min	Initiale Denaturierung
94 °C	45 sek	8 x um jeweils 0,5 °C reduziert
51 °C	45 sek	
72 °C	1,5 min	
94 °C	45 sek	25 x
45 °C	45 sek	
72 °C	1,5 min	
72 °C	7 min	Finale Elongation
15 °C	Lagerung	

Erwartetes Produkt: 668 bp  
(Hamer et al. 2013)

#### 11.2.4 Piroplasmida (Apicomplexa) NEST1

Forward Primer: BTH-1F: 5'- CCTGAGAAACGGCTACCACATCT -3'

Reverse Primer: BTH-1R: 5'- TTGCGACCATACTCCCCCA -3'

**Tabelle 8:** Mastermix Piroplasmida NEST1

Mastermix		
Reagens	Menge in µl für 1 Tube	Menge in µl für 10 Tubes
Wasser	14,250 µl	142,50 µl
5X Green Reaction Buffer	5 µl	50,0 µl
dNTP's (Nucleotide)	0,2 µl	2,0 µl
TaqPolymerase (GoTaq)	0,125 µl	1,25 µl
Forward Primer	0,25 µl	2,5 µl
Reverse Primer	0,25 µl	2,5 µl
Template	5 µl	10 x 5 µl

**Tabelle 9:** Temperaturkurve PCR Piroplasmida NEST1

Temperaturkurve		
94 °C	2 min	Initiale Denaturierung
95 °C	30 sek	40 x
68 °C	1 min	
72 °C	1 min	
72 °C	10 min	
15 °C	Lagerung	

Erwartetes Produkt: 700 bp

### 11.2.5 Piroplasmida (Apicomplexa) NEST2

Forward Primer: G-2\_for: 5'- GTCTTGTAATTGGAATGATGG -3'

Reverse Primer: G-2\_rev: 5'- CCAAAGACTTTGATTTCTCTC -3'

**Tabelle 10:** Mastermix Piroplasmida NEST2

Mastermix		
Reagens	Menge in µl für 1 Tube	Menge in µl für 10 Tubes
Wasser	13,750 µl	137,50 µl
5X Green Reaction Buffer	5 µl	50,0 µl
dNTP's (Nucleotide)	0,2 µl	2,0 µl
TaqPolymerase (GoTaq)	0,2 µl	2,0 µl
Forward Primer	0,5 µl	5,0 µl
Reverse Primer	0,5 µl	5,0 µl
Template	5 µl	10 x 5 µl

**Tabelle 11:** Temperaturkurve PCR Piroplasmida NEST2

Temperaturkurve		
94 °C	2 min	Initiale Denaturierung
95 °C	30 sek	40 x
60 °C	1 min	
72 °C	1 min	
72 °C	10 min	Finale Elongation
15 °C	Lagerung	

Erwartetes Produkt: 561 bp

(Zintl et al. 2011)

### 11.2.6 *Rickettsia* (Alphaproteobacteria)

Forward Primer: Ricketts ITS\_for: 5'- GATAGGTCGGGTGTGGAAG -3'

Reverse Primer: Ricketts ITS\_rev: 5'- TCGGGATGGGATCGTGTG -3'

**Tabelle 12:** Mastermix *Rickettsia*

Mastermix		
Reagens	Menge in µl für 1 Tube	Menge in µl für 10 Tubes
Wasser	12,675 µl	126,75 µl
5X Green Reaction Buffer	5 µl	50,0 µl
dNTP's (Nucleotide)	0,2 µl	2,0 µl
TaqPolymerase (GoTaq)	0,125 µl	1,25 µl
Forward Primer	1,0 µl	10,0 µl
Reverse Primer	1,0 µl	10,0 µl
Template	5 µl	10 x 5 µl

**Tabelle 13:** Temperaturkurve PCR *Rickettsia*

Temperaturkurve		
96 °C	4 min	Initiale Denaturierung
94 °C	1 min	35 x
52 °C	1 min	
72 °C	2 min	
72 °C	3 min	Finale Elongation
15 °C	Lagerung	

Erwartetes Produkt: ca. 400 bp

(Vitorino et al. 2003)

### 11.2.7 Hämotrope Mycoplasmen

Forward Primer: HBT-F: 5'- ATACGGCCCATATTCCTACG -3'

Reverse Primer: HBT-R: 5'- TGCTCCACCACTTGTTCA -3'

**Tabelle 14:** Mastermix Mycoplasmen

Mastermix		
Reagens	Menge in µl für 1 Tube	Menge in µl für 10 Tubes
Wasser	12,675 µl	126,75 µl
5X Green Reaction Buffer	5 µl	50,0 µl
dNTP's (Nucleotide)	0,2 µl	2,0 µl
TaqPolymerase (GoTaq)	0,125 µl	1,25 µl
Forward Primer	1,0 µl	10,0 µl
Reverse Primer	1,0 µl	10,0 µl
Template	5 µl	10 x 5 µl

**Tabelle 15:** Temperaturkurve PCR Mycoplasmen

Temperaturkurve		
94 °C	2 min	Initiale Denaturierung
95 °C	1 min	40 x
60 °C	1 min	
72 °C	1 min	
72 °C	7 min	Finale Elongation
15 °C	Lagerung	

Erwartetes Produkt: ca. 600 bp

(Criado-Fornelio et al. 2003)

### 11.2.8 *Bartonella* spp.

Forward Primer: bartgd\_for: 5'- GATGATGATCCCAAGCCTTC -3'

Reverse Primer: B1623 rev: 5'- AACCAACTGAGCTACAAGCC -3'

**Tabelle 16:** Mastermix *Bartonella*

Mastermix		
Reagens	Menge in µl für 1 Tube	Menge in µl für 10 Tubes
Wasser	12,675 µl	126,75 µl
5X Green Reaction Buffer	5 µl	50,0 µl
dNTP's (Nucleotide)	0,2 µl	2,0 µl
TaqPolymerase (GoTaq)	0,125 µl	1,25 µl
Forward Primer	1,0 µl	10,0 µl
Reverse Primer	1,0 µl	10,0 µl
Template	5 µl	10 x 5 µl

**Tabelle 17:** Temperaturkurve PCR *Bartonella*

Temperaturkurve		
95 °C	10 min	Initiale Denaturierung
95 °C	15 sek	30 x
60 °C	1 min	
72 °C	20 sek	
72 °C	5 min	Finale Elongation
15 °C	Lagerung	

Erwartetes Produkt: 179 bp

(Jensen et al. 2000)

### 11.2.9 Anaplasmataceae (Rickettsiales)

Forward Primer: EHR16SD\_for: 5'-GGTACCYACAGAAGAAGTCC-3'

Reverse Primer: EHR16SR\_rev: 5'-TAGCACTCATCGTTTACAGC-3'

**Tabelle 18:** Mastermix Anaplasmataceae

Mastermix		
Reagens	Menge in µl für 1 Tube	Menge in µl für 10 Tubes
Wasser	11,175 µl	111,75 µl
5X Green Reaction Buffer	5 µl	50,0 µl
dNTP's (Nucleotide)	0,2 µl	2,0 µl
MgCl <sub>2</sub>	1,5 µl	15,0 µl
TaqPolymerase (GoTaq)	0,125 µl	1,25 µl
Forward Primer	1,0 µl	10,0 µl
Reverse Primer	1,0 µl	10,0 µl
Template	5 µl	10 x 5 µl

**Tabelle 19:** Temperaturkurve PCR Anaplasmataceae

Temperaturkurve		
95 °C	2 min	Initiale Denaturierung
94 °C	1 min	35 x
54 °C	30 sek	
72 °C	30 sek	
72 °C	5 min	Finale Elongation
15 °C	Lagerung	

Erwartetes Produkt: 345 bp

(Parola et al. 2000)

#### 11.2.10 *Borrelia* (Spirochaetae)

Forward Primer: Borr\_allg\_for: 5' - ACGCTGGCAGTGCGTCTTAA -3'

Reverse Primer: Borr\_allg\_rev: 5' - CTGATATCAACAGATTCCACCC -3'

**Tabelle 20:** Mastermix *Borrelia*

Mastermix		
Reagens	Menge in µl für 1 Tube	Menge in µl für 10 Tubes
Wasser	12,675 µl	126,75 µl
5X Green Reaction Buffer	5 µl	50,0 µl
dNTP's (Nucleotide)	0,2 µl	2,0 µl
TaqPolymerase (GoTaq)	0,125 µl	1,25 µl
Forward Primer	1,0 µl	10,0 µl
Reverse Primer	1,0 µl	10,0 µl
Template	5 µl	10 x 5 µl

**Tabelle 21:** Temperaturkurve PCR *Borrelia*

Temperaturkurve		
94 °C	5 min	Initiale Denaturierung
94 °C	1,5 min	40 x
63 °C	2 min	
72 °C	2 min	
72 °C	10 min	Finale Elongation
15 °C	Lagerung	

Erwartetes Produkt: 674 bp

(Liebisch et al. 1998)

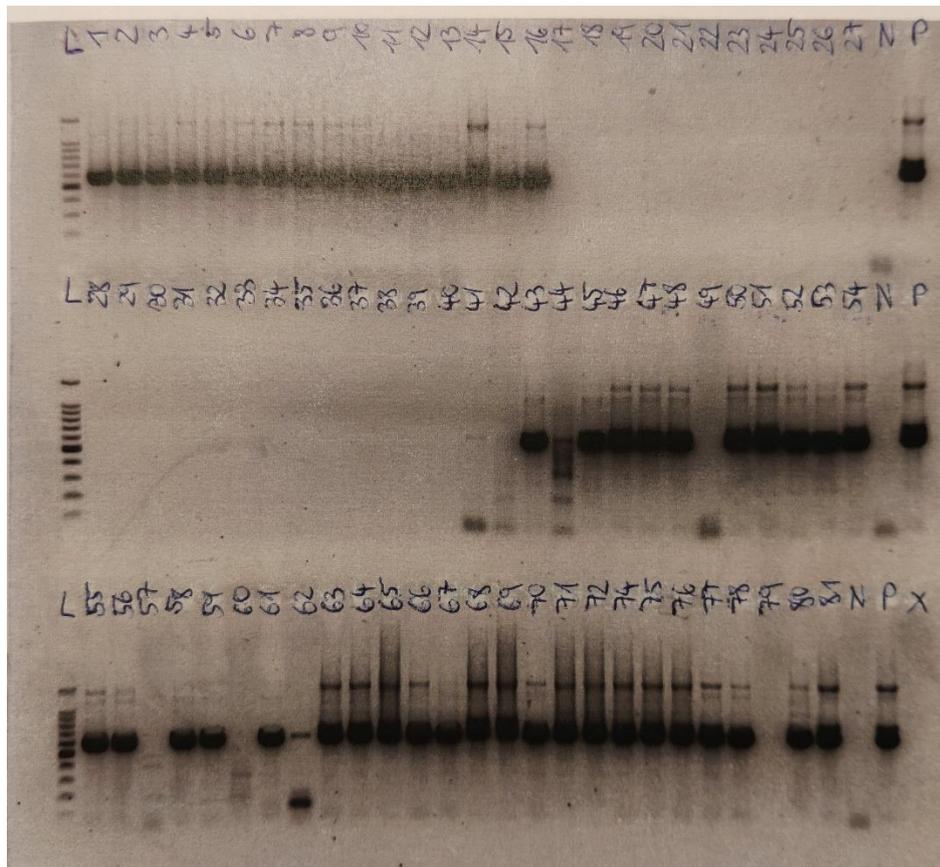
### 11.3 Herstellung des Gels

In einem großen Erlenmeyer-Glaskolben werden genau 1,8 g Agarosepulver abgewogen und mit 100 ml TBE-Puffer, der bei etwa 4 °C gelagert wird, und 20 ml Wasser durch Schwenken aufgelöst. Danach wird die Öffnung des Kolbens mit Plastikfolie verschlossen und der Inhalt des Gefäßes für etwa 3 min auf höchster Stufe in der Mikrowelle zum Kochen gebracht. Im nächsten Schritt werden 4,2 µl Midori-Green unter dem Abzug hinzupipettiert und vermischt. Das flüssige Agarose-Gel wird in den vorbereiteten Rahmen gegossen und Plastikkämme, die die Taschen, in welche später die Proben pipettiert werden, bilden, werden eingesetzt. Nach dem Ausgelieren, nach etwa 45 min unter dem Abzug, wird das Gel vorsichtig aus dem Rahmen entfernt, in Plastikfolie gewickelt und bis zur späteren Verwendung im Kühlschrank gelagert.

### 11.4 Durchführung der Gelelektrophorese

Die zuvor hergestellte Gelplatte wird in eine Elektrophoresekammer gelegt und mit TBE-Puffer befüllt, bis das Gel vollständig bedeckt ist. Danach werden die jeweils ersten Taschen jeder Reihe mit 15 µl Leiter befüllt. In die weiteren Taschen werden jeweils 5 µl der Probe pipettiert und die letzten zwei Taschen sind für jeweils 5 µl der Negativ- bzw. Positivkontrolle vorgesehen. Nachdem die Kammer mit einem Deckel verschlossen wurde, schließt man das System an den Strom an. Die Laufzeit der Gelelektrophorese beträgt 48 min bei 120 V.

Nach Abschluss der Gelelektrophorese wird das Gel entnommen und unter UV-Licht werden die Banden sichtbar. Die Leiter ermöglicht eine Bestimmung der Anzahl der Basenpaare. Mithilfe des ChemiBIS genXpress® (DNR Bio-Imaging Systems Ltd) UV-Scanners und der Gelcapture Software Version 5.0 werden die Ergebnisse digital am Computer gespeichert. Abbildung 4 zeigt die Darstellung der Banden.



**Abbildung 4:** Ergebnisse der Gelelektrophorese Piroplasmida (Apicomplexa) NEST2 der Proben MM1 bis MM81 (L=Ladder, N=Negativkontrolle, P=Positivkontrolle)

### 11.5 Sequenzierung

Die Sequenzierung der positiven Proben erfolgte durch LGC Genomics in Berlin, Deutschland. Der Abgleich der DNA-Barcodes wurde mit den Datenbanken BOLD und GenBank® durchgeführt.

## 12. Ergebnisse

**Tabelle 22:** Ergebnisse der molekularen Analyse

Erreger	abs. Zahlen	Prozent	Konfidenzintervall 95 %
<i>Trypanosoma</i> sp.	73	54,89 %	[46,43-63,34 %]
Filaroidea sp.	0	0,00 %	
Piroplasmida sp.	118	88,72 %	[83,35-94,10 %]
<i>Rickettsia</i> sp.	0	0,00 %	
<i>Mycoplasma</i> sp	61	45,86 %	[37,40-54,33 %]
<i>Bartonella</i> sp.	0	0,00 %	
Anaplasmataceae (Rickettsiales) ( <i>Ehrlichia</i> sp.)	3	2,26 %	[0,00-4,78 %]
<i>Borrelia</i> sp.	0	0,00 %	

Von den insgesamt 133 beprobten Dachsmilzen konnten in 14 Exemplaren keiner der 8 Erreger, nach denen in dieser Arbeit getestet wurde, nachgewiesen werden. Die restlichen 119 Proben enthielten zumindest einen der oben angeführten Blutparasiten.

Diese Ergebnisse sind in Tabelle 22 zusammengefasst und mit dem 95 % Konfidenzintervall veranschaulicht.

Die Prävalenz von *Trypanosoma* sp. betrug 54,89 %, in der nachfolgenden Sequenzierung konnten in allen Fällen *Trypanosoma pestanai* identifiziert werden.

Es konnten keine Dirofilarien aus der Überfamilie Filarioidea nachgewiesen werden. Ebenso waren alle Proben negativ auf *Rickettsia* sp., *Bartonella* sp. und *Borrelia* sp..

Verschiedene *Babesia* aus der Ordnung der *Piroplasmida*, vor allem *Babesia* sp. *badger type A*, *type B* oder eine Mischform, konnten in 118 Proben gefunden werden. Das ergibt eine Prävalenz von 88,72 %. Am häufigsten zu finden war *Babesia* sp. *badger type A*, mit 45,76 %, gefolgt von *Babesia* sp. *badger isolate Badger-1\_mixed* mit 28,81 %. Die Sequenzierung ergab weiters, dass 14,41 % der Proben positiv auf *Babesia* sp. *badger type B* identifiziert werden konnten, sowie, dass 11,02 % mit einer Mischform, *Babesia* sp. *badger type A/type B*, infiziert waren. Diese Daten sind auch in Tabelle 23 veranschaulicht.

**Tabelle 23:** Ergebnisse der Sequenzierung von *Babesia* sp.

<i>Babesia</i> sp. nach Sequenzierung	abs. Zahlen	Prozent
<b><i>Babesia</i> sp. badger type A</b>	54	45,76 %
<i>Babesia</i> sp. badger type B	17	14,41 %
<i>Babesia</i> sp. badger type A/type B	13	11,02 %
<i>Babesia</i> sp. badger isolate Badger-1_mixed	34	28,81 %

Die Sequenzanalysen der 61 Mykoplasmen PCR-positiven Proben, mit einer Prävalenz von 45,86 %, ergaben verschiedene Arten. Darunter zu finden sind *Uncultured Mycoplasma* sp. isolate 86/17, zuvor schon in Wildkatzen in Bosnien nachgewiesen, *Candidatus Mycoplasma haemomeles* oder *Uncultured Mycoplasma* sp.\_dog\_Australia\_like. Die Ergebnisse der Sequenzierung sind in Tabelle 24 auffindbar.

Beim Großteil, nämlich 43 von 61 (70,49 %) der sequenzierten Mykoplasmen handelt es sich um nahe Verwandte von *Uncultured Mycoplasma* sp. isolate 86/17, erstmals in einer von 18 Wildkatzen in Bosnien und Herzegowina identifiziert (Hodžić et al. 2018). Dieses Isolat konnte in jedem Land, aus dem Proben untersucht wurden, nachgewiesen werden.

*Candidatus Mycoplasma haemomeles*\_Typ3 konnte in sechs Fällen, mit einer Prävalenz von 9,84 % gefunden werden, ähnliche Isolate wiesen Harasawa et al. zuvor in einem japanischen Dachs nach (Harasawa et al. 2014).

*Uncultured Mycoplasma* sp.\_dog\_Australia\_like (auf GenBank unter HE577612.1: *Uncultured Mycoplasma* sp. partial 16S rRNA gene, isolate T1 zu finden) wurde erstmals mittels PCR in Blutproben von zwei Hunden der freilaufenden Hundepopulationen in den Gemeinden der australische Aborigine nachgewiesen. Dieses neuartige Hämoplasmen-Isolat weist die höchste Identität mit der Hämofelis-Gruppe (82,8 bis 84,9 %), dicht gefolgt von der Hämominutum-Gruppe (79,1 bis 83,7 %) und den nicht-hämotropen Mykoplasmen *Mycoplasma fastidiosum* und *Mycoplasma cavipharyngis* (82,3 bzw. 82,5 %). Die Bedeutung und der Hauptwirt dieses Isolates müssen noch geklärt werden (Barker et al. 2012).

*Uncultured Mycoplasma* sp. clone MspBRRS01\_waschbärBrazil-like (GenBank: MK751704.1) wurde von Fagundes-Moreira et al. erstmals in zwei Krabbenwaschbären (*Procyon cancrivorus*) in Brasilien identifiziert. Mittels molekularer Analyse aus einer Milzprobe konnten sie das Isolat nachweisen, dessen Sequenz mit dem mit dem Genotyp VI (Ähnlichkeit von 100 %) in Verbindung gebracht wurde, dieser wurde von Volokhov et al. in

einem Waschbären (*Procyon lotor*) in den USA gefunden (Fagundes-Moreira et al. 2023; Volokhov et al. 2017).

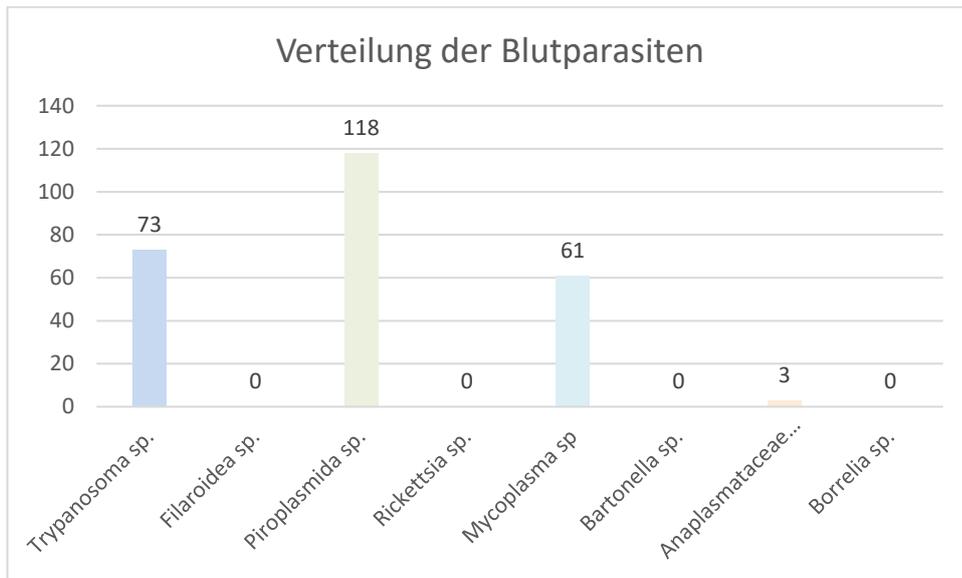
Zwei der *Mycoplasma* sp.-Sequenzierungen konnten trotz schlechter Sequenz mit hoher Ähnlichkeit Uncultured Mycoplasma sp. clone SK1F2 (GenBank: KX761388.1) zugordnet werden. Dieses Isolat wurde erstmals in einem Rotfuchs in der Slowakei nachgewiesen und hat das Vorhandensein mehrerer Einzelnukleotid-Polymorphismen gezeigt. Die BLAST-Analyse ergab eine 97-99%ige Ähnlichkeit dieser Nukleotidsequenzen aus slowakischen Rotfüchsen mit Candidatus *M. turicensis*-Isolaten von Haus- und/oder Wildkatzen aus der ganzen Welt (z. B. Italien/KR905458-459, Brasilien/KM275267; Taiwan/JQ689949, Australien/DQ464423 und Japan/AB697739) (Koneval et al. 2017).

Drei der insgesamt 61 positiven Mykoplasmen-Proben (Prävalenz von 4,92%) wiesen neuartige *Mycoplasma* sp. auf, die noch weiter analysiert werden müssen.

**Tabelle 24:** Ergebnisse der Sequenzierung von *Mycoplasma* sp.

<i>Mycoplasma</i> sp. nach Sequenzierung	abs. Zahlen	Prozent
<b>Uncultured Mycoplasma sp. isolate 86/17-like</b>	43	70,49%
Candidatus Mycoplasma haemomeles_Typ3	6	9,84%
Uncultured Mycoplasma sp._dog_Australia_like	5	8,20%
novel Mycoplasma sp.	3	4,92%
Uncultured Mycoplasma sp. clone MspBRRS01_waschbärBrazil-like	2	3,28%
F2_foxslovakialike	2	3,28%

*Ehrlichia* sp. konnten in drei Milzproben nachgewiesen werden. Die Erreger mit einer Prävalenz von 2,26 % konnten in der Sequenzierung als *Ehrlichia* sp. isolate 89\_dog\_hungary identifiziert werden. Dieser Erreger wurde zuvor schon in einem Hund in Ungarn nachgewiesen (Hornok et al. 2018). Hier in dieser Arbeit waren zwei Dachse aus der Region Koprivnica-Križevci in Kroatien und ein Dachs aus der Region Somogy in Ungarn mit diesem Isolat infiziert.



**Abbildung 5:** Verteilung der nachgewiesenen Blutparasiten in absoluten Zahlen

In der im Anhang platzierten Tabelle werden alle untersuchten Proben gemeinsam mit den Ergebnissen der molekularen Analyse und Sequenzierung aufgelistet.

Die geographische Verteilung der Blutparasiten *Trypanosoma sp.*, *Babesia sp.*, *Mycoplasma sp.* und *Ehrlichia sp.* wird in den nachfolgenden Abbildungen 6,7 und 8 veranschaulicht.



**Abbildung 6:** Geographische Verteilung von *Trypanosoma sp.*

Jeder blaue Punkt repräsentiert eine positive Probe (modifiziert nach (Europe - Wikipedia, 27.06.2023))

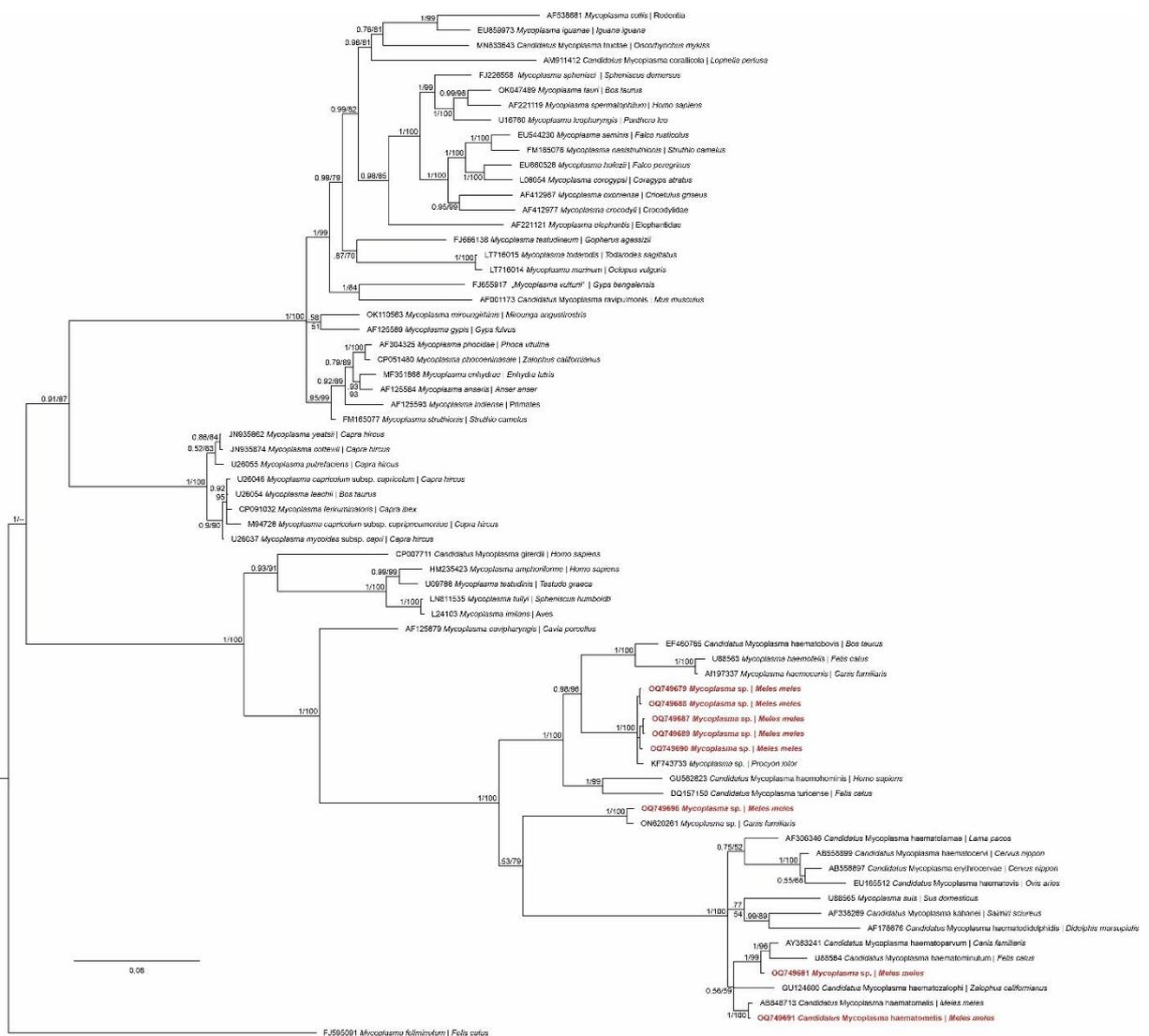


**Abbildung 7:** Geografische Verteilung von *Babesia* sp.

Jeder rote Punkt repräsentiert eine positive Probe  
(modifiziert nach (Europe - Wikipedia, 27.06.2023))



**Abbildung 8:** Geographische Verbreitung von *Ehrlichia* sp. und *Mycoplasma* sp. Schwarze Punkte repräsentieren *Ehrlichia* sp., grüne Punkte *Mycoplasma* sp. (modifiziert nach (Europe - Wikipedia, 27.06.2023))



**Abbildung 9:** Phylogenetischer Stammbaum der gefundenen *Mycoplasma* spp. (erstellt von Dr.med.vet. Maria Sophia Unterköfler)

Abbildung 9 zeigt den Bayesischen Interferenzbaum mit 16S rRNA-Gen-Sequenzen (950 Nukleotidpositionen) von *Mycoplasma* spp. Die Knoten sind mit Bayes'schen Interferenz-Posterior-Wahrscheinlichkeiten und Maximum-Likelihood-Bootstrap-Werte markiert. Die rot markierten Sequenzen wurden in dieser Studie gewonnen. Der Balken zeigt die erwartete mittlere Anzahl von Substitutionen pro Stelle gemäß dem Modell der Sequenzentwicklung an.

### 13. Diskussion

Das Ziel dieser Arbeit war es verschiedene Blutparasiten und andere von Vektoren übertragene Erreger in Milzproben europäischer Dachse mithilfe molekularer Analysen nachzuweisen und zu sequenzieren. Die Ergebnisse wurden anteilmäßig und geographisch veranschaulicht.

Die Prävalenz von *Trypanosoma pestanai* betrug 54,89 %, liegt also etwas höher als bei (Ideozu et al. 2015) im Vereinigten Königreich, mit 35,4 %. Diese Studie verwendete Blutproben von lebend gefangenen Dachsen in einem Zeitraum von zwei Monaten, was eine saisonale Schwankung ausschließt. Andere Studien aus England, die jeweils einen mikroskopischen Nachweis mittels eines Blutausstrichs verwendeten, konnten nur eine Prävalenz von 10 % bzw. 7.7 % nachweisen (Macdonald et al. 1999; Peirce und Neal 1974). Dies könnte darauf zurückzuführen sein, dass es, besonders bei niedriger Parasitämie, schwierig ist Trypanosomen in Blutausstrichen zu identifizieren. Lizundia et al. wählten ebenfalls den Erregernachweis mittels PCR und die Prävalenz ihrer Studie betrug 31 %. Sie verwendeten ebenfalls Blutproben leben gefangener Dachse (Lizundia et al. 2011). Eine Studie aus Italien nahm Blutproben zweier Dachse, die aufgrund ihres schlechten Gesundheitszustandes in ein Rettungszentrum für Wildtiere eingeliefert worden waren. Nach wenigen Tagen starben die beiden aber und so entnahm man noch Gewebeproben aus Milz, Leber, Gehirn, Herz, Niere, Zwerchfell, Knochenmark und Skelettmuskel. Mittels molekularer Analysen konnten zwar die Blutproben beider Dachse positiv auf *T. pestanai* getestet werden, die restlichen Gewebeproben waren allerdings allesamt negativ (Sgroi et al. 2021). Die Wahl des Probenmaterials, sowie die Art des Nachweises scheinen also eine signifikante Rolle bezüglich des Nachweises von *T. pestanai* in europäischen Dachsen zu spielen.

In dieser Studie konnte bei keinem Dachs eine Infektion mit Dirofilarien nachgewiesen werden. Eine Arbeit aus Rumänien konnte *D. immitis* in einem Dachs, mit einer Prävalenz von 0,87 % identifizieren. Diese Studie verwendeten allerdings keine Milzproben, sondern Blutproben direkt aus dem Herzen (Ionică et al. 2022). Eine weitere Studie aus Polen, die Herz und Lunge von zwei Dachsen beprobte, konnte ebenfalls keine Dirofilarien nachweisen (Penezić et al. 2014). Ebenfalls in Polen konnten Alsarraf et al. eine positive Probe auf *D. repens* mittels molekularem Nachweises bei Milz- und Blutproben von 54 Dachsen identifizieren. Dies entspricht einer Prävalenz von 1,9 % (Alsarraf et al. 2023).

Kravchenko et al. wiesen eine Prävalenz von 10 % bei *D. repens* in Dachsen aus der Region Krasnodar in Russland nach. Den Nachweis erreichten sie durch die anatomische Lokalisation, morphometrische und morphologische Charakteristika der gefundenen Würmer. Dazu wurden 66 Dachse, die legal geschossen wurden, gehäutet und sowohl die Haut, als auch der ganze Körper mehrmals in warmes Wasser getaucht, das Wasser aufgefangen und auf Würmer untersucht (Kravchenko et al. 2016).

Auch bei Dirofilarien scheint die Wahl des Probenmaterials ausschlaggebend zu sein. Blutproben aus dem Herzen oder Gewebeproben aus Herz und Lunge scheinen für den Nachweis von *D. immitis* geeignet zu sein, während bei *D. repens* Hautgewebeproben bzw. die Methode, die Kravchenko et al. verwendeten, die bessere Wahl zu sein scheinen.

*Babesia* sp., in Form von *Babesia* sp. *badger type A*, *type B* und *Babesia* sp. *badger isolate Badger-1\_mixed* konnte mit einer Prävalenz von 88,72 % nachgewiesen werden. Dies deckt sich mit einer anderen Studie aus Ungarn (Hornok et al. 2017). ist aber deutlich höher als in Arbeiten aus Schottland, mit einer Prävalenz von 59,6 % bzw. 29,8 % aus Blut bzw. Milzproben, oder Süditalien, die *Babesia* sp. in 53,8 % nachweisen konnten (Bartley et al. 2017; Santoro et al. 2019). Eine Studie aus Spanien, die ebenfalls Milzproben mittels molekularer Analyse untersuchten, erreichten eine Prävalenz von 52,5 % bei 122 Dachsen (BARANDIKA et al. 2016). Die Prävalenz von mit Dachsen assoziierten *Babesia* spp in der hier vorgelegten Arbeit gehört also zu den höheren Werten, verglichen mit ähnlichen Studien, die bisher ermittelt wurden. Diese Differenzen deuten darauf hin, dass regionale Unterschiede in der Vielfalt von Zeckenarten sowie der Anzahl einen Einfluss auf die Dynamik der Infektion von Säugetierwirten haben (Santoro et al. 2019).

Keiner der Dachse innerhalb dieser Studie war mit *Rickettsia* sp. infiziert, eine Studie aus Polen konnte aus Hautgewebeproben eine Prävalenz von 3,77 % nachweisen (Jurczyk et al. 2022). Eine Studie aus Spanien konnte in 130 Karnivoren, darunter drei europäische Dachse, ebenfalls keine Rickettsien in Blut- oder Milzproben nachweisen. *Rhipicephalus*-Zecken, die hierbei auch untersucht wurden, wiesen jedoch eine Prävalenz von 58,06 % auf. Márquez and Millán fanden *Rickettsia* sp. in Zecken, die auf wilden Karnivoren in Spanien gefunden wurden, in 52 von 164 untersuchten Proben, das entspricht einer Prävalenz von 31,7 % (Márquez und Millán 2009). Diese Vergleiche könnten darauf schließen lassen, dass *Rickettsia* sp. verhältnismäßig selten wilde Karnivoren in Europa infizieren.

Nach der Sequenzierung der 61 *Mycoplasma* PCR-positiven Proben, mit einer Prävalenz von 45,86 %, konnten *Uncultured Mycoplasma sp. isolate 8617 \_like*, *Uncultured Mycoplasma sp.\_dogAustralia\_like*, *Candidatus Mycoplasma haemomeles\_Typ3* und weitere Arten nachgewiesen werden. Eine Studie aus Spanien wies Mykoplasmen mit einer etwas höheren Prävalenz von 67,65 % in Blut- bzw. Milzproben von 85 *Meles meles* nach (Millán et al. 2018). Ansonsten gibt es nur wenig Literatur bezüglich *Mycoplasma* sp. in europäischen Dachsen, eine Studie in Japan konnte eine neuartige Haemoplasmen Art in einem Japanischen Dachs (*Meles meles anakuma*) nachweisen (Harasawa et al. 2014). Aufgrund der unzureichenden Studienlage werden noch mehr Daten benötigt um diese Ergebnisse einzuordnen und eventuelle regionale, saisonale, alters- oder geschlechtsspezifische Unterschiede darstellen zu können.

Ebenfalls keine positiven Ergebnisse konnten bei *Bartonella* sp. gefunden werden. In Nordspanien konnten in Milz- und Leberproben von 75 Europäischen Dachsen Bartonellen mit einer Prävalenz von 12 % identifiziert werden (Gerrikagoitia et al. 2012). Eine andere Studie aus Italien konnte keine Bartonellen in Milzproben von acht Dachsen finden (Greco et al. 2021).

Drei Milzproben waren positiv auf *Ehrlichia* sp., die nach der Sequenzierung als *Ehrlichia sp. isolate 89\_dog\_Ungarn\_100* identifiziert werden konnten. Die Prävalenz beträgt 2,26 %. In Ungarn konnten keine *Ehrlichia* sp. aus Milzproben von fünf Dachsen nachgewiesen werden, ebenso in Spanien, wo die Stichprobengröße allerdings nur drei betrug (Hornok et al. 2017; Millán et al. 2016). Eine andere Studie aus Nordspanien konnte bei 130 europäischen Dachsen eine positive Probe auf eine neue *Ehrlichia* sp., eng verwandt mit *Ehrlichia chaffeensis*, vorzeigen (GARCÍA-PÉREZ et al. 2016). Battisti et al. identifizierten *Ehrlichia* sp. in fünf von 45 Dachsen, eine Prävalenz von 11,11 % (Battisti et al. 2020).

Diese hier vorgelegte Studie könnte also die erste sein, in der der Nachweis von *Ehrlichia sp. isolate 89\_dog\_hungary\_100* in Europäischen Dachsen gelang.

Keine der Proben, die in dieser Studie enthalten sind, konnte positiv auf *Borrelia* sp. getestet werden. Mit einer Prävalenz von 12 % konnte eine Studie aus Polen Borrelien in Blut-, Ohrgewebe- und Leberproben nachweisen (Wodecka et al. 2016). Hildebrand et al. gelang der Nachweis von Borrelien in Proben von Waschbären, Marderhunden und Füchsen in Polen fast nur in Ohrgewebeproben. Nur eines der positiven Ergebnisse stammte aus der

Leber eines Waschbären. Die Prävalenz innerhalb der Ohrgewebeproben betrug 10,6 % (Hildebrand et al. 2022). In der Schweiz wurden 31 Gewebeproben, aus Ohrgewebe und Aspirationsflüssigkeit, von acht Dachsen beprobt. Dabei konnten sechs *Borrelia* Isolate in drei Dachsen, mit einer Prävalenz von 37,5 % nachgewiesen werden (Gern und Sell 2009).

Die Prävalenzen des Großteils der Blutparasiten und anderen von Vektoren übertragene Erreger stimmt mit denen aus der Literatur annähernd überein. Differenzen ergeben sich hauptsächlich durch kleine Stichprobengrößen oder geographische Unterschiede.

Die Auswahl der Probenart dürfte auch eine Rolle spielen, vor allem beim Nachweis von *Dirofilaria* sp., *Rickettsia* sp. oder *Borrelia* sp. Aufgrund des Lebenszyklus dieser Erreger bzw. ihrer Zielzellen eignen sich Milzproben vermutlich nicht für die Detektion.

Als möglicher Grund für die Differenzen kommt neben einem möglicherweise schlechten Erhaltungszustand einiger Proben auch eine Degradierung der DNA in Frage.

In folgenden Studien könnte man über zusätzliche Proben aus Blut direkt aus dem Herzen bzw. Hautgewebeproben nachdenken. Ebenso wäre es sinnvoll, Ektoparasiten, die auf den Dachsen gefunden werden, ebenfalls auf dieselben Erreger zu untersuchen, um einen noch besseren Überblick über den Infektionsdruck der potentiellen Zoonoseerreger in Europa zu erhalten.

## 14. Zusammenfassung

Durch Vektoren übertragene Krankheiten spielen eine immer größer werdende Rolle in der Human- und Veterinärmedizin. Der Klimawandel und andere Faktoren wie die Globalisierung und der internationale Handel begünstigen das Auftreten und die Verbreitung der Pathogene und Vektoren. Wildtierpopulationen, besonders Fleischfresser sind ein natürliches Reservoir und durch die räumliche Nähe zu Menschen und Heimtieren sind zoonotische Infektionen so möglich.

Über einen Zeitraum von etwas mehr als zweieinhalb Jahren wurden Milzproben von 133 Europäischen Dachsen aus verschiedenen Ländern Europas (Deutschland, Bosnien und Herzegowina, Frankreich, Italien, Kroatien, Serbien und Ungarn) am Institut für Parasitologie der Veterinärmedizinischen Universität Wien durch eine molekulare Analyse untersucht. Dabei wurde zunächst die DNA extrahiert um anschließend verschiedene PCRs der spezifischen Erreger durchzuführen. Danach wurde das Ergebnis mittels Gelelektrophorese sichtbar gemacht und die positiven Proben zur weiteren Sequenzierung eingeschickt.

Durch dieses Verfahren konnten verschiedene Vertreter von *Trypanosoma* sp., *Babesia* sp., *Mycoplasma* sp. und *Ehrlichia* sp. nachgewiesen werden. Diese Ergebnisse wurden sowohl anteilmäßig als auch geographisch dargestellt und mit Ergebnissen ähnlicher Studien verglichen.

Die Prävalenz der Trypanosomen betrug 54,89 %, Die der *Piroplasmida* sp. 88,72 % und Mykoplasmen konnten mit einer Prävalenz von 45,86 % nachgewiesen werden. Etwa 2,26 % der Tiere waren mit *Ehrlichia* sp. infiziert, es konnte aber keine Infektion mit *Filarioidea* sp., *Rickettsia* sp., *Bartonella* sp. oder *Borrelia* sp. nachgewiesen werden.

Zudem gilt es auch in zukünftigen Studien zu klären, ob man mit anderem Probenmaterial bessere Nachweise erzielen könnte. Außerdem gibt es zu einigen Erregern noch wenige Studien, die sich mit den Übertragungswegen und der Bedeutung von Wildtieren in Hinblick auf Infektionen beim Menschen beschäftigen.

## 15. Summary

Vector-borne diseases are playing an ever-increasing role in human and veterinary medicine. Climate change and other factors such as globalization and international trade favor the emergence and spread of pathogens and vectors. Wildlife populations, especially carnivores, are a natural reservoir and the close proximity to humans and pets makes zoonotic infections possible.

Over a period of slightly more than two and a half years, spleen samples from 133 European badgers from different European countries (Germany, Bosnia and Herzegovina, France, Italy, Croatia, Serbia and Hungary) were studied by molecular analysis at the Institute of Parasitology of the University of Veterinary Medicine Vienna. First, the DNA was extracted and then different PCRs of the specific pathogens were performed. Afterwards, the results were visualized by gel electrophoresis and the positive samples were sent for further sequencing.

By this procedure, different representatives of *Trypanosoma* sp., *Babesia* sp., *Mycoplasma* sp. and *Ehrlichia* sp. could be detected. These results were presented as proportions and by region, and compared with results from similar studies.

The prevalence of Trypanosomes was 54.89%, that of *Piroplasmida* sp. was 88.72%, and Mycoplasmas could be detected with a prevalence of 45.86%. About 2.26 % of the animals were infected with *Ehrlichia* sp., but no infection with *Filarioidea* sp., *Rickettsia* sp., *Bartonella* sp. or *Borrelia* sp. could be identified.

In conclusion, the main goal of the thesis was achieved. It is important to clarify in future studies whether better detections could be obtained with different sample material. In addition, for some pathogens there are still few studies dealing with the transmission routes and the importance of wild animals with regard to infections in humans.

## 16. Literaturverzeichnis

- Abramov AV, Puzachenko AY. 2013. The taxonomic status of badgers (Mammalia, Mustelidae) from Southwest Asia based on cranial morphometrics, with the redescription of *Meles canescens*. *Zootaxa*, 3681: 44–58. DOI 10.11646/zootaxa.3681.1.2.
- Abramov AV, PUZACHENKO AYU, WIIG Ø. 2009. Cranial variation in the European badger *Meles meles* (Carnivora, Mustelidae) in Scandinavia. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 157 (2): 433–450. DOI 10.1111/j.1096-3642.2009.00507.x.
- Alsarraf M, Dwużnik-Szarek D, Hildebrand J, Mierzejewska EJ, Kloch A, Kot K, Kurek K, Nowak S, Myślajek RW, Myśliwy I, Popiołek M, Rodo A, Alsarraf M, Tołkacz K, Topolnytska M, Wężyk D, Bajer A. 2023. Occurrence of *Dirofilaria repens* in wild carnivores in Poland. *Parasitology Research*, 122 (5): 1229–1237. DOI 10.1007/s00436-023-07823-5.
- BARANDIKA JF, ESPÍ A, OPORTO B, Del CERRO A, BARRAL M, POVEDANO I, GARCÍA-PÉREZ AL, HURTADO A. 2016. Occurrence and genetic diversity of piroplasms and other apicomplexa in wild carnivores. *Parasitology Open*, 2: e6. DOI 10.1017/pao.2016.4.
- Barker EN, Langton DA, Helps CR, Brown G, Malik R, Shaw SE, Tasker S. 2012. Haemoparasites of free-roaming dogs associated with several remote Aboriginal communities in Australia. *BMC veterinary research*, 8: 55. DOI 10.1186/1746-6148-8-55.
- Bartley PM, Wilson C, Innes EA, Katzer F. 2017. Detection of *Babesia* DNA in blood and spleen samples from Eurasian badgers (*Meles meles*) in Scotland. *Parasitology*, 144 (9): 1203–1210. DOI 10.1017/S0031182017000476.
- Battisti E, Zanet S, Khalili S, Trisciuglio A, Hertel B, Ferroglio E. 2020. Molecular Survey on Vector-Borne Pathogens in Alpine Wild Carnivorans. *Frontiers in veterinary science*, 7: 1. DOI 10.3389/fvets.2020.00001.
- Billeter SA, Levy MG, Chomel BB, Breitschwerdt EB. 2008. Vector transmission of *Bartonella* species with emphasis on the potential for tick transmission. *Medical and veterinary entomology*, 22 (1): 1–15. DOI 10.1111/j.1365-2915.2008.00713.x.
- Brøseth H, Bevanger K, Knutsen B. 1997. Function of multiple badger *Meles meles* setts: distribution and utilisation. *Wildlife Biology*, 3 (2): 89–96. DOI 10.2981/wlb.1997.011.
- Byrne AW, Paddy Sleeman D, O'Keeffe J, Davenport J. 2012. The ecology of the European badger (*Meles meles*) in Ireland: a review. *Biology & Environment: Proceedings of the Royal Irish Academy*, 112 (1): 105–132. DOI 10.3318/BIOE.2012.02.
- Capelli G, Genchi C, Baneth G, Bourdeau P, Brianti E, Cardoso L, Danesi P, Fuehrer H-P, Giannelli A, Ionică AM, Maia C, Modrý D, Montarsi F, Krücken J, Papadopoulos E, Petrić D,

- Pfeffer M, Savić S, Otranto D, Poppert S, Silaghi C. 2018. Recent advances on *Dirofilaria repens* in dogs and humans in Europe. *Parasites & vectors*, 11 (1): 663. DOI 10.1186/s13071-018-3205-x.
- Cleary GP, Corner LA, O'Keeffe J, Marples NM. 2009. The diet of the badger *Meles meles* in the Republic of Ireland. *Mammalian Biology*, 74 (6): 438–447. DOI 10.1016/j.mambio.2009.07.003.
- Cook MJ. 2015. Lyme borreliosis: a review of data on transmission time after tick attachment. *International Journal of General Medicine*, 8: 1–8. DOI 10.2147/IJGM.S73791.
- Cotté V, Bonnet S, Le Rhun D, Le Naour E, Chauvin A, Boulouis H-J, Lecuelle B, Lilin T, Vayssier-Taussat M. 2008. Transmission of *Bartonella henselae* by *Ixodes ricinus*. *Emerging infectious diseases*, 14 (7): 1074–1080. DOI 10.3201/eid1407.071110.
- Criado-Fornelio A, Martinez-Marcos A, Buling-Saraña A, Barba-Carretero JC. 2003. Presence of *Mycoplasma haemofelis*, *Mycoplasma haemominutum* and piroplasmids in cats from southern Europe: a molecular study. *Veterinary Microbiology*, 93 (4): 307–317. DOI 10.1016/s0378-1135(03)00044-0.
- 14.06.2023. [https://de.wikipedia.org/wiki/Dirofilaria\\_repens](https://de.wikipedia.org/wiki/Dirofilaria_repens) (Zugriff 29.06.2023).
- Dumler JS, Barbet AF, Bekker CP, Dasch GA, Palmer GH, Ray SC, Rikihisa Y, Rurangirwa FR. 2001. Reorganization of genera in the families Rickettsiaceae and Anaplasmataceae in the order Rickettsiales: unification of some species of *Ehrlichia* with *Anaplasma*, *Cowdria* with *Ehrlichia* and *Ehrlichia* with *Neorickettsia*, descriptions of six new species combinations and designation of *Ehrlichia equi* and 'HGE agent' as subjective synonyms of *Ehrlichia phagocytophila*. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 51 (Pt 6): 2145–2165. DOI 10.1099/00207713-51-6-2145.
- Duscher GG, Leschnik M, Fuehrer H-P, Joachim A. 2015. Wildlife reservoirs for vector-borne canine, feline and zoonotic infections in Austria. *International journal for parasitology. Parasites and wildlife*, 4 (1): 88–96. DOI 10.1016/j.ijppaw.2014.12.001.
- Dyachenko V, Steinmann M, Bangoura B, Selzer M, Munderloh U, Dauschies A, Barutzki D. 2017. Co-infection of *Trypanosoma pestanai* and *Anaplasma phagocytophilum* in a dog from Germany. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, 9: 110–114. DOI 10.1016/j.vprsr.2017.06.001.
- 27.06.2023.
- [https://en.wikipedia.org/wiki/Europe#/media/File:Europe\\_polar\\_stereographic\\_Caucasus\\_Ural\\_boundary.svg](https://en.wikipedia.org/wiki/Europe#/media/File:Europe_polar_stereographic_Caucasus_Ural_boundary.svg) (Zugriff 29.06.2023).

Fagundes-Moreira R, Souza UA, Souza VK de, Bidone NdB, May-Júnior JA, Baggio-Souza V, Mendonça RÁ, Fagundes DD, Lorenzo C de, Wartchow BS, Caldart ET, Giroto-Soares A, Alievi MM, Valle SdF, Soares JF. 2023. Molecular survey of hemotropic mycoplasmas in crab-eating raccoons (*Procyon cancrivorus*) in southern Brazil. *Revista brasileira de parasitologia veterinaria = Brazilian journal of veterinary parasitology : Orgao Oficial do Colegio Brasileiro de Parasitologia Veterinaria*, 32 (1): e012322. DOI 10.1590/S1984-29612023009.

Ferla MP, Thrash JC, Giovannoni SJ, Patrick WM. 2013. New rRNA gene-based phylogenies of the Alphaproteobacteria provide perspective on major groups, mitochondrial ancestry and phylogenetic instability. *PLoS one*, 8 (12): e83383. DOI 10.1371/journal.pone.0083383.

14.06.2023 (Zugriff 29.06.2023).

GARCÍA-PÉREZ AL, OPORTO B, ESPÍ A, Del CERRO A, BARRAL M, POVEDANO I, BARANDIKA JF, HURTADO A. 2016. Anaplasmatidae in wild ungulates and carnivores in northern Spain. *Ticks and tick-borne diseases*, 7 (2): 264–269. DOI 10.1016/j.ttbdis.2015.10.019.

Gern L, Sell K. 2009. Isolation of *Borrelia burgdorferi* sensu lato from the skin of the European badger (*Meles meles*) in Switzerland. *Vector borne and zoonotic diseases (Larchmont, N.Y.)*, 9 (2): 207–208. DOI 10.1089/vbz.2008.0050.

Gerrikagoitia X, Gil H, García-Esteban C, Anda P, Juste RA, Barral M. 2012. Presence of *Bartonella* species in wild carnivores of northern Spain. *Applied and environmental microbiology*, 78 (3): 885–888. DOI 10.1128/AEM.05938-11.

Greco G, Zarea AAK, Sgroi G, Tempesta M, D'Alessio N, Lanave G, Bezerra-Santos MA, Iatta R, Veneziano V, Otranto D, Chomel B. 2021. Zoonotic *Bartonella* species in Eurasian wolves and other free-ranging wild mammals from Italy. *Zoonoses and public health*, 68 (4): 316–326. DOI 10.1111/zph.12827.

Hamer GL, Anderson TK, Berry GE, Makohon-Moore AP, Crafton JC, Brawn JD, Dolinski AC, Krebs BL, Ruiz MO, Muzzall PM, Goldberg TL, Walker ED. 2013. Prevalence of filarioid nematodes and trypanosomes in American robins and house sparrows, Chicago USA. *International journal for parasitology. Parasites and wildlife*, 2: 42–49. DOI 10.1016/j.ijppaw.2012.11.005.

Harasawa R, Orusa R, Giangaspero M. 2014. Molecular evidence for hemotropic *Mycoplasma* infection in a Japanese badger (*Meles meles anakuma*) and a raccoon dog (*Nyctereutes procyonoides viverrinus*). *Journal of wildlife diseases*, 50 (2): 412–415. DOI 10.7589/2013-09-229.

- Hildebrand J, Jurczyk K, Popiołek M, Buńkowska-Gawlik K, Perec-Matysiak A. 2022. Occurrence of *Borrelia* sp. among Wild Living Invasive and Native Mesocarnivores in Poland. *Animals : an open access journal from MDPI*, 12 (20). DOI 10.3390/ani12202829.
- Hodžić A, Alić A, Duscher GG. 2018. High diversity of blood-associated parasites and bacteria in European wild cats in Bosnia and Herzegovina: A molecular study. *Ticks and tick-borne diseases*, 9 (3): 589–593. DOI 10.1016/j.ttbdis.2018.01.017.
- Hoelzle LE. 2008. Haemotrophic mycoplasmas: Recent advances in *Mycoplasma suis*. *Veterinary Microbiology*, 130 (3): 215–226. DOI 10.1016/j.vetmic.2007.12.023.
- Hornok S, Horváth G, Takács N, Farkas R, Szőke K, Kontschán J. 2018. Molecular evidence of a badger-associated *Ehrlichia* sp., a Candidatus *Neoehrlichia lotoris*-like genotype and *Anaplasma marginale* in dogs. *Ticks and tick-borne diseases*, 9 (5): 1302–1309. DOI 10.1016/j.ttbdis.2018.05.012.
- Hornok S, Trauttwein K, Takács N, Hodžić A, Duscher GG, Kontschán J. 2017. Molecular analysis of *Ixodes rugicollis*, Candidatus *Neoehrlichia* sp. (FU98) and a novel *Babesia* genotype from a European badger (*Meles meles*). *Ticks and tick-borne diseases*, 8 (1): 41–44. DOI 10.1016/j.ttbdis.2016.09.014.
- Hunfeld K-P, Hildebrandt A, Gray JS. 2008. Babesiosis: Recent insights into an ancient disease. *International journal for parasitology*, 38 (11): 1219–1237. DOI 10.1016/j.ijpara.2008.03.001.
- Ideozu EJ, Whiteoak AM, Tomlinson AJ, Robertson A, Delahay RJ, Hide G. 2015. High prevalence of trypanosomes in European badgers detected using ITS-PCR. *Parasites & vectors*, 8: 480. DOI 10.1186/s13071-015-1088-7.
- Ionică AM, Deak G, Boncea R, Gherman CM, Mihalca AD. 2022. The European Badger as a New Host for *Dirofilaria immitis* and an Update on the Distribution of the Heartworm in Wild Carnivores from Romania. *Pathogens (Basel, Switzerland)*, 11 (4). DOI 10.3390/pathogens11040420.
- Jalovecka M, Hajdusek O, Sojka D, Kopacek P, Malandrin L. 2018. The Complexity of Piroplasm Life Cycles. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 8: 248. DOI 10.3389/fcimb.2018.00248.
- Jensen WA, Fall MZ, Rooney J, Kordick DL, Breitschwerdt EB. 2000. Rapid identification and differentiation of *Bartonella* species using a single-step PCR assay. *Journal of clinical microbiology*, 38 (5): 1717–1722. DOI 10.1128/jcm.38.5.1717-1722.2000.

- Jurczyk K, Buńkowska-Gawlik K, Perec-Matysiak A, Hildebrand J. 2022. Rickettsiae among mustelids - new data from south-west Poland. *Annals of parasitology*, 68 (2): 617–622. DOI 10.17420/ap6803.468.
- Kim HK. 2022. Rickettsia-Host-Tick Interactions: Knowledge Advances and Gaps. *Infection and immunity*, 90 (9): e0062121. DOI 10.1128/iai.00621-21.
- Koneval M, Miterpáková M, Hurníková Z, Blaňarová L, Víchová B. 2017. Neglected intravascular pathogens, *Babesia vulpes* and haemotropic *Mycoplasma* spp. in European red fox (*Vulpes vulpes*) population. *Veterinary Parasitology*, 243: 176–182. DOI 10.1016/j.vetpar.2017.06.029.
- Koual R, Buysse M, Grillet J, Binetruy F, Ouass S, Sprong H, Duhayon M, Boulanger N, Jourdain F, Alafaci A, Verdon J, Verheyden H, Rispe C, Plantard O, Duron O. 2023. Phylogenetic evidence for a clade of tick-associated trypanosomes. *Parasites & vectors*, 16 (1): 3. DOI 10.1186/s13071-022-05622-y.
- Kravchenko V, Itin G, Kartashev V, Ermakov A, Kartashov S, Diosdado A, González-Miguel J, Simón F. 2016. *Dirofilaria immitis* and *D. repens* in sylvatic reservoirs of Krasnodar Krai (Russian Federation). *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, 6: 35–38. DOI 10.1016/j.vprsr.2016.08.004.
- Liebisch G, Sohns B, Bautsch W. 1998. Detection and typing of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in *Ixodes ricinus* ticks attached to human skin by PCR. *Journal of clinical microbiology*, 36 (11): 3355–3358. DOI 10.1128/jcm.36.11.3355-3358.1998.
- Lizundia R, Newman C, Buesching CD, Ngugi D, Blake D, Sin YW, Macdonald DW, Wilson A, McKeever D. 2011. Evidence for a role of the host-specific flea (*Paraceras melis*) in the transmission of *Trypanosoma* (*Megatrypanum*) *pestanai* to the European badger. *PloS one*, 6 (2): e16977. DOI 10.1371/journal.pone.0016977.
- Macdonald DW, Anwar M, Newman C, Woodroffe R, Johnson PJ. 1999. Inter-annual differences in the age-related prevalences of *Babesia* and *Trypanosoma* parasites of European badgers (*Meles meles*). *Journal of Zoology*, 247 (1): 65–70. DOI 10.1111/j.1469-7998.1999.tb00193.x.
- Mannelli A, Bertolotti L, Gern L, Gray J. 2012. Ecology of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in Europe: transmission dynamics in multi-host systems, influence of molecular processes and effects of climate change. *FEMS microbiology reviews*, 36 (4): 837–861. DOI 10.1111/j.1574-6976.2011.00312.x.

- Margos G, Vollmer SA, Ogden NH, Fish D. 2011. Population genetics, taxonomy, phylogeny and evolution of *Borrelia burgdorferi* sensu lato. *Infection, Genetics and Evolution*, 11 (7): 1545–1563. DOI 10.1016/j.meegid.2011.07.022.
- Márquez FJ, Millán J. 2009. Rickettsiae in ticks from wild and domestic carnivores of Doñana National Park (Spain) and surrounding area. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 15 Suppl 2: 224–226. DOI 10.1111/j.1469-0691.2008.02147.x.
- Maslov DA, Lukes J, Jirku M, Simpson L. 1996. Phylogeny of trypanosomes as inferred from the small and large subunit rRNAs: implications for the evolution of parasitism in the trypanosomatid protozoa. *Molecular and biochemical parasitology*, 75 (2): 197–205. DOI 10.1016/0166-6851(95)02526-x.
- Millán J, Di Cataldo S, Volokhov DV, Becker DJ. 2021. Worldwide occurrence of haemoplasmas in wildlife: Insights into the patterns of infection, transmission, pathology and zoonotic potential. *Transboundary and emerging diseases*, 68 (6): 3236–3256. DOI 10.1111/tbed.13932.
- Millán J, Proboste T, Fernández de Mera, Isabel G., Chirife AD, La Fuente J de, Altet L. 2016. Molecular detection of vector-borne pathogens in wild and domestic carnivores and their ticks at the human–wildlife interface. *Ticks and tick-borne diseases*, 7 (2): 284–290. DOI 10.1016/j.ttbdis.2015.11.003.
- Millán J, Velarde R, Delicado V, Negre N, Ribas A, Oleaga Á, Llaneza L, Esperón F. 2018. High diversity of hemotropic mycoplasmas in Iberian wild carnivores. *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases*, 60: 11–16. DOI 10.1016/j.cimid.2018.09.007.
- Morchón R, Carretón E, González-Miguel J, Mellado-Hernández I. 2012. Heartworm Disease (*Dirofilaria immitis*) and Their Vectors in Europe - New Distribution Trends. *Frontiers in Physiology*, 3: 196. DOI 10.3389/fphys.2012.00196.
- Nowakowski K, Ważna A, Kurek P, Cichocki J, Gabryś G. 2020. Reproduction success in European badgers, red foxes and raccoon dogs in relation to sett cohabitation. *PloS one*, 15 (8): e0237642. DOI 10.1371/journal.pone.0237642.
- Obiegala A, Król N, Oltersdorf C, Nader J, Pfeffer M. 2017. The enzootic life-cycle of *Borrelia burgdorferi* (sensu lato) and tick-borne rickettsiae: an epidemiological study on wild-living small mammals and their ticks from Saxony, Germany. *Parasites & vectors*, 10 (1): 115. DOI 10.1186/s13071-017-2053-4.

- Parola P, Roux V, Camicas JL, Baradji I, Brouqui P, Raoult D. 2000. Detection of ehrlichiae in African ticks by polymerase chain reaction. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 94 (6): 707–708. DOI 10.1016/s0035-9203(00)90243-8.
- Peirce MA, Neal C. 1974. *Trypanosoma (Megatrypanum) pestanai* in British badgers (*Meles meles*). *International journal for parasitology*, 4 (4): 439–440. DOI 10.1016/0020-7519(74)90055-1.
- Penezić A, Selaković S, Pavlović I, Ćirović D. 2014. First findings and prevalence of adult heartworms (*Dirofilaria immitis*) in wild carnivores from Serbia. *Parasitology Research*, 113 (9): 3281–3285. DOI 10.1007/s00436-014-3991-9.
- Pietikäinen R, Nordling S, Jokiranta S, Saari S, Heikkinen P, Gardiner C, Kerttula A-M, Kantanen T, Nikanorova A, Laaksonen S, Lavikainen A, Oksanen A. 2017. *Dirofilaria repens* transmission in southeastern Finland. *Parasites & vectors*, 10 (1): 561. DOI 10.1186/s13071-017-2499-4.
- Piza Roca C, La Haye M, Jongejans E. 2014. Environmental drivers of the distribution and density of the European badger (*Meles meles*): a review. *Lutra*, 57: 87–109.
- Rar V, Golovljova I. 2011. *Anaplasma*, *Ehrlichia*, and “*Candidatus Neoehrlichia*” bacteria: Pathogenicity, biodiversity, and molecular genetic characteristics, a review. *Infection, Genetics and Evolution*, 11 (8): 1842–1861. DOI 10.1016/j.meegid.2011.09.019.
- Rudenko N, Golovchenko M, Grubhoffer L, Oliver JH. 2011. Updates on *Borrelia burgdorferi sensu lato* complex with respect to public health. *Ticks and tick-borne diseases*, 2 (3): 123–128. DOI 10.1016/j.ttbdis.2011.04.002.
- Sacristán I, Acuña F, Aguilar E, García S, López MJ, Cevidanes A, Cabello J, Hidalgo-Hermoso E, Johnson WE, Poulin E, Millán J, Napolitano C. 2019. Assessing cross-species transmission of hemoplasmas at the wild-domestic felid interface in Chile using genetic and landscape variables analysis. *Scientific reports*, 9 (1): 16816. DOI 10.1038/s41598-019-53184-4.
- Santoro M, Auriemma C, Lucibelli MG, Borriello G, D'Alessio N, Sgroi G, Veneziano V, Galiero G, Fusco G. 2019. Molecular Detection of *Babesia* spp. (Apicomplexa: Piroplasma) in Free-Ranging Canids and Mustelids From Southern Italy. *Frontiers in veterinary science*, 6: 269. DOI 10.3389/fvets.2019.00269.
- Santoro M, Veneziano V, D'Alessio N, Di Prisco F, Lucibelli MG, Borriello G, Cerrone A, Dantas-Torres F, Latrofa MS, Otranto D, Galiero G. 2016. Molecular survey of *Ehrlichia canis* and *Coxiella burnetii* infections in wild mammals of southern Italy. *Parasitology Research*, 115 (11): 4427–4431. DOI 10.1007/s00436-016-5213-0.

- Sato J. 2016. The Systematics and Taxonomy of the World's Badger Species – A Review. In: . : 1–30.
- Savić S, Vidić B, Grgić Z, Potkonjak A, Spasojevic L. 2014. Emerging Vector-Borne Diseases - Incidence through Vectors. *Frontiers in public health*, 2: 267. DOI 10.3389/fpubh.2014.00267.
- Schnittger L, Ganzinelli S, Bhoora R, Omondi D, Nijhof AM, Florin-Christensen M. 2022. The Piroplasmida Babesia, Cytauxzoon, and Theileria in farm and companion animals: species compilation, molecular phylogeny, and evolutionary insights. *Parasitology Research*, 121 (5): 1207–1245. DOI 10.1007/s00436-022-07424-8.
- Schoch CL, Ciufo S, Domrachev M, Hotton CL, Kannan S, Khovanskaya R, Leipe D, Mcveigh R, O'Neill K, Robbertse B, Sharma S, Soussov V, Sullivan JP, Sun L, Turner S, Karsch-Mizrachi I. 2020. NCBI Taxonomy: a comprehensive update on curation, resources and tools. *Database: The Journal of Biological Databases and Curation*, 2020. DOI 10.1093/database/baaa062.
- Semenza JC, Suk JE. 2018. Vector-borne diseases and climate change: a European perspective. *FEMS Microbiology Letters*, 365 (2): fnx244. DOI 10.1093/femsle/fnx244.
- Sgroi G, Iatta R, Paolo Lia R, Latrofa MS, Samarelli R, Camarda A, Otranto D. 2021. Trypanosoma (Megatrypanum) pestanai in Eurasian badgers (Meles meles) and Ixodidae ticks, Italy. *Parasitology*, 148 (12): 1516–1521. DOI 10.1017/S0031182021001190.
- Sultan SZ, Manne A, Stewart PE, Bestor A, Rosa PA, Charon NW, Motaleb MA. 2013. Motility is crucial for the infectious life cycle of Borrelia burgdorferi. *Infection and immunity*, 81 (6): 2012–2021. DOI 10.1128/iai.01228-12.
- Szokoli F, Castelli M, Sabaneyeva E, Schrollhammer M, Krenek S, Doak TG, Berendonk TU, Petroni G. 2016. Disentangling the Taxonomy of Rickettsiales and Description of Two Novel Symbionts ("Candidatus Bealeia paramacronuclearis" and "Candidatus Fokinia cryptica") Sharing the Cytoplasm of the Ciliate Protist Paramecium biaurelia. *Applied and environmental microbiology*, 82 (24): 7236–7247. DOI 10.1128/AEM.02284-16.
- Thompson CC, Vieira NM, Vicente ACP, Thompson FL. 2011. Towards a genome based taxonomy of Mycoplasmas. *Infection, genetics and evolution : journal of molecular epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases*, 11 (7): 1798–1804. DOI 10.1016/j.meegid.2011.07.020.
- Vitorino L, Zé-Zé L, Sousa A, Bacellar F, Tenreiro R. 2003. rRNA intergenic spacer regions for phylogenetic analysis of Rickettsia species. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 990: 726–733. DOI 10.1111/j.1749-6632.2003.tb07451.x.

- Volokhov DV, Hwang J, Chizhikov VE, Danaceau H, Gottdenker NL. 2017. Prevalence, Genotype Richness, and Coinfection Patterns of Hemotropic Mycoplasmas in Raccoons (*Procyon lotor*) on Environmentally Protected and Urbanized Barrier Islands. *Applied and environmental microbiology*, 83 (9). DOI 10.1128/AEM.00211-17.
- Votýpka J, d'Avila-Levy CM, Grellier P, Maslov DA, Lukeš J, Yurchenko V. 2015. New Approaches to Systematics of Trypanosomatidae: Criteria for Taxonomic (Re)description. *Trends in Parasitology*, 31 (10): 460–469. DOI 10.1016/j.pt.2015.06.015.
- Wagner A, Dehio C. 2019. Role of distinct type-IV-secretion systems and secreted effector sets in host adaptation by pathogenic *Bartonella* species. *Cellular microbiology*, 21 (3): e13004. DOI 10.1111/cmi.13004.
- Wang G, van Dam AP, Schwartz I, Dankert J. 1999. Molecular typing of *Borrelia burgdorferi* sensu lato: taxonomic, epidemiological, and clinical implications. *Clinical microbiology reviews*, 12 (4): 633–653. DOI 10.1128/cmr.12.4.633.
- Wodecka B, Michalik J, Lane RS, Nowak-Chmura M, Wierzbicka A. 2016. Differential associations of *Borrelia* species with European badgers (*Meles meles*) and raccoon dogs (*Nyctereutes procyonoides*) in western Poland. *Ticks and tick-borne diseases*, 7 (5): 1010–1016. DOI 10.1016/j.ttbdis.2016.05.008.
- Zintl A, Finnerty EJ, Murphy TM, Waal T de, Gray JS. 2011. Babesias of red deer (*Cervus elaphus*) in Ireland. *Veterinary Research*, 42 (1): 7. DOI 10.1186/1297-9716-42-7.

## 17. Abbildungsverzeichnis

<b>Abbildung 1:</b> Junger Europäischer Dachs ( <i>Meles meles</i> ) (File:Badger-badger.jpg - Wikimedia Commons, 14.06.2023) .....	2
<b>Abbildung 2:</b> Lebenszyklus von <i>D. repens</i> ( <i>Dirofilaria repens</i> – Wikipedia, 14.06.2023).....	5
<b>Abbildung 3:</b> Herkunftsländer der Milzproben anteilmäßig dargestellt. ....	16
<b>Abbildung 4:</b> Ergebnisse der Gelelektrophorese Piroplasmida (Apicomplexa) NEST2 der Proben MM1 bis MM81 (L=Ladder, N=Negativkontrolle, P=Positivkontrolle).....	28
<b>Abbildung 5:</b> Verteilung der nachgewiesenen Blutparasiten in absoluten Zahlen .....	32
<b>Abbildung 6:</b> Geographische Verteilung von <i>Trypanosoma</i> sp. ....	32
<b>Abbildung 7:</b> Geografische Verteilung von <i>Babesia</i> sp. ....	33
<b>Abbildung 8:</b> Geographische Verbreitung von <i>Ehrlichia</i> sp. und <i>Mycoplasma</i> sp. Schwarze Punkte repräsentieren <i>Ehrlichia</i> sp., grüne Punkte <i>Mycoplasma</i> sp. (modifiziert nach (Europe - Wikipedia, 27.06.2023) .....	34
<b>Abbildung 9:</b> Phylogenetischer Stammbaum der gefundenen <i>Mycoplasma</i> spp. (erstellt von Dr.med.vet. Maria Sophia Unterköfler).....	35

## 18. Tabellenverzeichnis

<b>Tabelle 1:</b> Herkunft der Milzproben .....	11
<b>Tabelle 2:</b> Mastermix Trypanosomatida NEST1 .....	17
<b>Tabelle 3:</b> Temperaturkurve PCR Trypanosomatida NEST 1 .....	18
<b>Tabelle 4:</b> Mastermix Trypanosomatida NEST2 .....	18
<b>Tabelle 5:</b> Temperaturkurve PCR Trypanosomatida NEST 2 .....	19
<b>Tabelle 6:</b> Mastermix Filarioidea.....	19
<b>Tabelle 7:</b> Temperaturkurve PCR Filarioidea.....	20
<b>Tabelle 8:</b> Mastermix Piroplasmida NEST1 .....	20
<b>Tabelle 9:</b> Temperaturkurve PCR Piroplasmida NEST1 .....	21
<b>Tabelle 10:</b> Mastermix Piroplasmida NEST2 .....	21
<b>Tabelle 11:</b> Temperaturkurve PCR Piroplasmida NEST2 .....	22
<b>Tabelle 12:</b> Mastermix <i>Rickettsia</i> .....	22
<b>Tabelle 13:</b> Temperaturkurve PCR <i>Rickettsia</i> .....	23
<b>Tabelle 14:</b> Mastermix Mycoplasmen .....	23
<b>Tabelle 15:</b> Temperaturkurve PCR Mycoplasmen .....	24
<b>Tabelle 16:</b> Mastermix <i>Bartonella</i> .....	24
<b>Tabelle 17:</b> Temperaturkurve PCR <i>Bartonella</i> .....	25
<b>Tabelle 18:</b> Mastermix Anaplasmataceae.....	25
<b>Tabelle 19:</b> Temperaturkurve PCR Anaplasmataceae.....	26
<b>Tabelle 20:</b> Mastermix <i>Borrelia</i> .....	26
<b>Tabelle 21:</b> Temperaturkurve PCR <i>Borrelia</i> .....	27
<b>Tabelle 22:</b> Ergebnisse der molekularen Analyse.....	29
<b>Tabelle 23:</b> Ergebnisse der Sequenzierung von <i>Babesia</i> sp.....	30
<b>Tabelle 24:</b> Ergebnisse der Sequenzierung von <i>Mycoplasma</i> sp.....	31
<b>Tabelle 25:</b> Vollständige Auflistung aller Proben mit den Ergebnissen der molekularen Analyse und Sequenzierung .....	53

## 19. Anhang

**Tabelle 25:** Vollständige Auflistung aller Proben mit den Ergebnissen der molekularen Analyse und Sequenzierung

ID	Datum	Land	<i>Babesia</i>	<i>Ehrlichia</i>	<i>Mycoplasma</i>	<i>Trypanosoma</i>
MM1	03.06.2019	Deutschland	<i>Babesia</i> sp. badger type A/type B			<i>Trypanosoma pestanai</i>
MM2	11.08.2020	Deutschland	<i>Babesia</i> sp. badger type A		Uncultured <i>Mycoplasma</i> sp. dogAustralia_like	
MM3	16.08.2020	Deutschland	<i>Babesia</i> sp. badger type A		Uncultured <i>Mycoplasma</i> sp. partial_Australia dog like	
MM4	15.09.2020	Deutschland	<i>Babesia</i> sp. badger type A/type B			<i>Trypanosoma pestanai</i>
MM5	15.08.2020	Deutschland	<i>Babesia</i> sp. badger type A			<i>Trypanosoma pestanai</i>
MM6	12.04.2020	Deutschland	<i>Babesia</i> sp. badger type A		Uncultured <i>Mycoplasma</i> sp. isolate 8617_wild cat Bosnia	<i>Trypanosoma pestanai</i>
MM7	02.05.2020	Deutschland	<i>Babesia</i> sp.			<i>Trypanosoma</i>

			badger type A			pestanai
MM8	10.06.2 020	Deutschl and	Babesia sp. badger type A		Uncultured Mycoplasma sp. isolate 8617_like	Trypanos oma pestanai
MM9	13.06.2 020	Deutschl and	Babesia sp. badger type A		Uncultured Mycoplasma sp. isolate 8617_Wildkatze_Bo snien_like	
MM1 0	21.06.2 020	Deutschl and	Babesia sp. badger type A			Trypanos oma pestanai
MM1 1	03.07.2 020	Deutschl and	Babesia sp. badger type A			Trypanos oma pestanai
MM1 2	17.07.2 020	Deutschl and	Babesia sp. badger type A			Trypanos oma pestanai
MM1 3	21.07.2 020	Deutschl and	Babesia sp. badger type A		Uncultured Mycoplasma sp. isolate 8617- like_partial	Trypanos oma pestanai
MM1 4	08.08.2 020	Deutschl and	Babesia sp. badger type A		Uncultured Mycoplasma sp. clone MspBRRS01_wasch bärBrazil-like_partial	
MM1	10.09.2	Deutschl	Babesia		Uncultured	Trypanos

5	020	and	sp. badger type A		Mycoplasma sp. isolate 8617 _like	oma pestanai
MM1 6	23.10.2 020	Deutschl and	Babesia sp. badger type A		Uncultured Mycoplasma sp. isolate 8617 _like	Trypanos oma pestanai
MM1 7	10.06.2 018	Bosnien und Herzogo wina	Babesia sp. badger type A		Uncultured Mycoplasma sp. isolate 8617-like	Trypanos oma pestanai
MM1 8	02.07.2 018	Bosnien und Herzogo wina	Babesia sp. badger type A/type B			Trypanos oma pestanai
MM1 9	31.05.2 020	Frankrei ch	Babesia sp. badger type A/type B			Trypanos oma pestanai
MM2 0	13.06.2 020	Frankrei ch				
MM2 1	05.07.2 020	Frankrei ch				
MM2 2		Frankrei ch	Babesia sp. badger type A/type B			Trypanos oma pestanai
MM2 3	?	Frankrei ch	Babesia sp. badger			Trypanos oma pestanai

			type A/type B			
MM2 4	06.06.2 020	Frankrei ch	Babesia sp. badger type A			
MM2 5	30.05.2 020	Frankrei ch	Babesia sp. badger type A			Trypanos oma pestanai
MM2 6	25.06.2 020	Frankrei ch	Babesia sp. badger type A		Uncultured Mycoplasma sp. isolate 8617-like	
MM2 7	30.05.2 020	Frankrei ch	Babesia sp. badger type A		Uncultured Mycoplasma sp. isolate 8617-like	
MM2 8	28.06.2 020	Frankrei ch	Babesia sp. badger type A			
MM2 9	27.05.2 020	Frankrei ch	Babesia sp. badger type A			Trypanos oma pestanai
MM3 0	01.06.2 020	Frankrei ch	Babesia sp. badger type B		Candidatus Mycoplasma haemomeles_Typ3	Trypanos oma pestanai
MM3 1	27.05.2 020	Frankrei ch	Babesia sp. badger		Mycoplasma haemomeles seq nicht gut	Trypanos oma pestanai

			type B			
MM3 2	30.05.2 020	Frankrei ch				
MM3 3	30.05.2 020	Frankrei ch	Babesia sp. badger type B			
MM3 4	06.06.2 020	Frankrei ch	Babesia sp. badger type A/type B		Uncultured Mycoplasma sp. isolate 8617-like	
MM3 5	?	Frankrei ch	Babesia sp. badger type A/type B		Uncultured Mycoplasma sp. isolate 8617-like	Trypanos oma pestanai
MM3 6	13.06.2 020	Frankrei ch	Babesia sp. badger type A		mixed_Candidatus Mycoplasma haemomeles_Typ3	Trypanos oma pestanai
MM3 7	31.05.2 020	Frankrei ch	Babesia sp. badger type A		Candidatus Mycoplasma haemomeles_Typ3	
MM3 8	Jun.20	Frankrei ch				
MM3 9	?	Frankrei ch	Babesia sp. badger type A			
MM4 0	06.06.2 020	Frankrei ch	Babesia sp.		Novel Mycoplasma_haplot	Trypanos oma

			badger type B		ype2	pestanai
MM4 1	?	Frankrei ch	Babesia sp. badger type B		Uncultured Mycoplasma sp. isolate 8617 _like	Trypanos oma pestanai
MM4 2	06.06.2 020	Frankrei ch	Babesia sp. badger type A			
MM4 3	30.05.2 020	Frankrei ch	Babesia sp. badger type A			Trypanos oma pestanai
MM4 4	13.06.2 020	Frankrei ch				
MM4 5	13.06.2 020	Frankrei ch	Babesia sp. badger type A		Uncultured Mycoplasma sp. isolate 8617-like	
MM4 6	13.06.2 020	Frankrei ch	Babesia sp. badger type A		Uncultured Mycoplasma sp. isolate 8617- like_identzu45	
MM4 7	25.06.2 020	Frankrei ch	Babesia sp. badger type A		Uncultured Mycoplasma sp. isolate 8617-like	Trypanos oma pestanai
MM4 8	30.05.2 020	Frankrei ch	Babesia sp. badger type A			Trypanos oma pestanai
MM4	13.06.2	Frankrei				

9	020	ch				
MM5 0	13.06.2 020	Frankrei ch	Babesia sp. badger type A		Uncultured Mycoplasma sp. isolate 8617- like_identzu45	Trypanos oma pestanai
MM5 1	30.05.2 020	Frankrei ch	Babesia sp. badger type A		Uncultured Mycoplasma sp. isolate 8617-like	Trypanos oma pestanai
MM5 2	05.07.2 020	Frankrei ch	Babesia sp. badger type A			
MM5 3	03.07.2 020	Frankrei ch	Babesia sp. badger type A		Uncultured Mycoplasma sp. isolate 8617-like	Trypanos oma pestanai
MM5 4	07.07.2 020	Frankrei ch	Babesia sp. badger type A			
MM5 5	28.06.2 020	Frankrei ch	Babesia sp. badger type A/type B		Uncultured Mycoplasma sp. isolate 8617-like	Trypanos oma pestanai
MM5 6	31.05.2 020	Frankrei ch	Babesia sp. badger type A		Uncultured Mycoplasma sp. isolate 8617-like	Trypanos oma pestanai
MM5 7	05.07.2 020	Frankrei ch	Babesia sp. badger			

			type A			
MM5 8	07.06.2 020	Frankrei ch	Babesia sp. badger type A		Uncultured Mycoplasma sp. isolate 8617-like	Trypanos oma pestanai
MM5 9	04.06.2 020	Frankrei ch	Babesia sp. badger type A			
MM6 0	Jul.20	Frankrei ch	Babesia sp. badger type A			
MM6 1	05.09.2 020	Frankrei ch	Babesia sp. badger type A			
MM6 2	?	Frankrei ch				
MM6 3	?	Italien	Babesia sp. badger isolate Badger- 1_mixed		Uncultured Mycoplasma sp. isolate 8617-like	Trypanos oma pestanai
MM6 4	?	Italien	Babesia sp. badger isolate Badger- 1_mixed		Uncultured Mycoplasma sp. isolate 8617-like	Trypanos oma pestanai
MM6 5	Okt.20	Italien	Babesia sp.		Uncultured Mycoplasma	Trypanos oma

			badger isolate Badger-1_mixed		sp._dogAustralia_like	pestanai
MM66	12.07.2020	Italien	Babesia sp. badger isolate Badger-1_mixed		Uncultured Mycoplasma sp. isolate 8617-like	Trypanosoma pestanai
MM67	Okt.20	Italien	Babesia sp. badger type B			Trypanosoma pestanai
MM68	Apr.20	Italien	Babesia sp. badger isolate Badger-1_mixed/ type A			
MM106	?	Italien	Babesia sp. badger type A			
MM108	?	Italien	Babesia sp. badger type B			
MM109	?	Italien	Babesia sp. badger type B			

MM1 10	14.02.2 020	Italien				
MM1 11	?	Italien	Babesia sp. badger type A			
MM1 12	17.11.2 019	Italien				
MM1 13	24.10.2 019	Italien				
MM1 14	?	Italien	Babesia sp. badger type A			
MM1 15	?	Italien				
MM1 16	?	Italien				
MM6 9	?	Kroatien	Babesia sp. badger isolate Badger- 1_mixed		Uncultured Mycoplasma sp. partial 16S rRNA gene, isolate T1_Australiandog- like	Trypanos oma pestanai
MM7 0		Kroatien	Babesia sp. badger isolate Badger- 1_mixed		Mycoplasma_Austra liandog	
MM7 1	?	Kroatien	Babesia sp. badger		Uncultured Mycoplasma sp. isolate 8617-like	Trypanos oma pestanai

			isolate Badger- 1_mixed			
MM7 2	?	Kroatien	Babesia sp. badger isolate Badger- 1_mixed		Uncultured Mycoplasma sp. isolate 8617-like	Trypanos oma pestanai
MM7 3	14.06.2 020	Kroatien	Babesia sp. badger isolate Badger- 1_mixed		Uncultured Mycoplasma sp. isolate 8617-like	Trypanos oma pestanai
MM7 4	15.06.2 020	Kroatien	Babesia sp. badger isolate Badger- 1_mixed/ type A		Uncultured Mycoplasma sp. isolate 8617-like	Trypanos oma pestanai
MM7 5	?	Kroatien	Babesia sp. badger isolate Badger- 1_mixed		Uncultured Mycoplasma sp. isolate 8617-like	Trypanos oma pestanai
MM7 6	?	Kroatien	Babesia sp. badger isolate Badger-		Uncultured Mycoplasma sp. isolate 8617-like	

			1_mixed			
MM7 7	?	Kroatien	Babesia sp. badger type A		F2_foxslovakialike	Trypanos oma pestanai
MM7 8	?	Kroatien	Babesia sp. badger type A			Trypanos oma pestanai
MM7 9	?	Kroatien	Babesia sp. badger isolate Badger- 1_mixed/ type A			
MM8 0	?	Kroatien	Babesia sp. badger isolate Badger- 1_mixed			
MM8 1	?	Kroatien	Babesia sp. badger type A	Ehrlichia sp. isolate 89_ausHund_M H020203		Trypanos oma pestanai
MM8 2	?	Kroatien	Babesia sp. badger type A/type B			Trypanos oma pestanai
MM8 3	?	Kroatien	Babesia sp.	Ehrlichia sp. isolate		Trypanos oma

			badger type A	89_dog_Ungarn _100		pestanai
MM8 4	?	Kroatien	Babesia sp. badger isolate Badger- 1_mixed			
MM8 5	26.07.2 010	Kroatien	Babesia sp. badger isolate Badger- 1_mixed			Trypanos oma pestanai
MM8 6	03.07.2 011	Kroatien	Babesia sp. badger isolate Badger- 1_mixed/ type A			
MM8 7	?	Kroatien	Babesia sp. badger isolate Badger- 1_mixed/ type A			
MM8 8	?	Kroatien	Babesia sp. badger type A/type B		Candidatus Mycoplasma haemomeles	Trypanos oma pestanai

MM8 9	?	Kroatien	Babesia sp. badger type A			Trypanos oma pestanai
MM9 0	?	Kroatien	Babesia sp. badger isolate Badger- 1_mixed			Trypanos oma pestanai
MM9 1	02.06.2 020	Serbien	Babesia sp. badger type A			Trypanos oma pestanai
MM9 2	14.06.2 020	Serbien	Babesia sp. badger type A		Candidatus Mycoplasma haemomeles_Typ3	
MM9 3	03.07.2 020	Serbien				
MM9 4	24.08.2 020	Serbien	Babesia sp. badger type A			Trypanos oma pestanai
MM9 5	10.09.2 020	Serbien	Babesia sp. badger type B		F2_foxslovakialike	Trypanos oma pestanai
MM9 6	15.09.2 020	Serbien	Babesia sp. badger type B			
MM9	03.10.2	Serbien	Babesia			

7	020		sp. badger type A			
MM9 8	07.10.2 020	Serbien	Babesia sp. badger type A/type B			Trypanos oma pestanai
MM1 17	26.11.2 019	Serbien				
MM1 18	24.01.2 020	Serbien	Babesia sp. badger isolate Badger- 1_mixed/ type B		Uncultured Mycoplasma sp. isolate 8617_wild cat Bosnia	Trypanos oma pestanai
MM1 19	03.02.2 018	Serbien	Babesia sp. badger isolate Badger- 1_mixed			
MM1 20	21.02.2 018	Serbien	Babesia sp. badger isolate Badger- 1_mixed/ type B		Uncultured Mycoplasma sp. isolate 8617-like	Trypanos oma pestanai
MM1 21	13.02.2 018	Serbien	Babesia sp. badger		Uncultured Mycoplasma sp. clone MspBRRS01	Trypanos oma pestanai

			isolate Badger- 1_mixed			
MM1 22	18.02.2 018	Serbien	Babesia sp. badger type A			
MM1 23	07.02.2 018	Serbien	Babesia sp. badger isolate Badger- 1_mixed		Uncultured Mycoplasma sp. isolate 8617-like	Trypanos oma pestanai
MM1 24	10.10.2 020	Serbien	Babesia sp. badger isolate Badger- 1_mixed		Uncultured Mycoplasma sp. isolate 8617-like	Trypanos oma pestanai
MM1 25	26.02.2 019	Serbien	Babesia sp. badger type B			
MM1 26	02.11.2 019	Serbien	Babesia sp. badger type B		Uncultured Mycoplasma sp. isolate 8617-like	
MM1 27	24.01.2 020	Serbien	Babesia sp. badger isolate Badger- 1_mixed		Uncultured Mycoplasma sp. isolate 8617_wild cat Bosnia	Trypanos oma pestanai

MM1 28	01.10.2 020	Serbien	Babesia sp. badger isolate Badger- 1_mixed/ type A/type B			
MM1 29	04.11.2 019	Serbien	Babesia sp. badger isolate Badger- 1_mixed		Uncultured Mycoplasma sp. isolate 8617-like	Trypanos oma pestanai
MM1 30	07.02.2 018	Serbien	Babesia sp. badger isolate Badger- 1_mixed		Uncultured Mycoplasma sp. isolate 8617-like	
MM1 31	18.02.2 018	Serbien	Babesia sp. badger isolate Badger- 1_mixed			Trypanos oma pestanai
MM1 32	05.06.2 020	Serbien	Babesia sp. badger isolate Badger- 1_mixed		Uncultured Mycoplasma sp. isolate 8617-like	Trypanos oma pestanai
MM1	07.02.2	Serbien	Babesia		Uncultured	Trypanos

33	018		sp. badger isolate Badger- 1_mixed		Mycoplasma sp. isolate 8617-like	oma pestanai
MM1 34	06.03.2 019	Serbien	Babesia sp. badger type B			
MM9 9	15.05.2 020	Ungarn	Babesia sp. badger type B		Uncultured Mycoplasma sp. isolate 8617_wild cat Bosnia	Trypanos oma pestanai
MM1 00	07.11.2 020	Ungarn	Babesia sp. badger type B		Uncultured Mycoplasma sp. isolate 8617-like	Trypanos oma pestanai
MM1 01	05.08.2 020	Ungarn	Babesia sp. badger type B		novel Mycoplasma sp	
MM1 02	19.09.2 020	Ungarn	Babesia sp. badger type B		novel Mycoplasma sp	Trypanos oma pestanai
MM1 03	21.09.2 020	Ungarn	Babesia sp. badger type A/type B	Ehrlichia sp. isolate 89_dog_hungary _100		Trypanos oma pestanai
MM1 04	Sep.20	Ungarn	Babesia sp. badger		Uncultured Mycoplasma sp. isolate	Trypanos oma pestanai

			isolate Badger- 1_mixed/ type B		8617_like_haplotype 2	
MM1 05	Jul.20	Ungarn	Babesia sp. badger type A			

## 20. Danksagung

Ich möchte mich an dieser Stelle herzlichst bei meinem Diplomarbeitsbetreuer PD Mag. Dr. Hans-Peter Fuehrer bedanken, der mir sofort sein vollstes Vertrauen geschenkt hat, unglaublich geduldig mit mir war, trotz mehrmaliger Verzögerungen und sich jederzeit für mich und meine Fragen Zeit nahm. Bei jedem Gespräch merkte ich seine Leidenschaft zur Parasitologie, wodurch ich selbst angesteckt wurde. Er fand immer die richtigen Worte um mich zu motivieren und manchmal aufzumuntern und seine positive Art erleichterten mir das gesamte Projekt.

Ein großer Dank gilt auch Barbara Eigner und Bitu Shahi Barogh für die hervorragende Unterstützung bei der Arbeit im Labor. Ich konnte sie bei jedem noch so kleinen Problem um Rat fragen und sie unterstützten mich stets tatkräftig.

Des Weiteren möchte ich mich auf diesem Weg bei Mike Heddergott für die Organisation und Beschaffung der Milzproben bedanken.

An dieser Stelle möchte ich auch die Gelegenheit nutzen und mich bei meiner Familie, insbesondere meinen Eltern, bedanken, die mich während meines gesamten Studiums unterstützt haben und mir dadurch die Erfüllung meines Kindheits-Traumberufs ermöglicht haben.