

Aus dem Department für Pathobiologie
der Veterinärmedizinischen Universität Wien

Institut für Parasitologie

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

**Methodik der Sammlung und Bearbeitung von Nackt- und Gehäuseschnecken
zur morphologischen Analyse von *Aelurostrongylus abstrusus*,
Angiostrongylus vasorum, *Crenosoma vulpis* und *Troglostrongylus brevior***

Diplomarbeit

Veterinärmedizinische Universität Wien

vorgelegt von

Mirjam Edler

Wien, im Oktober 2020

Betreuer: Priv. Doz. Dr. Hans-Peter Fuehrer

Institut für Parasitologie

Department für Pathobiologie

Veterinärmedizinische Universität Wien

Begutachter: Ao.Univ.Prof. Dr.med.vet. Peter Paulsen Dipl.ECVPH

Institut für Lebensmittelsicherheit, Lebensmitteltechnologie und Öffentliches
Gesundheitswesen

Department für Nutztiere und öffentliches Gesundheitswesen

Veterinärmedizinische Universität Wien

Inhaltsverzeichnis

1. EINLEITUNG UND FRAGESTELLUNG.....	8
2. LITERATURÜBERSICHT	11
2.1. GASTROPODEN	11
2.1.1. Die Spanische Wegschnecke - <i>Arion vulgaris</i>	11
2.1.2. Die gefleckte Weinbergschnecke - <i>Cornu aspersum</i>	13
2.2. NEMATODEN	14
2.2.1. <i>Aelurostrongylus abstrusus</i>	14
2.2.2. <i>Angiostrongylus vasorum</i>	14
2.2.3. <i>Crenosoma vulpis</i>	15
2.2.4. <i>Troglostrongylus brevior</i>	18
3. TIERE, MATERIAL UND METHODIK.....	22
3.1. TIERE UND MATERIAL.....	22
3.2. METHODIK	23
3.2.1. A. Bearbeitung der Tiere vor dem Verdauungsvorgang	24
3.2.2. B. Herstellung einer Verdauungslösung.....	24
3.2.3. C. Verdauungsvorgang	25
3.2.4. D. Morphologische Analyse der Proben.....	26
4. ERGEBNISSE.....	27
4.1. ERGEBNISSE DER ETABLIERUNG	27
4.2. ERGEBNISSE DER LARVENANALYSE WEITERER NACKT- UND GEHÄUSESCHNECKEN.....	31
5. DISKUSSION.....	35
6. ZUSAMMENFASSUNG	39
7. SUMMARY	41

8. REFERENZEN.....	42
9. LITERATURVERZEICHNIS BÜCHER.....	46
10. ABBILDUNGSVERZEICHNIS	47
11. TABELLENVERZEICHNIS	48

Für meine beiden Hunde Kimo und Enya

Abkürzungen

°C	Grad Celsius
<i>A. abstrusus</i>	<i>Aelurostrongylus abstrusus</i>
<i>A. chabaudi</i>	<i>Angiostrongylus chabaudi</i>
<i>A. vasorum</i>	<i>Angiostrongylus vasorum</i>
<i>A. vulgaris</i>	<i>Arion vulgaris</i>
<i>A. fasciatus</i>	<i>Arion fasciatus</i>
al.	alii
Aqua dest.	Aqua destillata
<i>C. aspersum</i>	<i>Cornu aspersum</i>
<i>C. vulpis</i>	<i>Crenosma vulpis</i>
DNA	Desoxyribonukleinsäure
g	Gramm
g*	relative Zentrifugalbeschleunigung
HCl	Salzsäure
<i>H. pomatia</i>	<i>Helix pomatia</i>
KG	Körpergewicht
<i>L. maximus</i>	<i>Limax maximus</i>
l	Liter
L1	Larven im ersten Entwicklungsstadium
L2	Larven im zweiten Entwicklungsstadium

L3	Larven im dritten Entwicklungsstadium
min	Minute(n)
ml	Milliliter
µm	Mikrometer
µl	Mikroliter
NaCl	Natriumchlorid
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
RCF	Relative Centrifugal Force
rpm	rounds per minute
sek	Sekunde(n)
<i>T. brevior</i>	<i>Troglostrongylus brevior</i>
<i>T. subcrenatus</i>	<i>Troglostrongylus subcrenatus</i>
<i>T. troglostrongylus</i>	<i>Troglostrongylus troglostrongylus</i>
<i>T. wilsoni</i>	<i>Troglostrongylus wilsoni</i>
x	Mittelwert
X	malig

1. Einleitung und Fragestellung

Unterschiedliche Lungenwurmartarten der Gattungen *Crenosoma*, *Aelurostrongylus*, *Angiostrongylus* und *Troglostrongylus* sind wichtige Endoparasiten in der Veterinärmedizin. Lungenwürmer können je nach Art und Wurmbürde respiratorische Symptome wie Husten, Nasenausfluss, Tachypnoe oder auch Atemstillstand und darauffolgenden Tod bei Hunden und Katzen verursachen (Pennisi et al. 2015). Sie können sowohl pulmonale Krankheitsbilder wie Bronchopneumonien, akute oder chronische Bronchitiden als auch kardiale Krankheitsbilder wie Rechtsherzdilatationen oder weitere Veränderungen wie Verbrauchskoagulopathien, Anämie oder nervöse Störungen bewirken (Deplazes et al. 2013). Somit stellen sie eine bedeutende Differentialdiagnose bei respiratorischen bzw. pulmonalen Auffälligkeiten dar.

Ein wichtiger Vertreter der kaniden Lungenwürmer ist der schachtelhalmförmige Lungenwurm, *Crenosoma vulpis*. Dieser kommt in Europa, Asien und Nordamerika vor und hat als seinen Endwirt den Fuchs, andere Wildkaniden, aber auch den Hund (Deplazes et al. 2013). Vor der Besiedelung des Endwirtes muss die Lungenwurmlarve eine Entwicklung von L1 bis zur infektiösen L3 vollziehen. Die in den Bronchien und in der Trachea lebenden adulten Weibchen legen dort ihre Eier, die anschließend hochgehustet, abgeschluckt und über den Kot ausgeschieden werden. Dort dringen L1 in Nackt- und Gehäuseschnecken ein und entwickeln sich zu L3. Die Schnecke wird anschließend als Zwischenwirt vom Endwirt verzehrt, wodurch infektiöse L3 über die Portalvene, das Leberparenchym und die Lebervenen zum Herzen und in den Lungenkreislauf gelangen (Unterer et al. 2002).

Ein weiterer beim Hund auftretender Fadenwurm ist der Französische Herzwurm, *Angiostrongylus vasorum*. Er kommt in Afrika, Amerika und Europa vor (Olivieri et al. 2017). Adulte Weibchen leben in der Arteria pulmonalis und im rechten Herzen, wo sie ihre ungefurchten Eier ablegen (Deplazes et al. 2013). Diese werden in die Lungenkapillaren geschwemmt, entwickeln sich dort zu L1, werden hochgeflimmert, geschluckt und mit dem Kot ausgeschieden. Danach werden sie vom Zwischenwirt, der Schnecke, aufgenommen und die Entwicklung von L1 bis zu infektiösen L3 erfolgt. Nach oraler Aufnahme des Zwischenwirts, erreichen L3 über das Durchdringen der Darmwand und eine Durchwanderung mesenteriale Lymphknoten das rechte Herz und die Lungenarterien (Deplazes et al. 2013).

Lungenwurmartarten der Felinen stammen vorwiegend aus der Familie der Metastrongyliden, wobei *Aelurostrongylus abstrusus* als bedeutendster Lungenwurm der Katze erwähnt wird

(Traversa et al. 2015). Dieser kommt auch in einigen Regionen Mitteleuropas vor. Die adulten Nematodenweibchen leben in den Bronchiolen und Alveolengängen von Katzen und legen dort ihre Eier. Diese entwickeln sich rasch zu L1, gelangen über den Larynx und Pharynx in den Darm des Wirtes und werden ausgeschieden. Als Zwischenwirte dienen Gehäuse- und Nacktschnecken, in denen sich L1 zu L3 entwickeln. Danach nehmen die Endwirte den Zwischenwirt oral auf und die infektiösen Larven können über den Blut- und Lymphweg in die Lunge gelangen (Deplazes et al. 2013).

Weitere Lungenwürmer der Katze sind Troglstrongyliden, wobei die Arten *Troglstrongylus subcrenatus*, *Troglstrongylus brevior* und *Troglstrongylus wilsoni* in unterschiedlichen Gebieten und Wirten vorkommen (Deplazes et al. 2013). Deren epidemiologische und pathogene Rolle in Hauskatzen ist weitgehend ungeklärt (Traversa und Di Cesare 2013), wobei ihr Vorkommen in Südeuropa bisher eventuell unterschätzt wurde (Deplazes et al. 2013). Die ersten Nachweise von *Troglstrongylus brevior* wurden bereits vor sechs Jahrzehnten in Palästina beschrieben und später in einigen europäischen Ländern wie Italien, Spanien, Griechenland, Bulgarien, Rumänien, sowie Bosnien und Herzegowina dokumentiert (Deak et al. 2017). Als Zwischenwirte der Troglstrongyliden fungieren zahlreiche Landschneckenarten (Deplazes et al. 2013), die als Überträger eine Gefahr für Haustiere darstellen können. Der Entwicklungsweg der Troglstrongyliden ähnelt dem vom *A. abstrusus* (Brianti et al. 2012).

Die große Gemeinsamkeit der Lungenwurmartens unsere Haustiere sind ihre Zwischenwirte – Gehäuse- und Nacktschnecken. Dadurch stellt sich die Frage, wie häufig diese in Österreich vorkommen und in welchem Ausmaß sie von Lungenwurmlarven befallen sind.

Um dieses Ausmaß und das dadurch vorhandene Infektionsrisiko für unsere Haustiere in Österreich beurteilen zu können, wurden von acht Diplomanden/innen (Brauchart Thomas, Bleicher Julian, Edler Mirjam, Hering Tatjana, Lerchner Sigrun, Mohab Karoline, Steißl Theresa und Reinelt Simon) im östlichen Bereich Österreichs (Steiermark, Niederösterreich, Wien, Burgenland) Gehäuse- so wie Nacktschnecken gesammelt und deren Gattung und Art bestimmt. Danach wurden die Schnecken mit einer Verdauungslösung großteilig zersetzt und das erhaltene Probenmaterial, aus dem Verdauungstrakt der Schnecke, auf das Vorhandensein von Lungenwurmlarven analysiert. Die angewandte Verdauungsmethode wurde deshalb gewählt, da sie die Freisetzung der Lungenwurmlarven aus dem Gastrointestinaltrakt der Schnecken einfach gestaltet und mehrere Schnecken gleichzeitig

verdaut werden können. Die Lungenwurmlarven selbst wurden zuerst morphologisch differenziert und schließlich molekularbiologisch untersucht. Das Projekt soll einen Einblick über die Verteilung und das Vorkommen von Lungenwurmlarven in Gehäuse- und Nacktschnecken im östlichen Bereich Österreichs geben. Es ist eine Zusammenarbeit zwischen der Veterinärmedizinischen Universität Wien, dem Naturhistorischen Museum Wien und der Veterinärmedizinischen Fakultät an der Universität Teramo, Italien.

Diese Arbeit beschäftigt sich vor allem mit der Etablierung der Arbeitsschritte zur morphologischen Analyse der Lungenwurmlarven, aber auch der Datenaufzeichnung der Sammelorte und Schnecken und deren Gattungs- und Artbestimmung. Dabei liegt der Schwerpunkt besonders auf der Etablierung des praktischen Teils, bestehend aus der Bearbeitung der Schnecken vor dem Verdauungsvorgang, der Verdauungsmethode selbst und der anschließenden Larvenanalyse unter dem Lupen- und Stereomikroskop. Des Weiteren werden die untersuchten Schneckenarten *Arion vulgaris* und *Cornu aspersum* genauer erläutert, sowie die Lungenwurmart *Aelurostrongylus abstrusus*, *Angiostrongylus vasorum*, *Crenosoma vulpis*, und *Troglostrongylus brevior* kurz beschrieben, um deren Identifikation und morphologische Analyse zu verdeutlichen. Auf den Lungenwurm des Fuchses, *C. vulpis*, wird bezüglich seines Lebenszyklus, der klinischen Manifestation im betroffenen Kaniden und der vorhandenen Therapiemöglichkeiten im Speziellen eingegangen.

2. Literaturübersicht

2.1. Gastropoden

Die Klasse der Gastropoden ist eine der sechs Hauptklassen des Stammes der Mollusken. Mollusken (Weichtiere) haben einen weichen, unsegmentierten Körper der ganz oder in Teilen mit einer fleischigen Schicht, dem Mantel, umhüllt ist. Der Weichtierkörper der Gastropoden besteht aus dem Kopf mit Tentakeln, dem ventralen abgeplatteten Fuß und einer dorsalen Viszeralmasse (Lyte und Meyer 2010). Gastropoden sind feuchtigkeitsbedürftige Tiere, die vor allem nachts und bei feuchtem Wetter aktiv sind (Döderlein 1931). Geeignete Lebensräume können Gemüsebeete, Komposthaufen, Pflastersteine und Gebäudfundamente darstellen (Lyte und Meyer 2010). Den Winter verbringen Schnecken in Verstecken und meist in Winterstarre (Döderlein 1931).

2.1.1. Die Spanische Wegschnecke - *Arion vulgaris*

Arion vulgaris zählt zur Familie der Wegschnecken (Arionidae) aus der Unterordnung der Landlungenschnecken (Stylommatophora) und Ordnung der Lungenschnecken (Pulmonata). Das Hauptmerkmal von Stylommatophora sind ihre Augen an der Spitze der Fühler, das Hauptmerkmal von Pulmonata sind ihre seitlichen Atemöffnungen (Köhler 2015).

Allgemeine Unterscheidungsmerkmale innerhalb der Nacktschnecken sind die Position des Atemloches, das Vorhandensein oder Fehlen des Kiels, Länge des Kiels, Größe der Schnecke, Körperform, Körperfärbung, Farbe der Fußsohle, Mantelschildlänge und Farbe des ausgeschiedenen Schleims (Köhler 2015). Wegschnecken (Arionidae) besitzen vier Fühler, ein Atemloch rechts in der vorderen Hälfte des Mantelschilds und einen Rücken ohne Kiel. Somit lassen sie sich gut zur Familie der Schnegel (Limacidae) abgrenzen, die ihr Atemloch in der hinteren Hälfte des Mantelschilds besitzen und einen Kiel am Rücken haben (Döderlein 1931). *Arion vulgaris* ist zwischen 70 und 150 mm groß und kann von schwarzer, roter oder brauner Farbe sein. Andere Nacktschnecken können ohne genitalmorphologische Untersuchung allerdings oft nur grob zugeordnet werden (Köhler 2015). Abbildung 1 zeigt ein rötliches Exemplar von *A. vulgaris* mit erkennbarem Atemloch rechts in der vorderen Hälfte des Mantelschilds.



Abb. 1: Die Spanische Wegschnecke - *Arion vulgaris*

https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Arion_vulgaris_3.jpg

Xauxa Håkan Svensson / CC BY-SA (<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/3.0>)

Arion vulgaris zählt untere anderem durch seine Anpassungsfähigkeit und seine entwickelten Mechanismen mit Infektionen und natürlichen Raubfeinden umzugehen, zu einer der invasivsten Schneckenarten Zentraleuropas (Bulat et al. 2016). Meteorologische Parameter und die Pflanzenvielfalt Österreichs haben einen bedeutenden Einfluss auf das zahlreiche Aufkommen von Nacktschnecken in österreichischen Gärten (Dörler et al. 2018).

2.1.2. Die gefleckte Weinbergschnecke - *Cornu aspersum*

Cornu aspersum zählt zur Familie der Schnirkelschnecken (Helicidae), aus der Unterordnung der Landlungenschnecken (Stylommatophora) und Ordnung der Lungenschnecken (Pulmonata). Diesen ist es möglich für ihre Winterruhe einen homogen wirkenden Kalkdeckel (Epiphragma) zu bilden (Köhler 2015). Allgemeine Unterscheidungsmerkmale innerhalb der Landgehäuseschnecken sind die Breite, Form, Oberfläche und Farbe der Schale, Mündungsform der Schale, Form und Höhe des Gewindes, Form und Sichtbarkeit des Nabels und Farbe der Lippe (Köhler 2015). *Cornu aspersum* zeigt sich als Gehäuseschnecke mit einer bis zu 36 mm hohen und 40 mm breiten Schale. Diese besitzt ein breites buntes Band und lässt sich dadurch gut von dem bräunlichen und größeren Gehäuse der Weinbergschnecke *Helix pomatia* unterscheiden (Döderlein 1931). Abbildung 2 zeigt ein Exemplar von *C. aspersum* mit deutlich bunter Färbung des Gehäuses.



Abb. 2: Die gefleckte Weinbergschnecke - *Cornu aspersum*

<https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Cornu.jpg>

Katrin-die-Räuberbraut

Cornu aspersum wurde 2016 erstmalig in Italien als geeigneter Zwischenwirt von *C. vulpis* aufgezeigt (Coella et al. 2016).

2.2. Nematoden

Die Arten der Gattungen *Aelurostrongylus*, *Angiostrongylus*, *Crenosoma* und *Troglostrongylus* gehören zur Familie der Metastrongyliden, die einen indirekten Lebenszyklus haben und Schnecken als Zwischenwirte nutzen, um sich später im Endwirt vermehren zu können (Deplazes et al. 2013).

2.2.1. *Aelurostrongylus abstrusus*

Der wichtigste den Atmungstrakt der Hauskatze (*Felis silvestris catus*) befallende Nematode ist der Lungenwurm *A. abstrusus* (Diakou et al. 2015). Adulte Weibchen erreichen eine Länge bis zu 1,5 cm, Männchen eine Länge bis zu 0,8 cm (Mehlhorn 2012). Sie leben in den Bronchioli von Katzen, wo weibliche Adulti ihre Eier legen (Deplazes et al. 2013). Nach der Entwicklung zu L1 werden die Larven hochgehustet, abgeschluckt und über den Verdauungstrakt ausgeschieden (Pennisi et al. 2015). L1 können aktiv in Schnecken eindringen und entwickeln sich dort unter Einfluss der Umgebungstemperatur zu infektiösen L3. Diese Entwicklung findet bei höherer Umgebungstemperatur schneller statt (Pennisi et al. 2015). Die Katze stellt den Endwirt von *A. abstrusus* dar, dieser kann jedoch auch paratenische Wirte wie Amphibien, Reptilien, Vögel oder Säuger befallen (Deplazes et al. 2013). Nach Aufnahme des Zwischenwirts oder eines paratenischen Wirts, gelangen infektiöse L3 über den Blut- und Lymphweg in die Lunge, wo Weibchen nach ca. 6 Wochen geschlechtsreif sind (Deplazes et al. 2013). Alternative Möglichkeiten der Übertragung von *A. abstrusus* und *T. brevior* auf ihren Endwirt wäre die indirekte Übertragung durch orale Aufnahme von L3 im Mucus der Schnecke oder von Wasser mit freigewordenen L3 nach Absterben der Schnecke (Gianelli et al. 2015).

2.2.2. *Angiostrongylus vasorum*

In den letzten Jahren erlangten *A. vasorum* Infektionen des Hundes durch ihr vermehrtes Vorkommen außerhalb ihrer endemischen Gebiete vermehrt an Aufmerksamkeit (Maksimov et al. 2017). *Angiostrongylus vasorum* befällt vor allem Kanide wie Hunde und Füchse, es wurden aber auch Infektionen von Mardern, roten Pandabären (*Ailurus fulgens fulgens*) und in Gefangenschaft lebenden Erdmännchen (*Suricatta suricatta*) nachgewiesen (Gillis-Germitsch et al. 2017). Adulte Wurmweibchen können bis zu 2,5 cm lang werden (Mehlhorn 2012), Männchen bis zu 1,8 cm (Deplazes et al. 2013). Im Gegensatz zu *C. vulpis* befindet sich *A. vasorum* in der Arteria pulmonalis, selten in der rechten Herzkammer. Adulte Weibchen legen ihre Eier in die Lungenkapillaren, in denen sich L1 entwickeln. Danach werden diese

aus den Alveolen über die Trachea hochgeflimmert, abgeschluckt und über den Kot ausgeschieden. Anschließend müssen sich L1 in ihrem Zwischenwirt, der Schnecke, zu L3 entwickeln und erneut vom Endwirt aufgenommen werden (Maier et al. 2010). Es ist allerdings nicht bekannt, ob die Infektion des Endwirtes nur über den Verzehr von Zwischen- oder paratenischen Wirten stattfindet oder auch durch Aufnahme der Sekrete oder Kot der befallenen Mollusken möglich ist (Morgan et al. 2005). Nach oraler Aufnahme der L3, gelangen diese über mesenteriale Lymphknoten in die Arteria pulmonalis und das rechte Herz. *A. vasorum* Infektionen können schwerwiegende Krankheitsbilder wie Thrombosierung der Lungenarterien, Verbrauchskoagulopathien, Rechtsherzdilatationen, hämorrhagische Diathesen oder chronische Lungenveränderungen auslösen. Die Symptome einer Infektion reichen von Husten, Dyspnoe, subkutanen Hämatomen, Abmagerung, Konditionsmängeln, Anämie, Fieber, inneren Blutungen, hypovolämischem Schock bis hin zu zentralnervösen Erscheinungen oder gar dem Tod (Deplazes et al. 2013).

2.2.3. *Crenosoma vulpis*

C. vulpis wird mittlerweile nicht nur in seinen endemischen Gebieten, sondern auch in neuen Gebieten Europas, Afrikas und Nordamerikas nachgewiesen (Taubert et al. 2009, Traversa et al. 2010, Deplazes 2013). Die Gründe der Ausbreitung sind noch weitgehend ungeklärt aber Faktoren wie der Klimawandel, Veränderungen in den Haustier- und Zwischenwirtpopulationen oder vermehrtes globales Reisen könnten dabei eine Rolle spielen (Lange et al. 2018). Der zu den Metastrongyliden zählende Lungenwurm befällt Füchse, Hunde und Dachse, wobei sein Vorkommen im Vergleich zu *A. vasorum* sporadisch auftritt und mildere Symptomatik auslöst (Colella et al. 2016).

Adulte Weibchen werden bis zu 1,5 cm lang, Männchen bis zu 0,8 cm (Mehlhorn 2012). Sie leben in den Bronchien, Bronchiolen und der Trachea ihres Wirts, wo auch ihre Eiablage stattfindet. Diese entwickeln sich zu L1, werden hochgehustet, abgeschluckt und über den Kot ausgeschieden (Deplazes et al. 2013). Nach Aufnahme von L1 durch den Zwischenwirt, entwickeln sich die Larven innerhalb von ca. 17 Tagen zu L3 (Wetzel und Mueller 1935). In *C. aspersum* wurden bereits 10 Tage post infectionem L3 nachgewiesen (Colella et al. 2016). Der Lebenszyklus von *C. vulpis* wird schematisch in Abbildung 3 dargestellt. Ebenso wurden alternative indirekte Übertragungswege von Lungenwürmern beschrieben (Gianelli et al. 2015).

Eine *C. vulpis* Infektion kann sich klinisch unterschiedlich darstellen. Bei milder Symptomatik und unvollständiger Diagnostik kann die Erkrankung auch als Allergie fehldiagnostiziert werden (Bihr und Conboy 1999). Allgemein lassen sich folgende Symptome nach der Beeinträchtigung des Wirtes beschreiben:

- milde Beeinträchtigung des Endwirtes durch:
reduzierten Appetit (Shaw et al. 1996)
niesen (Schnyder 2010)
mukösen Nasenausfluss (Schnyder 2010)
würgen (Schnyder 2010)
Auswurf von Schleim (Schnyder 2010)
- mittelgradige Beeinträchtigung des Endwirtes durch:
chronischen Husten (Bihr und Conboy 1999)
Belastungsschwäche (Conboy 2014)
- schwerwiegende Beeinträchtigung des Endwirtes durch:
Dyspnoe

Letale Fälle einer *C. vulpis* Infektion in Hunden wurden bisher nicht beschrieben (Traversa et al. 2010).

Krankheitsbilder, welche die beschriebene Symptomatik auslösen können, sind eosinophile Bronchiolitiden, akute/chronischen Bronchitiden oder ins Parenchym ausstrahlende Bronchopneumonien (Deplazes et al. 2013).

Zur sicheren Diagnose einer *C. vulpis* Infektion wird als Goldstandard das Baermann-Wetzel-Verfahren gewählt. Dazu wird eine dreitägige Kotsammelprobe gesammelt. Die Kotprobe wird in eine engmaschige Gazeeinlage gelegt und in einem Trichter platziert, an dessen Ende ein, mit einer Klemme verschließbarer Schlauch, angesetzt ist. Schließlich wird der Trichter so lange mit lauwarmem Wasser gefüllt, bis die Kotprobe zur Hälfte bedeckt ist. Nach 12-24 Stunden wird die Klemme gelöst und die ersten paar Tropfen der Flüssigkeit aufgefangen. Anschließend können die ausgewanderten Larven unter einem Mikroskop nachgewiesen werden (Schnyder 2010).

Das Trichterverfahren nach Baermann und Wetzel hat eine höhere Sensitivität vorhandene L1 bei einer Infektion zu erfassen als Sedimentation/Flotations-Untersuchungen (Schnyder 2010). Dies zeigt auch eine frühere Studie aus Kanada in der mit einer Zentrifugalfotation mit Zinksulfat nur vier von 42 positiven Tieren als solche erkannt wurden, wohingegen von diesen 42 Tieren mit dem Baermann-Wetzel-Verfahren 39 Tiere als positiv erfasst werden konnten (Conboy 2004). Die höhere Wahrscheinlichkeit, L1 mit dem Trichterverfahren zu erfassen, trifft auch auf andere Lungenwurmlarven wie z.B. *A. vasorum* zu. 2002 wurden an der Universität Federal de Minas Gerais in Brasilien mit einem modifizierten Baermann-Wetzel-Verfahren 90% der aktiven Larven des Versuches nachgewiesen (Barçante et al. 2003).

Als Therapieform einer *C. vulpis* Infektion wird eine einmalige orale Gabe von makrozyklischen Laktonen (Moxidectin, Milbemycinoxim) empfohlen (Schnyder 2010, Conboy 2004). Fenbendazol an drei aufeinanderfolgenden Tagen wurde ebenso als wirksam beschrieben (Deplazes et al. 2013). Die Prophylaxe ist schwierig, da die Umgebung des Hundes (Zwinger, Ausläufe) kaum schneckenfrei zu halten ist (Deplazes et al. 2013).

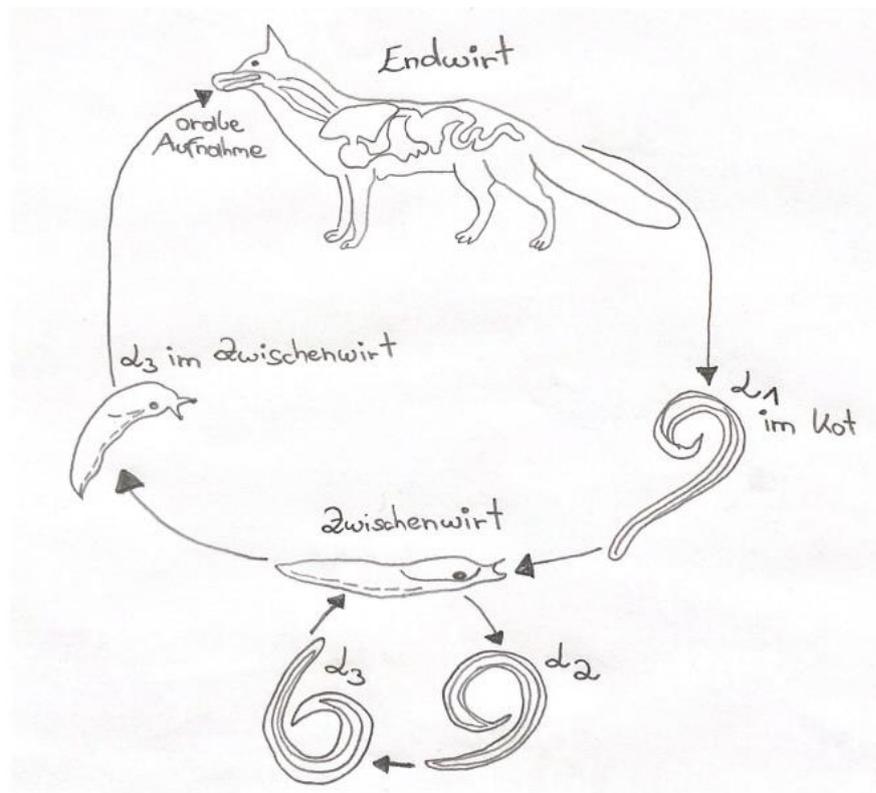


Abb. 3: Schematische Darstellung des Lebenszyklus von *C. vulpis* (modifiziert nach Deplazes und Ehrat 2013)

2.2.4. *Troglostrongylus brevior*

Troglostrongyliden sind vor allem in Wildkatzen beschrieben, gelegentlich werden sie auch in Hauskatzen gefunden (Pennisi et al. 2015), wobei *T. brevior* durch sein vermehrtes Vorkommen in der Hauskatzenpopulation in den letzten Jahren an Bedeutung gewonnen hat (Diakou et al. 2015). Die Länge der Troglostrongyliden variiert je nach Lungenwurmart. Sie sind ca. 0,1-0,25 cm lang (Pennisi et al. 2015). Makroskopisch lassen sich die adulten Troglostrongyliden durch ihre Größe, Form der langen Spicula der Männchen sowie der nah zur Körpermitte liegenden Vulva der Weibchen gut zu adulten *A. abstrusus* abgrenzen. Die morphologische Unterscheidung der Larven gestaltet sich als schwieriger, da L1 mit 470 µm zwar länger als 360-400 µm lange L1 von *A. abstrusus* sind, die Larven aber ansonsten nur mit Hilfe einer PCR differenziert werden können (Deplazes et al. 2013). Durch die Ähnlichkeit zu *A. abstrusus* ist es möglich eine Infektion mit Troglostrongyliden fälschlicherweise als eine Infektion mit *A. abstrusus* zu diagnostizieren (Brianti et al. 2012). Die Lungenwurmart *T. brevior*, *T. subcrenatus*, *T. troglostrongylus* und *T. wilsoni* werden häufig in der Trachea oder den Bronchiolen von Wildkatzen gefunden und haben einen ähnlichen indirekten Entwicklungszyklus mit Schnecken als Zwischenwirte wie *A. abstrusus* (Brianti et al. 2012).

In den folgenden zwei Tabellen werden einige Unterscheidungsmerkmale der adulten Lungenwürmer (Tab. 1), gefolgt von einigen Unterscheidungsmerkmalen der Larven (Tab. 2) von *A. abstrusus*, *A. vasorum*, *C. vulpis* und *T. brevior* erörtert, um ihre Identifizierungsweise vereinfacht darzustellen.

Tabelle 1: Unterscheidungsmerkmale der untersuchten Lungenwurmart *A. abstrusus*, *A. vasorum*, *C. vulpis* und *T. brevior*

Parasit	Endwirt	Zwischenwirte	Vorkommen	Länge	Literatur
<i>Aelurostrongylus abstrusus</i>	Wild- und Hauskatzen	Nackt- und Gehäuseschnecken paratenische Wirte (Amphibien, Reptilien, Vögel, Säuger)	Mitteleuropa	♀ bis 1 cm ♂ bis 0,7 cm	Mehlhorn 2012 Deplazes et al. 2013

3. Tiere, Material und Methodik

3.1. Tiere und Material

Die zu untersuchenden Nackt- und Gehäuseschnecken wurden von den Diplomanden/innen Brauchart Thomas, Bleicher Julian, Edler Mirjam, Hering Tatjana, Lerchner Sigrun, Mohab Karoline, Steßl Theresa und Reinelt Simon in Gebiete in Niederösterreich, Wien, Burgenland und der Steiermark in einem Zeitraum von einem halben Jahr gesammelt. Dabei wurden die ersten Schnecken (*A. vulgaris* und *C. aspersum*) bereits Anfang April 2019 und die letzten (*A. vulgaris*) Anfang August 2019 zusammengetragen. Pro Diplomand/in wurden zwischen 100 bis 200 Stück Schnecken erfasst, wobei darauf geachtet wurde, dass davon mindestens 30-50 Stück Gehäuseschnecken (*C. aspersum*) waren. Als Sammelstellen wurden feuchte Naturgebiete gewählt, wo sowohl mit hoher Dichte an Schnecken als auch an Haustieren (Hunde und Katzen) und/oder Wildtieren (Füchsen) zu rechnen ist (grünflächige Hundezonen, Familiengärten, Bauernhöfe, Spazierwege etc.). Als passender Sammelzeitpunkt wurden frühe Morgenstunden mit hoher Luftfeuchtigkeit gewählt, um so viele Schnecken wie möglich erfassen zu können. Die Fundorte wurden fotografiert und ihre Koordinaten mit Hilfe von Google Maps bestimmt. Abbildung 4 zeigt zwei Fundortbeispiele der Schneckensammlungen. Die Supplementärtabelle 1 wurde vor Beginn der Sammlung der Schnecken erstellt und in allen Diplomarbeiten der genannten Diplomanden/innen der Studie verwendet. Sie enthält die erfassten Informationen zu den Fundorten der Tiere. Die gesammelten Tiere wurden in Plastikbehältern (Feinkostbecher 300-500 ml) mit Luftlöchern oder, wenn Gehäuseschnecken gefunden wurden, in Leinentaschen transportiert und anschließend ihre Gattung und Art bestimmt. Die Bestimmung erfolgte anfangs durch Hilfe von Herrn HR. Dr. Helmut Sattmann und Herrn Dr. Michael Duda vom Naturhistorischen Museum Wien. Dazu wurden Merkmale wie die Größe der Schnecke, ihre Farbe, das Vorhandensein oder Fehlen des Kiels, die Mantelgröße und die Position der Atemlöcher herangezogen. Gehäuseschnecken wurden durch die Größe, Form und Musterung ihres Schneckenhauses und den Saum der Schalenmündung (Lippe) bestimmt. Später wurde der in einer vorangegangenen Diplomarbeit erstellte Schneckenatlas Österreichs von Eisschiel Nicole zur Bestimmungshilfe herangezogen. Der Großteil der gesammelten Nacktschnecken wurde der Spanischen Wegschnecke, *Arion vulgaris*, zugeteilt; der Großteil der gesammelten Gehäuseschnecken der gefleckten Weinbergschnecke, *Cornu aspersum*. Unter Naturschutz stehende Arten wie der Tigerschnecke, *Limax maximus*, wurden zwar gefunden, jedoch durch den vorhandenen Artenschutz, nicht weiter auf Lungenwurmlarven untersucht. *H. pomatia* wurde von Herrn HR.

Dr. Helmut Sattmann gesammelt und dem Projekt zur Verfügung gestellt. Anschließend an die Gattungs- und Artbestimmung wurden die Schnecken am Institut für Parasitologie der Veterinärmedizinischen Universität Wien mit flüssigem Stickstoff bei -196 °C einzeln getötet. Die Diplomanden/innen erhielten vor der Arbeit mit flüssigem Stickstoff eine Sicherheitseinweisung und arbeiteten unter Sicherheitsvorkehrungen. Dazu trugen sie festes Schuhwerk, einen Schutzmantel, Arbeitshandschuhe und eine Schutzbrille. Nach dem Abtöten der Schnecken, wurden diese in gekennzeichneten Plastikbehältern bei -20 °C gelagert bis sie am Tag der Analyse bei Raumtemperatur oder im lauwarmen Wasserbad vor dem Verdauungsvorgang aufgetaut wurden.



Abbildung 4: Fundortbeispiele der Schneckensammlungen in Wien Floridsdorf und in der Steiermark Feistritz bei Knittelfeld

3.2. Methodik

Die verwendete Methodik zur Analyse der Lungenwurmlarven in Schnecken dieser Studie wurde in acht Etablierungsdurchläufen von Ende April 2019 bis Mitte Mai 2019 entwickelt. Diese wurde anhand von bereits erhobenen Studien evaluiert und etabliert (Penagos-Tabares et al. 2019, Lange et al. 2018). Zur Etablierung wurden 57 Einzeltiere verwendet und die Arbeitsschritte folgenden Kategorien zugeteilt:

A. Bearbeitung der Tiere vor dem Verdauungsvorgang

B. Herstellung der Verdauungslösung zur Bearbeitung der Tiere

C. Verdauungsvorgang

D. Morphologische Analyse der Proben

Die folgenden Techniken wurden in dieser Arbeit sowohl evaluiert als auch etabliert und anschließend in der gesamten Studie angewandt.

3.2.1. A. Bearbeitung der Tiere vor dem Verdauungsvorgang

Nach dem Auftauen wurden die Tiere einzeln auf einem nummerierten Wiegeschälchen abgewogen und ihr Körpergewicht in Gramm in der Supplementärtabelle 2 verzeichnet. Diese enthält weitere Daten zu jeder einzelnen Schnecke wie deren Kennzeichnung, Art, Bearbeitungsdatum, Kürzel des Bearbeiters, Lagerungsumstände, Volumina der verwendeten Verdauungslösung und das Ergebnis des morphologischen Nachweises der Lungenwurmlarven. Zur späteren molekularen Artbestimmung kryptischer Schneckenarten wurde den Mollusken vor dem Verdauungsvorgang ein stecknadelkopfgroßer Teil des Kopfes mit einer frischen Skalpellklinge abgetrennt und in einem beschrifteten 1,5 ml Eppendorf Tube zurückbehalten. Danach wurde jede Schnecke einzeln in mehrere Teile (0,5 cm lange Abschnitte) zerkleinert und in einem gekennzeichneten Erlenmeyerkolben (50 ml) überführt. Gehäuseschnecken wurden vor dem Verdauungsvorgang von ihrem Haus gelöst, in dem ihr Haus mit einem Holzhammer zerschlagen und die Anteile der Schale mit einer anatomischen Pinzette von der Schnecke entfernt wurden. Danach wurde auch ihnen ein stecknadelkopfgroßer Anteil ihres Kopfes zur DNA-Analyse abgetrennt, der restliche Körper zerkleinert und je nach Menge der vorhandenen Schneckenmaterials, in ein oder zwei Erlenmeyerkolben gegeben.

3.2.2. B. Herstellung einer Verdauungslösung

Um die Schnecken auf das Vorhandensein von Lungenwurmlarven morphologisch untersuchen zu können, wurden sie davor mit einer Verdauungslösung behandelt und großteilig zersetzt. Die Verdauungslösung wurde unter Einhaltung der Sicherheitsvorkehrungen hergestellt. Dazu wurden säurebeständige Handschuhe, ein Arbeitsmantel und eine Schutzbrille getragen. Zur Herstellung der Lösung wurden verschiedenen Chemikalien nach Tabelle 3 verwendet und wie folgt gemischt: Aqua dest. und 37% Salzsäure wurden unter einem Abzug zusammengeführt, zur genauen Volumenbestimmung in einen Messzylinder umgefüllt und mit Aqua dest. auf das jeweilige

Volumen aufgefüllt. Weitere Chemikalien (Pepsin und Natriumchlorid) wurden anschließend hinzugefügt. Die Lösung wurde auf einem Magnetrührer gemischt.

Tabelle 3: Herstellung einer Verdauungslösung

100 ml Lösung	1 g Pepsin	3 ml HCl	0,85 g NaCl	ad 100 ml Aqua dest.
500 ml Lösung	5 g Pepsin	15 ml HCl	4,25 g NaCl	ad 500 ml Aqua dest.
1000 ml Lösung	10 g Pepsin	30 ml HCl	8,5 g NaCl	ad 1 l Aqua dest.
2000 ml Lösung	20 g Pepsin	60 ml HCl	17 g NaCl	ad 2 l Aqua dest.

Je nach Gewichtsguppe wurde der Schnecke unterschiedlich viel Lösung hinzugefügt. Dies zeigt Tabelle 4 genauer auf.

Tabelle 4: Einteilung der Gewichtsguppen zur Anpassung des Volumens der Verdauungslösung

Gruppe 1	Schnecken unter 1 g KG	20 ml Verdauungslösung
Gruppe 2	Schnecken mit 1-2 g KG	25 ml Verdauungslösung
Gruppe 3	Schnecken über 2 g KG	30 ml Verdauungslösung

Wenn viel Schneckenmaterial vorhanden war, wurde dieses auf zwei Erlenmeyerkolben aufgeteilt und mit jeweils 20-30 ml Verdauungslösung versehen, um eine erfolgreiche Auflösung des Schneckenmaterials gewährleisten zu können.

3.2.3. C. Verdauungsvorgang

Die Erlenmeyerkolben wurden mit Alufolie bedeckt und die Schnecken vier Stunden lang bei 40 °C schüttelnd (120 rpm) mit Hilfe der Verdauungslösung verdaut. Da Gehäuseschnecken durch ihren Eingeweidesack mehr Inhalt besitzen, wurden diese bei unvollständiger Auflösung innerhalb der vier Stunden länger verdaut (18:00-08:00 am nächsten Tag). Ziel des

Verdauungsvorgangs war es, eine Auflösung der äußeren Schutzhaut der Schnecke und eine Freilegung der Lungenwurmlarven zu erreichen, um die vorhandenen Lungenwurmlarven nach anschließender Siebung unter einem binokularen Lupenmikroskop (OLYMPUS SZH10) untersuchen zu können.

3.2.4. D. Morphologische Analyse der Proben

Die verdaute Suspensionslösung wurde durch einen 300 µm Sieb gesiebt, anschließend durch einen 25 µm Sieb und das aus dem 25 µm Sieb befindliche Material mit einer mit 0,9% NaCl gefüllten Plastikspritzflasche aus dem Sieb in eine gekennzeichnete Petrischale abgewaschen. Die verwendete NaCl Lösung wurde je nach Glaszylindergröße nach Tabelle 5 angemischt.

Tabelle 5: Herstellung einer 0,9% NaCl Lösung nach Gefäßgröße

Glaszylinder mit 1 l Fassungsvermögen	9 g NaCl	ad 1000 ml Aqua dest.
Glaszylinder mit 2 l Fassungsvermögen	18 g NaCl	ad 2000 ml Aqua dest.

Das feingesiebte Material wurde unter einem binokularen Lupenmikroskop (OLYMPUS SZH10) bei mindestens fünf bis siebenfacher Objektivvergrößerung (entspricht 50-70x) durchmustert. Gefundene Larven wurden mit einer Pipette (10 µl) abgehoben, auf einem beschrifteten Objektträger mit Deckglas fixiert und unter einem Stereomikroskop (OLYMPUS PROVIS SWH10x-H/26,5) fotografiert. Die restliche Lösung wurde aus der Petrischale in einem beschrifteten 50 ml Zentrifugenröhrchen bei 800 RCF 10 Minuten lang zentrifugiert. Der Überstand wurde mit einer Plastikpipette abgesaugt und das Pellet in einem gekennzeichneten 1,5 ml Eppendorf-Tube bis zur DNA Extraktion der Larven bei -20 °C in einer Sarstedt Kartonbox aufbewahrt. Die molekularbiologische Analyse fand nach Abschluss der praktischen Arbeit dieser Diplomarbeit von Herbst 2019 bis Frühjahr 2020 statt.

4. Ergebnisse

Die Ergebnisse dieser Arbeit werden in zwei Gruppen beschrieben, wobei sich die erste Gruppe die Ergebnisse der Etablierung selbst und die zweite Gruppe die Ergebnisse der Larvenanalyse im Allgemeinen aufzeigt.

4.1. Ergebnisse der Etablierung

In der ersten Gruppe wurden 57 Schnecken untersucht, wovon 44 Stück der Art *Arion vulgaris*, drei Stück der Art *Cornu aspersum*, acht Stück der Art *Helix pomatia* und je eine Schnecke der Art *Limax maximus* sowie der Art *Arion fasciatus* zuordnet wurde. Die Tagestemperaturen der Sammlungen lagen zwischen 10-15 °C. Die Schnecken wurden von 07.04.2019 bis 13.05.2019 gesammelt. Dabei war auffällig, dass an den späteren Sammelzeitpunkten eine größere Stückzahl an Schnecken zu finden war. An vier Sammeltagen im April wurden nur 22 Stück Schnecken (38,60%) erfasst, wohingegen an zwei Sammeltagen im Mai bereits 35 Stück Schnecken gesammelt werden konnten (61,40%). 31 Stück wurden in einem Garten in Gerasdorf bei Wien gefunden (54,39%), 4 Stück in einer Hundezone im 21. Bezirk Wiens (7,02%), 7 Stück in einer Hundezone im 22. Bezirk Wiens (12,28%) und 15 Stück in einem Familiengarten in Feistritz bei Knittelfeld in der Steiermark (26,32%) (Abb. 5, Supplementärtabelle 1).

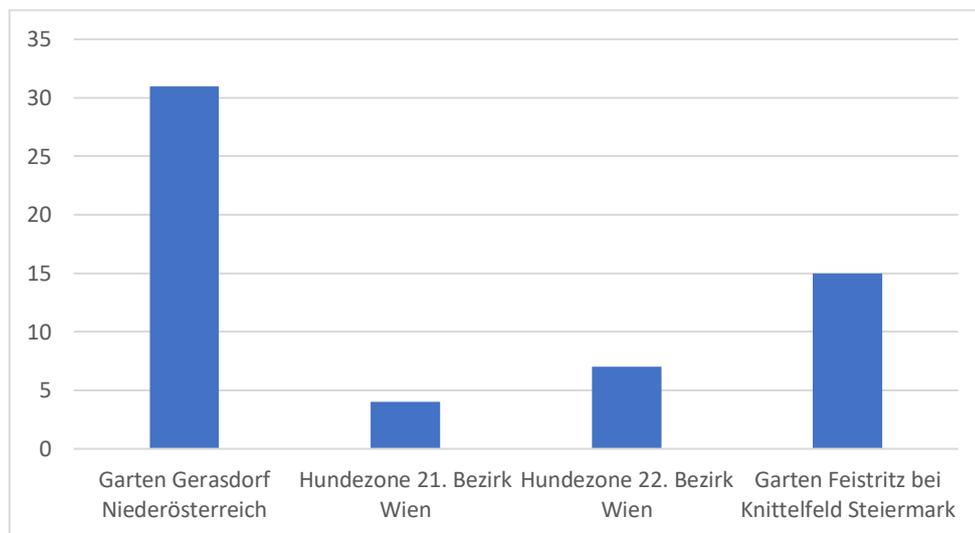


Abb. 5: Anzahl der gesammelten Schnecken aufgegliedert nach Fundort

Ein deutlicher Unterschied zwischen Gehäuse- und Nacktschnecken lag in ihrem Körpergewicht und der Art der Bearbeitung vor dem Verdauungsvorgang. Das Gewicht der Gehäuseschnecken betrug zwischen 0,5-22,1 g ($\bar{x}=8,05$ g), wobei sowohl die leichteste als auch die schwerste Schnecke der Art *H. pomatia* angehörte. Das Gewicht der Nacktschnecken lag zwischen <0,1 und 7,4 g ($\bar{x}=1,08$ g), beide Male waren die Schnecken der Art *A. vulgaris* zugehörig. Gehäuseschnecken wurden vor dem Verdauungsvorgang von ihrem Haus gelöst und anschließend, wie Nacktschnecken, nach Gewichtsgruppe mit unterschiedlich viel Millilitern an Pepsin/Salzsäurelösung behandelt.

Die Schwierigkeit der ersten Etablierungsdurchgänge lag vor allem in der Bearbeitung und Verdauung der Gehäuseschnecken. Durch deren Abtötung mit flüssigem Stickstoff waren sie klumpig zusammengezogen und bei zu kurzem Auftauen gestaltete es sich schwierig zu erkennen, welcher Anteil der Schnecke der Kopf und welcher das Hinterende war. Um die Freilegung der Gehäuseschnecke leichter möglich zu machen, wurden diese bei Raumtemperatur oder einem Wasserbad durchschnittlich 10 Minuten länger aufgetaut als Nacktschnecken. Anschließend wurde ihre Schale vorsichtig mit einem Holzhammer angebrochen und die Anteile der Schale mit einer anatomischen Pinzette von der Schnecke entfernt. Der Verdauungsvorgang von Gehäuseschnecken erwies sich als einfacher, wenn man diese bei > 5 g Körpergewicht nach ihrer Zerteilung in zwei Erlenmeyer-Kolben aufteilte und jeweils mit 30 ml Verdauungslösung behandelte. Bei großen Schnecken half es, den Verdauungsvorgang über Nacht (18:00 Vortag bis 08:00 am nächsten Tag) anzusetzen, um so eine vollständige Auflösung des Korpus zu erreichen.

Die Verbesserung einiger Arbeitsschritte fand im Laufe der Etablierungsdurchgänge statt. So wurden die übrigen Lösungen nach der morphologischen Analyse der Larven unterschiedlich lange bei unterschiedlicher RCF zentrifugiert. Das Ziel der Verfeinerung dieses Arbeitsschrittes war es sicherzustellen, dass sich übrige Larven im Pellet ansammeln und zur späteren DNA-Analyse verwendet werden können. Tabelle 6 zeigt die Anzahl der verwendeten Schnecken, die Temperaturverhältnisse in der Zentrifuge in °C, die verwendete RCF und die Dauer der Zentrifugation.

Tabelle 6: Verschiedene Möglichkeiten der Zentrifugation der Lösung nach morphologischer Analyse der Larven

Anzahl der Schnecken in Stück	Temperatur in der Zentrifuge in °C	RCF	Dauer der Zentrifugation in min
6	20	120	3
4	20	120	2
5	20	120	3
9	20	2000	3
4	20	120	2
3	20	500	2
4	20	800	2
22	20	800	10

Nach der Zentrifugation von kurzer Dauer und niedriger RCF, hatten die verwendeten Lösungen einen getrübbten Überstand, der sich kaum vom abgesetzten Pellet unterscheiden ließ. Lösungen die kurz aber mit hoher RCF zentrifugiert wurden, zeigten einen klaren Überstand, jedoch war die Extraktion des Pellets schwieriger, da dieses geballt am Gefäßboden oder in der Pipette festklebte. Lösungen nach Zentrifugationen bei 800 RCF für 10 Minuten zeigten einen klaren Überstand und das Pellet ließ sich leicht mit einer Plastikpipette aus dem Zentrifugenröhrchen absaugen. Deshalb wurden diese Einstellungen bei weiteren Zentrifugationen beibehalten.

Weitere Fehlerquellen konnten innerhalb der Etablierung aufgezeigt und dadurch bei weiteren Durchläufen ausgeschlossen werden:

- Kontamination der DNA verschiedener Schnecken durch Verwendung desselben Skalpells bei der Abtrennung der Köpfe
- Kontamination der larvenhaltigen Pellets durch Verwendung derselben Plastikpipette bei der Absaugung des Überschusses

- Unvollständige Loslösung der Larven aus dem 25 µm Sieb durch einfaches Umdrehen und Abwaschen mit Wasser aus dem Wasserhahn
- Fotografie der Larven mit Mobiltelefon durch Lupenmikroskop und durch mindere Fotoqualität Schwierigkeiten bei der morphologischen Analyse der Larven

In weiteren Arbeitsdurchläufen wurde somit für jede Schnecke ein eigenes Skalpell verwendet und jedes Pellet mit einer eigenen Plastikpipette abgesaugt. Zur vollständigen Loslösung der Larven aus dem Sieb wurde eine Plastikspritze, gefüllt mit 0,9% NaCl, verwendet mit der die Larven unter Druck aus dem Sieb gespült wurden. Zur genauen morphologischen Analyse der Larven wurden diese zuerst unter einem binokularen Lupenmikroskop (OLYMPUS SZH10) gesucht, extrahiert, auf einem Objektträger mit einem Deckglas fixiert und schlussendlich unter einem Stereomikroskop (OLYMPUS PROVIS SWH10x-H/26,5) fotografiert. Dazu wurde das Programm *cellSens* (OLYMPUS) verwendet.

Von den untersuchten 57 Schnecken waren 52 Stück negativ (91,23%) und fünf Stück fraglich positiv (8,77%). Bei den fraglich positiven Proben wurden Wurmfragmente gefunden, jedoch konnte keine vollständige Lungenwurmlarve extrahiert und auf einem Objektträger fotografiert werden. Die fraglich positiv infizierten Proben waren von Schnecken der Art *A. vulgaris* (8,77%) (Supplementärtabelle 2, Abb. 6). Außerdem wurden in den 57 untersuchten Proben zwei Bodenmilben gefunden. Es wird vermutet, dass sich diese am Fuß der Schnecke befanden und somit mitverdaut wurden.

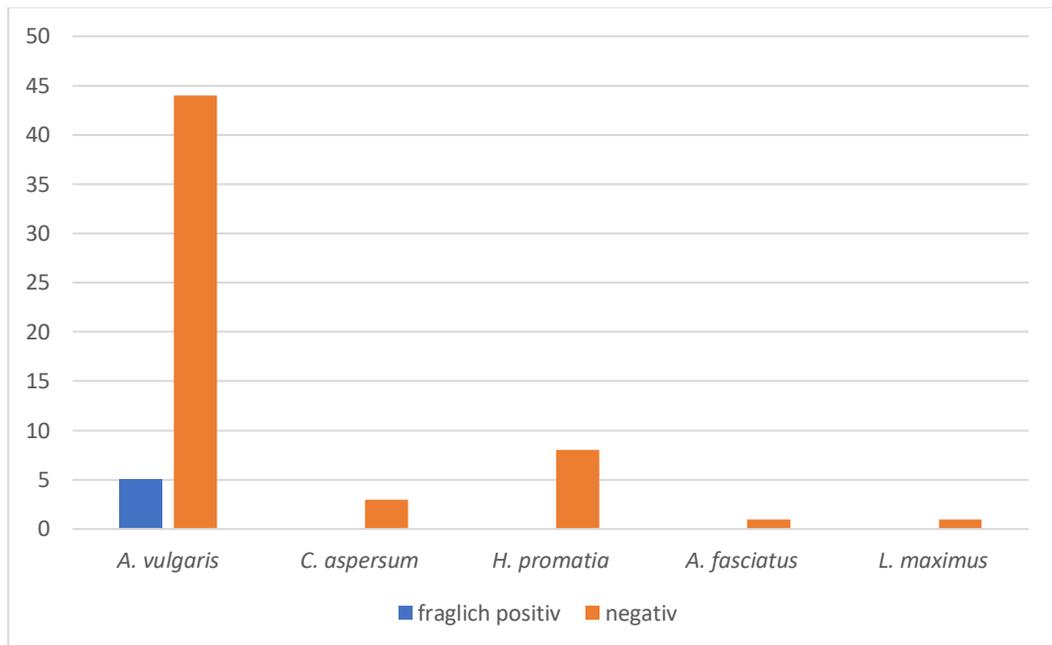


Abbildung 6: Gesamtanzahl der Schnecken nach Art und Ergebnis der Larvenanalyse

4.2. Ergebnisse der Larvenanalyse weiterer Nackt- und Gehäuseschnecken

Anschließend wurden weitere 88 Stück Nackt- und Gehäuseschnecken untersucht. Davon waren 76 Stück der Art *A. vulgaris* und 12 Stück der Art *C. aspersum* zugehörig, wobei *A. vulgaris* im Murtal, Bundesland Steiermark, und *C. aspersum* in Floridsdorf, Bundesland Wien, gesammelt wurde. Die Tagestemperaturen der Sammlungen lagen zwischen 10-20 °C, wobei die gesammelte Stückzahl der Schnecken mit warmen Temperaturen zunahm (Abbildung 7). Weitere Daten zum Fundort der Schnecken sind in Supplementärtabelle 1 angegeben.

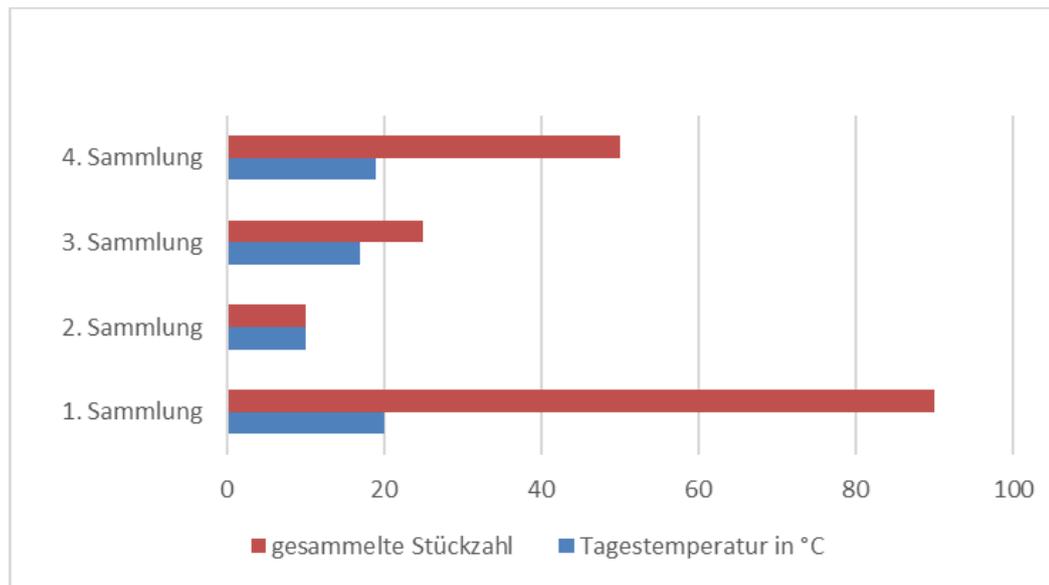


Abbildung 7: Verhältnis der Tagestemperatur zur Gesamtzahl der erfassten Schnecken pro Sammlung

Das Gewicht der Nacktschnecken lag zwischen 0,2-10,10 g ($x=2,07$ g). Das Gewicht der Gehäuseschnecken lag zwischen 2,43-12,11 g ($x=5,93$ g) (Supplementärtabelle 2).

Von den 88 untersuchten Schnecken wurden fünf Proben auf Grund von Schimmelbefall verworfen. Von den übrigen 83 Tieren konnten bei 24 Tieren (28,92%) Lungenwurmlarven unter dem Lupen- und Stereomikroskop nachgewiesen werden. 11 Proben (13,25%) waren fraglich positiv (etwaige Wurmfragmente vorhanden) und 48 Exemplare (57,83%) waren frei von Larven (Supplementärtabelle 2). Drei Exemplare von *C. aspersum* (3,61%) und 21 Exemplare von *A. vulgaris* (25,30%) wurden positiv auf Nematodenlarven ermittelt.

Die gefundenen Lungenwurmlarven wurden nach Möglichkeit morphologisch differenziert. Dazu wurden die gefundenen Larven fotografiert und mit Bildern von Studien und Übersichtsarbeiten von Traversa et al. (2010), Brianti et al. (2012), Giannelli et al. (2014), Brianti et al. (2014), Giannelli et al. (2015), Colella et al. (2016), Liatis et al. (2017), Lange et al. (2018) und Penagos- Tabares et al. (2019) verglichen. Metastrongyliden und Crenosomatiden können differenziert werden, die restlichen Lungenwurmlarven sind auf Grund ihrer morphologischen Ähnlichkeit erst mit Hilfe einer PCR bestimmbar. Die 24 positiven Proben ließen auf eine Infektion mit *C. vulpis* oder *C. striatum* rückschließen (Abb. 8-11). Neben den Lungenwurmlarven wurden in den 83 Proben auch drei Bodenmilben entdeckt.



Abb. 8: Aufnahme einer Lungenwurmlarve, vermutlich *Crenosoma* spp.



Abb. 9: Aufnahme einer Lungenwurmlarve, vermutlich *Crenosoma* spp.



Abb. 10: Aufnahme einer Lungenwurmlarve, vermutlich *Crenosoma* spp.



Abb. 11: Aufnahme einer Lungenwurmlarve, vermutlich *Crenosoma* spp.

5. Diskussion

Das Ziel dieser Diplomarbeit war es, eine Methode zur Analyse von Lungenwurmlarven in Nackt- und Gehäuseschnecken zu finden, um das dadurch vorhandene Risiko einer Lungenwurminfektion für Haustiere im östlichen Bereich Österreichs einschätzen zu können. Neben der Frage nach den richtigen Sammelplätzen und Sammelzeitpunkten der Schnecken, wurde im Zuge dieser Diplomarbeit die Verdauungsmethode der Schnecken evaluiert, etabliert, und die weitere mikroskopische Larvenanalyse verfeinert.

Wie hoch das Infektionsrisiko für Hunde und Katzen bei oraler Aufnahme von Nackt- und Gehäuseschnecken in Österreich ist, lässt sich anhand dieser Diplomarbeit nicht genau festlegen, da die Lungenwurmart morphologisch nicht eindeutig zu differenzieren sind. Es lässt sich jedoch durch positive, fraglich positive und negative Ergebnisse darauf rückschließen, wie oft Schnecken von Lungenwurmlarven befallen sind. Bei insgesamt 140 untersuchten Schnecken waren in 24 Stück (17,14%) Lungenwurmlarven mikroskopisch nachweisbar, 16 Proben (11,43%) waren durch vorhandene Wurmfragmente aber keine vollständig erkennbare Larve fraglich positiv, die restlichen 100 Proben (71,43%) negativ. Hier ist allerdings zu erwähnen, dass 57 der untersuchten Schnecken zu einem frühen Zeitpunkt im Jahr gesammelt wurden, die Tagestemperaturen zu den Sammelzeitpunkten niedrig waren und das Körpergewicht der Schnecken gering (Supplementärtabelle 1, Supplementärtabelle 2).

Die Biologie der Mollusken wird von Außentemperatur, Feuchtigkeit und Wasserverfügbarkeit beeinflusst (Di Cesare et al. 2015). Außerdem steigt die Infektionsrate der Schnecken mit ihrem Gewicht und Alter, da die älteren Schnecken eine höhere Umweltexposition zu ausgeschiedenen Larven im Kot haben und sich somit leichter infizieren können (Penagos-Tabares et al. 2019). Des Weiteren wurde aufgezeigt, dass sich der Prozentsatz der entwickelten Larven von *A. abstrusus* in *C. aspersum* mit der steigenden Durchschnittstemperatur erhöht (Di Cesare et al. 2013). Dies unterlegt eine weitere Studie aus 2010, in der Nacktschnecken (*A. vulgaris*) experimentell mit L1 von *A. vasorum* infiziert wurden und bei unterschiedlichen Temperaturverhältnissen (5, 10, 15 °C) für sechs Wochen inkubiert wurden. Schnecken, die bei 15 °C gehalten wurden, entwickelten alle infektiöse L3. Schnecken, die bei 10 °C gehalten wurden, entwickelten alle L2 und bei diesen, die bei 5 °C gehalten wurden, konnte keine Weiterentwicklung der L1 festgestellt werden (Ferdushy et al. 2010).

Außerdem scheint der Infektionsdruck der Schnecken mit dem Zeitpunkt der Sammlungen zu korrelieren. So zeigte sich die Prävalenz von *A. vasorum* in Nacktschnecken im Sommer höher als im Winter (Lange et al. 2018).

Die etablierte Verdauungsmethode dieses Projekts orientiert sich an mehreren bereits durchgeführten Studien zur Analyse von Lungenwurmlarven in Schnecken.

2016 wurden 609 Gehäuseschnecken (*Lissachatina fulica*) in verschiedenen kolumbischen Gemeinden (Anden, Ciudad Bolívar, Cañasgordas, Tuluá, Puerto Leguízamo) gesammelt, eingefroren, morphologisch bestimmt, abgewogen, zerschnitten und mit einer Verdauungslösung zersetzt. Dazu wurden 10 g Pepsin Pulver 2000 FIP-U/g, 8,5 g NaCl und 30 ml 37% HCl vermischt und mit Aqua dest. auf 1 l Lösung aufgefüllt. Die Schnecken wurden über Nacht bei 40 °C schüttelnd verdaut. Anschließend wurden sie durch einen 300 µm und einen 25 µm Metallsieb gesiebt und das aufgefangene Material in einem 15 ml Falcon Tube bei 400 g* für 10 Minuten zentrifugiert. Die Pellets wurden erneut suspendiert und unter einem Lichtmikroskop auf Lungenwurmlarven untersucht, welche mit Pipetten extrahiert wurden. Es konnten mikroskopisch *A. abstrusus*, *A. vasorum*, *C. vulpis* und *T. brevior* Larven differenziert werden, die später mit PCR und Sequenzierungen verifiziert wurden (Penagos-Tabares et al. 2019).

Im europäischen Raum wurden bereits mehrere Studien zu Lungenwurmlarven in Schnecken erhoben.

2009 wurden 298 Nacktschnecken (*A. vulgaris*, *A. rufus*, *A. alter*, *Limax maximus*) in sechs verschiedenen Lokalisationen um Kopenhagen gesammelt und auf das Vorhandensein von *A. vasorum* analysiert. Die Art der Schnecken wurde lebend bestimmt. Anschließend wurden sie gewogen und bis zur parasitologischen Untersuchungen bei 15 °C in Plastikboxen mit Gartensalat und Gurken als Futterquelle gehalten. Die Verdauung fand nach der Zerteilung in 1-2 mm große Stücke bei 37 °C schüttelnd mit 300 rpm für 35 Minuten statt. Dabei wurde eine Lösung bestehend aus 12 ml 30% HCl, 30 ml flüssigem Pepsin (30.000 IU) und 1 l Wasser mit 42 °C verwendet. Danach wurde die Lösung durch einen 180 µm Sieb gesiebt und 75 Minuten zur Sedimentation stehen gelassen. Die Suspension wurde zwei Mal mit Wasser gewaschen, Larven unter dem Stereomikroskop gezählt, auf einem Objektträger mit einer Lugolschen Lösung fixiert und bei 20x und 40x Vergrößerung unter dem Mikroskop untersucht. Von 298 untersuchten Schnecken konnten in 28 Stück *A. vasorum* nachgewiesen werden (9,40%) (Ferdushy et al. 2009).

Auch wurden 2009 381 Nacktschnecken im Südosten Englands gesammelt und bis zur Larvenanalyse bei 18-20 °C in ventilierten Plastikbechern mit Gurken und Gartensalat gehalten. Zur Tötung wurden die Schnecken enthauptet und anschließend in zwei Hälften geteilt, wobei eine Hälfte bis zur DNA-Analyse bei -20 °C tiefgefroren wurde und die andere zur morphologischen Analyse verdaut wurde. Dazu wurde eine 0,7% Pepsin/0,5% HCl Lösung hergestellt und die Schnecken 75 Minuten lang verdaut. Anschließend wurden die Proben bei 200 g* für zwei Minuten zentrifugiert, mit einer phosphatgepufferten Salzlösung (PBS) resuspendiert, durch einen 300 µm Sieb gesiebt und das übrig gebliebene Material unter einem Stereomikroskop auf Lungenwurmlarven untersucht und diese fotografiert. Von 381 Proben wurden in insgesamt neun Proben Nematodenlarven gefunden, wovon sechs als *A. vasorum* Larven identifiziert werden konnten. Die infizierten Schnecken zählten zur Familie der Arionidae (*A. distinctus*, *A. ater*), Milacidae (*Tandonia sowerbyi*) und Limacidae (Patel et al. 2014).

2018 wurden 2701 Nacktschnecken in zwei Regionen in Deutschland (Hessen und Rheinland-Pfalz) gesammelt, morphologisch bestimmt, abgewogen, durch Kälte getötet und bis zur weiteren Analyse bei -20 °C gelagert. Anschließend wurden die Schnecken in ca. 0,5 cm große Stücke zerschnitten, mit einer HCl/Pepsin Lösung verdaut und die Proben mit einem Mikroskop auf Lungenwurmlarven untersucht. Von 2701 Schnecken waren in 173 Proben mikroskopisch Lungenwurmlarven zu detektieren. Die Larven wurden extrahiert und in Tubes bis zur exakten Bestimmung durch eine Duplex-Real-Time PCR bei 4 °C gelagert. Für die genetische Analyse der Schnecken wurde ein 2 mm³ großes Stück ihres Kopfes verwendet (Lange et al. 2018).

2020 wurden in Griechenland in fünf verschiedenen Gebieten (Kozani, Vyroneia, Kerkini-See, Koronia-See, Volvi-See) insgesamt 50 Schnecken gesammelt, wovon 25 Stück Gehäuse- und 25 Stück Nacktschnecken waren. Sie wurden mit Kälte getötet und bei -20 °C bis zur Analyse gelagert. Die Schnecken wurden morphologisch bestimmt und dabei ein 2 mm³ großes Stück ihres Fußes zur DNA-Bestimmung entnommen. Nach dem Abwiegen und Zerkleinern der Schnecken wurden diese mit einer Verdauungslösung bestehend aus 0,05 g Pepsin 2000 FIP, 0,04 g NaCl, 0,13 ml HCL und 5,5 ml Wasser pro Gramm Schneckenmaterial zersetzt. Die Proben wurden bei 34-37 °C schüttelnd mit 1000 rpm für 75 Minuten verdaut. Anschließend wurden die Proben durch einen 180 µm Sieb in ein Glas mit 1 l Wasser gesiebt und drei Stunden oder über Nacht im Kühlschrank zur Sedimentation stehen gelassen. Der Überstand wurde verworfen und der Bodensatz unter einem Stereomikroskop bei 40x, 100x und 400x

Vergrößerung auf Lungenwurmlarven untersucht. Bis zur späteren DNA-Spezifisierung wurden die Larven in Ethanol in Eppendorf Tubes gehalten. Metastrongyliden konnten in sieben von 50 Schnecken gefunden werden. In zwei Proben konnten *A. abstrusus* Larven gefunden werden, in vier Proben *A. chabaudi* und in einer Probe *T. brevior* (Dimzas et al. 2020).

Im Zuge dieses Projekts und den aufgezählten Studien wurden alle Schnecken mit Pepsin/Salzsäure Lösungen zersetzt. Geringe Abweichungen in der Abfolge der Arbeitsschritte oder Veränderungen bezüglich der Tötungsart, Dauer des Verdauungsvorganges, Größe des Siebgitters oder dem Vorgang der Zentrifugation scheinen keinen negativen Einfluss auf die Sensitivität der Verdauungsmethode zu haben. Wohingegen die Zeitdauer der Lagerung auf -20 °C der Larven, bis zur molekularen Analyse, einen Einfluss zu nehmen scheint.

Die Etablierung des Verdauungsvorgangs der Schnecken und der Methodik zur Larvenanalyse stellt einen wichtigen Teil des Gesamtprojekts dar, da die evaluierten Techniken anschließend bei der gesamten Studie angewandt wurden.

6. Zusammenfassung

Verschiedene Lungenwurmartarten der Gattung *Crenosoma*, *Aelurostrongylus*, *Angiostrongylus* und *Troglostrongylus* sind wichtige Parasiten im veterinärmedizinischen Bereich. Diese können in Katzen, Hunden und anderen Säugetieren respiratorische/pulmonale Erkrankungen auslösen.

Lungenwürmer haben einen indirekten Lebenszyklus, der durch zwei verschiedene Wirtsphasen charakterisiert ist. Diese benötigen einen End- und einen Zwischenwirt. Adulte weibliche Lungenwürmer legen ihre Eier (abhängig von ihrer Spezies) in die Alveolen oder pulmonalen Gefäße des Endwirtes, wo sich aus deren Eiern Larven im ersten Entwicklungsstadium ausbilden (L1). L1 werden hochgehustet, geschluckt und ausgeschieden. In der Umwelt nehmen anschließend ihre Zwischenwirte (Nackt- und Gehäuseschnecken) beim Verzehr des Kots des Endwirtes die Lungenwurmlarven auf. Während der Passage durch den Verdauungstrakt der Schnecken entwickeln sich L1 zum infektiösen Drittlarvenstadium (L3). Der Lebenszyklus schließt sich bei der oralen Aufnahme der L3 durch den Endwirt und der anschließenden Entwicklung der geschlechtsreifen, weiblichen, adulten Würmer.

Das Vorkommen von Lungenwürmern ist assoziiert zu der ihrer Zwischenwirte – Nackt- und Gehäuseschnecken. Um einen Überblick über das Auftreten von Lungenwürmern in Österreich und das dadurch vorhandene Infektionsrisiko für unsere Haustiere zu gewinnen, wurden Nackt- und Gehäuseschnecken in mehreren Gebieten im östlichen Bereich Österreichs gesammelt (Wien, Niederösterreich, Burgenland, Steiermark) und deren Gattung und Art bestimmt. Die Schnecken wurden danach mittels einer Verdauungsmethode, auf das Vorhandensein von Lungenwurmlarven untersucht. Die Lungenwurmlarven selbst wurden durch ein binokulares Lupenmikroskop detektiert, extrahiert, auf einem Objektträger fixiert und unter einem Stereomikroskop fotografiert. Die Methodik zur Verdauung und Analyse der Lungenwurmlarven in Schnecken wurde in dieser Arbeit etabliert und anschließend in der gesamten Studie angewandt. Später wurden die gefundenen Larven durch eine PCR ihrer Spezies zugeordnet. Dies erfolgte im Zuge weiterer Arbeiten am Institut der Parasitologie der Veterinärmedizinischen Universität Wien

In dieser Studie wurden 145 Nackt- und Gehäuseschnecken an regnerischen Tagen bei einer Tagestemperatur zwischen 10-20 °C gesammelt. Die Höhe der Tagestemperatur korrelierte meistens mit der gefundenen Stückzahl an Mollusken. Nematoden wurden in 24 Proben

(17,14%) gefunden. Abschließend lässt sich sagen, dass Lungenwurminfektionen eine bedeutende Differentialdiagnose bei respiratorischer und pulmonaler Symptomatik bei Katzen und Hunden darstellen.

7. Summary

Several lungworm species of the genera *Crenosoma*, *Aelurostrongylus*, *Angiostrongylus* and *Troglostrongylus* are important parasites in the veterinary field. They can induce respiratory/pulmonary diseases in cats, dogs and other mammals.

Lungworms have an indirect life cycle, which is characterized by two host stages, which require a definitive host and an intermediate host. Adult female lungworms deposit their eggs into the definitive host's alveoli or pulmonary blood vessels (depending on the species), where eggs develop into first-stage larvae (L1). L1 are coughed up, swallowed and excreted. In the environment their intermediate hosts (slugs and snails) ingest the larvae while feeding on faecal matter. During the passage through the slug's digestive tract, L1 develop to infective third-stage larvae (L3). The life cycle is completed with the ingestion of L3 by the definitive host and following development to fertile, female, adult worms.

The occurrence of lungworms is associated to those of their intermediate hosts – slugs and snails. To get an overview about the occurrence of lungworms in Austria and the following infection risk for our pets, slugs and snails were collected at various locations in Eastern Austria (Vienna, Lower Austria, Burgenland, and Styria), determined to genus and species, and analysed with a digestive method for the presence of lungworm larvae. Lungworms itself were detected by a binocular magnifying microscope, extracted, fixed on a slide and photographed under a stereomicroscope. Techniques for digestion and analysis of larvae in slugs and snails were established with this work and subsequently used during the whole study. Larvae were identified to species level by PCR.

Within this study 145 slugs and snails were collected on rainy days with a daytime temperature between 10-20 °C. The quantity of found molluscs correlated mostly with ambient temperature. Nematodes were found in 24 samples (17,14%).

It can be concluded that lungworm infections represent an important differential diagnosis by respiratory and pulmonary symptoms in cats and dogs.

8. Referenzen

- Barçante J. M. P., Barçante T. A., Dias S. R. C., Vieira L. Q., Lima W. S., Negrão-Corrêa D. 2003. A method to obtain axenic *Angiostrongylus vasorum* first-stage larvae from dog feces. *Parasitology Research*, 89(2): 89-93.
- Bihl T., Conboy G. A. 1999. Lunworm (*Crenosoma vulpis*) infection in dogs on Prince Edward Island. *Can Vet J*, (40): 555-559
- Brianti E., Gaglio G., Giannetto S., Annoscia G., Latrofa M. S., Dantas-Torres F., Traversa D., Otranto D. 2012. *Troglostrongylus brevior* and *Troglostrongylus subcrenatus* (Strongylida: Crenosomatidae) as agents of broncho-pulmonary infestation in domestic cats. *Parasites & Vectors*, (5): 178.
- Brianti E., Giannetto S., Dantas-Torres F., Otranto D. 2014. Lungworms of the genus *Troglostrongylus* (Strongylida: Crenosomatidae): Neglected parasites for domestic cats. *Veterinary Parasitology*, (202): 104-112.
- Bulat T., Smidak R., Sialana F. J., Jung G., Rattei T., Bilban M., Aradska J. 2016. Transcriptomic and Proteomic Analysis of *Arion vulgaris* - Proteins for Probably Successful Survival Strategies? *PloS One*, 11(3): e0150614.
- Di Cesare A., Veronesi F., Traversa D. 2015. Felid Lungworms and Heartworms in Italy: More Questions than Answers? *Trends in Parasitology*, 31(12): 665-675.
- Di Cesare A., Crisi P. E., Di Giulio E., Veronesi F., Di Frangipane Regalbono A., Talone T., Traversa D. 2013. Larval development of the feline lungworm *Aelurostrongylus abstrusus* in *Helix aspersa*. *Parasitology Research*, 112(9): 3101-3108.
- Colella V., Mutafchiev Y., Cavalera M. A., Giannelli A., Lia R. P., Dantas-Torres F., Otranto D. 2016. Development of *Crenosoma vulpis* in the common garden snail *Cornu aspersum*: Implications for epidemiological studies. *Parasites & Vectors*, (9): 208.
- Conboy G. 2004. Natural infections of *Crenosoma vulpis* and *Angiostrongylus vasorum* in dogs in Atlantic Canada and their treatment with milbemycin oxime. *The Veterinary Record*, 155(1): 16-18.
- Deak G., Ionică A. M., Mihalca A. D., Gherman C. M. 2017. *Troglostrongylus brevior*: a new parasite for Romania. *Parasites & Vectors*, (10): 599.

- Diakou A., Di Cesare A., Barros L. A., Morelli S., Halos L., Beugnet F., Traversa D. 2015. Occurrence of *Aelurostrongylus abstrusus* and *Troglostrongylus brevior* in domestic cats in Greece. *Parasites & Vectors*, (8): 590.
- Dimzas D., Morelli S., Traversa D., Di Cesare A., van Bourgonie Y. R., Breugelmans K., Diakou A. 2020. Intermediate gastropod hosts of major feline cardiopulmonary nematodes in an area of wildcat and domestic cat sympatry in Greece. *Parasites & Vectors*, 13(1): 345.
- Dörler D., Kropf M., Laaha G., Zaller, J. G. 2018. Occurrence of the invasive Spanish slug in gardens: Can a citizen science approach help deciphering underlying factors? *BMC Ecology*, 18(1): 23.
- Ferdushy T., Kapel C. M. O., Webster P., Al-Sabi M. N. S., Grønvold J. 2009. The occurrence of *Angiostrongylus vasorum* in terrestrial slugs from forests and parks in the Copenhagen area, Denmark. *Journal of Helminthology*, 83(4): 379-383.
- Ferdushy T., Kapel C. M. O., Webster P., Al-Sabi M. N. S., Grønvold J. R. 2010. The effect of temperature and host age on the infectivity and development of *Angiostrongylus vasorum* in the slug *Arion lusitanicus*. *Parasitology Research*, 107(1): 147-151.
- Giannelli A., Ramos R. A. N., Annoscia G., Di Cesare A., Colella V., Brianti E., Dantas-Torres F., Mutafchiev Y., Otranto D. 2014. Development of the feline lungworms *Aelurostrongylus abstrusus* and *Troglostrongylus brevior* in *Helix aspersa* snails. *Parasitology*, (141): 563-569.
- Giannelli A., Colella V., Abramo F., do Nascimento Ramos R. A., Falsone L., Brianti E., Otranto D. 2015. Release of lungworm larvae from snails in the environment: Potential for alternative transmission pathways. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 9(4): e0003722.
- Gillis-Germitsch N., Manser M. B., Hilbe M., Schnyder M. 2017. Meerkats (*Suricata suricatta*), a new definitive host of the canid nematode *Angiostrongylus vasorum*. *International Journal for Parasitology. Parasites and Wildlife*, 6(3): 349–353.
- Lange M.K., Penagos-Tabares F., Hirzmann J., Failing K., Schaper R., Van Bourgonie Y. R., Thierry Backeljau T., Hermosilla C., Taubert A. 2018. Prevalence of *Angiostrongylus vasorum*, *Aelurostrongylus abstrusus* and *C. vulpis* larvae in native slug populations in Germany. *Veterinary Parasitology*, (254): 120-130.

- Liatis T.K., Monastiridis A. A., Birlis P., Prousalis S., Diakou A. 2017. Endoparasites of Wild Mammals Sheltered in Wildlife Hospitals and Rehabilitation Centres in Greece. *Frontiers in Veterinary Science*, (4): 220.
- Maier K., Löwenstein M., Duscher G., Leschnik M., Joachim A. 2010. *Angiostrongylus vasorum*, der „Französische Herzwurm“: auch ein Problem in Österreich? *Wien. Tierärztl. Mschr. - Vet. Med. Austria*, (97): 171-180.
- Maksimov P., Hermosilla C., Taubert A., Staubach C., Sauter-Louis C., Conraths F. J., Pantchev N. 2017. Gis-supported epidemiological analysis on canine *Angiostrongylus vasorum* and *Crenosoma vulpis* infections in Germany. *Parasites & Vectors*, 10(1): 108.
- Matos B., Colella V., Alho A. M., Otranto D., Doyle R., Madeira de Carvalho L. 2016. *Crenosoma vulpis* infection in a four-month old puppy. *Helminthologia*, 53(3): 276–280.
- Morgan E. R., Shaw S. E., Brennan S. F., Waal T. D. de, Jones B. R., Mulcahy G. 2005. *Angiostrongylus vasorum*: A real heartbreaker. *Trends in Parasitology*, 21(2): 49–51.
- Olivieri E., Zanzani S. A., Gazzonis A. L., Giudice C., Brambilla P., Alberti I., Manfredi M. T. 2017. *Angiostrongylus vasorum* infection in dogs from a cardiopulmonary dirofilariosis endemic area of Northwestern Italy: A case study and a retrospective data analysis. *BMC Veterinary Research*, 13(1): 165.
- Penagos-Tabares F., Lange M.K., Vélez J., Hirzmann J., Gutiérrez-Arboleda J., Taubert A., Hermosilla C., Gutiérrez J.J.C. 2019. The invasive giant African snail *Lissachatina fulica* as natural intermediate host of *Aelurostrongylus abstrusus*, *Angiostrongylus vasorum*, *Troglostrongylus brevior*, and *C. vulpis* in Colombia. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, (13): 4.
- Patel Z., Gill A. C., Fox M. T., Hermosilla C., Backeljau T., Breugelmans K., Elson-Riggins J. G. 2014. Molecular identification of novel intermediate host species of *Angiostrongylus vasorum* in Greater London. *Parasitology Research*, 113(12): 4363–4369.
- Penagos-Tabares F., Lange M. K., Vélez J., Hirzmann J., Gutiérrez-Arboleda J., Taubert A., Chaparro Gutiérrez J. J. 2019. The invasive giant African snail *Lissachatina fulica* as natural intermediate host of *Aelurostrongylus abstrusus*, *Angiostrongylus vasorum*, *Troglostrongylus brevior*, and *Crenosoma vulpis* in Colombia. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 13(4): e0007277.

Pennisi M.G., Hartmann K., Addie D.D., Boucraut-Baralon C., Egberink H., Frymus T., Gruffydd-Jones T., Horzinek M.C., Hosie M.J., Lloret A., Lutz H., Marsilio F., Radford A. D., Thiry E., Truyen U., Möstl K. 2015. LUNGWORM DISEASE IN CATS ABCD guidelines on prevention and management. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, (17): 626–636.

Schnyder M. 2010. Lungenwürmer – Relevanz und Maßnahmen in der Kleintierpraxis. *Kleintier Konkret*, 13(04): 8–12.

Shaw D. H., Conboy G. A., Hogan P. M., Horney B. S. 1996. Eosinophile bronchitis caused by *Crenosoma vulpis* infection in dogs. *Can Vet J*, (37): 361-363.

Taubert A., Pantchev N., Vrhovec M. G., Bauer C., Hermosilla C. 2009. Lungworm infections (*Angiostrongylus vasorum*, *Crenosoma vulpis*, *Aelurostrongylus abstrusus*) in dogs and cats in Germany and Denmark in 2003-2007. *Veterinary Parasitology*, 159(2): 175-180.

Traversa D., Di Cesare A. 2013. Feline lungworms: what a dilemma. *Trends in Parasitology*, (29): 423-430.

Traversa D., Di Cesare A., Conboy G. 2010. Canine and feline cardiopulmonary parasitic nematodes in Europe: emerging and underestimated. *Parasites & Vectors*, (3): 62.

Traversa D., Lepri E., Veronesi F., Paoletti B., Simonato G., Diaferia M., Di Cesare A. 2015. Metastrongyloid infection by *Aelurostrongylus abstrusus*, *Troglostrongylus brevior* and *Angiostrongylus chabaudi* in a domestic cat. *International Journal for Parasitology*, 45(11): 685–690.

Unterer S., Deplazes P., Arnold P., Flückiger M., Reusch C. E., Glaus, T. M. 2002. Spontaneous *Crenosoma vulpis* infection in 10 dogs: Laboratory, radiographic and endoscopic findings. *Schweizer Archiv Für Tierheilkunde*, 144(4): 174–179.

Wetzel Z., Mueller R. 1935. The life cycle of *Crenosoma vulpis*, the lung worm of foxes, and ways and means of combat. *Fur Trade J. Can.*, (13): 16–17.

9. Literaturverzeichnis Bücher

Deplazes P., Eckert J., von Samson-Himmelstjerna G., Zahner H. 2013. Lehrbuch der Parasitologie für die Tiermedizin. 3. Auflage. Stuttgart: Enke Verlag, 154, 300-306.

Döderlein L. 1931. Bestimmungsbuch für deutsche Land- und Süßwassertiere. Erstauflage. München und Berlin: Verlag von R. Oldenbourg, 5-7, 22, 19.

Köhler G., Hrsg. 2015. Bestimmung wirbelloser Tiere. 7. Auflage. Berlin Heidelberg: Springer Spektrum, 8-11, 16, 17.

Lytle C. F. und Meyer J. R. 2010. Praktikum Allgemeine Zoologie. 15. Auflage. München: Pearson Studium, 192-195, 203-204, 210-211.

Mehlhorn H. 2012. Die Parasiten der Tiere. 7. Auflage. Berlin Heidelberg: Springer Spektrum, 338-339.

10. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Die Spanische Wegschnecke - *Arion vulgaris*

Abbildung 2: Die gefleckte Weinbergschnecke - *Cornu aspersum*

Abbildung 3: schematische Darstellung des Lebenszyklus von *C. vulpis* (modifiziert nach Deplazes und Ehrat 2013)

Abbildung 4: Fundortbeispiele der Schneckensammlungen in Wien Floridsdorf und in der Steiermark Feistritz bei Knittelfeld

Abbildung 5: Anzahl der gesammelten Schnecken aufgegliedert nach Fundort

Abbildung 6: Gesamtanzahl der Schnecken nach Art und Ergebnis der Larvenanalyse

Abbildung 7: Verhältnis der Tagestemperatur zur Gesamtzahl der erfassten Schnecken pro Sammlung

Abbildung 8: Aufnahme einer Lungenwurmlarve, vermutlich *Crenosoma* spp.

Abbildung 9: Aufnahme einer Lungenwurmlarve, vermutlich *Crenosoma* spp.

Abbildung 10: Aufnahme einer Lungenwurmlarve, vermutlich *Crenosoma* spp.

Abbildung 11: Aufnahme einer Lungenwurmlarve, vermutlich *Crenosoma* spp.

11. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Unterscheidungsmerkmale der untersuchten Lungenwurmartens *A. abstrusus*, *A. vasorum*, *C. vulpis* und *T. brevior*

Tabelle 2: Unterscheidungsmerkmale der untersuchten Lungenwurmlarven von *A. abstrusus*, *A. vasorum*, *C. vulpis* und *T. brevior*

Tabelle 3: Herstellung einer Verdauungslösung

Tabelle 4: Einteilung der Gewichtsgruppen zur Anpassung des Volumens der Verdauungslösung

Tabelle 5: Herstellung einer 0,9% NaCl Lösung nach Gefäßgröße

Tabelle 6: Verschiedene Möglichkeiten der Zentrifugation der Lösung nach morphologischer Analyse der Larven

Supplementärtabelle 1: Datenaufzeichnung der Fundorte

Supplementärtabelle 2: Datenaufzeichnung der einzelnen Schnecken

Supplementärtabelle 1: Datenaufzeichnung der Fundorte

Kennzeichnung Schnecke	Breitengrad	Längengrad	Funddatum	Fundortbeschreibung	Grad in Celsius	Finder	Stückzahl ¹
S 1-6	48.294942	16.466349	07.04.2019	Garten Gerasdorf bei Wien	12	Wenzl Gertrude	6
S 7-10	48.247832	16.421901	30.04.2019	Spaziergehweg Wien Floridsdorf	15	Edler Mirjam	4
S 11-15	48.294942	16.466349	30.04.2019	Garten Gerasdorf bei Wien	12	Wenzl Gertrude	5
S 16-35	48.294942	16.466349	06.05.2019	Garten Gerasdorf bei Wien	10	Wenzl Gertrude	20

¹ Im Zuge dieser Arbeit wurden mehr Schnecken gesammelt als anschließend zur Etablierung der Verdauungsmethode benötigt wurden. Deshalb korreliert die gefundene Stückzahl nicht mit der Anzahl der gekennzeichneten, verdauten und analysierten Schnecken.

S 36-50	47.257934	14.889683	13.05.2019	Garten Feistritz bei Knittelfeld Obersteiermark	10	Edler Mirjam	15
S 51-57	48.249456	16.437108	26.04. 2019	Hundezone	12	Edler Mirjam	7
A 58-90	47.257934	14.889683	02.06.2019	Garten Feistritz bei Knittelfeld Obersteiermark	20	Edler Mirjam	90
A 91-100	47.257934	14.889683	13.05.2019	Garten Feistritz bei Knittelfeld Obersteiermark	10	Edler Mirjam	10
A 101-110	47.257934	14.889683	02.06.2019	Garten Feistritz bei Knittelfeld Obersteiermark	20	Edler Mirjam	90

A 111-122	48.257901	16.433100	29.06.2010	Universitätsgelände Wien Floridsdorf	17	Hering Tatjana	25
A 123-145	47.257934	14.889683	04.08.2019 und 05.08.2019	Garten Feistritz bei Knittelfeld Obersteiermark	19	Edler Mirjam	50

Supplementärtabelle 2: Datenaufzeichnung der einzelnen Schnecken

Kennzeichnung Schnecke ²	Art	Gewicht in g	Bearbeitungsdatum	Bearbeiterin	eingefroren gelagert	Verdauungslösung in ml	Positiv/Negativ nach Morphologie
ME S 1	<i>Arion vulgaris</i>	2,9	25.04.2019	Edler Mirjam	Ja	30 ml	neg.

² Die Röhrchen mit dem vorhandenen Schneckenmaterial wurden mit dem Kürzel der Bearbeiterin (ME) und einer fortlaufenden Nummerierung gekennzeichnet. Dabei wurde für die Etablierung der Verdauungsmethode der Buchstabe S gewählt (S 1-57) und für die weitere Untersuchung der Schnecken auf Lungenwurmlarven der Buchstabe A (A 58-145).

ME S 2	<i>Arion vulgaris</i>	2,9	25.04.2019	Edler Mirjam	Ja	30 ml	neg.
ME S 3	<i>Arion vulgaris</i>	0,7	25.04.2019	Edler Mirjam	Ja	30 ml	neg.
ME S 4	<i>Arion vulgaris</i>	0,5	25.04.2019	Edler Mirjam	Ja	30 ml	neg.
ME S 5	<i>Arion vulgaris</i>	<0,1	25.04.2019	Edler Mirjam	Ja	30 ml	neg.
ME S 6	<i>Arion vulgaris</i>	7,4	25.04.2019	Edler Mirjam	Ja	30 ml	neg.
ME S 7	<i>Cornu aspersum</i>	14,6	30.04.2019	Edler Mirjam	nein	20 ml	neg.
ME S 8	<i>Cornu aspersum</i>	13,8	30.04.2019	Edler Mirjam	nein	20 ml	neg.

ME S 9	<i>Cornu aspersum</i>	6,7	30.04.2019	Edler Mirjam	nein	20 ml	neg.
ME S 10	<i>Helix pomatia</i>	22,1	30.04.2019	Edler Mirjam	nein	20 ml	neg.
ME S 11	<i>Limax maximus</i>	4,6	03.05./06.05.2019	Edler Mirjam	nein	25 ml	neg.
ME S 12	<i>Arion fasciatus</i>	0,1	03.05./06.05.2019	Edler Mirjam	nein	25 ml	neg.
ME S 13	<i>Arion vulgaris</i>	0,2	03.05./06.05.2019	Edler Mirjam	nein	25 ml	neg.
ME S 14	<i>Arion vulgaris</i>	0,3	03.05./06.05.2019	Edler Mirjam	nein	25 ml	neg.
ME S 15	<i>Arion vulgaris</i>	0,1	03.05./06.05.2019	Edler Mirjam	nein	25 ml	neg.

ME S 16	<i>Arion vulgaris</i>	1	07.05.2019	Edler Mirjam	nein	25 ml	neg.
ME S 17	<i>Arion vulgaris</i>	1,1	07.05.2019	Edler Mirjam	nein	25 ml	fraglich pos.
ME S 18	<i>Arion vulgaris</i>	2,5	07.05.2019	Edler Mirjam	nein	25 ml	fraglich pos.
ME S 19	<i>Arion vulgaris</i>	0,7	07.05.2019	Edler Mirjam	nein	25 ml	neg.
ME S 20	<i>Arion vulgaris</i>	0,7	07.05.2019	Edler Mirjam	nein	25 ml	fraglich pos.
ME S 21	<i>Arion vulgaris</i>	1,3	07.05.2019	Edler Mirjam	nein	25 ml	neg.
ME S 22	<i>Arion vulgaris</i>	0,7	07.05.2019	Edler Mirjam	nein	25 ml	fraglich pos.

ME S 23	<i>Arion vulgaris</i>	0,7	07.05.2019	Edler Mirjam	nein	25 ml	neg.
ME S 24	<i>Arion vulgaris</i>	0,6	07.05.2019	Edler Mirjam	nein	25 ml	neg.
ME S 25	<i>Arion vulgaris</i>	1,2	08.05/19.05.2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	fraglich pos.
ME S 26	<i>Arion vulgaris</i>	0,5	08.05/19.05.2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	neg.
ME S 27	<i>Arion vulgaris</i>	1,6	08.05/19.05.2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	neg.
ME S 28	<i>Arion vulgaris</i>	0,7	08.05/19.05.2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	neg.
ME S 29	<i>Arion vulgaris</i>	0,9	08.05/19.05.2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	neg.

ME S 30	<i>Arion vulgaris</i>	0,5	08.05/19.05.2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	neg.
ME S 31	<i>Arion vulgaris</i>	0,7	08.05/19.05.2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	neg.
ME S 32	<i>Arion vulgaris</i>	0,6	08.05/19.05.2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	neg.
ME S 33	<i>Arion vulgaris</i>	0,6	08.05/19.05.2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	neg.
ME S 34	<i>Arion vulgaris</i>	0,4	08.05/19.05.2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	neg.
ME S 35	<i>Arion vulgaris</i>	0,2	08.05/19.05.2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	neg.
ME S 36	<i>Arion vulgaris</i>	0,7	20.05.2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	neg.

ME S 37	<i>Arion vulgaris</i>	0,5	20.05.2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	neg.
ME S 38	<i>Arion vulgaris</i>	0,6	20.05.2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	neg.
ME S 39	<i>Arion vulgaris</i>	0,8	20.05.2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	neg.
ME S 40	<i>Arion vulgaris</i>	0,2	20.05.2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	neg.
ME S 41	<i>Arion vulgaris</i>	0,3	20.05.2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	neg.
ME S 42	<i>Arion vulgaris</i>	0,4	20.05.2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	neg.
ME S 43	<i>Arion vulgaris</i>	0,9	20.05.2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	neg.

ME S 44	<i>Arion vulgaris</i>	0,6	20.05.2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	neg.
ME S 45	<i>Arion vulgaris</i>	0,2	20.05.2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	neg.
ME S 46	<i>Arion vulgaris</i>	2,7	24.05./03.06.2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	neg.
ME S 47	<i>Arion vulgaris</i>	1,2	24.05./03.06.2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	neg.
ME S 48	<i>Arion vulgaris</i>	0,1	24.05./03.06.2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	neg.
ME S 49	<i>Arion vulgaris</i>	3,1	24.05./03.06.2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	neg.
ME S 50	<i>Arion vulgaris</i>	0,5	24.05./03.06.2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	neg.

ME S 51	<i>Helix pomatia</i>	7,2	28.05./03.06.2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	neg.
ME S 52	<i>Helix pomatia</i>	7,5	28.05./03.06.2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	neg.
ME S 53	<i>Helix pomatia</i>	6,7	28.05./03.06.2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	neg.
ME S 54	<i>Helix pomatia</i>	5,9	28.05./03.06.2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	neg.
ME S 55	<i>Helix pomatia</i>	2,2	28.05./03.06.2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	neg.
ME S 56	<i>Helix pomatia</i>	1,4	28.05./03.06.2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	neg.
ME S 57	<i>Helix pomatia</i>	0,5	28.05./03.06.2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	neg.

ME A 58	<i>Arion vulgaris</i>	1,9	05.06./08.06.2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	neg.
ME A 59	<i>Arion vulgaris</i>	2,2	05.06./08.06.2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	neg.
ME A 60	<i>Arion vulgaris</i>	0,7	05.06./08.06.2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	pos.
ME A 61	<i>Arion vulgaris</i>	0,7	05.06./08.06.2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	pos.
ME A 62	<i>Arion vulgaris</i>	0,8	05.06./08.06.2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	pos.
ME A 63	<i>Arion vulgaris</i>	0,7	05.06./08.06.2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	neg.
ME A 64	<i>Arion vulgaris</i>	0,8	05.06./08.06.2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	neg.

ME A 65	<i>Arion vulgaris</i>	1,7	05.06./08.06.2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	neg.
ME A 66	<i>Arion vulgaris</i>	0,8	05.06./08.06.2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	neg.
ME A 67	<i>Arion vulgaris</i>	0,7	05.06./08.06.2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	neg.
ME A 68	<i>Arion vulgaris</i>	0,8	05.06./08.06.2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	neg.
ME A 69	<i>Arion vulgaris</i>	0,8	05.06./08.06.2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	neg.
ME A 70	<i>Arion vulgaris</i>	0,5	05.06./08.06.2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	neg.
ME A 71	<i>Arion vulgaris</i>	0,9	05.06./12.06.2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	pos.

ME A 72	<i>Arion vulgaris</i>	0,5	05.06./12.06.2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	pos.
ME A 73	<i>Arion vulgaris</i>	0,8	05.06./12.06.2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	Probe verworfen da schimmelig
ME A 74	<i>Arion vulgaris</i>	2	05.06./12.06.2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	Probe verworfen da schimmelig
ME A 75	<i>Arion vulgaris</i>	0,8	05.06./12.06.2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	Probe verworfen da schimmelig
ME A 76	<i>Arion vulgaris</i>	1,2	05.06./12.06.2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	Probe verworfen da schimmelig

ME A 77	<i>Arion vulgaris</i>	0,5	05.06./12.06.2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	neg.
ME A 78	<i>Arion vulgaris</i>	1,0	05.06./12.06.2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	Probe verworfen da schimmelig
ME A 79	<i>Arion vulgaris</i>	0,3	05.06./13.06.2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	fraglich pos.
ME A 80	<i>Arion vulgaris</i>	0,5	05.06./13.06.2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	pos.
ME A 81	<i>Arion vulgaris</i>	1,2	05.06./13.06.2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	fraglich pos.
ME A 82	<i>Arion vulgaris</i>	0,5	05.06./13.06.2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	neg.

ME A 83	<i>Arion vulgaris</i>	0,3	05.06./13.06.2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	neg.
ME A 84	<i>Arion vulgaris</i>	0,6	05.06./13.06.2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	fraglich pos.
ME A 85	<i>Arion vulgaris</i>	0,6	05.06./13.06.2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	neg.
ME A 86	<i>Arion vulgaris</i>	0,4	05.06./13.06.2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	neg.
ME A 87	<i>Arion vulgaris</i>	0,8	05.06./13.06.2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	neg.
ME A 88	<i>Arion vulgaris</i>	0,5	05.06./13.06.2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	neg.
ME A 89	<i>Arion vulgaris</i>	0,8	05.06./13.06.2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	neg.

ME A 90	<i>Arion vulgaris</i>	0,2	05.06./13.06.2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	neg.
ME A 91	<i>Arion vulgaris</i>	0,23	23.07.2019/24.07.2019	Edler Mirjam	Ja	20 ml	neg.
ME A 92	<i>Arion vulgaris</i>	0,22	23.07./24.07.2019	Edler Mirjam	Ja	20 ml	neg.
ME A 93	<i>Arion vulgaris</i>	0,25	23.07./24.07.2019	Edler Mirjam	Ja	20 ml	pos.
ME A 94	<i>Arion vulgaris</i>	0,32	23.07./24.07.2019	Edler Mirjam	Ja	20 ml	pos.
ME A 95	<i>Arion vulgaris</i>	0,56	23.07./24.07.2019	Edler Mirjam	Ja	20 ml	pos.
ME A 96	<i>Arion vulgaris</i>	0,62	23.07./24.07.2019	Edler Mirjam	Ja	20 ml	fraglich pos.

ME A 97	<i>Arion vulgaris</i>	0,26	23.07./24.07.2019	Edler Mirjam	Ja	20 ml	neg.
ME A 98	<i>Arion vulgaris</i>	0,48	23.07./24.07.2019	Edler Mirjam	Ja	20 ml	neg.
ME A 99	<i>Arion vulgaris</i>	0,26	23.07./24.07.2019	Edler Mirjam	Ja	20 ml	fraglich pos.
ME A 100	<i>Arion vulgaris</i>	0,28	23.07./24.07.2019	Edler Mirjam	Ja	20 ml	fraglich pos.
ME A 101	<i>Arion vulgaris</i>	1,19	23.07./24.07.2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	neg.
ME A 102	<i>Arion vulgaris</i>	0,4	23.07./25.07.2019	Edler Mirjam	Ja	20 ml	neg.
ME A 103	<i>Arion vulgaris</i>	0,58	23.07./25.07.2019	Edler Mirjam	Ja	20 ml	neg.

ME A 104	<i>Arion vulgaris</i>	1,09	23.07./25.07.2019	Edler Mirjam	Ja	20 ml	neg.
ME A 105	<i>Arion vulgaris</i>	0,9	23.07.2019/24.07.2019	Edler Mirjam	Ja	20 ml	neg.
ME A 106	<i>Arion vulgaris</i>	0,66	23.07./25.07.2019	Edler Mirjam	Ja	20 ml	neg.
ME A 107	<i>Arion vulgaris</i>	0,72	23.07./25.07.2019	Edler Mirjam	Ja	20 ml	neg.
ME A 108	<i>Arion vulgaris</i>	0,33	23.07./25.07.2019	Edler Mirjam	Ja	20 ml	neg.
ME A 109	<i>Arion vulgaris</i>	0,82	23.07./25.07.2019	Edler Mirjam	Ja	20 ml	pos.
ME A 110	<i>Arion vulgaris</i>	0,23	23.07./25.07.2019	Edler Mirjam	Ja	20 ml	neg.

ME A 111	<i>Cornu aspersum</i>	3,42	31.07- 01.08/02.08.2019	Edler Mirjam	Ja	30 ml	neg.
ME A 112	<i>Cornu aspersum</i>	5,52	31.07- 01.08/02.08.2019	Edler Mirjam	Ja	30 ml	neg.
ME A 113	<i>Cornu aspersum</i>	3,03	31.07- 01.08/02.08.2019	Edler Mirjam	Ja	30 ml	neg.
ME A 114	<i>Cornu aspersum</i>	5,31	31.07- 01.08/02.08.2019	Edler Mirjam	Ja	30 ml	neg.
ME A 115	<i>Cornu aspersum</i>	2,77	31.07- 01.08/02.08.2019	Edler Mirjam	Ja	30 ml	neg.
ME A 116	<i>Cornu aspersum</i>	10,50	31.07- 01.08/02.08.2019	Edler Mirjam	Ja	30 ml	fraglich neg.
ME A 117	<i>Cornu aspersum</i>	3,18	31.07- 01.08/02.08.2019	Edler Mirjam	Ja	30 ml	pos.

ME A 118	<i>Cornu aspersum</i>	5,33	31.07- 01.08/02.08.2019	Edler Mirjam	Ja	30 ml	pos.
ME A 119	<i>Cornu aspersum</i>	9,65	31.07- 01.08/02.08.2019	Edler Mirjam	Ja	30 ml	pos.
ME A 120	<i>Cornu aspersum</i>	2,43	31.07- 01.08/02.08.2019	Edler Mirjam	Ja	30 ml	neg.
ME A 121	<i>Cornu aspersum</i>	12,11	31.07- 01.08/02.08.2019	Edler Mirjam	Ja	30 ml	neg,
ME A 122	<i>Cornu aspersum</i>	7,95	31.07- 01.08/02.08.2019	Edler Mirjam	Ja	30 ml	neg.
ME A 123	<i>Arion vulgaris</i>	5,87	08.11. / 09. 11. 2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	pos.
ME A 124	<i>Arion vulgaris</i>	7,53	08.11. / 09. 11. 2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	pos.

ME A 125	<i>Arion vulgaris</i>	2,08	08.11. / 09. 11. 2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	neg.
ME A 126	<i>Arion vulgaris</i>	1,88	08.11. / 09. 11. 2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	neg.
ME A 127	<i>Arion vulgaris</i>	5,59	08.11. / 09. 11. 2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	fraglich pos.
ME A 128	<i>Arion vulgaris</i>	7,91	08.11. / 09. 11. 2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	neg.
ME A 129	<i>Arion vulgaris</i>	5,16	08.11. / 09. 11. 2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	pos.
ME A 130	<i>Arion vulgaris</i>	4,98	08.11. / 09. 11. 2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	fraglich pos.
ME A 131	<i>Arion vulgaris</i>	9,54	08.11. / 09. 11. 2019	Edler Mirjam	Ja	35 ml	pos.

ME A 132	<i>Arion vulgaris</i>	3,12	08.11. / 09. 11. 2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	pos.
ME A 133	<i>Arion vulgaris</i>	2,75	08.11. / 09. 11. 2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	pos.
ME A 134	<i>Arion vulgaris</i>	4,30	08.11. / 09. 11. 2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	neg.
ME A 135	<i>Arion vulgaris</i>	2,84	08.11. / 10.11. 2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	pos.
ME A 136	<i>Arion vulgaris</i>	6,49	08.11. / 10.11. 2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	neg.
ME A 137	<i>Arion vulgaris</i>	5,50	08.11. / 10.11. 2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	neg.
ME A 138	<i>Arion vulgaris</i>	4,84	08.11. / 10.11. 2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	pos.

ME A 139	<i>Arion vulgaris</i>	10,10	08.11. / 10.11. 2019	Edler Mirjam	Ja	35 ml	neg.
ME A 140	<i>Arion vulgaris</i>	7,12	08.11. / 10.11. 2019	Edler Mirjam	Ja	35 ml	pos.
ME A 141	<i>Arion vulgaris</i>	3,10	08.11. / 10.11. 2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	pos.
ME A 142	<i>Arion vulgaris</i>	6,54	08.11. / 10.11. 2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	fraglich pos.
ME A 143	<i>Arion vulgaris</i>	3,16	08.11. / 10.11. 2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	fraglich pos.
ME A 144	<i>Arion vulgaris</i>	4,25	08.11. / 10.11. 2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	pos.
ME A 145	<i>Arion vulgaris</i>	4,79	08.11. / 10.11. 2019	Edler Mirjam	Ja	25 ml	neg.

Danksagung

Hiermit möchte ich mich von ganzem Herzen bei meinem Diplomarbeitbetreuer Dr. Hans-Peter Fuehrer bedanken, der mich bei dem letzten Meilenstein meines Studiums, der Diplomarbeit, begleitet und voller Motivation unterstützt hat. Er ist nicht nur ständig bemüht seinen „Diplomarbeitsschützlingen“ mit Ideen und Literaturvorschlägen zur Seite zu stehen, sondern auch jederzeit erreichbar und hilft mit seinen Rückmeldungen ungemein.

Ein großer Dank gilt auch Frau Univ.-Prof. Dr. med. vet. Anja Joachim Dipl. EVPC, die dieses Projekt ebenso geleitet und unterstützt hat und für fachspezifische Fragen immer ein offenes Ohr hatte. Sie hat mich zu meiner Präsentation des Projekts im Haus der Natur in Salzburg auf der MOFA 2019 motiviert und mich somit an einem unvergesslichen Tag in der Welt der Mollusken und ihrer Erforscher teilnehmen lassen.

Ein weiterer Dank gilt auch Frau Gertrude Wenzl, die dem Projekt Schnecken aus ihrem Garten zur Verfügung gestellt hat und auch tatkräftig bei der Sammlung der Tiere geholfen hat.

Des Weiteren möchte ich mich auf diesem Wege bei Roman Peschke für die hervorragende Unterstützung bei der Arbeit im Labor bedanken.

Ein weiterer Dank gilt auch meinem lieben Kollegen Thomas Brauchart, der mir viele Fragen zur richtigen Zitierweise beantwortet hat und immer bemüht ist einem zu helfen.

Zu guter Letzt danke ich auch meiner Familie und meinen beiden Hunden Kimo und Enya, die mich in all den schwierigen Phasen meines Studiums nie aufgeben lassen. Sei es durch beruhigende Gespräche am Küchentisch, Essens- und Motivationspakete nach Wien, Kuscheleinheiten auf der Couch oder lange Spaziergänge an der Donau. Sie erinnern mich tagtäglich daran, dass mein Traum Tierärztin zu sein schlussendlich all die Mühen wert ist.