

Aus dem Institut für Parasitologie und Tropenveterinärmedizin
des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

**Wildnager als Zwischenwirt und paratenischer Wirt
von Hunde- und Katzenparasiten**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Julia Blümke
Tierärztin aus Osnabrück

Berlin 2019
Journal-Nr.: 4068

Aus dem Institut für Parasitologie und Tropenveterinärmedizin
des Fachbereiches Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Wildnager als Zwischenwirt und paratenischer Wirt von Hunde- und Katzenparasiten

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Julia Blümke
Tierärztin
aus Osnabrück

Berlin 2019

Journal-Nr.: 4068

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Jürgen Zentek
Erster Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Georg von Samson-Himmelstjerna
Zweiter Gutachter: Dr. Marcus Fulde
Dritter Gutachter: Prof. Dr. Carlos Hermosilla

Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus):

dogs, cats, rodents, intermediate hosts, paratenic hosts, toxocara canis, toxocara cati,
toxoplasma gondii, frenkelia

Tag der Promotion: 11.02.2019

Bibliografische Information der *Deutschen Nationalbibliothek*

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

ISBN: 978-3-96729-004-2

Zugl.: Berlin, Freie Univ., Diss., 2019

Dissertation, Freie Universität Berlin

D188

Dieses Werk ist urheberrechtlich geschützt.

Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des Nachdruckes und der Vervielfältigung des Buches, oder Teilen daraus, vorbehalten. Kein Teil des Werkes darf ohne schriftliche Genehmigung des Verlages in irgendeiner Form reproduziert oder unter Verwendung elektronischer Systeme verarbeitet, vervielfältigt oder verbreitet werden.

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Warenbezeichnungen, usw. in diesem Werk berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, dass solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürfen.

This document is protected by copyright law.

No part of this document may be reproduced in any form by any means without prior written authorization of the publisher.

Alle Rechte vorbehalten | all rights reserved

© Mensch und Buch Verlag 2019 Choriner Str. 85 - 10119 Berlin
verlag@menschundbuch.de – www.menschundbuch.de

Inhaltsverzeichnis

I. Einleitung	1
II. Literaturübersicht.....	3
2.1 Nematoda	3
2.1.1 Ascarididae.....	3
2.1.2 <i>Toxocara canis/Toxocara cati</i>	4
2.2. Protozoa	6
2.2.1 <i>Toxoplasma gondii</i>	6
2.2.2 Sarcocystidae.....	8
2.3 Zestoden.....	9
2.3.1 <i>Mesocostoides litteratus</i>	10
2.4 Wildnager	11
2.4.1 <i>Apodemus flavicollis</i> (Gelbhalsmaus)	11
2.4.2 <i>Apodemus sylvaticus</i> (Waldmaus).....	12
2.4.3 <i>Apodemus agrarius</i> (Brandmaus)	13
2.4.4 <i>Myodes glareolus</i> (Rötelmaus).....	13
2.4.5 <i>Microtus arvalis</i> (Feldmaus).....	14
2.4.6 <i>Microtus agrestis</i> (Erdmaus).....	14
III. Material und Methoden.....	16
3.1 Materialien	16
3.1.1 Puffer und Lösungen	16
3.1.2 Medien und Organismen	16
3.1.3 Reagenzien	16
3.1.4 Enzyme und Primer	17
3.1.5 Reaktionskits	18
3.1.6 Geräte und Instrumente.....	19
3.1.7 Verbrauchsmaterialien.....	20
3.1.8 Software	21

Inhaltsverzeichnis

3.2 Methoden.....	21
3.2.1 Wildnagerfang	21
3.2.2 Euthanasie	23
3.2.3 Blutentnahme, Blutausstrich und Serumgewinnung.....	23
3.2.4 Untersuchung und Sektion der Wildnager	23
3.2.5 Isolierung von Erreger DNA zur Erzeugung von Positiv-Kontrollen.....	24
3.2.6 Polymerasekettenreaktion	25
3.2.9 Herstellung von Plasmiden als Positivkontrolle.....	26
3.2.9 Sequenzierung der PCR-Produkte	27
3.2.10 DNA-Isolierung für diagnostische Zwecke	27
3.2.11 Durchführung PCR mit <i>Toxocara</i> -Primern.....	28
3.2.12 Durchführung PCR mit Kokzidien- und <i>Toxoplasma</i> -Primern.....	28
3.2.14 Durchführung PCR mit den Tetrahydrien-Primern.....	29
3.2.16 Extrahierung aus dem Agarosegel.....	30
3.2.17 ELISA.....	31
3.2.18 Untersuchung der Serumproben auf <i>Toxocara canis</i> -Antikörper.....	31
3.2.18 Statistische Auswertung.....	31
IV. Ergebnisse	33
4.1 Ergebnisse Wildnagerfang	33
4.1.1 Aufteilung der Wildnager auf die verschiedenen Standorte	34
4.1.2 Spezies-Verteilung der gefangenen Wildnager	35
4.2 Ergebnisse zu den Untersuchungen zu den Toxocarinae.....	35
4.3 Ergebnisse Kokzidien- und Toxoplasma-PCR	39
4.4 Ergebnisse Metazestoden-PCR	45
V. Diskussion.....	49
5.1 Diskussion zu den Untersuchungen der Toxocarinae.....	49
5.2 Diskussion zu den Untersuchungen der Zestoden	51
5.3 Diskussion zu den Untersuchungen der Kokzidien.....	52

Inhaltsverzeichnis

5.4 Non-metric multidimensional scaling	53
VI. Zusammenfassung.....	55
VII. Summary	56
VIII. Abkürzungsverzeichnis	57
IX. Tabellenverzeichnis	58
X. Tabellenanhang.....	59
XI. Abbildungsverzeichnis.....	72
XII. Literaturverzeichnis	73
XIII. Publikationsliste	81
Posterbeiträge/Vorträge:	81
Publikationen:	81
XIV. Danksagung.....	82
XV. Selbstständigkeitserklärung	83

I. Einleitung

In den letzten Jahren kommt es zu einer kontinuierlich steigenden Anzahl von Karnivoren in der urbanen Umwelt. In Europa wird diese Dichte nicht nur durch die steigende Anzahl an Haustieren wie Hunden und Katzen erreicht, vielmehr auch durch größer werdende Fuchs-, Marderhund- und Waschbärpopulationen im periurbanen sowie urbanen Lebensraum (Šálek et al., 2015). Auch verschiedene Vogelspezies wie der Mäusebussard oder Falken scheuen die Nähe zum Menschen zunehmend weniger. Dieses wirkt sich ebenfalls auf die Räuber-Beute-Beziehung aus und ermöglicht so einen häufigeren Austausch von Pathogenen zwischen dem Räuber und der Beute. Zu den vorwiegenden Beutetieren der oben genannten Karnivoren gehören Nagetiere und Kleinvögel. Wildnager sind ein bedeutendes Reservoir für Bakterien und Viren, die für die Haustiere und den Menschen eine Rolle spielen. Dazu gehören Rickettsien, Borrelien, Leptospiren, Bartonellen und das Frühsommer-Meningoenzephalitis-Virus. Außerdem sind Wildnager paratenische Wirte und Zwischenwirte einiger Parasiten. Die wichtigsten Parasiten lassen sich in drei Hauptgruppen einteilen. Zum einen sind es Kokzidien (z.B. *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum* sowie *Hammondia* und *Sarcocystis* Spezies), zum anderen handelt es sich um Askariden wie *Toxocara canis* und *Toxocara cati*. Die dritte Gruppe umfasst die Zestoden mit den Spezies der Gattungen *Echinococcus*, *Taenia* und *Mesocestoides*. Caniden, primär der Hund, Füchse sowie Feliden sind Endwirte für *T. canis* und *T. cati* (Despommier, 2003). Des Weiteren sind die Feliden zugleich Endwirte für *T. gondii* (Hill and Dubey, 2002). Außerdem gibt es hohe Prävalenzen von *E. multilocularis* in Rotfüchsen (Hofer et al., 2000). In Ökosystemen mit einem intakten und engen Räuber-Beute-System sollte von einer hohen Prävalenz dieser Parasiten ausgegangen werden. Generell ist das Ausmaß der Umweltkontamination mit Parasiten abhängig von Verteilung, Dichte und Ausnutzung der Lebensräume (Reperant et al., 2009). Allerdings sind *T. gondii*, *Toxocara* spp. und *Echinococcus* spp. als Zoonoseerreger von großer Bedeutung im öffentlichen Gesundheitswesen. Alle drei Parasiten werden von der WHO zu den wichtigsten zoonotischen Erregern von mit Armut assoziierten Erkrankungen in den USA sowie Europa erklärt (Hotez, 2008; Hotez and Gurwith, 2011; Hotez and Wilkins, 2009). Die klinischen Symptome bei der Toxocarose beim Menschen können in ihrem Ausmaß variieren und werden durch die Migration der Larve im Körper verursacht. Es wird eine VLM (viszerale *Larva migrans*) und eine OLM (okulare *Larva migrans*) unterschieden (Fan et al., 2013). Durch eine Infektion mit *T. gondii* sind besonders Schwangere gefährdet. Bei einer Erstinfektion während der Schwangerschaft kann es zur kongenitalen Toxoplasmose beim ungeborenen Kind kommen bis hin zum Tod des Kindes (Montoya and Liesenfeld, 2004). In Nagern sollen die Zysten der Parasiten zu veränderten Verhaltensmustern führen, sodass sie als Beutetier leichter gefangen werden können. Vielerorts leben Wildnager in engem Kontakt zu den Menschen, Haustieren und Nutztieren. Dadurch können sie als Indikatoren für das Infektionsrisiko durch zoonotische Parasiten der Karnivoren und Feliden genutzt werden.

In dieser wissenschaftlichen Arbeit sollen Wildnager hinsichtlich ihrer Rolle als Zwischenwirt und als paratenischer Wirt von Hunde- und Katzenparasiten untersucht werden. An verschiedenen Standorten in Berlin (Gatow, Tegel, Moabit und Steglitz) wurden dazu in regelmäßigen Abständen Wildnager gefangen und auf unterschiedliche Parasiten untersucht. Die Fangorte wurden so gewählt, dass zwei davon periurban und zwei urban lagen. Das Hauptaugenmerk in diesem Projekt ist auf die Parasiten von Hunden und Katzen mit zoonotischen Potential gerichtet. Dementsprechend wurden die molekularbiologischen Untersuchungen der Nagerproben auf *Toxocara*-Spezies und *T. gondii* abgestimmt. Bislang liegen aus der hier erfassten geographischen Region kaum Untersuchungen zu diesen Parasiten in den Nagern vor. Es soll daher aus den Ergebnissen abgeleitet werden, wo welcher Nager/Parasit auftritt, ob bestimmte Nagerspezies häufiger/weniger betroffen sind

und welche Risiken sich für das öffentliche sowie veterinärmedizinische Gesundheitswesen daraus ergeben.

II. Literaturübersicht

In dem folgenden Abschnitt ist eine kurze Literaturübersicht dargestellt über die verschiedenen Parasiten, die in dieser Studie in den gefangenen Mäusen untersucht wurden sowie eine Übersicht zu den hier untersuchten Wildnagern.

2.1 Nematoda

Zur Gruppe der Nematoida gehört neben den Nematomorpha der Stamm, der Nematoda (Rundwürmer). Die vielen Arten der Rundwürmer besiedeln verschiedene terrestrische, marine und limnische Lebensräume, viele leben aber auch als Parasiten von Pflanzen, Tieren und Menschen. Eine große Anzahl der Nematodenspezies parasitiert im Verdauungstrakt, in den Atemwegen und in anderen Organen zahlreicher Haus- und Wildtiere. Der Körper ist von lang gestreckter Gestalt, spindel- bis fadenförmig und ungegliedert. Adulte erreichen eine Körperlänge von Millimetern bis hin zu Metern (Boch, 2006). Zu den kleineren Spezies gehört *Caenorhabditis elegans*, der als Modellorganismus für die Zell- und Entwicklungsbiologie genutzt wird. Der größte Vertreter der Fadenwürmer ist der *Placentonema gigantissimum*. Dieser Fadenwurm besiedelt die Placenta trächtiger Pottwale und kann eine Länge von 8 m erreichen (Gubanov, 1951). Die äußere Hülle, das Integument, besteht aus mehreren Schichten und ist mit dem Hautmuskelschlauch verbunden. Die inneren Organe liegen in einer Flüssigkeit in der Leibeshöhle. Die Kombination aus der unter Druck stehenden, flüssigkeitsgefüllten Leibeshöhle und dem Integument garantiert Stabilität und Motilität (Hydroskelett). Der Verdauungstrakt der Rundwürmer reicht von der Mundöffnung am kranialen Ende bis hin zum Anus, der ventral nahe dem kaudalen Ende liegt. Vordere und hintere Anteile des Verdauungstraktes werden von der äußeren Schicht des Integuments, der Cutikula ausgekleidet. Bei der Ausprägung der Bestandteile des Verdauungstraktes gibt es Unterschiede zwischen den Arten, die zur Spezies-Bestimmung herangezogen werden können. Es liegen keine Zirkulations- und Atmungsorgane vor. Der Gasaustausch findet über das Integument statt (Schnieder and Tenter, 2006). Für weitere Stofftransporte spielt auch die Leibeshöhle eine wichtige Rolle. In der Regel sind die Nematodenarten zweigeschlechtlich. Auch hier dient die unterschiedliche Ausprägung der Geschlechtsorgane zur Artdifferenzierung. Die Fortpflanzung erfolgt in der Regel geschlechtlich. Dem Eistadium folgen 4 Larvenstadien, bevor sich das präadulte Stadium nach Reifung der Gonaden zum Adultstadium entwickelt. Häufig beinhaltet die Entwicklung der parasitischen Nematoda einen Wirtswechsel. Hier unterscheidet man monoxene und heteroxene Entwicklungszyklen. Die Würmer vollführen im Wirt häufig eine ausgedehnte Körperwanderung durch verschiedene Organsysteme. Ein Teil der Rundwürmer kann seinen Entwicklungszyklus unterbrechen und in ein hypobiotisches Stadium übergehen (Schnieder and Tenter, 2006). Es garantiert ihnen eine längere Verweildauer im Wirt und die Larven können zu einem späteren Zeitpunkt wieder aktiv werden sowie die Entwicklung fortsetzen. Diese Eigenschaft spielt eine wichtige Rolle in der Epidemiologie, Pathogenese, Diagnostik und Therapie.

2.1.1 Ascarididae

Die in dieser Studie im Mittelpunkt stehenden Nematoden gehören zur Ordnung der Ascaridida und weiter zu der Superfamilie der Ascaridoidea, kurz Ascariden. Besonders die Larvalstadien der Darmparasiten unserer Haus- und Wildtiere spielen eine zoonotische Rolle.

Das Adultstadium von Ascariden kann eine Körperlänge von ca. 50 cm erreichen. Am Vorderende befindet sich die Mundöffnung, die von drei Lippen umgeben ist. Bei manchen Spezies liegen zusätzlich noch Cervikalflügel vor. Die Entwicklung erfolgt direkt oder indirekt. Die dickschaligen, ungefurchten Eier lassen sich im Kot der Endwirte nachweisen.

2.1.2 *Toxocara canis/Toxocara cati*

T. canis und *T. cati* gehören zur Unterfamilie der Toxocarinae. Sie gehören zu den häufigen Parasiten bei den Caniden (*T. canis*) und Feliden (*T. cati*) wie Fuchs, Wolf, Hund und Katze. Die geschlechtsreifen Würmer parasitieren im Dünndarm der Tiere.

Der Endwirt scheidet die Eier mit dem Kot aus. In der Außenwelt entwickelt sich im Ei innerhalb von zwei bis sechs Wochen, abhängig von der Umgebungstemperatur, die infektiöse dritte Larve (L3) (Overgaauw, 1997; Strube et al., 2013). Bei einer Umgebungstemperatur von 25 – 30 °C dauert diese Entwicklung im Schnitt zwei Wochen. Im Endwirt gibt es nach der Aufnahme der sich im Ei befindenden infektiösen L3 prinzipiell zwei Wanderungsmuster. Unterschieden werden hier die tracheale und die somatische Wanderung. Bei der trachealen Wanderung gelangt die L3 über die Darmwand in den Pfortaderkreislauf und so innerhalb von 24 Stunden zur Leber (Strube et al., 2013; Webster, 1958). Drei bis fünf Tage später wandert die Larve weiter über den Blutstrom zur Lunge. Nach dem Übertritt in die luftführenden Bereiche der Lunge, geht es nach einer weiteren Häutung weiter Richtung Larynx sowie Pharynx. Die Larve wird abgeschluckt und gelangt wieder in den Dünndarm (Strube et al., 2013). Dieser Kreislaufabschnitt umfasst ca. sieben bis fünfzehn Tage *post infectionem* (Sprent, 1958). Die Präpatenz beträgt 30 bis 39 Tage. Die tracheale Wanderung kommt häufig bei jungen Hunden bis zu einem Alter von drei Monaten vor. Ein weiterer Wanderungsweg ist die somatische Wanderung. Auch hier beginnt der Kreislauf mit der peroralen Aufnahme der infektiösen L3. Die Larve wandert über die Darmwand und Blutgefäße in die Lunge sowie Lungengewebe. Auf dem hämatogenen Weg gelangt die Larve in den großen Körperkreislauf und von hier aus in verschiedene Organe und Gewebe (Sprent, 1958; Webster, 1958). In diesen Geweben kann die Larve als hypobiotische Larve überdauern und zu einem späteren Zeitpunkt wieder aktiviert werden. So ist es möglich, dass tragende Tiere schon pränatal die Föten infizieren. Jedoch ist dieser frühe Infektionsweg nur bei *T. canis* möglich, jedoch nicht bei *T. cati*. Ab dem 42. Trächtigkeitstag werden die hypobiotischen Larven aktiv und wandern über das Blut in die Plazenta ein und von dort in die Föten. Die Präpatenz liegt hier von der Geburt an gerechnet bei 21 – 25 Tagen. Neben der pränatalen Übertragung können sich Welpen auch transmammär beim Muttertier infizieren. Die Larven wandern hämatogen in die Milchdrüse und werden dann beim Säugen übertragen. Das Ausmaß dieser Infektion ist abhängig von dem Zeitpunkt der Infektion der Hündin und deren Immunstatus, sowie dem Entwurmungsmanagement während der Trächtigkeit. Bei der Katze sind die gleichen Infektions- und Wanderungswege möglich, jedoch kommt es bei Katzen nicht zu einer pränatalen Infektion. In einer Studie wurden Mutterkatzen und deren Welpen untersucht. Vier der Katzen waren chronisch an einer Toxocarose erkrankt und die anderen vier Tiere wurden experimentell akut infiziert. In beiden Untersuchungen konnten keine pränatalen Infektionen nachgewiesen werden (Coati et al., 2004).

Die direkte Infektion des Endwirtes mittels Aufnahme von Eiern mit infektiösen Larven aus der Umwelt stellt nur einen möglichen Infektionsweg dar. Zusätzlich kommt eine Infektion über die Aufnahme von paratenischen Zwischenwirten in Betracht. Der paratenische Zwischenwirt wird auch als Stapelwirt bezeichnet und zeichnet sich dadurch aus, dass dieser ein infektiöses Larvenstadium beherbergt. Im Gegensatz zum Zwischenwirt kommt es jedoch im paratenischen Wirt zu keiner Weiterentwicklung der Larven. Zu den paratenischen Zwischenwirten der Toxocarinae gehört neben vielen Tieren auch der Mensch. Der Mensch ist jedoch eher als ein Fehlwirt zu betrachten. Der paratenische Wirt infiziert sich durch Aufnahme larvenhaltiger Eier aus der Umwelt. Die infektiöse L3 wandert über die Mukosa des Dünndarmes in die Blut-/Lymphgefäße ein und wird zu einer somatischen Larve, die sich in verschiedene Gewebe zurückziehen kann, so dass der generelle Wanderweg mit dem Muster im Endwirt verglichen werden kann (Dubinsky et al., 1995). Bei der Infektion von Labormäusen mit *T. canis* wurden die Larven häufiger im Gehirn gefunden (Sprent, 1958),

während bei einer *T. cati* Infektion Larven vermehrt in Muskel, Leber oder Lunge nachgewiesen wurden (Sprent, 1956). Eine hohe Affinität von *T. canis* zum Gehirn wird auch in neueren Studien beschrieben, während *T. cati* generell das gleiche Verteilungsmuster zeigt, die Körperwanderung jedoch langsamer vollzieht (Strube et al., 2013). Neben den generellen Affinitätsunterschieden der Parasiten im Gewebe wird auch ein Unterschied der Verteilungsmuster abhängig von der befallenen Zwischenwirtspezies beobachtet. So zeigen Ratten ein ähnliches Verteilungsmuster wie Mäuse. Hingegen zeigen Gerbille eine hohe Befallshäufigkeit des Auges und werden aus diesem Grund häufig als Tiermodell für die Erforschung der OLM des Menschen genutzt (Strube et al., 2013).

Die Toxocarose des Menschen ist ein weltweit vorkommendes Gesundheitsproblem. Die Übertragung auf den Menschen erfolgt als Schmierinfektion durch Aufnahme infektiöser *Toxocara*-Eier mit Erde oder Sand, über ungewaschene Hände oder die Aufnahme von kontaminiertem rohen Gemüse (Glickman and Schantz, 1981). Außerdem wird der Verzehr von nicht durchgegartem, kontaminiertem Fleisch (Huhn, Rind, Schaf) diskutiert (Nagakura et al., 1989; Salem and Schantz, 1992; Sturchler et al., 1990). Über die Kontamination von Böden in öffentlichen Parkanlagen oder Spielplätzen liegen mehrere Studien vor. In der Regel sind Kinder diesen Plätzen häufiger ausgesetzt als Erwachsene, sodass häufig Kinder im jungen Alter betroffen sind (Glickman and Schantz, 1981; Schantz, 1989; van Knapen et al., 1983). Bei diesen wird dementsprechend auch häufiger eine klinische Toxocarose festgestellt während anti-*Toxocara*-Antikörper häufiger bei älteren Menschen gefunden (van Knapen et al., 1983). Die Toxocarose äußert sich beim Menschen in zwei Formen, der viszeralen *Larva migrans* (=VLM) und der okulären *Larva migrans* (=OLM). Am häufigsten wird die VLM bei Kindern unter acht Jahren diagnostiziert. Die Larve kann Wochen bis Monate persistieren (Kayes, 1997). Die klinischen Symptome reichen von Fieber, Hepato-Splenomegalie, Vomitus, Diarrhoe, respiratorischen Symptomen, Gewichtsverlust bis hin zu neurologischen Ausfällen (Despommier, 2003). Die OLM wird ebenfalls am häufigsten bei Kindern festgestellt (Despommier, 2003; Schantz, 1989). Das Krankheitsbild tritt in der Regel nur in einem Auge auf. Die ins Auge eingewanderte Larve führt dort zu einer Immunreaktion und in Folge dessen kann es zu granulomatösen Retinaläsionen kommen. Im weiteren Verlauf kann dies zur Erblindung auf dem Auge führen (Centers for Disease and Prevention, 2011). Außerdem gibt es noch weitere Untersuchungen zu erhöhter Allergieneigung bei *Toxocara*-seropositiven Menschen. In mehreren Studien wurde festgestellt, dass bei einem Großteil von *Toxocara*-seropositiven getesteten Menschen ebenfalls ein häufigeres Auftreten von Allergien oder asthmatischen Erkrankungen vorlag (Jogi et al., 2018; Qualizza et al., 2011; Yariktas et al., 2007).

Bei Kotuntersuchungen in Deutschland in den Jahren 1999 - 2002 und 2003 - 2010 wurden bei Hunden 11,2 % sowie 10,8 % der untersuchten Proben positiv für Nematoden getestet. Für Katzen ergaben die Untersuchungen Prozentsätze von 8,0 % im ersten Untersuchungszeitraum und 5,9 % in den folgenden Jahren. In 7,2 % und 6,1 % der Hundeproben wurde ein Befall mit *T. canis* nachgewiesen. *T. cati* wurde in 6,4 % und 4,7 % der Katzenproben nachgewiesen (Barutzki and Schaper, 2003, 2011). In der zweiten Studie von Barutzki und Schaper wurden die untersuchten Tiere zusätzlich in Altersgruppen eingeteilt. Bei 12 % der Hunde mit einem Alter unter drei Monaten, wurden Infektionen mit *T. canis* festgestellt, in der Altersgruppe zwischen drei und sechs Monaten betrug der Anteil 12,4 % (Barutzki and Schaper, 2011). In Spanien wurden bei Untersuchungen ebenfalls 20 % der Hunde unter einem Jahr positiv für *T. canis* getestet sowie 5-11 % der Tiere aus den älteren Untersuchungsgruppen (Martinez-Carrasco et al., 2007). Bei einer Studie in Belgien, in der Kotproben von Hunden aus Haushalten und Tierpensionen untersucht wurden, lag die Befallshäufigkeit der domestizierten Hunde bei 4,4 % (95 % KI 2,7-6,8 %) und in den Tierpensionen bei 26,3 % (95% KI 21,8-31,6 %)(Claerebout et al., 2009). Die Forschungsgruppe um Fok berichtet in ihrer Studie von Kotuntersuchungen bei Hunden aus verschiedenen Regionen in Ungarn Prävalenzen von 7,9 %-30,1 % (Fok et al., 2001). Es

liegen weitaus weniger vergleichbare Ergebnisse zu Kotuntersuchungen von Katzen auf den Befall mit *T. cati* vor. Hecking-Veltman (2001) hat eine Prävalenz von 43,3 % positiven streunenden Katzen in ihren Untersuchungen im Raum Mönchengladbach in Deutschland verzeichnet. Bei Probennahmen in einem Tierheim in Niedersachsen in Deutschland wurden 27,1 % der Katzen positiv für *T. cati* getestet (Rohen, 2009). Eine andere Arbeitsgruppe aus Frankreich und Deutschland fand bei 11,6 % ihrer Proben *T. cati* (Coati et al., 2003). Jedoch gibt es auch Berichte über deutlich niedrigere Befallsraten. Bei routinemäßigen Kotuntersuchungen von Katzenkot im Institut für Parasitologie an der Tierärztlichen Hochschule Hannover wurden schließlich nur 3,4 % der Proben als positiv für *T. cati* befundet (Epe et al., 2004).

2.2. Protozoa

Die Protozoa sind eukaryotische Mikroorganismen mit einer Größe von meist unter 150 µm. Der Aufbau ähnelt dem anderer eukaryotischer Zellen. Zum Teil können jedoch bestimmte Organellen nur bei den Protozoa gefunden werden. Diese Mikroorganismen leben frei oder parasitisch.

Die Vermehrung der Protozoa erfolgt bei manchen Spezies ausschließlich ungeschlechtlich, also durch Zwei- oder Vielteilung. Solche ungeschlechtlichen Teilungen können zum Beispiel als Längsteilung bei Flagellaten (z. B. *Trypanosoma brucei*) oder als Querteilung bei Ciliaten (z.B. *Paramecium caudatum*) (Wehner and Gehring, 1995) erfolgen. Ein großer Teil vollzieht einen Generationswechsel zwischen asexueller und sexueller Fortpflanzung. Die Entwicklungszyklen können dabei in einem oder mehreren Wirten stattfinden. Protozoen besiedeln einen breit gefächerten Lebensraum und vielen von ihnen ist es möglich, in Form einer Zyste oder Oozyste ungünstigen Umweltbedingungen über einen längeren Zeitraum zu überleben. Die parasitischen Protozoen sind heterotroph. Die gesamte Nährstoffversorgung findet über Permeation der Zellmembran, aktiven Transport oder Endozytose statt.

Eine wichtige Gruppe der Protozoa sind die Alveolata zu denen unter anderem der Stamm der Apicomplexa gehört. Das wichtigste Merkmal dieses Stammes ist das Alveolensystem in der Pellicula, der mehrschichtigen Zellhülle, die je nach Stamm innerhalb der Alveolata geringgradig variiert und das Vorhandensein eines Apikalkomplexes, der eine wichtige Rolle beim Eindringen in Wirtszellen spielt. Die Pellicula besteht hier aus einer äußeren und zwei inneren Membranen. In der Pellicula sind Mikroporen für die Nahrungsaufnahme zu finden (Eckert et al., 2005d). Die Apicomplexa sind alle Parasiten und kommen häufig bei Evertebraten und Vertebraten vor. Innerhalb der Apicomplexa bilden die Kokzidien eine wichtige Untergruppe, zu der die hier im Fokus stehenden Erreger gehören.

2.2.1 Toxoplasma gondii

T. gondii gehört zur Familie der Toxoplasmatidae und wurde erstmalig 1908 aus einem Gundi, einem nordafrikanischen Wüstennagetier isoliert (Ferguson, 2009). Im Jahr 1965 wurde dann auch schließlich die Katze als Endwirt und Oozystenausscheider im Lebenszyklus von *T. gondii* identifiziert (Hutchison, 1965). In den Jahren danach wurden dann auch alle weiteren Lücken im Lebenszyklus des Erregers aufgeklärt (Hutchison et al., 1971).

Generell existiert eine große Anzahl von verschiedenen *Toxoplasma*-Stämmen, die sich zum Teil untereinander ähneln. Die in Europa vorkommenden Stämme lassen sich in drei klonale Linien unterteilen (Typ I, II, III) (Howe and Sibley, 1995). Außerdem wurde eine Korrelation zwischen diesen drei klonalen Typen und deren Virulenz in der Maus beobachtet (Sibley and Boothroyd, 1992). Typ I zeigt eine hohe Virulenz bei Mäusen und wird häufig bei der konnatalen Toxoplasmose des Menschen beobachtet. Die Typ II-Linie zeichnet sich durch eine geringe Virulenz im Mausversuch aus und ist häufig die Hauptursache für die

chronische Toxoplasmose beim Menschen. Ebenso wie der Typ II besitzt auch der Typ III eine niedrige Virulenz, er wird jedoch nur selten mit Erkrankungen des Menschen in Verbindung gebracht (Sibley and Howe, 1996).

Bei *T. gondii* können drei verschiedene Erregerstadien unterschieden werden. Zum einen existieren die Tachyzoiten, die primär in der akuten Phase der Infektion nachgewiesen werden können. Sie sind von bogenförmiger Gestalt und haben eine Größe von $6 \times 2 \mu\text{m}$ sowie einen zentral liegenden Zellkern. Nach Penetration der Wirtszelle befindet sich der Erreger in einer parasitophoren Vakuole, in der er sich durch Endodyogenie, eine innere Knospung, schnell vermehrt. Die Vakuole wird dann auch als Pseudozyste bezeichnet (Dubey et al., 1998). Eine weitere Struktur des Erregers ist der Bradyzoit. Dieser vermehrt sich nach Eindringen in die Zelle nur sehr langsam durch Endodyogenie und führt zur Ausbildung der so genannten echten Gewebezysten. Die Gewebezysten stellen die intrazelluläre Dauerform des Parasiten dar. Sie werden in unterschiedlichen Geweben wie Gehirn, Skelett- oder Herzmuskulatur gefunden (Dubey et al., 1998). Die bislang genannten Erregerstadien vermehren sich durch ungeschlechtliche Replikation. Hingegen wird das dritte relevante Stadium von *T. gondii*, die Oozyste, durch geschlechtliche Vermehrung gebildet. Oozysten stellen die außenweltresistente Dauerform mit einer Größe von 9 - 14 μm dar (Eckert et al., 2005e). Diese Form der Vermehrung ist nur im Darm des Endwirtes möglich. Die Oozysten werden von der Katze unsporuliert ausgeschieden und bei günstigen Umweltbedingungen erfolgt die Sporulation innerhalb von wenigen Tagen. Danach besteht die sporulierte Oozyste aus zwei Sporozysten mit je vier Sporozoiten. Dieses Stadium ist dann infektiös für einen Zwischenwirt oder Endwirt (Dubey et al., 1998). Im feuchten Milieu können sporulierte Oozysten bis zu einem Jahr überleben.

T. gondii lebt fakultativ heteroxen (Eckert et al., 2005e). Der Endwirt sind Feliden, wobei die Hauskatze in der Zivilisation die größte Rolle spielt. In der Katze findet sowohl eine geschlechtliche als auch eine ungeschlechtliche Entwicklung statt (Mehlhorn and Piekarski, 2002). Zu den Zwischenwirten gehören zahlreiche Säugetiere und Vögel, in denen lediglich eine ungeschlechtliche Vermehrung abläuft, wodurch es zur Ausbildung von persistierenden, intrazellulären Gewebezysten kommt (Mehlhorn and Piekarski, 2002). Die Katze infiziert sich *per os* durch Aufnahme von Gewebezysten oder Oozysten. Nimmt die Katze zum Beispiel einen infizierten Nager auf, kommt es zunächst zu einer ungeschlechtlichen Vermehrung in den Epithelzellen des Dünndarmes. Es entstehen Merozoiten, aus denen nach einigen Tagen Makro- und Mikrogamonten entstehen. Diese differenzieren sich weiter zu Makro- und Mikrogameten. Die Makrogameten werden von den Mikrogameten befruchtet und es entstehen Oozysten, die dann mit dem Kot wieder ausgeschieden werden können (Lindsay et al., 1997). Die Präpatenz liegt bei drei bis zehn Tagen. Ein Teil der Merozoiten wandert über Blut- und Lymphgefäße in extraintestinale Organe aus, wo es durch Endodyogenie zur Ausbildung von Gewebezysten kommt. Zu diesen Organen gehören die quergestreifte Muskulatur, die Augen und das Gehirn (Mehlhorn and Piekarski, 2002). Nach der Aufnahme von Oozysten aus der Umwelt wandern die Parasitenstadien zunächst in extraintestinale Organe der Katze. Von hier aus können dann vereinzelt Stadien wieder zurück in den Darm gelangen, wo es hier erneut zur Merogonie sowie Gamogonie kommt und Oozysten ausgeschieden werden. Im Gegensatz zu der Infektion mit Gewebezysten beträgt hier die Präpatenz 18 - 36 Tage (Lindsay et al., 1997). Mit Katzenkot ausgeschieden Oozysten von *T. gondii* sind sehr resistent gegenüber unterschiedlichen Umweltbedingungen und können im Boden mehrere Monate überdauern. In der akuten Phase der Erkrankung scheidet eine Katze in kurzer mehrere Millionen Oozysten mit dem Kot aus welches zu einer starken Umweltkontamination führt. Vereinzelt wurde beobachtet, dass Katzen, die die Infektion bereits überwunden haben, erneut Oozysten ausscheiden können. Diese erneute Auftreten wird auch als Reshedding bezeichnet (Dubey, 1976a).

Der Zwischenwirt infiziert sich ebenfalls durch die Aufnahme von Gewebezysten oder

Oozysten. Im Zwischenwirt findet nur eine extraintestinale Entwicklung und damit eine ungeschlechtliche Vermehrung statt (Eckert et al., 2005e).

Die Toxoplasmose ist eine Zoonose. Besonders gefährdet sind Frauen in der Schwangerschaft und immungeschwächte Personen. Eine Erstinfektion mit *T. gondii* in der Schwangerschaft kann zu einer kongenitalen Toxoplasmose führen, die eine schwere Schädigung des Fetus zur Folge haben kann oder auch zum Absterben führen kann (Montoya and Liesenfeld, 2004). Bei immungeschwächten Menschen wie zum Beispiel AIDS-Patienten ohne entsprechende anti-retrovirale Medikation kommt es häufig zu einer zerebralen Toxoplasmose (Eckert et al., 2005e). Oozysten, die mit dem Kot von Katzen ausgeschieden werden, können zum Beispiel durch den Regen ausgeschwemmt werden und so über das Oberflächenwasser auf landwirtschaftlichen Nutzflächen oder Gärten verteilt werden (Tenter et al., 2000). Dadurch können erdnah angebautes Gemüse oder Obst verunreinigt sein und beim rohen Verzehr zu einer Infektionsquelle für den Menschen werden (Kapperud et al., 1996). Da viele Säugetiere als Zwischenwirte fungieren können, besteht eine weitere Infektionsquelle in dem Verzehr von nicht durchgegartem oder rohem Fleisch unserer Nutztiere.

In Kotuntersuchungen von Katzen auf Endoparasiten wurden 7,0 % der Tiere positiv auf Kokzidien getestet, davon entsprachen 0,8 % dem Oozysten-Typ von *T. gondii*/*Hammondia hammondi* (Barutzki and Schaper, 2011). Die Vorgängerstudie der Arbeitsgruppe im Zeitraum von 1999 - 2002 lieferte ähnliche Ergebnisse, 6,7 % positiv für Kokzidien davon 0,9 % *T. gondii* (Barutzki and Schaper, 2003). Im Zeitraum von Oktober 2004 bis November 2006 wurden Kotproben von Katzen aus Deutschland und anderen europäischen Ländern untersucht. Kotproben vom Oozysten-Typ *T. gondii*/*H. hammondi* wurden zur Differenzierung weiter molekularbiologisch untersucht. Danach waren 22 Katzen (0,11 %) aus Deutschland, ein Tier jeweils aus Österreich (0,1 %) und der Schweiz (20 %) und zwei Katzen aus Frankreich (0,23 %) positiv für *T. gondii* (Schaes et al., 2008). In einer weiteren groß angelegten Untersuchung von Kotproben von Katzen in Deutschland wurden in einem Zeitraum von Juni 2007 bis Dezember 2008 18259 Proben untersucht. Davon konnten 105 Tiere positiv getestet werden. *T. gondii*-ähnliche Oozysten wurden zur Abgrenzung gegenüber *H. hammondi* weiter molekularbiologisch untersucht. Bei 46 (44 %) der 105 Proben wurde schließlich *T. gondii* und bei 34 (32 %) *H. hammondi* diagnostiziert (Herrmann et al., 2010). Bei einem anderen Projekt wurde von 252 Katzen (44 Wildfänge, 171 Hauskatzen und 37 Katzen mit gastrointestinalen Symptomen) ebenfalls Kotproben untersucht und anschließend gefundene Zysten via PCR identifiziert. Eine Katze war positiv für *T. gondii* (Berger-Schoch et al., 2011).

Rückführend auf das Fressverhalten wird auch eine Verbreitung von *T. gondii* bei anderen Caniden bzw. Wildtieren untersucht, auch wenn ausschließlich die Feliden definitive Endwirte sind (Wolfe et al., 2001). Dazu gibt es von verschiedenen Arbeitsgruppen weiterführende Untersuchungen. In einer Studie in Österreich wurde Serum von Füchsen sowie Hunden auf das Vorhandensein von Antikörpern gegen *T. gondii* untersucht. Demnach wurde bei 26 % der Hunde und bei 34 % der Füchse Antikörper nachgewiesen (Wanha et al., 2005).

2.2.2 Sarcocystidae

Zur Familie der Sarcocystidae gehören unter anderem die Gattungen *Sarcocystis* und *Frenkelia*. Diese Familie gehört wie auch die Familie der Toxoplasmatidae zum Stamm der Alveolata, Unterstamm der Apicomplexa und ist zur Klasse der Kokzidien zuzuordnen (Eckert et al., 2005b).

Der Lebenszyklus der Sarcocystidae umfasst obligatorisch zwei Wirte (Dubey, 1976b). Zu den Endwirten gehören die Karnivoren und Omnivoren, die sich durch Aufnahme von Zysten aus dem Zwischenwirt infizieren. Als Zwischenwirte gelten herbivore und omnivore Tiere

(Dubey, 1976b). Im Zwischenwirt kommt es zur Ausbildung von gekammerten Zysten, die auch als „Mieschersche Schläuche“ bezeichnet werden. Die Oozysten, die vom Endwirt ausgeschieden werden, bestehen aus je zwei Sporozysten mit je vier Sporozoiten, jedoch reißt häufig die Oozystenwand und es werden mit dem Kot vor allem freie Sporozysten ausgeschieden (Eckert et al., 2005b). Generell lässt sich beobachten, dass die Spezifität zum Zwischenwirt eng ist und sich in der Regel auf eine Spezies beschränkt, hingegen die Spezies der Endwirte innerhalb einer Gruppe verwandter Spezies (z.B. verschiedene Caniden) variieren kann. Im Endwirt kommt es nach Aufnahme von Zysten aus dem Zwischenwirt zu einem Befall der Dünndarmzellen in der Lamina propria mit Bradyzoiten. Es folgt direkt eine Entwicklung der Bradyzoiten zu Gamonten, das heißt es ist hier keine ungeschlechtliche Vermehrung vorgeschaltet. Nach Gamogonie und Sporogonie werden die sporulierten Oozysten aus der Mukosa freigesetzt sowie mit dem Kot ausgeschieden. Die Oozysten haben eine Größe von 13-16 µm × 8-11 µm (More et al., 2016). Die Zwischenwirte nehmen die ausgeschiedenen Oozysten bzw. Sporozysten mit kontaminierten Futter oder Wasser auf. Die Sporozoiten gelangen durch die Darmwand in Endothelzellen von Arteriolen/Arterien im Darm, Mesenteriallymphknoten, Nieren und anderen Organen. Es folgen zwei Merogonien. Die Merozoiten aus der zweiten Generation durchlaufen eine weitere Merogonie, die meist in monokleären Blutzellen stattfinden. Schließlich wird meist die quergestreifte Muskulatur befallen, wo sich eine parasitophore Vakuole (=PV) ausbildet und die Gewebezysten entstehen. Neben der muskulären Lokalisation kann es auch zu einem Befall und Ausbildung im ZNS oder in den Purkinje-Fasern des Herzens kommen (Eckert et al., 2005b). Die jeweilige Lokalisation ist dabei typisch für die spezifische Parasitenspezies.

Eine weitere Gattung, die mit zu den Sarcocystidae gehört und häufig von der Nomenklatur auch zu den Sarcocysten gezählt wird, sind die Frenkelien. Molekulare Analysen der ribosomalen rRNA Gensequenzen legen nahe, dass die Gattung *Frenkelia* innerhalb der Gattung *Sarcocystis* entstanden ist und *Sarcocystis* daher polyphyletisch ist und *Frenkelia* umfassen sollte (Elsheikha et al., 2005; Mugridge et al., 1999). Frenkelien kommen nur in den Gehirnen von Kleinnagern oder Kaninchen vor. *Frenkelia glareoli* wurde das erste Mal in einer Rötelmaus beschrieben (Rommel and Krampitz, 1975). Der Endwirt in diesem Lebenszyklus stellt der Bussard dar, der die Oozysten ausscheidet, die von Wildnagern dann aus der Umwelt aufgenommen werden (Geisel et al., 1978). Zwei primär vorkommende Arten sind in Europa vertreten, *F. glareoli* in der Rötelmaus und *F. microti* in Wühlern der Gattung *Microtus* (Tadros and Laarman, 1982). In der Regel erkrankt der Endwirt nicht und beim Zwischenwirt wird gegebenenfalls eine gesteigerte Diurese beobachtet.

In den beiden großen Studien von Barutzki und Schaper zu Endoparasiten bei Hunden und Katzen in Deutschland konnten *Sarcocystis* spp. in 2,9% (Jahre 1999-2002) und 2,2% (Jahre 2003-2010) der Hunde bzw. 0,6 % und 0,3% der Katzen nachgewiesen werden (Barutzki and Schaper, 2003, 2011). Der Nachweis im Kot lässt aber keine weitere Artzuordnung zu, so dass diese erst durch molekularbiologische Untersuchungen von Sporozysten aus dem Kot oder entsprechenden Veränderungen im Gewebe erfolgen kann.

2.3 Zestoden

In der Klasse der Zestoden ist primär die Unterklasse Eucestoda von medizinischem Interesse. Die Erreger sind an Infektionen von verschiedenen Wirbeltieren (u. a. Säugetiere, Amphibien, Fische) und des Menschen beteiligt, wobei von sowohl von einzelnen Larvalstadien der Zestoden als auch adulten Würmern bestimmter Arten ein zoonotisches Potential ausgeht. Zu den Hauptkennzeichen dieser Klasse gehört der dorsoventral, abgeplattete, bandförmige Körper. Der Bandwurm besteht aus mehreren Gliedern, den Proglottiden und dem Scolex (Kopf). Der Scolex kann von unterschiedlicher Ausprägung sein und Saugnäpfe oder Sauggruben besitzen sowie einen rüsselartigen Fortsatz, dieser ist bei

einigen Spezies mit kleinen Häkchen bewaffnet, der Hakenkranz wird dann als Rostellum bezeichnet. Je nach Spezies, kann ein adulter Zestode eine Länge von wenigen Millimetern bis hin zu 25 m erreichen. Ein Verdauungstrakt fehlt, die Nährstoffaufnahme erfolgt ausschließlich über die Körperoberfläche. Die Geschlechtsorgane sind meistens zwitterig angelegt, nur selten getrennt geschlechtlich und pro Proglottide gibt es ein bis zwei Sätze von männlichen sowie weiblichen Geschlechtsorganen. Der Entwicklungszyklus verläuft diheteroxen oder triheteroxen mit ein bis zwei Zwischenwirten. Im adulten Stadium parasitieren die Bandwürmer im Dünndarm, vereinzelt aber auch in den Gallengängen. Hingegen werden im Zwischenwirt verschiedene Organsysteme befallen (Eckert et al., 2005c).

2.3.1 *Mesocestoides litteratus*

Die adulten Bandwürmer der Gattung *Mesocestoides* leben im Dünndarm von Karnivoren (Loos-Frank, 1981), gelegentlich Vögeln und des Menschen. In Europa wurden sieben verschiedene Spezies der Gattung *Mesocestoides* dokumentiert. Primär treten Erkrankungen mit *M. lineatus* und *M. litteratus* auf (Priemer, 1983). In einer Studie zum Parasitismus der verschiedenen *Mesocestoides* Spezies beim Rotfuchs wurde ein häufigeres Auftreten von *M. litteratus* im Gegensatz zu *M. lineatus* verzeichnet (Hrckova et al., 2011). Sie können eine Körperlänge von 20 bis teilweise 80 cm erreichen. Der Scolex der Mesocestoiden besitzt vier Saugnäpfe ohne Rostellum. Eine gravid Proglottide ist tonnenförmig und weist das charakteristische Parauterinorgan auf. Der Genitalporus liegt hier ventromedian. Die vom Endwirt ausgeschiedenen Eier sind dünnchalig, enthalten eine Oncosphäre genannte Larve und haben eine Größe von 25 - 45 × 29 - 34 µm. Als Tetrahydrien werden die infektiösen Larvenstadien von Mesocestoiden im Zwischenwirt bezeichnet (Etges, 1991). Sie sind von länglicher oder ovaler Gestalt. Am Vorderende befinden sich vier eingestülpte Saugnäpfe. Insgesamt variiert die Größe der Tetrahydrien zwischen zwei und 70 µm (Eckert et al., 2005a).

Bei der Entwicklung wird ein 3-wirtiger Zyklus mit zwei Zwischenwirten angenommen (Rausch, 1994). Arthropoden werden als erste Zwischenwirte vermutet, unter anderem die Moosmilbe, dies ist aber noch nicht hinreichend bewiesen. Das zweite Larvenstadium zeigt eine niedrige Wirtsspezifität. Aus diesem Grund können zahlreiche Säugetiere, Vögel und Reptilien zu den Zwischenwirten gezählt werden (Specht and Voge, 1965). In ihnen werden die Tetrahydrien in serösen Körperhöhlen, in Form von subpleuralen Zysten oder in Organen wie Lunge und Leber gefunden (Chertkova, 1978). Werden die Zwischenwirte mit reifen Tetrahydrien von empfänglichen Endwirten gefressen, erfolgt im Dünndarm der Endwirte die Entwicklung zu adulten Bandwürmern. Die Präpatenz bei *M. litteratus* liegt bei zwei bis drei Wochen. Zum Teil durchdringen *per os* aufgenommene Tetrahydrien die Darmwand und lagern sich in der Leibeshöhle ein sowie an inneren Organen an (Eckert et al., 2005a).

Selbst ein starker Befall mit *Mesocestoides* im Endwirt verläuft in der Regel symptomlos. Gelegentlich können dabei Symptome wie Inappetenz, Durchfall oder schleimiger Kot auftreten. Bei einer Infektion mit Tetrahydrien bei Hunden und Katzen kann es zur Anorexie, Peritonitis, Aszites, Leukozytose, Gewebeerstörung oder Granulombildung kommen. Die Diagnosestellung einer patenten Infektion erfolgt über den Nachweis der Proglottiden im Kot, Eier findet man nur selten. Bei Befall von inneren Organen mit Larvenstadien gelingt in manchen Fällen eine Aspiration von Tetrahydrien aus dem Abdomen, die dann molekularbiologisch weiter untersucht werden können. In der Regel werden die Tetrahydrien *post mortem* nachgewiesen (Eckert et al., 2005a).

Von den beiden wichtigsten in Europa vorkommenden Spezies tritt *M. litteratus* häufiger auf als *M. lineatus* (Loos-Frank, 1980). Die Prävalenz in Rotfüchsen liegt in Deutschland bei über 70 % mit regionalen Schwankungen. Katzen und Hunde sind deutlich weniger befallen (Eckert J., 2005a). Dies zeigt sich auch in zwei groß angelegten Untersuchungen von

Kotproben von Hunden und Katzen in den Jahren 1999 - 2002 sowie 2003 - 2010, in denen *Mesocestoides* spp. nachgewiesen werden konnten. In der ersten Studie lag der Prozentsatz bei Hunden unter einem Prozent und in der zweiten Folgestudie unter 0,1 %. Bei Katzen wurden bei der ersten Untersuchung keine Mesocestoiden gefunden und in den Jahren 2003 - 2010 lag die Häufigkeit unter 0,1 % (Barutzki and Schaper, 2003, 2011).

2.4 Wildnager

An den vier verschiedenen Standorten konnten insgesamt sechs verschiedene Mäusespezies gefangen werden. Generell lassen sich die hier gefangenen Tiere in zwei Familien aufteilen, die echten Mäuse (Muridae) und die Wühlmäuse (Cricetidae). Die echten Mäuse sind meist klein vom Körperbau, sind dunkel gefärbt und besitzen große Augen sowie große Ohren. Manche Tiere zeigen eine auffällige Fellzeichnung. Die Schwänze der echten Mäuse sind lang, beschuppt und wirken nackt. Von den gefangenen Mäusen gehören die der Gattung *Apodemus* zu den echten Mäusen (Grimmberg and Rudolff, 2009). Die Gattungen *Myodes* und *Microtus* sind den Wühlmäusen zuzuordnen. Sie zeichnen sich durch eine plumper wirkende Körperform im Vergleich zu den echten Mäusen aus. Sie besitzen einen kürzeren, behaarten Schwanz und entsprechend ihrer Lebensweise ein schlechteres Seh- und Riechvermögen. Alle Wildnager sind im nachfolgenden Abschnitt bezüglich ihrer Morphologie, ihres Verhaltens und ihres Lebensraums kurz beschrieben (Jenrich et al., 2010).

Ordnung: Nagetiere (Rodentia)

Unterordnung: Mäuseverwandte (Myomorpha)

Überfamilie: Mäuseartige (Muroidea)

Familie: Hamster-/Wühlmausartige (Cricetidae) / Ratten-Mäuseartige, Echte Mäuse (Muridae)

Unterfamilie: Wühlmäuse & Lemminge (Arvicolinae) / Echte Mäuse & Ratten (Murinae)

2.4.1 *Apodemus flavicollis* (Gelbhalsmaus)

Die Gelbhalsmaus hat eine Körperlänge von 65 - 120 mm und eine Schwanzlänge von 65 - 130 mm. Das Gewicht einer adulten Gelbhalsmaus liegt zwischen 26 und 36 g (Jenrich et al., 2010). Das Fell des Rückens und der Flanken ist rotbraun gefärbt. Zur weißen Körperunterseite besteht eine eindeutige farbliche Trennung (Kraft, 2008). Namensgebend ist das an der Unterseite befindliche ockergelbe Brustband (Jenrich et al., 2010). Die Gelbhalsmaus kann anhand einiger Merkmale von der Waldmaus unterschieden werden. Dazu gehören neben dem größeren Hinterfuß, die Fellfärbung und die reinweiße Körperunterseite der Waldmaus (Flowerdew, 1984). Eine Kreuzung zwischen Gelbhalsmaus und Waldmaus ist nicht möglich (Jenrich et al., 2010). Beiden Mäusespezies können parallel in einem Lebensraum auftreten, jedoch dominiert die Gelbhalsmaus die Waldmaus (Marsh and Montgomery, 2008). Sie zeigt ihr gegenüber aggressives Verhalten. Ein ähnliches Verhalten wurde bei andern Mäusespezies, wie z. B. der Brandmaus gegenüber der Rötelmaus, beobachtet.

Die Gelbhalsmaus lebt vorwiegend in Wäldern mit deckungsreicher Baumschicht, wenig Laubstreuaufgabe und geringer Krautschicht. Diese Wälder sind vorzugsweise Buchen- und Eichenwälder (Jenrich et al., 2010). Sie bevorzugt einen strukturreichen Unterwuchs. Hohe Populationsdichten dieser Spezies treten bei heterogenen Landschaften auf (Jenrich et al., 2010). Diese sind charakterisiert durch Flächen mit Waldanteilen, Feldgehölzen, Hecken in Abwechslung mit kleinen Feldern und Wiesen.

Diese Mäusespezies ist dämmerungs- und nachtaktiv. Ein ausgewachsenes Männchen hat

einen Aktionsraum von durchschnittlich 1,55 ha. Hingegen bewegt sich ein ausgewachsenes Weibchen in einem Aktionsraum von nur 0,74 ha (Jenrich et al., 2010). Die Weibchen verteidigen ihr Revier gegenüber gleichgeschlechtlichen Artgenossen (Marsh and Montgomery, 2008). Der Mäusebau wird unterhalb von Baumstämmen, Steinen und Wurzeln angelegt und die Gangsysteme können eine Tiefe von bis zu 1,5 m aufweisen (Jenrich et al., 2010).

Der Fortpflanzungszeitraum erstreckt sich von Februar bis September. In dieser Zeit kann ein Weibchen zwei bis drei Würfe mit je fünf bis sieben Jungtieren haben. Die Jungtiere werden nackt und blind geboren (Jenrich et al., 2010).

Zum Nahrungsspektrum der Gelbhalsmaus gehören Pollen und Nektar von Blüten sowie Baum-, Getreide- und Grassamen, Pilze und Beeren. Neben diesen pflanzlichen Komponenten werden auch Insekten, Regenwürmer, Spinnen, Schnecken und kleinere Wirbeltiere wie Fledermäuse und Jungvögel gefressen (Jenrich et al., 2010).

2.4.2 *Apodemus sylvaticus* (Waldmaus)

Die Waldmaus zeigt eine graubraune Fellfärbung. Die Körperunterseite ist im Gegensatz zur Gelbhalsmaus von einer grauweißen Farbe und zeigt einen variablen ockergelben Brustfleck. Sie können eine Körperlänge von 110 mm erreichen. Der Schwanz hat eine Länge von 53 – 110 mm. Es wird ein Gewicht von 13 - 44 g erreicht (Jenrich et al., 2010).

Entgegen ihres Namens ist die Waldmaus keine auf Wälder beschränkte Art (Jenrich et al., 2010). Diese Spezies zeichnet sich durch eine hohe Anpassungsfähigkeit aus und wird aus diesem Grund auch als Pionierart bezeichnet (Quéré and Le Louran, 2011). Während des Frühjahres lebt sie entlang von Gebüschstreifen und in Feldern. Zum Herbst hin zieht sie sich dann in den Wald zurück. Waldmäuse können aber auch in menschlichen Behausungen überwintern (Jenrich et al., 2010). Ihr Lebensraum ist gekennzeichnet durch offene Kraut- und Strauchschichten sowie dichte Unterhölzer (Quéré and Le Louran, 2011). Die Waldmaus ist häufig in Laub- und Mischwäldern, entlang von Ackerflächen und in Feuchtgebieten anzutreffen. Hingegen findet man diese Mäusespezies nur selten in geschlossenen Waldflächen (Jenrich et al., 2010).

In der Regel ist die Waldmaus wie auch die Gelbhalsmaus dämmerungs- bzw. nachtaktiv (Jenrich et al., 2010). Abhängig von der Jahreszeit, Nahrungsangeboten, Geschlecht und Reproduktionszustand kann sie aber unregelmäßig tagaktiv sein (Quéré and Le Louran, 2011). Ein ausgewachsenes Männchen besiedelt einen Lebensraum von 0,18-0,31 ha, vergleichend ein Weibchen 0,01 - 0,21 ha (Flowerdew, 1984). Die Weibchen verteidigen während der Fortpflanzungszeit ihr Revier und meiden auch sonst ihre Artgenossen. Der Bau der Waldmaus liegt ober- oder unterirdisch, hier werden morsche Hölzer und Vogelnester bevorzugt. Die oberirdische Bauweise wird jedoch nur bei höheren Laubdichten beobachtet. Die Erdbauten erreichen eine Tiefe von bis zu 50 cm (Jenrich et al., 2010). Die Nester werden mit Moosen, Laub und Gras isoliert. Die Schwanzautotomie stellt einen besonderen Schutzmechanismus der Waldmäuse dar. Wird eine Waldmaus durch einen Fressfeind am Schwanz erfasst, löst sich die Schwanzhaut relativ leicht von der knöchernen Unterlage und ermöglicht dem Tier so eine erneute Flucht (Quéré and Le Louran, 2011).

In der Zeit von März bis September kann eine Waldmaus zwei bis drei Würfe haben mit bis zu acht Jungtieren. Ein durchschnittlicher Wurf besteht aus fünf bis sechs Jungtieren (Jenrich et al., 2010). Häufig kommen hohe Populationsdichten mit großen Schwankungen vor, die durch das starke Wanderverhalten der Waldmaus begründet werden (Quéré and Le Louran, 2011).

Allgemein gelten Waldmäuse als Samenfresser, zeigen aber auch hier eine hohe Anpassungsfähigkeit und werden auch als Allesfresser bezeichnet (Quéré and Le Louran,

2011). Zu den Hauptnahrungsgrundlagen gehören Samen von Gräsern oder Kräutern, junge Pflanzentriebe und Stängel, Wurzeln, Beeren und Obst. Besonders beliebt sind die Fruchtkörper von Moosen. Neben diesen pflanzlichen Nahrungsbestandteilen werden auch Insekten, Schnecken und Regenwürmer gefressen (Jenrich et al., 2010).

2.4.3 *Apodemus agrarius* (Brandmaus)

Eine weitere gefangene Mausart ist die Brandmaus. Der Körperrumpflänge variiert zwischen 107 und 126 mm. Der Schwanz hat eine Länge von 68 - 85 mm. Eine ausgewachsene Brandmaus kann ein Gewicht von 45 g erreichen. Das Fell hat eine bräunliche Farbe, im Winter auch ins graubraune übergehend. Die Körperunterseite ist weiß bis gräulich gefärbt. Charakteristisch für diese Mäusespezies ist der schwarze Aalstrich, der sich vom Hinterkopf bis zum Schwanzansatz erstreckt.

Die Brandmaus bevorzugt als Lebensraum deckungsreiche Biotope, Feuchtgebiete oder Lebensräume in unmittelbarer Nähe zu Gewässern. So ist sie in verkrauteten Waldrändern, Gärtnereien oder Parkanlagen heimisch.

Ihre Aktivitätsphasen erstrecken sich sowohl über den Tag als auch die Nacht. Generell gilt die Brandmaus als einzelgängerisch. Die Geschlechter treffen in der Regel nur in der Paarungszeit aufeinander. Die Fortpflanzungszeit der Brandmaus ist von April bis September. In dieser Zeit kann ein Weibchen zwei bis fünf Würfe mit je drei bis sechs Jungtieren zur Welt bringen.

Brandmäuse ernähren sich von Wurzeln, Sämereien, Waldfrüchten, Gräsern und Kräutern. Sie ist aber ebenfalls als Allesfresser bekannt, entsprechend werden auch Insekten, Larven, Schnecken oder Spinnentiere gefressen.

2.4.4 *Myodes glareolus* (Rötelmaus)

Die Rötelmaus zeigt ihrem Namen entsprechend eine rötliche Fellfärbung mit gräulichen Flanken. Die Unterseite des Körpers wirkt hell mit einem gelblichen Farbton. Rötelmäuse erreichen eine Größe von 70 - 130 mm. Der Hinterfuß hat eine Länge von 16 - 20 mm. Der Schwanz ist im Gegensatz zu anderen Spezies wie die Gelbhalsmaus deutlich kürzer im Vergleich zur Körper-Rumpf-Länge und misst 35 - 70 mm (Jenrich et al., 2010). Außerdem befindet sich am Ende des zweifarbigen (oben dunkleren) Schwanzes ein Schwanzpinsel (Quéré and Le Louran, 2011).

Als Lebensraum bevorzugt die Rötelmaus Laub- und Mischwälder mit einer gut entwickelten Kraut- und Strauchschicht (Jenrich et al., 2010) sowie Wälder mit nassen, feuchten Böden (Kraft, 2008). Häufig sind diese Tiere auch an Waldrändern und Lichtungen mit dichter, niedriger und geschlossener Vegetation zu finden.

Die Aktivität der Rötelmaus beschränkt sich primär auf die Nacht, jedoch ist sie im Winter oder bei einer hohen Dichte an Gelbhalsmäusen auch tagsüber aktiv (Stehr, 1982). Die Reviergröße variiert in Abhängigkeit von mehreren Faktoren wie Nahrungsverfügbarkeit, Jahreszeit, Geschlechtsreife, Populationsdichte oder anderen Mäusespezies im Lebensraum. Die Nester werden wenige Zentimeter über der Oberfläche bis hin zu einer Tiefe von 45 cm unter die Erdoberfläche gebaut. Häufig findet man die Nester auch in wenigen Zentimetern Höhe in Baumstümpfen oder im Gestrüpp (Stehr, 1982). Zusätzlich werden die Nester mit Moosen, Bastfasern und getrockneten Blättern befüllt.

In Abhängigkeit von den Umwelteinflüssen ist der Fortpflanzungszeitraum auf Februar bis Oktober begrenzt. Eine Rötelmaus kann pro Jahr drei bis vier Würfe großziehen. Ein Wurf besteht im Durchschnitt aus zwei bis sechs Jungtieren (Jenrich et al., 2010).

Das Nahrungsspektrum der Rötelmaus ist relativ weit gefächert. Je nach Nahrungsangebot

frisst sie Keimlinge, Gräser und Kräuter sowie Moose, Pilze, Rinde, Früchte und Samen (Stehr, 1982). Genauso wie andere Mäusespezies werden kleinere Insekten und deren Larvenstadien gefressen.

2.4.5 *Microtus arvalis* (Feldmaus)

Eine ausgewachsene Feldmaus kann ein Gewicht von 40 g erreichen, Die Körperrumpflänge beträgt dabei bis zu 120 mm. Der Schwanzlänge liegt bei 35 - 40 mm. Die Fellfarbe variiert in Abhängigkeit von der Jahreszeit und dem Lebensraum zwischen einem Braunton und braungraue Farbschläge mit gelblichen Elementen. Die Körperunterseite ist grauweiß gefärbt. Innerhalb der Gattung der Wühlmäuse besitzen die Erdmäuse große Augen und Ohren. Diese liegen auch nicht im Fell verborgen (Jenrich et al., 2010).

Als Lebensraum bevorzugt die Feldmaus Brachflächen mit tiefgründigen Böden, Böschungen, Heckenstreifen sowie bewachsene Feldwege, aber auch auf landwirtschaftlichen Nutzungsflächen ist sie zu finden. Im Gegensatz zu den Erdmäusen meiden sie sehr feuchte Gebiete. Feldmaus und Erdmaus können jedoch auch beide in einem Lebensraum vorkommen, wobei die Feldmaus die Gebiete mit niedrigen Gräsern bevorzugt (Jenrich et al., 2010).

Durch eine hohe Stoffwechselrate liegt ein großer Nahrungsbedarf vor. Um diesen zu decken, muss die Feldmaus häufig auf Nahrungssuche gehen. Dies führt dazu, dass die Feldmaus einen regelmäßigen Rhythmus in ihren Aktivitätsphasen besitzt und im Durchschnitt alle zwei Stunden den Bau verlässt. Der Bau wird in frische bis trockene Böden mit tief liegendem Grundwasserspiegel gebaut. Oberirdische Gänge sind mit unterirdischen verbunden und es bildet sich ein großes Netz von Gangsystemen aus. Die Nester werden unter der Erdoberfläche angelegt und mit Gräsern ausgepolstert (Jenrich et al., 2010). Die Reviergröße ist sehr variabel (Meylan, 1995). Außerdem neigt die Feldmaus dazu schnell neue Gebiete und Lebensräume zu erobern (Quéré and Le Louran, 2011).

Die Fortpflanzungszeit beginnt im März/April. Ein Feldmausweibchen kann zwei bis drei Würfe mit je drei bis acht Jungtieren zur Welt bringen. Zum Teil werden der Bau und das Nest von mehreren Weibchen parallel genutzt, so dass große Gemeinschaftsnester entstehen. Durch diese große innerartliche Toleranz können schnell hohe Populationsdichten erreicht werden (Jenrich et al., 2010).

Die Feldmaus ernährt sich rein pflanzlich. Je nach Verfügbarkeit im Lebensraum ernährt sie sich von Gräsern und Kräutern mit einer Vorliebe für Löwenzahn sowie Klee. Im Winter werden auch Samen, Rinden und unterirdischen Pflanzen gefressen (Jenrich et al., 2010).

2.4.6 *Microtus agrestis* (Erdmaus)

In die gleiche Gattung wie *Microtus arvalis* gehört die Erdmaus. Sie erreicht eine Körperrumpflänge von 97 - 111 mm. Der Schwanz hat eine Länge von 30 - 42 mm. Die Mäuse dieser Spezies erreichen ein Gewicht von 22 - 55 g (Jenrich et al., 2010). Insgesamt hat die Erdmaus eine typische Wühlmausgestalt mit breitem Kopf, stumpfer Schnauze und kurzem Schwanz (Krapp and Nitehammer, 1982). Die Fellfarbe ist weitestgehend braun, die Körperunterseite ist weiß mit einem leichten gelben Farbton (Jenrich et al., 2010).

Der Lebensraum sollte eine dichte Kraut- und Strauchschicht aufweisen. Die Erdmaus hat einen relativ hohen Wasserbedarf. Aus diesem Grund werden Standorte mit einem hohen Feuchtigkeitsgehalt bevorzugt (Jenrich et al., 2010). So findet man diese Spezies vorwiegend in ungemähten, bodenfeuchten Wiesen, Mooregebieten, Gräben und Waldlichtungen (Kraft, 2008). Oft leben Erdmaus und Feldmaus parallel im gleichen Lebensraum, wobei die Erdmaus eher Standorte mit hohen Gräsern besiedelt (Jenrich et al., 2010).

Im Gegensatz zu anderen Mäusespezies zeigt die Erdmaus auch über den Tag verteilt mehrere Aktivitätsphasen, jedoch überwiegt insgesamt immer noch die Nachtaktivität. Des Weiteren sind die Aktivitätsphasen abhängig vom Nahrungsangebot (Quéré and Le Louran, 2011). Die Größe der Reviere ist abhängig vom Geschlecht, der sexuellen Aktivität und der Populationsdichte. Männchen besiedeln ein deutlich größeres Gebiet und zeigen auch eher eine Abwanderung in andere Gebiete im Vergleich zu Weibchen. Während der Paarungszeit werden die Reviere aggressiv gegen andere Artgenossen verteidigt (Jenrich et al., 2010). Die Nester der Erdmäuse werden abhängig von der Bodenfeuchte ober- oder unterirdisch angelegt. Bei sehr feuchten Bodenverhältnissen werden die Nester ausschließlich oberirdisch angelegt (Jenrich et al., 2010).

Eine Erdmaus kann je nach Jahreszeit und Alter einen Wurf von zwei bis acht Jungtieren gebären. Die Tragzeit beträgt drei Wochen. Die Weibchen können nach der Geburt direkt wieder neu gedeckt werden. So kommt es häufig im Sommer zu bis zu vier Generationen (Quéré and Le Louran, 2011). Durch diese hohen Reproduktionsraten sind hohe Populationsdichten von bis zu 300 Tieren pro Hektar möglich. Solche hohen Populationsdichten limitieren sich weitestgehend selber durch verknappende Nahrungsangebote, Krankheiten und innerartlichen Stress (Jenrich et al., 2010).

Die Nahrung der Erdmaus besteht aus rein pflanzlichen Bestandteilen. Es werden grüne Teile von Pflanzen, Setzlinge und Samen gefressen. Bei mangelndem Nahrungsangebot wird auf Wurzeln und Rinden zurückgegriffen (Jenrich et al., 2010).

III. Material und Methoden

3.1 Materialien

3.1.1 Puffer und Lösungen

1 %, 1,5 % Agarosegele	1 % und 1,5 % Agarose in 1×TAE Puffer in der Mikrowelle aufkochen bis sich die Agarose vollständig aufgelöst hat. Die Flaschen werden danach dauerhaft in einem Wasserbad bei 60 °C gehalten, um ein Gelieren der Agarose zu verhindern. Vor der Befüllung einer Gelkammer zur Gelelektrophorese wird 1 µl GRGreen pro 10 ml Agarose zugesetzt.
Ladungspuffer für Agarosegele (6 × Loading Dye)	10 mM Tris-HCl (pH 7,6), 60 % Glycerol, 0,03 % Bromphenolblau, 60 mM EDTA)
TAE-Puffer 50 x	242 g Tris, 100 ml 0,5 M EDTA (pH 8), 57 ml Essigsäure, ad 1000 ml Aqua bidest
TAE-Puffer 1x	TAE Puffer 50fach verdünnt in Aqua bidest

Tab.1: Auflistung und Zusammensetzung der benutzten Puffer und Lösungen

3.1.2 Medien und Organismen

Lysogeny Broth-Medium (LB-Medium) (ROTH)	25 g/l (entspricht 10 g/l Trypton, 5 g/l Hefeextrakt, 10 g/l NaCl (pH 7), autoklavieren, vor Gebrauch mit Antibiotikum (Kanamycin, 50µg/ml) versetzen
Lysogeny Broth-Agar (LB-Agar) (ROTH)	15 g Bacto™ Agar in 1000 ml LB-Medium anrühren und autoklavieren, vor Gebrauch Antibiotikum (Kanamycin, 50 µl/ml)
<i>Escherichia coli</i> One Shot® Top 10 chemisch kompetente Zellen (INVITROGEN)	F ⁻ <i>mcrA</i> Δ (<i>mrr-hsdRMS-mcrBC</i>) Φ 80 <i>lac</i> ZΔM15 Δ <i>lacX74</i> <i>recA1</i> <i>araD139</i> Δ(<i>ara-leu</i>) 7697 <i>galU galK rpsL</i> (Str ^R) <i>endA1 nupG</i>

Tab. 2: Medien und Mikroorganismen für die Herstellung von Plasmiden

3.1.3 Reagenzien

BAYER AG, Leverkusen, Deutschland

Rompun 2 %

BECTON DICKINSON GmbH, Heidelberg, Deutschland

Bacto™ Agar

BELA-PHARM, Vechta, Deutschland

Ketamin 10 %

Labgene, Châtel-Saint-Denis, Schweiz

GRGreen Nucleic Acid Stain

FERMENTAS, St. Leon-Rot, Deutschland

Gene Ruler 100 bp Ladder, Gene Ruler 1 kb DNA Ladder

LONZA, Allendale, USA

SeaKem® LE Agarose

QIAGEN, Venlo, Niederlande

Q-Solution

ROTH, Karlsruhe, Deutschland

Kanamycinsulfat, LB-Medium, DEPC - Wasser

3.1.4 Enzyme und Primer

THERMO SCIENTIFIC, Waltham, USA

Phusion Hot Start II High Fidelity DNA Polymerase

FERMENTAS, St. Leon-Rot, Deutschland

Enzym *EcoRI*

Primer:

Erreger	Name	Sequenz	Quelle
Toxocarinae	F ITS 1	GGCAAAGTCGTAAC AAGGT	(Ishiwata et al., 2004)
	R ITS1	CTGCAATTCGCACTA TTTATCG	
<i>Toxoplasma gondii</i>	Tox 5 for	CGCTGCAGACACAG TGCATCTGGAT	(Homan et al., 2000)
	Tox 8 rev	CCCAGCTGCGTCTG TCGGGAT	
Kokzidien	Coccidian-ITS-1-COC-1for	AAGTATAAGCTTTTAT ACGGCT	(Ho et al., 1996)
	Coccidian-ITS-1-COC-2rev	CACTGCCACGGTAGT CCAATAAC	
Tetrahydrien	Flatworm-N2	ATCGACATCTTGAAC GCATATTGC	(Gasser and Chilton, 1995)
	Flatworm-NC6rev	TTAGTTTCTTTTCCTC CGCT	

Tab. 3: Primer für die PCR (Erreger, Sequenz, Literaturquelle)

3.1.5 Reaktionskits

BIOZYM, Hessisch-Oldendorf, Deutschland

EasyPre Pro Plasmidisolierung

INVITROGEN, Karlsruhe, Deutschland

Zero Blunt® PCR Cloning Kit

MACHEREY – NAGEL, Düren, Deutschland

NucleoSpin® Tissue

PROMEGA, Mannheim, Deutschland

Maxwell® 16 LEV Blood DNA Kit

ZYMO RESEARCH, Irvine, USA

Zymoclean™ Gel DNA Recovery Kit

3.1.6 Geräte und Instrumente

ANALYTIKJENA, Jena, Deutschland

Tmix Schüttler

BIOMETRA, Göttingen, Deutschland

Power Pack 25

BIORAD, München, Deutschland

S1000™ Thermal Cycler, C1000™ Thermal Cycler, Mini Sub Cell GT, Wide Mini Sub Cell GT, Sub Cell, PowerPac™ Universal

BIOTEK, Bad Friedrichshall, Deutschland

Synergy 4, Epoch

EPPENDORF, Hamburg, Deutschland

Pipetten: 0,5 µl – 10 µl, 10 –100 µl, 100 – 1000 µl, 5000 µl, Zentrifuge 5430 R

HERAEUS, Hanau, Deutschland

Biofuge pico, Thermo Electron Corporation

IKA, Staufen, Deutschland

Vortexer Genius 3

MEMMERT, Schwabach, Deutschland

Wasserbäder, Inkubator

NEOLAB, Berlin, Deutschland

Tischzentrifuge GMC 060

NHBS, Devon, UK

Longworth Trap

OHAUS, Nänikon, Schweiz
Präzisionswaage Discovery

PROMEGA, Mannheim, Deutschland
Maxwell® 16 Research System

SARTORIUS, Göttingen, Deutschland
MC1 Zentrifuge

SHARP, Hamburg, Deutschland
Mikrowelle

SONY, Berlin, Deutschland
Digital Graphic Printer 4P-D897

SYNGENE, Frederick, USA
G:Box

THERMO SCIENTIFIC, Waltham, USA
Max Q 6000

3.1.7 Verbrauchsmaterialien

ALTROMIN, Lage, Deutschland
Nagerpellets

BIOZYM, Hessisch – Oldendorf, Deutschland
10 µl Filtertipps, 100 µl Filtertipps, 1000 µl Filtertipps, PCR Single Cap 8-er Soft-Strips

BRAUN, Melsungen, Deutschland
23 G Kanülen, 24 G Kanülen

HECHT-ASSISTENT, Sondheim/Rhön, Deutschland
50 Elka Objektträger

HENKE SASS WOLF, Tuttlingen, Deutschland
1 ml Soft Ject®, 2 ml Norm Ject

ROTH, Karlsruhe, Deutschland

Skalpellsklingen, Tissue Boxen, Bacillol-Tissue, Parafilm, Autoklavierband, Handschuhe Rotiprotect-Latex

SARSTEDT, Nümbrecht, Deutschland

10 µl Pipettenspitzen, 100 µl Filter Pipettenspitzen, 1000 µl Pipettenspitzen, 15 ml Röhrchen, 50 ml Röhrchen, 120 ml Reaktionsbecher, 0,5 ml Reaktionsgefäße, 1,5 ml Reaktionsgefäße, 2 ml Reaktionsgefäße

3.1.8 Software

Bio Edit	Hall, Carlsbad, USA
Clone Manager 9Professional	Scientific & Educational Software, Cary, USA
End Note X6	Thomson Reuters, San Fransisco, USA
Gene Snap	Syngene, Cambridge, UK
Libre Office	The Document Foundation, Berlin, Deutschland
Microsoft Office	Microsoft, Redmond, USA
NCBI Blast	http://www.ncbi.nlm.nih.gov
OpenEpi	www.openepi.com

Tab. 4: Software

3.2 Methoden

3.2.1 Wildnagerfang

Alle Wildnager wurden in Übereinstimmung mit dem Tierschutzgesetz und der EU-Richtlinie 2010/63/EU gefangen. Das Projekt ist unter der Nummer G-0256/10 bei dem Landesamt für Gesundheit und Soziales (LaGeSo) Berlin registriert. Die Erlaubnis für den Fang und der Euthanasie von geschützten Wildnagern (*A. sylvaticus*, *A. flavicollis*, *A. agrarius*) wurde von der Senatsverwaltung für Stadtentwicklung Berlin nach § 45 Nr.3 „Bundesnaturschutzgesetz“ unter der Referenznummer I E 210(V) – OA – SG / LSG2a/602; OA–AS/G/825 gewährt.

Die Wildnager dieses Projektes wurden an vier verschiedenen Standorten im November 2010 und von April bis November 2011 in Berlin gefangen. Zwei der Standorte (Gatow GPS-Koordinaten: 52.469455, 13.140998 und Tegel GPS-Koordinaten: 52.605857, 13.271460) befanden sich im Stadtrandbereich (periurban) und die anderen beiden Standorte (Moabit GPS-Koordinaten: 52.521426, 13.359520 und Steglitz GPS-Koordinaten 52.453881, 13.302522) lagen direkt in der Stadt (urban).

Bei dem einen periurban liegenden Standort handelte es sich um ein zum Teil stillgelegtes Kasernengelände in Berlin Gatow. Die Mäusefallen wurden dort in einem kleinen Waldstück bestehend aus Laub- und Nadelbäumen aufgestellt. Am Ende des Waldstückes ging das

Fanggebiet in eine Wiesenlandschaft mit hohen Gräsern über. Insgesamt wird dieses Stück der Kaserne kaum betreten, so dass hier die Vegetation weitestgehend naturbelassen ist. Zum Teil wurden hier bei der Kontrolle der Fallen Rehe und Füchse beobachtet.

Der zweite periurban liegende Standort war im Tegeler Forst. Hier wurden die Fallen auf dem Gelände des Forstamtes und im angrenzenden Waldgebiet aufgestellt. Das Forstamt und die dazu gehörigen Lager- bzw. Arbeitshallen lagen auf einem großen Grundstück mit großer Grünflächenanlage umgeben vom angrenzenden Laubwald. Die Fangstrecke im Tegeler Forst lag entlang einer durch den Wald führenden Straße, die primär von Spaziergängern und Radfahrern genutzt wird. Beidseits dieser Straße wurden die Fallen auf einer Länge von 100 Metern im Laubwald und umgebenden Buschwerk ausgebracht.

Der dritte Fangstandort lag mitten in einer Wohnsiedlung im Berliner Stadtteil Moabit. Der Garten befand sich im Hinterhof eines Mehrfamilienhauses. Dieser grenzte an die Gärten und Höfe der benachbarten Wohnhäuser. Die Rasenfläche war von Beeten mit unterschiedlichen Ebenen begrenzt. Aufgrund der geringeren Grundfläche dieses Fanggebietes konnten hier nur 30 Fallen platziert werden.

Das vierte zur Verfügung stehende Fangareal war ein Teil eines Stadtparkes in Berlin. Der Stadtpark liegt in Mitten eines Wohngebietes und ist nur durch die vorgegebenen Eingänge zu betreten. Das Mitführen von Hunden ist dort nicht gestattet. Der Stadtpark bietet unterschiedliche Vegetationen von Wiesen- und Graslandschaften bis hin zu kleineren Waldzügen. Das eigentliche Fanggebiet bestand aus einer größeren Beetanlage mit dichten Unterholz und verschiedenen Laubbäumen, die dann in eine große Rasenfläche überging. Insgesamt war das Gebiet sehr dicht von rankendem Efeu bewachsen. Angrenzend an die Fangstrecke befanden sich mehrerer Gewächshäuser, die zur Aufzucht von verschiedenen Blumen und Gemüsearten genutzt wurden.

Jeder Standort wurde in einem Rhythmus von sechs Wochen befangen. Die Fangwoche begann am Montag und endete donnerstags. Insgesamt wurden pro Standort 50 Longworth Traps (Ausnahme Moabit) aufgestellt. Zusätzlich wurden zehn Rattenfallen aufgestellt. Die Fallen waren befüllt mit Naturbaumwolle als Nistmaterial, Nagerpellets und einem Stück Apfel, um die Futter- und Flüssigkeitsaufnahme über Nacht sicherzustellen. Für jeden Fangort gab es einen speziellen Verteilungsplan für die Ausbringung der Fallen. Bei der Ausbringung der Fallen vor Ort wurden die natürlichen Wanderwege der Wildnager beachtet. Die Fallen wurden Montagabend zwischen 19 und 20 Uhr aufgestellt und über die Nacht geöffnet. Am nächsten Morgen erfolgte die Fallenkontrolle ab sieben Uhr. Alle offen gebliebenen Fallen wurden verschlossen, so dass über den Tag keine Tiere hineinlaufen konnten. Bei geschlossenen Fallen wurde zunächst überprüft, ob sich ein Tier in der Falle befand. War dies der Fall, wurde ein Leinenbeutel über die geöffnete Falle gestülpt und das Tier in den Beutel überführt. Jede gefangene Maus erhielt ein Karteiblatt mit fortlaufender Nummer, auf dem verschiedene Daten des Tieres erfasst wurden. Auf dem Karteiblatt wurden Daten zum Fangort (Datum, Positionsnummer der Falle, Fallnummer) sowie Daten zum gefangenen Wildnager wie Spezies, Alter, Geschlecht, Gewicht, Größe und spätere Sektionsergebnisse notiert. Die Falle wurde für die nächste Nacht wieder mit Watte, Pellets und Apfel aufgefüllt und verschlossen zurückgestellt. Nach Kontrolle aller Fallen wurden die Tiere vor Ort euthanasiert und ersten Proben genommen. Dazu gehörten jeweils die Blutentnahme für die Serumgewinnung, das Anfertigen eines Blutausriches und das erste Absammeln von Ektoparasiten (für eine Parallelstudie).

Am Abend wurden die Fallen wieder geöffnet. Es erfolgten drei aufeinander folgende Fangnächte immer im gleichen Ablaufmodus. Am Donnerstagmorgen wurden die Fallen nach der Kontrolle wieder eingesammelt, um sie in der darauffolgenden Woche zum nächsten Standort zu verbringen. Bei starker Verschmutzung wurden die Fallen im Institut grob gereinigt.

3.2.2 Euthanasie

Die Euthanasie der gefangenen Tiere erfolgte durch zervikale Dislokation in tiefer Sedation. Dazu wurden zunächst die Wildnager aus den Lebendfallen in einen Baumwollbeutel überführt. Zur Sedation wurde eine Injektionslösung aus Ketamin 10% und Rompun (0,1ml:0,1ml) hergestellt. Die Maus wurde im Nackenfell durch den Leinenbeutel fixiert. Dann erfolgte bei geöffnetem Beutel, eine Injektion intraperitoneal, dabei wurden je 0,2 ml der Injektionslösung appliziert. Nach der Applikation wurde der Beutel wieder verschlossen. Nach kurzer Zeit wurde die Tiefe der Sedation anhand des Tiefenschmerzempfindens an der Hinterextremität überprüft. Bei negativer Reflexantwort wurde das Tier durch zervikale Dislokation euthanasiert. Dabei erfolgte eine Fixierung des Tieres hinter dem Okziput mit Hilfe einer 1 ml Spritze und es erfolgte ein ruckartiger starker Zug nach kaudal, leicht nach oben.

3.2.3 Blutentnahme, Blutausstrich und Serumgewinnung

Nach der Euthanasie erfolgte umgehend die Blutentnahme mittels Herzpunktion. Dazu wurde mit einer 2 ml Spritze mit aufgesetzter 23G Kanüle kurz hinter dem Ellenbogen nach craniomedial der Thorax punktiert. Während der Punktion wurde ein Unterdruck in der Spritze erzeugt, so dass bei erfolgreicher Punktion des Herzens das Blut in die Spritze floss. Ein Tropfen des Blutes wurde auf einen Objektträger gegeben, um daraus einen Blutausstrich anzufertigen, der später dann in einem anderen Projekt auf Blutparasiten untersucht werden sollte. Das restliche Blut wurde in ein Serumröhrchen überführt. Zur Gewinnung des Serums aus dem Blut wurden die Röhrchen bei 3000×g für fünf Minuten zentrifugiert. Das abgesetzte Serum wurde mit einer Pipette aufgezogen und bis zur Verwendung bei -80 °C eingefroren. Der verbleibende Blutkuchen wurde ebenfalls asserviert.

Alle weiteren Untersuchungen fanden im Institut für Parasitologie und Tropenveterinärmedizin statt. Für den Transport wurde jeder Nager in einen nummerierten Plastikbeutel verpackt und auf Heizkissen gelagert in einer Styroporbox ins Institut gebracht.

3.2.4 Untersuchung und Sektion der Wildnager

Die weiterführende Untersuchung begann mit der Durchmusterung der Tiere auf Ektoparasiten unter einem Stereomikroskop. Dabei wurden die Mäuse durchgehend auf Heizkissen gelagert. Die gefundenen Ektoparasiten wurden in Eppendorfgefäße mit 70%-igem Alkohol überführt und asserviert. Lebende freilaufende Zecken auf den Tieren oder im zugehörigen Plastikbeutel wurden in ein kleines Gläschen umgesetzt, das mit Gaze und einem luftdurchlässigen Deckel verschlossen wurde. Nach Abschluss dieses Untersuchungsschrittes erfolgte eine komplette Vermessung der Tiere. Dazu gehörten ebenfalls die Bestimmung der Mäusespezies, des Geschlechtes und die Feststellung des Gewichtes.

Zur Sektion wurden die Tiere in Rückenlage verbracht und an den ausgestreckten Gliedmaßen auf einer Styroporplatte mit Stecknadeln befestigt. Die Eröffnung des Tierkörpers erfolgte mit einer Schere entlang der *Linea alba* vom Beckeneingang ausgehend bis zum *Sternum* hinauf. Der Schnitt wurde nach kranial bis zum Kehlkopf fortgesetzt, dabei 5+ wurden die Rippen seitlich am Sternum durchtrennt und der Thorax eröffnet. Vorsichtig wurden Lunge sowie Herz entnommen ohne das Zwerchfell zu verletzen. Im nächsten Schritt erfolgte eine Spülung des Thoraxes mit 1,5 ml PBS-Lösung. Die Spülflüssigkeit wurde mit Hilfe einer Transferpipette in ein Eppendorfgefäß überführt. Nach der Entnahme der Organe aus der Brusthöhle erfolgte die Probennahme und Asservierung der verschiedenen Organe im Abdomen. Als erstes wurde das Magendarmkonvolut heraus präpariert, dazu wurde der Oesophagus kaudal der Durchtrittsstelle durch das Zwerchfell und das Rektum kurz vor Eintritt in das Becken durchtrennt. Der Magendarmtrakt wurde in eine Petrischale mit

physiologischer Kochsalzlösung gelegt und unter dem Stereomikroskop längs aufgeschnitten. Es folgte die Durchmusterung des Magendarminhaltes auf Nematoden sowie Zestoden. Zusätzlich wurde Kot aus dem Enddarm gesammelt, um diesen in einem späteren Schritt auf Endoparasiten zu untersuchen. Nach der ersten Durchmusterung wurde der Darm mit der aufgeschnittenen Seite auf ein bereits vorbereitetes Sieb gelegt, welches auf einem mit physiologischer Kochsalzlösung gefüllten Trichter ruhte. Die Trichter waren in einem Gestell fixiert, das in einem Inkubator bei 40 °C stand. In weiteren Präparationsschritten wurden Leber und Nieren asserviert. Die Geschlechtsorgane wurden entfernt, wobei bei weiblichen Tieren zusätzlich der Uterus auf Uterusnarben durchmustert wurde. Im Falle von tragenden Weibchen erfolgte die Zählung der Feten pro Uterushorn. Bei männlichen Tieren wurden die Hoden entnommen. Als nächster Schritt wurde das Zwerchfell herausgetrennt und mittels Quetschprobe auf *Trichinella*-Larven untersucht. Nun folgte die Gewichtsbestimmung der Tierkarkasse. Danach wurde ein Hinterbein komplett aus der Karkasse herausgetrennt, um daraus zu einem späteren Zeitpunkt Muskelproben zu gewinnen. Einer der letzten Schritte der Sektion beinhaltete die Entnahme der Augäpfel. Diese wurden in ein vorbereitetes Eppendorfgefäß mit 4 % Formalin überführt. Soweit die Ohren frei von Zecken waren, wurden diese abgetrennt in 80%igen Alkohol gelagert. Bevor der Rest der Karkasse in ein Glas über Wasser gehängt wurde, wurde die Schädeldecke eröffnet und das Gehirn entnommen. Das Wasser in den Gläsern wurde täglich auf herabgefallene Ektoparasiten untersucht.

Die gesamten Organproben und das Hinterbein wurden bei -80 °C bis zur weiteren Verwendung aufgehoben.

Die Augen lagerten vier Wochen in Formalin, bevor die Linsen aus den Augen herauspräpariert wurden. Im Anschluss trockneten die Linsen für 48 Stunden im Trockenschrank. Nach dieser Trocknungszeit wurde jede Linse auf einer Präzisionswaage gewogen.

Die Ektoparasiten und Nematoden sowie Zestoden sind wie auch schon die Blutausrüche Untersuchungsbestandteil einer anderen wissenschaftlichen Arbeit am Institut. Des Weiteren wurden einzelne Organproben für andere Untersuchungsprojekte an andere Forschungseinrichtungen versandt (z. B. die Nieren zur Untersuchung auf Leptospiren an das Friedrich-Loeffler-Institut auf der Insel Riems).

3.2.5 Isolierung von Erreger DNA zur Erzeugung von Positiv-Kontrollen

Für die spezifische Untersuchung der Wildnager auf verschiedene Parasiten wurden Positivkontrollen für die Polymerasekettenreaktion (=PCR) benötigt. Dazu wurde aus den unterschiedlichen Parasiten, die später in den verschiedenen Gewebeproben der Wildnager nachgewiesen werden sollten, DNA gewonnen, eine PCR durchgeführt und anschließend das spezifische PCR-Fragment in ein Plasmid in *Escherichia coli* inseriert und kloniert.

Für den ersten Schritt der DNA-Isolierung wurde das NucleoSpin® Tissue-Kit verwendet. Das benötigte Probenmaterial der Parasiten stammte aus eigenen Archivproben oder es wurde direkt schon isolierte DNA in Kooperation mit anderen Instituten zur Verfügung gestellt.

Es wurden zunächst 25 mg Gewebe der Parasiten abgewogen und in ein Reaktionsgefäß überführt. Es folgte die Hinzugabe von 180 µl T1-Puffer und 25 µl Proteinkinase K nach Herstellerangaben. Die Proben wurden über Nacht bei 56 °C in einem Schüttelinkubator inkubiert. Am nächsten Tag wurde die Probe auf dem Vortexer gemischt und anschließend 200 µl B3-Puffer hinzu pipettiert. Die ganze Probe inkubierte erneut auf dem Schüttelinkubator für zehn Minuten bei 70 °C. Als nächstes erfolgte die Hinzugabe von 20 µl 100%igem Ethanol. Die gesamte Probe wurde erneut durchmischt. Im Anschluss erfolgte die Überführung der Probe auf eine spezielle kleine Säule mit einem speziellen Silikatfilter, die in ein 2 ml Mikrozentrifugationsröhrchen gesteckt wurde. Dieses Mikrozentrifugationsröhrchen

mit Säulchen wurde bei 11000×g für eine Minute zentrifugiert. Nach der Zentrifugation wurde auf den Filter im Säulchen 500 µl BW-Puffer (enthält Ethanol) pipettiert, und es folgte eine erneute Zentrifugation unter gleichen Bedingungen. Der Durchfluss wurde verworfen. Es wurden erneut 600 µl BW-Puffer auf den Filter aufgetragen und wiederholt zentrifugiert. Auch dieser Durchfluss wurde verworfen. Der nächste Schritt war die Trockenzentrifugation, in der nur die Säule im Reaktionsgefäß ohne Puffer zentrifugiert wurde. Alle Puffer- und Ethanolreste wurden in diesem Schritt noch aus dem Filter gelöst, so dass danach im abschließenden Schritt die DNA aus dem Filter gelöst werden konnte. Zur Elution erfolgte die Hinzugabe von 100 µl BE-Puffer, der während der Isolationszeit auf 70 °C vorgewärmt wurde. Die Probe inkubierte eine Minute bei Raumtemperatur. Als letzter Schritt wurden die Gefäße erneut bei 11000×g für eine Minute zentrifugiert.

Die DNA-Ausbeute und Reinheit wurden photometrisch im Synergy/Epoch auf einer Take 3 Platte gemessen. Mit der nun gewonnenen DNA wurde eine PCR durchgeführt mit den Primern der jeweils ausgewählten Zielsequenzen (s. Tabelle 3).

3.2.6 Polymerasekettenreaktion

Die Polymerasekettenreaktion ist eine Methode zur Vervielfältigung von DNA-Abschnitten. Für die Vervielfältigung sind Primer nötig, die den zu amplifizierenden DNA-Abschnitt flankieren und so als Startsignal für die DNA-Polymerase dienen. In der Regel werden dabei jeweils ein Vorwärts- und ein Rückwärts-Primer verwendet. Die DNA-Polymerase ist ein Enzym, das zu einem einzelsträngigen Vorlagen-DNA-Strang durch Anlagerung von Nukleotiden einen komplementären Tochterstrang synthetisiert. Die Synthetisierung erfolgt in einem Thermocycler mit einem definierten PCR-Temperaturprogramm. Das Programm setzt sich typischerweise aus drei Schritten zusammen. In einem ersten Schritt erfolgt die Denaturierung der vorliegenden DNA-Doppelstränge. Durch Erhitzung der PCR-Ansätze auf 94 – 96 °C lösen sich die Wasserstoffbrückenbindungen der DNA und die doppelsträngige DNA wird aufgetrennt. Danach erfolgt eine relativ schnelle Abkühlung auf ca. 50 - 65 °C (Primerpaar-abhängig), was eine Rückbildung dieser Verbindungen verhindert. In diesem Schritt kommt es zur Primerhybridisierung. Hier lagern sich die Primer an den DNA-Strang an und dienen so als Ausgangspunkt für die Verlängerung der Primer durch die Polymerase. Für die Anlagerung ist eine spezifische Temperatur nötig, die in der Regel fünf bis zehn Grad unter der Schmelztemperatur des Primers liegt. Um die Elongation unter optimalen Bedingungen ablaufen zu lassen, wird anschließend die Temperatur typischerweise auf 72 °C erhöht, dem Temperaturoptimum der Polymerase. Die fehlenden Stränge werden durch die Polymerase mit freien Nukleotiden vollständig aufgefüllt. Nach der Elongation startet der Zyklus erneut und die neu replizierten DNA-Abschnitte dienen als Vorlage für weitere Replikate. Eine komplette Polymerasekettenreaktion umfasst in der Regel 30-50 Zyklen. Die gewonnenen DNA-Abschnitte können nun in einer Gelelektrophorese analysiert werden.

3.2.7 Agarose-Gelelektrophorese

DNA-Fragmente können in einer Gelelektrophorese sichtbar gemacht werden und nach ihren Größen in einem elektrischen Feld aufgetrennt werden. Dabei wandern die negativ geladenen Fragmente durch das Agarosegel zur Kathode. Das Agarosegel hat eine siebartige Struktur, welches kleineren Fragmenten geringeren Widerstand bietet und diese so schneller durch das Gel passieren lässt als Fragmente größerer Länge.

Für die Gelelektrophorese wurden 1%ige und 1,5%ige Agarosegele verwendet. Zur Herstellung wurde die Agarose (SeaKem® LE Agarose) in TAE-Puffer aufgekocht. Zur Anfärbung der DNA wurde das Gel mit GRGreen Nucleic Acid Stain versetzt. Der GRGreen Nucleic Acid Farbstoff bindet an die DNA und lässt diese unter ultraviolettem oder blauem Licht grün aufleuchten. Die flüssige Agarose wird in eine Form mit Kamm gefüllt. Nach der Aushärtung des Gels wurde dies in eine mit TAE-Puffer gefüllte Gelkammer (BIORAD)

überführt. Die vom Kamm geformten Taschen werden mit den Probenansätzen befüllt. Die Proben wurden zuvor mit Aqua bidest und einem 6 × Ladungspuffer vermischt. Durch Anlegen einer Feldstärke von 3-4 Volt/cm wandern die DNA-Fragmente ihrer Größe entsprechend durch das Gel. Die Größe der Fragmente kann durch das Mitlaufen eines Größenstandards später beurteilt werden. Nach dem Durchlauf des Gels kann mit Hilfe eines UV-Tisches die DNA im Gel sichtbar gemacht werden und das Gel entweder fotografiert sowie durch Ausschneiden der betreffenden Gelstücke die DNA-Fragmente für weitere Versuche aus dem Gel gewonnen werden.

3.2.8 DNA-Fällung

Auf dem Blaulicht-Tisch leuchten DNA-Fragmente gleicher Längen als helle Bande auf, die aus dem Gel extrahiert werden kann. Dazu schneidet man die Bande mit Hilfe einer Rasierklinge unter Sichtkontrolle auf dem Blaulicht-Tisch aus und überführt das Gelstück in eine gekürzte 1000 µl Filterspitze, die in einem 1,5 ml Reaktionsgefäß steckt. Durch Zentrifugation bei 11000×g für zehn Minuten wurden die flüssigen Bestandteile mit dem darin enthaltenen PCR-Produkt von den Gelbestandteilen separiert. Durch Fällung der DNA wurde eine weitere Konzentration der DNA erreicht. Die aus dem Agarosegel gewonnene Flüssigkeit wurde mit 1 µl Glycogen, 1/10 des Volumens 3 M Natriumacetat (pH 5,5) und dem dreifachen Volumen 100% Isopropanol vermischt. Danach erfolgte eine Inkubation bei -20 °C über Nacht. Am nächsten Tag wurden die Ansätze bei vier Grad für 45 Minuten und 13000×g zentrifugiert. Im Anschluss wurde die DNA mit 1 ml 80 % Ethanol gewaschen und eine weitere Zentrifugation bei 13000×g für fünf Minuten folgte. Nach Zentrifugation wurde der Überstand verworfen und das Pellet am Boden des Reaktionsgefäßes getrocknet. Danach wurde die DNA in 10 µl Aqua bidest gelöst. Die DNA bzw. das aufgereinigte DNA-Fragment konnte nun für weitere Versuche benutzt werden bzw. wurde bis zur weiteren Verwendung bei -80 °C aufbewahrt.

3.2.9 Herstellung von Plasmiden als Positivkontrolle

Um in den hier durchgeführten Polymerasekettenreaktionen eine Kontrollprobe für die Funktionalität und Sensitivität des PCR-Protokolls zu haben, wurden als Positivkontrolle Plasmide eingesetzt. Plasmide sind ringförmige doppelsträngige DNA-Moleküle, die insbesondere in Bakterien vorkommen. Sie werden in der Molekularbiologie als Vektoren genutzt, um Gene zu vervielfältigen oder zu exprimieren. So können auch die aufgereinigten DNA-Abschnitte mit Hilfe eines Klonierungskits (3.2.7) in ein solches Plasmid integriert und vervielfältigt werden, um es im Anschluss als Positivkontrolle einzusetzen. Die Plasmide wurden in chemisch kompetente *E. coli* transformiert. Die Stelle im Plasmid, in die das Fragment eingeschleust wird, nennt man „cloning site“. Die zur Klonierung verwendeten Plasmide enthalten außerdem eine Antibiotikaresistenz, so dass nach erfolgreicher Transformation nur die *E. coli* wuchsen, die resistent gegen das im Wachstumsmedium enthaltene Antibiotikum sind. Nach der erfolgreichen Anzucht der *E. coli* wurden die Plasmide mit Hilfe eines Plasmidisolierungskits wieder gewonnen.

Um nun ein DNA-Fragment in ein Plasmid einzubringen, wurde zunächst ein Ligationsansatz nach Herstellerangaben angesetzt. Hierzu wurde das TOPO® TA Cloning® Kit for Sequencing (Invitrogen) verwendet. Dazu wurden 4 µl aufgereinigtes PCR Produkt mit 1 µl Salt Solution und 1 µl TOPO Vektor vorsichtig gemischt und bei Raumtemperatur für 30 min inkubiert. Anschließend wurde 1 µl des Ligationsansatzes zu einem Aliquot von One Shot® TOP10 Chemically Competent *E. coli* (Invitrogen) Zellen gegeben. Nach einer einstündigen Inkubation auf Eis erfolgte ein Hitzeschock von 30 Sekunden bei 42 °C im Wasserbad. Die Zellen wurden dann zwei Minuten auf Eis gestellt bevor 37 °C warmes SOC Medium (Invitrogen) hinzugegeben wurde. Die Zellen wurden dann eine Stunde bei 37 °C und 200 Umdrehungen pro Minute geschüttelt.

In dieser Zeit wurden parallel Bakterienkulturplatten vorbereitet. Dazu wurde LB-Agar aufgekocht und pro Platte je 20 ml Agar mit 10 µl Kanamycin versetzt. Nach dem Auskühlen der Platten wurden die *E. coli* Ansätze auf den Platten mit einem Drigalski-Spatel ausplattiert und über Nacht bei 37 °C inkubiert. Am nächsten Morgen wurde das Wachstum der Kolonien auf den Kulturplatten kontrolliert. Im nächsten Schritt wurden einzelne Kolonien mit Hilfe einer Pipettenspitze in Flüssigkultur (LB-Medium mit Kanamycin) überführt. Diese Flüssigkultur wurde erneut über Nacht im Schüttelschrank bei 37 °C inkubiert. Bei Vorliegen einer Trübung in der Kultur am nächsten Tag konnte man von einem Wachstum von *E. coli* ausgehen. Das Flüssigmedium konnte nun weiter zur Plasmidisolierung genutzt werden. Für die Plasmidisolierung wurden 2 ml der Bakterienkultur in Reaktionsgefäße überführt und für 60 Sekunden bei 13000×g zentrifugiert. Am Boden des Reaktionsgefäßes bildete sich nach Zentrifugation ein Zellpellet, der Überstand wurde verworfen. Das Zellpellet wurde nach Herstellerangaben in 250 µl B1-Puffer resuspendiert. Danach wurden dem Ansatz noch 250 µl B2-Puffer und 350 µl B3-Puffer hinzugefügt. Die Kombination der Puffer bewirkt eine Lyse der Zellmembran der *E. coli* und eine Präzipitation von Proteinen sowie genomischer DNA. Das Lysat wurde für 7 Minuten bei 13000×g zentrifugiert. Das nun vorliegende Pellet aus Zellresten wurde nach Abnahme des Überstandes verworfen. Der Überstand wurde auf eine Mini Spin Säule überführt, die in einem Eppendorfgefäß für 30s bei 13000×g zentrifugiert wurde. Im Anschluss wurde die Säule mit 700 µl Waschpuffer zentrifugiert und der Durchlauf verworfen. Als nächster Schritt folgte die Trockenzentrifugation des Säulchens. Nach der Trockenzentrifugation wurde die Mini Spin Säule in ein neues Reaktionsgefäß gesteckt. Dann wurden 30 µl des B5-Puffers auf die Membran des Säulchens pipettiert und für eine Minute bei Raumtemperatur inkubiert. Als letzter Schritt erfolgte eine weitere Zentrifugation bei 13000×g für eine Minute. Aus der gewonnenen Flüssigkeit wurden nun die Plasmide, nach Überprüfung des Einbaues des DNA-Fragmentes durch Enzymverdau und anschließende Sequenzierung, als Positivkontrolle bei den PCRs eingesetzt.

3.2.9 Sequenzierung der PCR-Produkte

Die Sequenzierung wurde außerhalb des Institutes durchgeführt. Dazu wurden klonierten Positivkontrollen und später die PCR-Produkte von positiven Proben zu GATC Biotech nach Konstanz geschickt, wo die Sequenzierung als Service durchgeführt wurde. Die ermittelten Daten wurde mit Hilfe von Clone Manager 9 Professional prozessiert und mittels Blast Analysen mit der NCBI-Datenbank abgeglichen.

3.2.10 DNA-Isolierung für diagnostische Zwecke

Um die verschiedenen Parasiten in den Geweben nachzuweisen, musste zunächst DNA aus den jeweiligen ausgewählten Zielgeweben isoliert werden. Bei der Isolierung wurde mit dem Maxwell 16 Research System gearbeitet. Bei diesem System handelt es sich um einen DNA-Isolationsautomaten, der eine Isolierung von DNA parallel aus 16 Proben ermöglicht. Der Maxwell arbeitet mit paramagnetischen Cellulose haltigen Partikeln, die die DNA binden.

Für die Isolation wurde aus jedem zu untersuchenden Gewebe eine 30 mg schwere Probe verwendet. Die Muskelprobe wurde aus den asservierten Hinterbeinen gewonnen, wo ein Stück des *Musculus rectus femoris* herausgeschnitten wurde. Aus den bei -80 °C gelagerten Gehirnen wurde ebenfalls ein Querschnitt entnommen. Das Gewicht wurde bei der Präparation mit Hilfe einer Waage kontrolliert. Im nächsten Schritt wurden die Proben auf die Isolation vorbereitet. Dazu wurde zunächst 300 µl Lysis Puffer und 30 µl Proteinkinase K zu den Proben pipettiert. Die Gewebeproben wurden in dieser Suspension über Nacht in einem Schüttelinkubator bei 56 °C inkubiert. Die Proteinkinase K hydrolysiert die Peptidbindungen der Proteine und führte zu einer Freisetzung von Nukleinsäuren. Am nächsten Tag wurde den Proben erneut 300 µl Lysis Puffer zugesetzt und für zehn Minuten bei 72 °C erhitzt. Während der Erhitzung wurden die speziellen Kartuschen vorbereitet. Die Kartuschen

bestehen aus acht Fächern, in denen sich unterschiedliche Bindungs- und Waschpuffer sowie die paramagnetischen Cellulose Partikel befinden. Die Kartuschen wurden in einer Haltevorrichtung fixiert, die dann in das Maxwell Gerät eingesetzt wurde. Daraufhin wurde das vorgegebene Isolationsprogramm „BLOOD DNA“ gestartet. Am Ende des Durchlaufes wurde die DNA in den 50 µl Elutionspuffer gelöst. Die Ausbeute der DNA-Isolation wurde photometrisch in einer Take3 Platte im Synergy/Epoch gemessen.

Für die durchzuführenden PCRs standen nun alle benötigten Proben zur Verfügung und diese konnten nacheinander durchgeführt werden.

3.2.11 Durchführung PCR mit *Toxocara*-Primern

Die Untersuchung der Muskelproben erfolgte mit der Phusion Hot Start II High Fidelity DNA Polymerase und den in Abschnitt 3.1.4 aufgelisteten Primern (s. Tabelle 3).

20 µl Ansatz für den Phusion Hot Start II High Fidelity DNA Polymerase – Mastermix:

8,4 µl DEPC H₂O

6,0 µl Q-Solution

4,0 µl 5× Phusion[®] HF Puffer

0,4 µl dNTPs (je 10 mM)

0,5 µl F ITS 1 Primer (10 µM)

0,5 µl R ITS 1 Primer (10 µM)

0,2 µl Phusion Polymerase

Im letzten Schritt wurden pro Ansatz 2 µl Template (Muskel-DNA 50 ng/µl) hinzugegeben. Als Positivkontrolle diente ein Plasmid mit der ITS 1-Sequenz von *T. canis* (Herstellung s. Abschnitt 3.2.8) und der Ansatz für die Negativkontrolle wurde mit DEPC-Wasser versetzt.

Das anschließende Thermocyclerprogramm wurde nach Herstellerangaben durchgeführt und für den Anlagerungsschritt an die Schmelztemperaturen angepasst.

1. Hitzeaktivierung 98 °C für 30 s
2. Denaturierung 98 °C für 10 s
3. Anlagerung 60 °C für 15 s
4. Elongation 72 °C für 15 s
5. Finalisierung 72 °C für 5 min

Das ganze Programm umfasste 40 Zyklen der Schritte 2-4.

Zu einem späteren Zeitpunkt während der Promotion wurden ebenfalls die Gehirnproben auf das Vorhandensein von *Toxocara*-DNA untersucht. Die PCR fand unter gleichen Bedingungen statt.

3.2.12 Durchführung PCR mit Kokzidien- und *Toxoplasma*-Primern

Die PCRs mit der gewonnenen DNA aus den Gehirnproben wurde zunächst mit den allgemeinen Kokzidien-Primern durchgeführt und danach mit den spezifischen *Toxoplasma*-Primern. Auch hier kam die Phusion Hot Start II High Fidelity DNA Polymerase zum Einsatz.

20 µl Ansatz für den Mastermix der Kokzidien-PCR:

8,4 µl DEPC H₂O
4,0 µl 5× Phusion[®] HF Puffer
4,0 µl Q-Solution
0,4 µl dNTPs (je 10 mM)
0,5 µl COC-1for Primer (10 µM)
0,5 µl COC-1rev Primer (10 µM)
0,2 µl Phusion Polymerase
2 µl Template (Gehirn-DNA 50 ng/µl, Positivkontrolle, Negativkontrolle)

Das Protokoll für den Thermocycler lautete:

1. Hitzeaktivierung 98 °C für 30 s
2. Denaturierung 98 °C für 10 s
3. Anlagerung 55 °C für 30 s
4. Elongation 72 °C für 15 s
5. Finalisierung 72 °C für 5 min

Die Schritte 2-4 wurden insgesamt 40-mal wiederholt.

Die PCR mit den *Toxoplasma*-Primern wurde mit dem gleichen Mastermix-Ansatz jedoch mit den Primern Tox 5 for und Tox 8 rev durchgeführt. Abweichungen gibt es ebenfalls im Thermocycler-Protokoll. Hier wurde eine Anlagerungstemperatur von 63 °C für 30 s gewählt. Das gesamte Protokoll umfasste 45 Zyklen.

Bei beiden Polymerasekettenreaktionen wurde die Gehirn-DNA in einer Konzentration von 50 ng/µl eingesetzt. Als Positivkontrolle fungierte wie auch schon bei der *Toxocara*-PCR ein Plasmid mit der entsprechenden Erregersequenz und als Negativkontrolle DEPC behandeltes Wasser.

3.2.14 Durchführung PCR mit den Tetrahydridien-Primern

In einzelnen Mäusen wurden während der Sektion Tetrahydridien in der Bauchhöhle gefunden. Diese wurde bis zur Verwendung in 70%igen Ethanol aufbewahrt. Aus diesen wurde dann nach dem gleichen Prinzip der DNA-Gewinnung wie aus Mäusegewebe (Abschnitt 3.2.10) ebenfalls DNA gewonnen.

Für die PCR wurde die Phusion Hot Start II High Fidelity DNA Polymerase verwendet. Die Primer für den Versuch sind in der Tabelle 3 gelistet. Es wurde mit folgendem Versuchsansatz gearbeitet.

20 µl Ansatz für den Phusion Hot Start II High Fidelity DNA Polymerase-Mastermix:

13,4 µl DEPC H₂O
4,0 µl Phusion[®] HF Puffer
0,4 µl dNTPs (je 10 mM)
0,5 µl Flatworm-N2 Primer (10 µM)
0,5 µl Flatworm-NC6rev Primer (10 µM)

0,2 µl Phusion Polymerase

Zu jedem Ansatz wurde 1 µl DNA als Template hinzupipettiert.

Der Thermocycler wurde nach folgendem Protokoll programmiert:

1. Hitzeaktivierung 98 °C für 30 s
2. Denaturierung 98 °C für 10 s
3. Anlagerung 62 °C für 30 s
4. Elongation 72 °C für 15 s
5. Finalisierung 72 °C für 10 min

Es wurden insgesamt 40 Zyklen der Schritte 2-4 durchlaufen.

3.2.15 Durchführung PCR mit Echinokokken-Primern

Während der Sektion hinsichtlich eventueller Veränderungen durch Echinokokkenstadien auffällige Leberstücke wurden separat in Alkohol asserviert. Auch hier erfolgte eine DNA-Aufreinigung wie im Abschnitt 3.2.10 beschrieben. Die gewonnene Leber-DNA wurde nach Zürich in das Institut für Parasitologie geschickt. Dort wurden die Proben mit einer spezifischen PCR für *Echinococcus multilocularis* untersucht (Stieger et al., 2002).

3.2.16 Extrahierung aus dem Agarosegel

Um die in der PCR positiv erscheinenden Proben genauer zu bestimmen, wurden diese ebenfalls zu GATC zur Sequenzierung eingeschickt. Bei dieser Extrahierung der Proben aus dem Agarosegel wurde anstatt der Fällung der DNA (s. Abschnitt 3.2.7) ein kommerzielles Kit benutzt. Für die Aufreinigung mit dem Zymoclean Gel Recovery Kit mussten zunächst die Banden auf dem Blaulicht-Tisch aus dem Agarosegel mithilfe eines Skalpells herausgeschnitten werden. Das Stück Gel wurde in ein Reaktionsgefäß überführt. Danach wurde das Gewicht des Gelstückes bestimmt, indem das Gelstück mit Reaktionsgefäß gewogen wurde und das Leergewicht des Reaktionsgefäßes abgezogen wurde. Im nächsten Schritt wurde nach Herstellerangaben das Dreifache des Gewichtes des Gelstückes an ADB-Puffer zum Gel ins Reaktionsgefäß hinzupipettiert. Im Anschluss wurden die Reaktionsgefäße für fünfzehn Minuten bei 42 °C in einem Wasserbad inkubiert. Durch die Erhitzung des chaotropen Puffers löst sich das Gel auf und das PCR-Produkt wird freigesetzt. Nach der Inkubation wurde das Schmelzprodukt auf ein Filtersäulchen in einem neuen Reaktionsgefäß überführt. Die Filtersäulchen wurden bei 11000×g für eine Minute zentrifugiert. Der Durchfluss wurde verworfen. Auf diesen Schritt folgten zwei Waschdurchgänge der Filtersäulchen mit 250 µl Waschpuffer. Zwischen den beiden Waschschrritten wurden die Säulchen einmalig bei 11000×g zentrifugiert. Bevor das PCR-Produkt im letzten Schritt aus dem Filter heraus eluiert wurde, wurden die Filtersäulchen in ein neues Zentrifugationsgefäß gesteckt. Nun erfolgte die Hinzugabe von 25 µl Elutionspuffer und eine Abschlusszentrifugation der Proben bei 11000×g für eine Minute.

Zur Überprüfung der erfolgreichen Aufreinigung der PCR-Produkte wurden zwei Mikroliter der gewonnenen Lösung auf ein Agarosegel aufgetragen. Ein Größenmarker mit definierten Fragmenten und DNA Mengen wurde immer parallel aufgetragen, um die DNA Menge abzuschätzen. Bei ausreichender Menge des PCR Produktes wurden 20 µl zur Sequenzierung (s. 3.2.9) zu GATC geschickt.

3.2.17 ELISA

Die Abkürzung ELISA steht für Enzym-linked Immunsorbent Assay und beschreibt ein antikörperbasiertes Nachweisverfahren in der Diagnostik. Der ELISA gehört zu der Gruppe der Immunoassays, die auf einer enzymatischen Farbreaktion basieren. Er dient zum Nachweis von Proteinen wie Antikörpern, Viren oder auch niedermolekulare Verbindungen (Hormone, Toxine). In dem Verfahren werden die Wells von Polyvinylchlorid- oder Polystyrolplatten mit Antigenen oder Antikörpern beschichtet. Nach einem bestimmten Protokoll werden dann weitere Antikörper und enzymkonjugierte Antikörper in die Wells hinzupipettiert. Die Menge der gebundenen Antikörper kann mittels Messung der optischen Dichte der enzymatischen Farbreaktion in den Proben bestimmt werden.

3.2.18 Untersuchung der Serumproben auf *Toxocara canis*-Antikörper

Der ELISA wurde in Kooperation und mit Unterstützung von MVDr. PhD Daniela Antolová aus dem Institut für Parasitologie, Slovak Academy of Science in Kosice in der Slowakei durchgeführt. Es wurde ein dort etablierter *Toxocara*-ELISA im Mausmodell zur Detektion von *Toxocara*-Antikörpern verwendet. Der ELISA beruht auf dem E/S-Ag (excretory-secretory antigen) und ist spezifisch für *T. canis* Antikörper. In diesem Versuch wurden die im Feld gewonnen Serumproben der Wildnager auf das Vorliegen von *Toxocara*-AK untersucht.

In einem ersten Schritt wurden die ELISA-Platten mit dem Antigen beschichtet. Dazu wurde das Antigen in Carbonat Puffer pipettiert und dann in die Vertiefungen der Platten verteilt. Die Platten wurden über Nacht bei 4 °C inkubiert. Am nächsten Morgen wurden die Platten dreimalig mit PBS-Tween 20 gewaschen. Die Serumproben wurden auf einer Vorpipettierplatte im Verhältnis 1:2 mit einer Mischung aus 5%igen Magermilchpulver aufgelöst in PBS-Tween 20 vermischt. In jede Vertiefung der ELISA Platte wurden 100 µl der verdünnten Serumprobe pipettiert. Die Proben wurden im Doppelansatz untersucht. Die ELISA-Platten wurden bei 37 °C für eine Stunde inkubiert. Anschließend wurden die Vertiefungen dreimal mit PBS-Tween 20 gewaschen. Im nächsten Schritt erfolgte die Hinzugabe von 100 µl des Konjugates. In diesem Fall wurde ein anti-Maus polyvalentes Immunoglobulin (anti-mouse polyvalent immunoglobulins IgG, IgA, IgM; Sigma-Aldrich Chemie GmbH) gewählt. Das Konjugat wurde in einer Verdünnung von 1:8000 mit PBS-Tween 20 in die Vertiefungen gegeben. Der erneuten Inkubation der Platten bei 37 °C für eine Stunde schloss sich eine Waschung der Platten an. Diese wurde ebenfalls dreimalig durchgeführt. Danach wurden 100 µl OPD (O-Phenylenediamine) mit 0,5%igen Wasserstoffperoxid in jede Vertiefung pipettiert. Die Platten wurden für zwanzig Minuten im Dunklen inkubiert. Als letzter Pipettierschritt wurde die Farbreaktion nach den zwanzig Minuten durch die Hinzugabe von 50 µl Schwefelsäure je Vertiefung abgestoppt. Das Vorliegen von Antikörpern wurde durch einen Farbumschlag in den Vertiefungen angezeigt. Die Stärke der Antigen-Antikörper-Reaktion wurde durch Messung der optischen Dichte bestimmt.

Als Negativkontrolle diente das Serum einer Labormaus und als Positivkontrolle das Serum eines PCR-positiven Wildnagers mit hohem Titer aus einer früheren Studie.

Neben den Leberproben wurden auch Serumalliquots mit nach Zürich ins Institut für Parasitologie übersandt. Diese wurden zusätzlich auf das Vorhandensein von Antikörper von *Toxoplasma* untersucht (Reperant et al., 2009).

3.2.18 Statistische Auswertung

In dieser Studie wurden die Prävalenzen und die 95 % Konfidenzintervalle (95 % KI) als Wilson Score Intervalle mit der „propCI“-Funktion im R-Programm berechnet. Mit dem „mid-P exakt“-Test wurden Differenzen der Prävalenzen zwischen verschiedenen Spezies oder den verschiedenen Standorten analysiert. Dabei wurde der „tab2by2“ Befehl aus dem „epitools“

Packet verwendet.

Die logistische Regression wurde mithilfe der „glm“-Funktion in R durchgeführt, um den Einfluss einzelner Faktoren wie Spezies, Genus, Fangort, Geschlecht oder Alter zu beurteilen. Signifikanzen der einzelnen Faktoren wurden durch den t-Test bestimmt, der in der „glm“-Funktion automatisch ausgeführt wird. Das Akaike Informationskriterium (AIC) wurde für den Vergleich von verschiedenen Modellen benutzt sowie die „drop1“ Funktion in R für die Identifizierung von Variablen, die vom Modell ausgeschlossen wurden. Zusätzlich wurde der Likelihood-Quotienten-Test verwendet, um ineinander verschachtelte Modelle zu vergleichen. Bei Modellen, die kategoriale Variablen mit mehr als zwei Ausprägungen enthielten, wurde der Wald-Test durchgeführt, um einen signifikanten Einfluss der Variable festzustellen, der auch vorhanden sein kann, wenn keine der Ausprägungen der Variablen für sich einen signifikanten Einfluß hat. Um Datenpunkte zu identifizieren, die einen besonderen starken Einfluss auf das Gesamtmodell haben, wurden diese „influential points“ als Devianzwerte (ΔD_i) berechnet. ΔD_i berücksichtigt sowohl die Devianzresiduen (d_i) als auch die Pearsonresiduen (r_i).

$$\Delta D_i = d_i^2 + r_i^2 x_{h_{ii}} / (1 - h_{ii})$$

Ein „Non-metric multidimensional scaling“ (NMDS) und eine Clusteranalyse wurden durchgeführt, um bestimmte Muster im Datensatz zu entdecken. Für diese Analyse wurde jede Fangwoche als einzelner Datenpunkt betrachtet. Zwei Datenmodelle wurden analysiert. Im ersten Modell wurde die Anzahl der Tiere pro Wildnagerspezies und Fangwoche aufgelistet. Im zweiten Modell wurde die Anzahl der Tiere, die positiv für einen Parasiten (Askariden, *F. glareoli*, *T. gondii* und *M. litteratus*) in der Fangwoche getestet wurden, benutzt. Wildnager wurden als positiv für Askariden angesehen wenn entweder der ELISA positiv ausfiel oder eine Askaridenspezies in der PCR gefunden werden konnte. Beide Modelle wurden mit gleichen Methoden ausgeführt. Zunächst wurde eine „dissimilarity matrix“ mit der „Bray-Curtis distance“ berechnet, eingebettet in die „vegdist“ Funktion aus dem „vegan“ Packet, die eine doppelte Wisconsin Standardisierung enthält. Danach wurde das NMDS durchgeführt. PERMANOVA wurde genutzt um Unterschiede zwischen Nager/Parasiten, Fangorte oder periurbaner sowie urbaner Standortlage zu ermitteln. Die Mindestzahl verschiedener „k-mean“ Cluster in der „dissimilarity matrix“ wurde mit NbClust 3.0 und dem „Gap“ Kriterium identifiziert. In Kombination mit dem Hartigan-Wong Algorithmus und zehn willkürlichen Startpunkten wurde jeder Datenpunkt einem Cluster zugeordnet. Schließlich wurde mit dem mid p-exact Test überprüft, ob eine Wildnager oder Parasitenspezies häufiger in dem Cluster auftrat als in anderen. Alle p-Werte wurden mit der Holm Korrektur für multiples testen mit der Funktion „p.adjust“ angepaßt.

IV. Ergebnisse

4.1 Ergebnisse Wildnagerfang

In der gesamten Fangzeit wurden an allen vier Standorten zusammen 273 Wildnager gefangen. Es wurden keine Ratten gefangen und vereinzelt mussten Tiere ($n=16$, alle *A. agrarius* im Stadtpark) auch wieder frei gelassen werden, da es nicht möglich war mehr als acht Sektionen am Tag durchzuführen. Dementsprechend wurde von 257 Tieren eine Sektion durchgeführt und deren Proben gingen in die Untersuchungen ein. Die frei gelassenen Tiere wurden zufällig ausgesucht. Die Wildnager wurden sechs verschiedenen Mäusespezies zugeordnet. Im Folgenden sind zum einen die Verteilung der Nager an den verschiedenen Standorten aufgelistet (s. Abschnitt 4.1.1) und zum anderen die Verteilung der unterschiedlichen Mäusespezies an den Standorten (s. Abschnitt 4.1.2). Generell lassen sich die Wildnager in drei Gattungen aufteilen: *Apodemus*, *Myodes* und *Microtus*. Dabei gehörten 71,98 % der Tiere in die Gattung *Apodemus*, 22,95 % zur Gattung *Myodes* und 5,05 % zu *Microtus*.

Eine generelle Übersicht zu den Häufigkeiten samt der berechneten Konfidenzintervalle zu den verschiedenen Spezies, die an den Standorten gefangen wurden, ist in Tabelle 5 aufgelistet.

Ergebnisse

Tabelle 5. Verteilung von in die Studie eingegangene Nager-Spezies auf die verschiedenen Standorte.

	Standort				
	Gatow <i>n</i> =91	Tegel <i>n</i> =36	Moabit <i>n</i> =26	Steglitz <i>n</i> =104	Total <i>n</i> =257
	Anzahl	Anzahl	Anzahl	Anzahl	Anzahl
	Häufigkeit ^a	Häufigkeit ^a	Häufigkeit ^a	Häufigkeit ^a	Häufigkeit ^a
Nager-Species	(95 % KI)	(95 % KI)	(95 % KI)	(95 % KI)	(95 % KI)
<i>A. flavicollis</i>	33/91	22/36	0/26	27/104	82/257
<i>n</i> =82	36.3	61.1	0.0	26.0	31.9
	(27.1-46.5)	(44.9-75.2)	(0.0-12.9)	(18.5-35.1)	(26.5-37.8)
<i>A. sylvaticus</i>	0/91	0/36	25/26	0/104	25/257
<i>n</i> =25	0.0	0.0	96.2	0.0	9.2
	(0.0-4.1)	(0-9.6)	(81.1-99.3)	(0-4.4%)	(6.7-14.0)
<i>A. agrarius</i>	5/91	0/36	0/26	73/104	78/257
<i>n</i> =78	5.5	0.0	0.0	70.2	30.4
	(2.4-12.2)	(0-9.6)	(0.0-12.9)	(60.8-78.1)	(25.1-36.2)
<i>M. glareolus</i>	44/91	14/36	1/26	0/104	59/257
<i>n</i> =59	48.4	38.9	3.9	0.0	22.6
	(38.4-58.5)	(24.8-55.1)	(0.7-18.9%)	(0-4.4%)	18.2-28.5%
<i>M. arvalis</i>	7/91	0/36	0/26	4/104	11/257
<i>n</i> =11	7.7	0.0	0.0	3.9	4.3
	(3.8-15.0)	(0-9.6)	(0-12.9)	(1.5-9.5)	(2.4-4.5)
<i>M. agrestis</i>	2/91	0/36	0/26	0/104	11/257
<i>n</i> =2	2.2	0.0	0.0%	0.0%	4.3%
	(0.6-7.7)	(0-9.6)	(0-12.9%)	(0.0-4.4%)	2.4-4.5%
Total	91/257	36/257	26/257	104/257	2/257
<i>n</i> =257	35.4	14.0	10.1%	40.5%	0.8%
	(29.7-41.4)	(10.2-18.7)	(6.9-14.3%)	(34.6-46.6%)	0.2-2.8%

Die Werte in Zellen die eine Kombination der Nager-Spezies (*Apodemus flavicollis*, *Apodemus sylvaticus*, *Apodemus agrarius*, *Myodes glareolus*, *Microtus arvalis*, *Microtus agrestis*) mit dem Standort bilden geben die Anzahl und relative Häufigkeit mit 95% KI der Spezies an den an diesem Standort gefangenen Nagern dar. In der Spalte „Total“ ist die Anzahl der Nager der jeweiligen Spezies und in der Reihe „Total“ die Anzahl der Nager am jeweiligen Standort dargestellt.

^a relative Häufigkeit am jeweiligen Standort in %.

4.1.1 Aufteilung der Wildnager auf die verschiedenen Standorte

Am Standort Gatow konnten über die gesamte Fangzeit 91 Tiere gefangen werden. Das entspricht 35,41% aller Wildnager (95 % KI 29,74-41,41 %, *n*=257). Außerdem gelang es hier fünf der gefangenen sechs Mäusespezies nachzuweisen. Die einzige Mäusespezies, die hier nicht gefunden wurde, war die Waldmaus. Am stärksten vertreten waren die Rötelmaus (44 Tiere) und die Gelbhalsmaus (33 Tiere). Die restlichen Tiere bestanden aus fünf Brandmäusen, sieben Feldmäusen und zwei Erdmäusen.

14,01% der Wildnager (95 % KI 10,16-18,66 %, *n*=257) wurden in Tegel gefangen. Die 36 Tiere teilen sich auf 22 Gelbhalsmäuse und 14 Rötelmäuse auf. Alle anderen Mäusespezies wurden im Fangzeitraum nicht nachgewiesen. Im urban gelegenen Moabit wurden 26 Mäuse

in den Fallen gefunden. Das sind 10,12 % aller gefangenen Wildnager (95 % KI 6,86-14,27 %, $n=257$). Bis auf ein Tier konnten alle Tiere der Spezies den Waldmäusen zugeordnet werden. Das Einzeltier konnte den Rötelmäusen zugewiesen werden.

Die meisten Tiere konnten im Stadtpark in Steglitz gefangen werden. Insgesamt waren es 104 Mäuse, dies entspricht 40,47% (95 % KI 34,59-46,56 %, $n=257$). Der Großteil der Nager waren Brandmäuse (73 Tiere). Neben den Brandmäusen wurden ebenfalls 27 Gelbhalsmäuse sowie vier Feldmäuse gefangen. Waldmäuse, Rötel –und Erdmäuse konnten nicht nachgewiesen werden.

4.1.2 Spezies-Verteilung der gefangenen Wildnager

Bei den 257 untersuchten Wildnagern handelte es sich zum größten Teil um Gelbhalsmäuse (82 Tiere) und Brandmäuse (78 Tiere). Diese Ergebnisse ergeben Häufigkeiten von 31,91 % (95 % KI 26,42-37,80%) und 30,35% (95 % KI 24,96-36,18 %). Die Rötelmäuse machten einen Anteil von 22,96% (59 Tiere) (KI 18,12-28,40%). Die 25 Waldmäuse entsprachen einem Anteil von 9,73% (KI 6,54-13,82%). Des Weiteren wurden elf Feldmäuse (4,28 %, 95 % KI 2,27-7,32 %) und zwei Erdmäuse (0,78 %, 95 % KI 0,13-2,55 %) gefangen.

4.2 Ergebnisse zu den Untersuchungen zu den Toxocarinae

In der durchgeführten PCR zur Untersuchung von Muskelproben der Wildnager auf das Vorhandensein von Stadien der Toxocarinae wurden 13 Proben positiv befundet. Dies entspricht einer Prävalenz von 4,3 % (95 % KI 2,25-7,44 %, $n=257$). Zu den infizierten Spezies gehörten die Rötelmaus, die Gelbhalsmaus, die Brandmaus und die Waldmaus. Acht der positiven Funde konnten auf eine Infektion mit *T. canis* zurückgeführt werden, davon waren sechs Muskelproben und zwei Gehirnproben positiv. Doch keine der Proben war in beiden PCRs positiv. *T. cati* konnte in vier Muskelproben gefunden werden. In einer Brandmaus aus dem Stadtpark konnte eine Infektion mit *Parascaris equorum* in einer Muskelprobe nachgewiesen werden. Tabelle 6 stellt das Vorkommen von *T. canis* in verschiedenen Wildnagern an den vier Standorten in Abhängigkeit von Geschlecht und Altersgruppe des Wirts dar.

Ergebnisse

Tabelle 6. Nachweis von *Toxocara canis* mittels PCR in verschiedenen Wildnager-Spezies nach Altersgruppen, Geschlechtern und Standorten.

	<i>Apodemus flavicollis</i> Anzahl ^a Prävalenz (%) (95 % KI)	<i>Apodemus sylvaticus</i> Anzahl ^a Prävalenz (%) (95 % KI)	<i>Apodemus agrarius</i> Anzahl ^a Prävalenz (%) (95 % KI)	<i>Myodes glareolus</i> Anzahl ^a Prävalenz (%) (95 % KI)	<i>Microtus arvalis</i> Anzahl ^a Prävalenz (%) (95 % KI)	<i>Microtus agrestis</i> Anzahl ^a Prävalenz (%) (95 % KI)
Alle	82 3.7 (1.3-10.2)	25 8.0 (2.2-25.0)	78 3.8 (1.3-10.7)	59 5.1 (1.7-13.9)	11 0 (0-25.9)	2 0 (0-65.8)
Juvenile	0	2 50 (2.5-97.5)	4 0 (0-49.0)	2 50 (2.5-97.5)	0	0
Subadult ^b	10 0 (0-27.8)	2 0 (0-65.8)	9 0 (0-29.9)	2 0 (0-65.8)	0	0
Adult	72 4.2 (1.4-11.6)	21 4.8 (0.8-22.7)	65 4.6 (1.6-12.7)	55 3.6 (1.0-12.3)	0	0
Weiblich	41 4.9 (1.3-16.1)	11 9.1 (1.6-37.7)	34 2.9 (0.5-14.9)	29 3.4 (0.6-17.2)	0	0
Männlich	41 2.4 (0.4-12.6)	14 7.1 (1.3-31.5)	44 4.5 (1.3-15.1)	30 6.7 (11.8-21.3)	0	0
Gatow	33 3.0 (0.5-15.3)	0	5 0 (0-43.5)	45 0 (0-7.9)	11 0 (0-25.9)	0
Tegel	22 4.5 (0.8-21.8)	0	0	15 20 (7.0-45.2)	0	0
Moabit	0	25 8.0 (2.2-25.0)	0	0	0	0
Steglitz	27 3.7 (0.7-18.3)	0	73 6.8 (3.0-15.1)	0	0	0

^aAnzahl untersuchter Tiere.

^bAusgewachsene Tiere ohne Anzeichen von sexueller Aktivität.

Ergebnisse

Tabelle 7. Nachweis von *Toxocara canis* mittels ELISA in verschiedenen Wildnager-Spezies nach Altersgruppen, Geschlechtern und Standorten.

	<i>Apodemus flavicollis</i> Anzahl ^a Prävalenz (%) (95 % KI)	<i>Apodemus sylvaticus</i> Anzahl ^a Prävalenz (%) (95 % KI)	<i>Apodemus agrarius</i> Anzahl ^a Prävalenz (%) (95 % KI)	<i>Myodes glareolus</i> Anzahl ^a Prävalenz (%) (95 % KI)	<i>Microtus arvalis</i> Anzahl ^a Prävalenz (%) (95 % KI)	<i>Microtus agrestis</i> Anzahl ^a Prävalenz (%) (95 % KI)
Alle	77 1.3 (0.2-7.0)	25 28.0 (14.3-47.6)	72 30.6 (21.1-42.0)	56 3.6 (1.0-12.1)	9 0 (0-37.1)	2 0 (0-65.8)
Juvenile	0	2 0 (0-65.8)	3 0 (0-56.2)	2 50 (2.5-97.5)	0	0
Subadult ^b	9 0 (0-29.9)	2 50 (2.5-97.5)	8 25 (7.1-59.1)	2 0 (0-65.8)	0	0
Adult	68 1.5 (0.3-7.9)	21 28.6 (13.8-50.0)	61 32.8 (22.3-45.3)	52 1.9 (0.3-10.1)	0	0
Weiblich	38 2.6 (0.5-13.5)	11 36.4 (15.2-64.6)	31 38.7-23.7-56.1)	27 3.7 (0.7-18.3)	0	0
Männlich	39 0 (0-9.0)	14 21.4 (7.6-47.6)	41 24.4 (13.8-39.3)	29 3.4 (0.6-17.2)	0	0
Gatow	33 0 (0-10.4)	0	5 60 (23-1-88.2)	44 0 (0-8.0)	9 0 (0-37.1)	0
Tegel	23 4.8 (0.8-22.7)	0	0	13 15.4 (4.3-42.2)	0	0
Moabit	0	25 28.0 (14.3-47.6)	0	0	0	0
Steglitz	21 0 (0-14.3)	0	67 28.4 (19.0-40.1)	0	0	0

^aAnzahl untersuchter Tiere.

^bAusgewachsene Tiere ohne Anzeichen von sexueller Aktivität.

Damit wurden sieben von 185 Tieren der Gattung *Apodemus* positiv auf *Toxocara* getestet, die anderen drei positiven Fälle traten in der Gattung der *Myodes* auf. Nach der Berechnung mit dem mid-P Test ergab sich daraus ein $p=0,326$ und es lag kein signifikanter Unterschied für die Häufigkeiten zwischen den Gattungen vor. Ebenso wurden keine signifikanten Unterschiede bei dem Vergleich der Prävalenzen für die Gattung *Apodemus/Microtus* ($p=0,309$) und *Myodes/Microtus* ($p=0,280$) festgestellt.

Der in der Slowakei durchgeführte ELISA ergab eine Seroprävalenz von 14,4 % (KI 9,42-18,0 %, $n=241$), welches 34 positiven Tieren entsprach. Die als positiv befundenen Wildnager gehörten den Spezies Waldmaus, Rötelmaus, Brandmaus sowie Gelbhalsmaus an und verteilten sich auf alle vier Standorte (Tabelle 7). Sieben, der in der PCR positiv für *T. canis* getesteten Tiere zeigten auch einen positiven AK-Spiegel im ELISA. Keine der für *T. cati* oder *P. equorum* PCR positiven Mäuse reagierte im ELISA basierend auf dem *T. canis* ES-Antigen. Insgesamt wurden in 30 Tieren der Gattung *Apodemus* und in zwei Mäusen der Gattung *Myodes* Antikörper gegen *T. canis* nachgewiesen. Statistisch ergab sich im Vergleich daraus ein $p=0,003$. Innerhalb der Gattung *Apodemus* wurden Antikörper bei einer Gelbhalsmaus, 22 Brandmäusen und sieben Waldmäusen festgestellt. Es ergaben sich im direkten Vergleich signifikante Unterschiede ($p<0,05$) bei den Vergleichen zwischen Gelbhalsmaus/Brandmaus und Gelbhalsmaus/Waldmaus.

Im Vergleich der beiden angewandten Methoden zur Untersuchung der Mäuseproben auf Toxocarinae ergab der ELISA signifikant häufiger ein positives Ergebnis als die PCR ($p<0,001$).

Für die logistische Regression wurde der Datensatz der ELISA-Ergebnisse benutzt, da in der PCR zu wenig positive Testergebnisse vorlagen. Als Variablen zur Erklärung der Verteilung positiver Tiere wurde die Spezies, die Gattung, der Fangort, Geschlecht und das Alter (als kategoriale Variable mit den Ausprägungen juvenil und adult) berücksichtigt. Die Einbeziehung des Alters erhöhte den AIC und diese Variable wurde deshalb ausgeschlossen. Ebenso wurde das Geschlecht als Variabel ausgeschlossen, auch wenn der AIC leicht erniedrigt wurde, aber der LRT zum Vergleich der verschachtelten Modelle mit und ohne Geschlecht brachte keine signifikante Verbesserung. Bei Betrachtung der Einzelfaktoren Fangort (Abb. 1A) und Spezies, jeweils ohne den anderen Faktoren, ergab sich folgendes Bild: Erstens konnte ein signifikanter Einfluss auf die Chance positiv für *T. canis* zu sein bei *A. sylvaticus* und *A. agrestis* im Vergleich zur Referenzkategorie *A. flavicollis* festgestellt werden. Zweitens war die Wahrscheinlichkeit ein positives Tier an den Standorten Moabit und dem Stadtpark zu finden im Vergleich zur Referenzkategorie Gatow signifikant erhöht. Weiter erbrachte eine Modellberechnung mit beiden eben genannten Variablen gleichzeitig eingeschlossen, einen niedrigeres AIC und konnte damit als das beste Modell in Bezug auf die Seroprävalenz für *T. canis* identifiziert werden. Dieses Modell hatte auch den besten pseudo- R^2 Wert und war im LRT signifikant besser als die Modelle mit nur einer der beiden Variablen. Die 95 % KIs für die „Odds-Ratio“ waren jedoch sehr groß und kein einzelner Faktor zeigte einen signifikanten Effekt auf die positive Seroprävalenz. Gleiches zeichnete sich im Wald-Test ($p= 0,58$ für Fangort, $p= 0,95$ für Spezies) ab. Aus diesem Grund wurde anstatt mit der Spezies mit der Gattung gearbeitet. Unter Einbeziehung der Gattung lag der AIC bei 183,23 und *Myodes* hatte einen signifikante niedrigeren „Odds-Ratio“ als die Referenzkategorie *Apodemus* (Abb. 1B). Zusätzlicher Einschluss des Fangortes in das Modell (Abb. 1C) verbesserte den AIC, war jedoch nur signifikant für die Standorte Moabit und den Stadtpark. Der Wald-Test ergab für den Fangort und die Gattung keinen signifikanten Einfluss für die Wahrscheinlichkeit Antikörper für *T. canis* zu finden. Auch der Pseudo- R^2 -Wert für dieses Modell war mit 0,11 sehr niedrig. Entsprechend zeigte auch der LRT des Vergleichs des Modells mit den Variablen Fangort und Gattung mit dem Modell, das nur die Variable Fangort enthielt, keine Verbesserung durch die zusätzliche Variable. Die verschiedenen Modelle mit Schätzwerten, „Odds Ratio“, p-Werten und weiteren Details sind

im Anhang in den Tabellen 8a-d dargestellt.

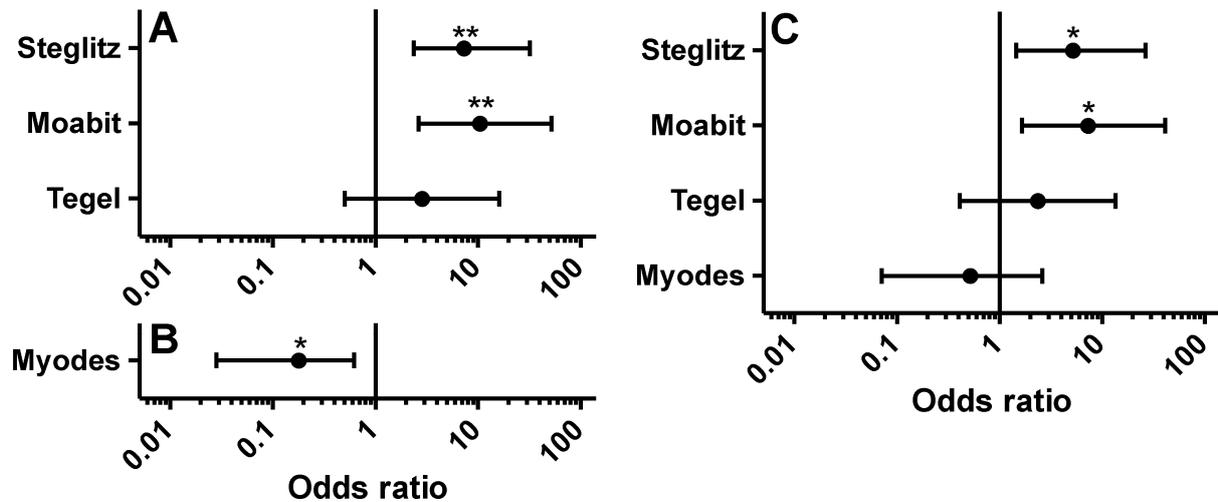


Abb. 1. „Odds Ratio“ mit 95 % KI für Variablen auf die Chance Antikörper gegen *Toxocara canis* zu detektieren.

Logistische Regressionen wurden berechnet mit den Variablen Fangort oder Gattung (B) oder einer Kombination beider Variablen (C). Referenzkategorien waren *Apodemus* für die Gattung und Gatow für den Fangort. „Odds Ratio“ für den Genus *Microtus* waren $1,1 \times 10^{-7}$ in den Modellen in (B) und (C), wurden aber nicht dargestellt, da in keinem Tier der Gattung Antikörper gegen *T. canis* nachgewiesen wurden und das 95 % KI sehr weit war. *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$.

4.3 Ergebnisse Kokzidien- und Toxoplasma-PCR

Durch die zunächst durchgeführte PCR mit einem ITS-1 Primer-Paar, welches generell die Kokzidien abdeckt und der zuvor isolierten Gehirn-DNA der Wildnager wurden 34 Proben positiv getestet [13,6 % (95 % KI 9,63-18,73 %, $n = 257$)]. Nach der Sequenzierung wurden alle DNA-Abschnitte *F. glareoli* zugeordnet. Tabelle 9 fasst das Vorkommen von *F. glareoli* in den untersuchten Wildnager-Spezies in Abhängigkeit von Altersgruppe, Geschlecht und Standort zusammen. *F. glareoli* zirkuliert primär zwischen der Rötelmaus und dem Mäusebussard (*Buteo buteo*). Bei dem Großteil der positiv getesteten Tiere handelt es sich auch um die Rötelmaus (26 Tiere). In dieser Studie konnte ebenfalls ein Auftreten in einzelnen Gelbhalsmäusen und einer Brandmaus verzeichnet werden. Die befallenen Wildnager wurden primär an den Standorten Gatow und Tegel, jedoch auch im Stadtpark in Steglitz gefangen, während in Moabit kein Tier positiv befundet wurde.

Ergebnisse

Tabelle 9. Nachweis von *Frenkelia glareoli* mittels PCR in verschiedenen Wildnager-Spezies nach Altersgruppen, Geschlechtern und Standorten.

	<i>Apodemus flavicollis</i> Anzahl ^a Prävalenz (%) (95 % KI)	<i>Apodemus sylvaticus</i> Anzahl ^a Prävalenz (%) (95 % KI)	<i>Apodemus agrarius</i> Anzahl ^a Prävalenz (%) (95 % KI)	<i>Myodes glareolus</i> Anzahl ^a Prävalenz (%) (95 % KI)	<i>Microtus arvalis</i> Anzahl ^a Prävalenz (%) (95 % KI)	<i>Microtus agrestis</i> Anzahl ^a Prävalenz (%) (95 % KI)
Alle	82 8.5 (4.2-16.6)	25 0 (0-13.2)	78 1.3 (0.2-6.9)	59 44.1 (32.2-56.7)	11 0 (0-25.9)	2 0 (0-65.8)
Juvenile	0	2 0 (0-65.8)	4 0 (0-49.0)	2 100 (34.2-100)	0	0
Subadult ^b	10 20 (5.7-51.0)	2 0 (0-65.8)	9 0 (0-29.9)	2 0 (0-65.8)	0	0
Adult	72 6.9 (3.0-15.3)	21 0 (0-15.5)	65 0 (0-5.6)	55 43.6 (31.4-56.7)	0	0
Weiblich	41 12.2 (5.3-25.5)	11 0 (0-25.9)	34 2.9 (0.5-14.9)	29 41.4 (25.5-59.3)	0	0
Männlich	41 4.9 (1.3-16.1)	14 0 (0-21.5)	44 0 (0-8.0)	30 46.7 (30.2-63.9)	0	0
Gatow	33 15.2 (6.7-30.9)	0	5 0 (0-43.5)	45 38.6 (25.7-53.4)	11 0 (0-25.9)	0
Tegel	22 4.5 (0.8-21.8)	0	0	15 60 (35.8-80.2)	0	0
Moabit	0	25 0 (0-13.2)	0	0	0	0
Steglitz	27 3.7 (0.7-18.3)	0	73 1.4 (0.2-7.4)	0	0	0

^aAnzahl untersuchter Tiere.

^bAusgewachsene Tiere ohne Anzeichen von sexueller Aktivität.

Durch die logistische Regression sollte der Effekt von Spezies oder Gattung, Fangort, Geschlecht und Alter auf die Wahrscheinlichkeit *F. glareoli* zu finden untersucht werden. Alternative Modelle wurden entweder mit den Variablen Spezies oder Genus berechnet, aber nicht beiden Variablen in einem Modell. Weder das Alter noch das Geschlecht hatte einen positiven Effekt auf das Modell im Sinne einer Erniedrigung des AIC-Wertes. Die Wahrscheinlichkeit, dass der Test positiv für *F. glareoli* war, wurde allein durch die Variabel der Spezies *M. glareolus* oder durch die Variabel des Genus *Myodes* erhöht (für beide $p < 0,001$). Wurde zu diesen beiden Modellen der Standort hinzugefügt, erhöhte sich das AIC in Zusammenhang mit der Variable Spezies und verhielt sich entgegengesetzt bei Verwendung der Variable Genus. Das Modell mit Spezies und Fangort weist weitere Mängel auf in Form von hoher Beeinflussung durch einzelne Individuen wie die einzige gefangene Rötelmaus in Moabit, die zusätzlich negativ getestet wurde. Details zu den berechneten Regressionsmodellen finden sich im Anhang in Tabelle 10.

Lediglich für die Rötelmäuse wurde das Alter näher betrachtet. Der Vergleich des Trockengewichtes der Augenlinse von *F. glareoli* negativen und positiven Tieren ergab einen signifikant höheren Median des Linsengewichts für positive Nager ($p < 0,05$ im Mann-Whitney U Test). Daraus lässt sich schließen, dass das Alter der *F. glareoli* positiven Tieren deutlich höher war als das Alter der negativen Tiere.

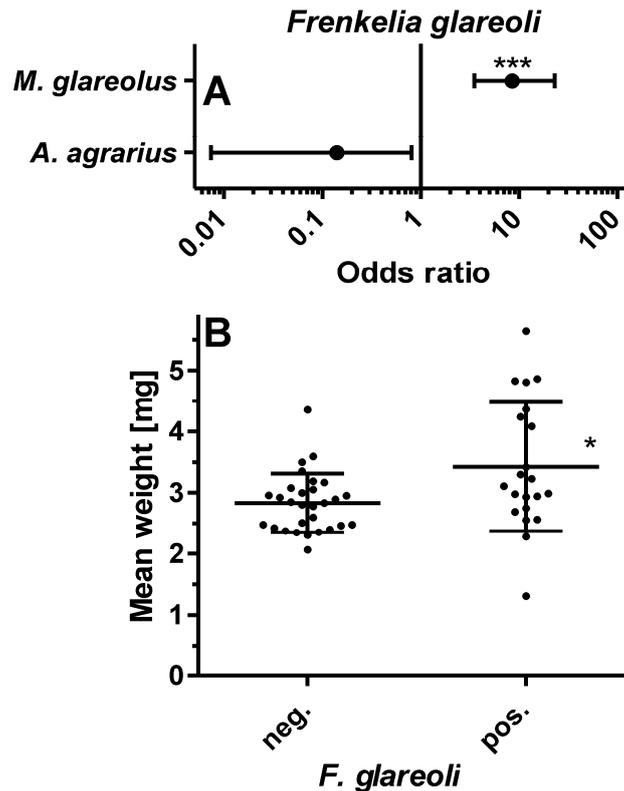


Abb. 2: Logistische Regressionsanalyse zum Einfluss von Parametern auf die Wahrscheinlichkeit *Frenkelia glareoli*-DNA zu finden

- (A) Odds ratio mit 95 % KIs für die Variablen, die die Chance bestimmen *F. glareoli* in *M. glareolus* und *A. agrarius* zu finden im Vergleich zu *A. flavicollis*. Es wird ein final Modell verwendet, dass nur die Wildnagerspezies in Erwägung zieht. Odds ratios für *A. sylvaticus*, *M. agrestis* und *M. arvalis* waren $9,3 \times 10^{-8}$ und wurden nicht dargestellt weil der Parasit in keiner dieser Mäuse gefunden werden konnte und die 95 % KIs sehr weit waren.
- (B) Verteilung des Trockengewichtes der Augenlinsen als ein indirekter Indikator für das Alter der Tiere in *M. glareolus* mit und ohne *F. glareoli*-Infektion. Eingezeichnet wurden nur Tiere aus dem Jahr 2011, da das Gewicht in 2010 nicht bestimmt wurde. Datenpunkte repräsentieren den Mittelwert beider Linsen zusammen mit den Mittelwerten \pm SD für alle Tiere in der Gruppe, $p < 0,05$ im Mann-Whitney U Test.
- (C, D) Odds ratio mit 95% Konfidenzintervallen für die Wahrscheinlichkeit *T. gondii* DNA in der PCR im Gehirn zu finden; Das Modell in (C) beinhaltet nur die Gattung und das Modell (D) den Fangort. *Myodes* wird nicht gezeigt, da dieser Parasit nicht in ihnen gefunden wurde. Das Odds ratio für *Myodes* war $7,0 \times 10^{-8}$ und es lag ein weites Konfidenzintervall vor. Die Referenzkategorien waren *Apodemus* für die Gattung und der Fangort Gatow. Alle Odds ratios und Signifikanzen wurden durch die Logistische Regression berechnet. Anschließend wurde ein T-Test durchgeführt um die Signifikanz der Einzelparameter zu bestimmen.

Die zuerst durchgeführte Kokzidien-PCR mit dem ITS1-Primerpaar detektierte keine DNA von *T. gondii*, sodass eine zweite PCR mit spezifischen *T. gondii*-Primern angeschlossen wurde. Die Primer richten sich gegen eine repetitive Sequenz im Genom dieses Parasiten. Von den 257 untersuchten Gehirnproben konnten 12 positiv getestet werden. Die Prävalenz lag dementsprechend bei 4,70 % (95 % KI 2,53-7,93%, $n = 257$). Zu den positiv getesteten Mäusespezies gehörten die Gelbhalsmaus, die Brandmaus, die Erdmaus, die Feldmaus und die Waldmaus, nur von den gefangenen Rötelmäusen war kein Tier positiv. Die Wildnager stammten von allen vier Standorten. In der Gattung *Microtus* wurde signifikant häufiger *T. gondii* DNA nachgewiesen im Vergleich zu den Gattungen *Apodemus* und *Myodes* (jeweils

$p=0,003$). Tabelle 11 gibt die Ergebnisse für *T. gondii* in Abhängigkeit von Wildnagerspezies, Fangort, Altersgruppe und Geschlecht wieder.

In der logistischen Regression führte der Einschluss der Variablen Geschlecht und Alter zu einem Anstieg des AIC. Es wurde keine Signifikanz verzeichnet bei der Kombination Spezies mit Standort, da die Zahl der positiven Tiere so gering war. Die McFadden pseudo- R^2 -Werte waren für beide Modelle niedrig (0.15-0.18). Die Chance für die Spezies *Microtus* positiv zu sein war 9.8-mal höher als für *Apodemus*. Bei der Berücksichtigung der Gattung und des Fangortes stiegen die „Odds-Ratio“-Werte für *Microtus* positiv getestet zu werden im Vergleich zu *Apodemus* von 9.8 auf 20 an. Für *Myodes* konnten kein „Odds-Ratio“ berechnet werden, da keines der gefangenen Tiere positiv für *T. gondii* war. Der Mid-p-exakt Test ergab eine signifikante niedrigere *T. gondii*-Prävalenz in der Gattung *Myodes* ($p<0,001$) im Vergleich mit *Microtus*, hingegen war der Unterschied von *Myodes* und *Apodemus* nicht signifikant ($p= 0,11$). Details zu den berechneten Regressionsmodellen befinden sich im Anhang in Tabelle 12 .

Ergebnisse

Tabelle 11. Nachweis von *Toxoplasma gondii* mittels PCR in verschiedenen Wildnager-Spezies nach Altersgruppen, Geschlechtern und Standorten.

	<i>Apodemus flavicollis</i> Anzahl ^a Prävalenz (%) (95 % KI)	<i>Apodemus sylvaticus</i> Anzahl ^a Prävalenz (%) (95 % KI)	<i>Apodemus agrarius</i> Anzahl ^a Prävalenz (%) (95 % KI)	<i>Myodes glareolus</i> Anzahl ^a Prävalenz (%) (95 % KI)	<i>Microtus arvalis</i> Anzahl ^a Prävalenz (%) (95 % KI)	<i>Microtus agrestis</i> Anzahl ^a Prävalenz (%) (95 % KI)
Alle	82 2.4 (0.7-8.5)	25 8.0 (2.2-25.0)	78 5.1 (2.0-12.5)	59 0 (0-6.1)	11 27.3 (9.7-56.6)	2 50 (2.5-97.5)
Juvenile	0	2 0 (0-65.8)	4 0 (0-49.0)	2 0 (0-65.8)	0	0
Subadult ^b	10 0 (0-27.8)	2 0 (0-65.8)	9 0 (0-29.9)	2 0 (0-65.8)	1 100 (20.7 – 100)	0
Adult	72 2.8 (0.8-9.6)	21 9.5 (2.7-28.9)	65 6.2 (2.4-14.8)	55 0 (0-6.5)	10 10 (5.7-51.0)	2 50 (2.5-97.5)
Weiblich	41 2.4 (0.4-12.6)	11 0 (0-25-9)	34 5.9 (1.6-19.1)	29 0 (0-11.7)	7 42.9 (12.3-78.4)	2 50 (2.5-97.5)
Männlich	41 2.4 (0.4-12.6)	14 14.3 (4.0-39.9)	44 4.5 (1.3-15.1)	30 0 (0-11.4)	4 0 (0-60.4)	0
Gatow	33 0 (0-10.4)	0	5 20 (3.6-62.4)	45 0 (0-7.9)	11 27.3 (9.7-56.6)	2 50 (2.5-97.5)
Tegel	22 9.1 (2.5-27.8)	0	0	15 0 (0-20.4)	0	0
Moabit	0	25 8.0 (2.2-25.0)	0	0	0	0
Steglitz	27 0 (0-12.5)	0	73 4.1 (1.4-11.4)	0	0	0

^aAnzahl untersuchter Tiere.

^bAusgewachsene Tiere ohne Anzeichen von sexueller Aktivität.

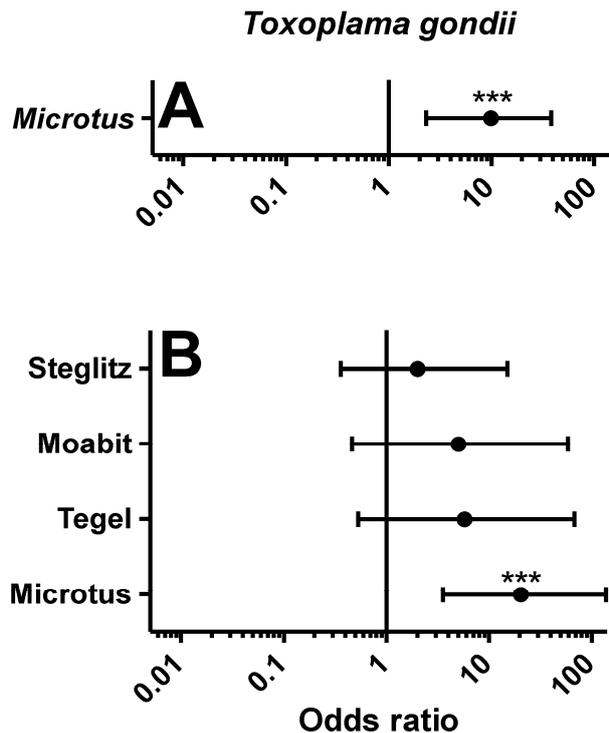


Abb. 3: Logistische Regressionsanalyse zum Einfluss von Parametern auf die Wahrscheinlichkeit *Toxoplasma gondii*-DNA zu finden

Odds ratio mit 95 % KIs für die Wahrscheinlichkeit *T. gondii* DNA in der PCR im Gehirn zu finden. Das Modell in (A) beinhaltet nur die Gattung und das Modell (B) den Fangort. Das Odds ratio für *Myodes* war $7,0 \times 10^{-8}$ und es lag ein weites Konfidenzintervall vor. Die Referenzkategorien waren *Apodemus* für die Gattung und der Fangort Gatow. Alle Odds ratios und Signifikanzen wurden durch die Logistische Regression berechnet. Dabei wurde ein t-Test durchgeführt, um die Signifikanz der Einzelparameter zu bestimmen.

Ähnlich wie bei der Durchführung des ELISA auf *Toxocara*-AK wurden auch Serumproben zur Untersuchung auf *T. gondii* zur Universität Zürich in das Institut für Parasitologie verbracht. Die Untersuchung führt jedoch zu keinem aussagekräftigen Ergebnis (alle Tiere negativ einschließlich der PCR positiven) und wurde in der statistischen Berechnung nicht weiter beachtet.

4.4 Ergebnisse Metazestoden-PCR

In der Sektion wurden in insgesamt sechs Wildnagern Tetrahyridien gefunden. Bei den Nagern handelt es sich um drei Rötelmäuse, eine Brandmaus, eine Gelbhalsmaus und eine Feldmaus. Die Tiere stammten von allen Standorten außer Moabit. Dies entspricht einer Prävalenz von 2,34 % (95 % KI 0,94-4,86%, $n=257$). Durch die durchgeführte PCR und die anschließende Sequenzierung konnten die sechs Proben als Tetrahyridien von *M. litteratus* identifiziert werden.

Taenien sowie Organveränderungen, die eventuell auf eine Erkrankung mit *E. multilocularis* hinwiesen, wurden mittels PCR untersucht (ITS-2, Subfragment der mitochondrialen 12 S rRNA der Plattwürmer, *E. multilocularis* spezifisch). Keine der sechs Leberproben wurde positiv befundet. In fünf weiteren Fällen wurden Taenienlarven (zwei Rötelmäuse, eine Brandmaus und zwei Gelbhalsmäuse) gefunden, bei denen nach erfolgter ITS-2 PCR und Sequenzierung eine 74%ige Übereinstimmung mit *Taenia crassiceps* verzeichnet wurde. Mittels der mitochondrialen 12 S rRNA-PCR wurde eine 99%ige Übereinstimmung mit zwei

Ergebnisse

Taenia martis Sequenzen in Gen-Bank festgestellt. In einer Rötelmaus aus Tegel wurde eine dritte Zestodenspezies gefunden, die über eine mikroskopische Untersuchung als *Cladotaenia globifera* bestimmt wurde. Diese Art nutzt der verschiedene Greifvögel als Endwirt (Sanmartin et al., 2004).

Co-Infektionen mit mehreren Parasiten

Einige der gefangenen Nagetiere wiesen gleichzeitig Infektionen mit mehreren der hier untersuchten Pathogene auf. Eine Rötelmaus aus Tegel war besonders betroffen und war mit 512 *M. litteratus* Tetrahyridien, einer *T. martis*- und mehr als 10 *C. globifera*-Larven befallen (Tabelle 13). Bei drei Nagern, die im ELISA positiv auf *T. canis* getestet wurden, wurde zugleich eine Co-Infektion mit *F. glareoli* (zwei Tiere) und *T. gondii* (ein Tier) nachgewiesen. Zwei weitere Wildnager waren positiv für *F. glareoli* und *M. litteratus* und ein Tier positiv für *T. cati* und *M. litteratus*. Außerdem lag eine Coinfektion in einer Maus vor, in der *T. martis* Larven gefunden wurden und ein zugleich in der PCR positive auf *F. glareoli* getestet wurde.

Tabelle 13. Coinfektionen mit Parasiten in den 257 untersuchten Nagetieren

Parasiten Coinfektionen	Anzahl der befallenen Nager
<i>Mesocestoides litteratus</i> Larve <i>Taenia martis</i> Larve <i>Cladotaenia globifera</i> Larve	1
<i>Toxocara canis</i> ELISA <i>Toxoplasma gondii</i> PCR	1
<i>Mesocestoides litteratus</i> Larve <i>Frenkelia glareoli</i> PCR	2
<i>Toxocara canis</i> ELISA <i>Frenkelia glareoli</i> PCR	2
<i>Mesocestoides litteratus</i> Larve <i>Toxocara cati</i> PCR	1
<i>Taenia martis</i> Larve <i>Frenkelia glareoli</i> PCR	1

NMDS und Clusteranalyse

Aufgrund der Funde von verschiedenen Wildnagern und Parasiten in den verschiedenen Fangwochen wurden zwei „dissimilarity“ Matrizen berechnet, um bestimmte Verteilungsmuster zu ermitteln und darzustellen. Mit den Matrizen wurde ein NMDS, „k-mean clustering“ und eine PERMANOVA-Analyse durchgeführt. Der PERMANOVA Test wurde genutzt, um festzustellen, ob ein Wildnager oder Parasit unterschiedlich in Bezug auf Fangort oder periurbaner/urbaner Lage auftaucht. Abb. 4A zeigt einen NMDS Plot für die Wildnagerdaten. PERMANOVA identifizierte signifikante Unterschiede zwischen den Fangstandorten sowie zwischen periurbaner und urbaner Lage ($p < 0,001$). Die Mindestzahl Anzahl von „k-means“ Clustern war drei und die Cluster wurden im NMDS PLOT als unterschiedlichen Ellipsen gekennzeichnet. Cluster 1 enthält alle Datenpunkte aus Steglitz sowie einzelne Datenpunkte aus Gatow und Tegel. Dieses Cluster fällt durch eine signifikante höhere Anzahl an Brandmäusen und das Fehlen der Rötelmaus auf (Abb. 4B). Cluster 2 umfasst die meisten Datenpunkte aus Gatow und Tegel. NMDS zeigt, dass dieses Cluster dem Cluster 1 sehr ähnlich war, es wies aber eine hohe Abundanz von Rötelmäusen auf. Beide Cluster haben eine hohe Abundanz von Gelbhalsmäusen. Cluster 3 beinhaltet alle Daten von Moabit. Dieses Cluster ist dadurch charakterisiert, dass nur hier Waldmäuse gefangen wurden.

Im zweiten Modell und der dazu gehörigen Abb. 4C wurden die Parasitendaten ausgewertet. Auch hier gab es Unterschiede in der Parasitenverteilung im Bezug auf den Standort und Verteilung in periurban sowie urban. Cluster A enthält die meisten periurbanen Daten aus Gatow und Tegel. Das Cluster zeichnet sich durch seltenes Auftreten von Askariden Larven und ein häufiges Auftreten von *F. glareoli* aus. Cluster B beinhaltet alle Daten aus den

urbanen Standorten Moabit und Steglitz plus zwei Datenpunkte aus Gatow. Es liegt eine hohe Abundanz von Ascariden und nur seltene Funde von *F. glareoli* vor (Abb. 4B). Die anderen Parasiten (*T. gondii*, *M. litteratus*) wurden nur in kleinen Zahlen gefunden. Die beiden Datenpunkte (Gatow 3 (G3) und Steglitz 2 (S2)) werden als Ausreißer betrachtet. In diesen Fangwoche wurden weder Ascariden noch Frenkelien gefunden. Ein weiterer Datenpunkt (G8), der im Cluster B auftaucht, umschreibt eine Fangwoche in Gatow in der zwei von fünf Ascariden positiven Tieren aus periurbanen Standorten gefangen wurden. Es enthält zusätzlich zwei von vier Frenkelien positiven Wildnagern. Die anderen beiden Tiere mit einem Nachweis von *F. glareoli* wurden in Steglitz in der Fangwoche 1 (S1) gefangen, in der zusätzlich drei positive Ascariden-Tiere identifiziert wurden.

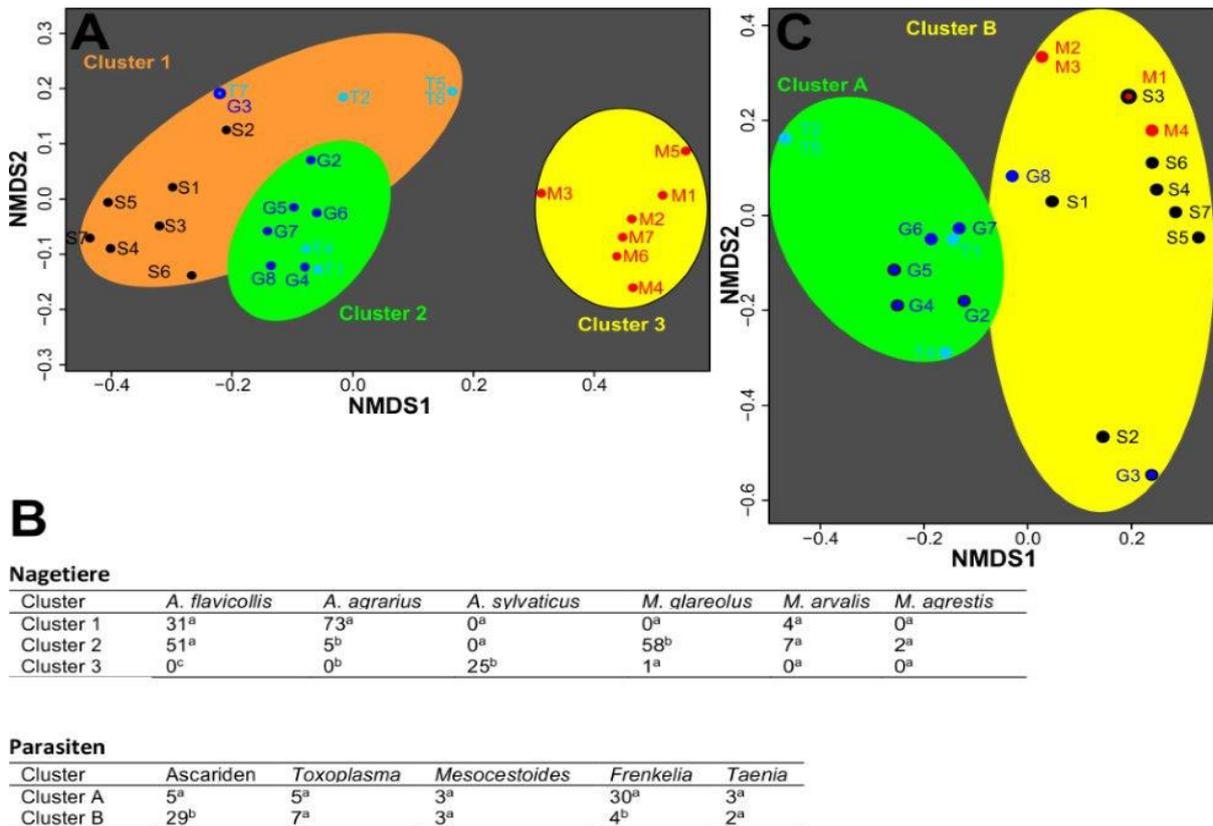


Abb. 4: Identifikation von Verteilungsmustern durch „non-metric multidimensional scaling“ (NMDS) und „k-means“ Clusteranalyse

Die NMDS Analysen zeigen Ähnlichkeiten bei den gefangenen Nagern (A) oder Parasiten-positiven Nager (C) an den verschiedenen Fangorten (G=Gatow, M=Moabit, S=Steglitz, T=Tegel) und Fangzeiträume (1-8). Wildnager wurden als Ascariden positiv befundet wenn der *T. canis* ELISA positiv oder die Ascariden-PCR positiv ausfiel. Für jede Fangwoche wurde mit der Anzahl der einzelnen Nagerspezies oder mit der Anzahl der positiv getesteten Tiere eine Bray-Curtis „dissimilarity matrix“ berechnet. Im Anschluss folgte die NMDS Berechnung. Die Matrix wurde verwendet, um Mindestanzahl an „k-means“ Clustern zu finden, die durch farbliche Ellipsen in den NMDS Plots dargestellt werden. (B) Die Cluster wurden mittels mid-P-exact Test auf Unterschiede in der Anzahl verschiedener Wildnager- oder Parasitenspezies analysiert. Zahlen mit unterschiedlichen Indizes in der gleichen Spalte zeigen signifikante Unterschiede ($p < 0,01$), gleiche Indizes zeigen nicht signifikante Unterschiede ($p > 0,05$).

V. Diskussion

In Europa kommt es fortlaufend zum Anstieg der Zahl von gehaltenen Hauskatzen und -hunden. Zusätzlich gibt es eine ansteigende Größe der Fuchspopulationen in periurbanen Bereichen, die aber auch zunehmend ihre bisherigen Habitatgrenzen überschreiten und weiter in urbane Bereiche vordringen (Šálek et al., 2015). Beides führt zu einer höheren Carnivorendichte. Auch verschiedene Populationen von Greifvögeln wie der Mäusebussard besiedeln immer mehr urbane Lebensbereiche. Durch die steigende Tierzahl ist auch eine engere Jäger-Beute-Beziehung möglich. Diese hat zur Folge, dass auch potentielle Pathogene häufiger untereinander ausgetauscht werden können. Die Beutetiere sind häufig Wildnager. Damit steigt nicht nur das Risiko für die Carnivoren häufiger an bestimmten Parasitosen zu erkranken, sondern es besteht potentiell auch ein höheres Gesundheitsrisiko für den Mensch. Wichtige Parasiten von Hunden und Katzen wie *Toxocara* spp. und *T. gondii* oder die alveoläre Echinokokkose spielen eine bedeutende zoonotische Rolle, so dass in dieser Studie die Wildnager als Indikatoren für das Vorkommen dieser zoonotischen Erreger genutzt werden sollten.

5.1 Diskussion zu den Untersuchungen der Toxocarinae

Bei der Untersuchung der Wildnager auf die Infektion mit Ascaridenlarven und speziell Toxocarinae wurden als Untersuchungsmethoden zum einem als direktes Verfahren die PCR und zum anderen ein ELISA als indirektes Nachweisverfahren ausgewählt. Mittels PCR wurde Proben der Muskulatur und des Gehirnes der Mäuse untersucht. Bei insgesamt 4,3 % der Nager wurden in einem der beiden Geweben *T. canis* DNA nachgewiesen. Der ebenfalls durchgeführte ELISA ergab eine *T. canis*-Seroprävalenz von 13,3 %. Der deutliche Unterschied der Prävalenzen lässt sich damit erklären, dass der ELISA die sensitivere Untersuchungsmethode war, da der Nachweis von Antikörpern im Serum der Zwischenwirte einen generellen Kontakt mit dem Erreger widerspiegelt. Der Nachweis von *Toxocara*-Stadien in der Muskulatur und im Gehirn wird dadurch erschwert, dass nur ein kleiner Anteil des Organs in der DNA Isolation eingesetzt wurde und von der isolierten DNA nur ein kleiner Teil in der PCR untersucht wurde. Wenn sich in der entnommenen 30 mg Gewebeprobe keine Larven befanden, bleibt die PCR negativ, auch wenn in anderen Teilen des Gehirns oder der Muskulatur natürlich trotzdem Larven sein können. Diese würden aber in der Regel dazu führen, dass das Tier serokonvertiert.

Über das Verteilungsmuster und die Wanderwege der *T. canis* und *T. cati* Larven liegen mehrere experimentelle Studien vor. Generell hängt die Larvenverteilung von der aufgenommenen Anzahl infektiöser Stadien ab und davon, zu welchem Zeitpunkt nach der Infektion die Untersuchung durchgeführt wird (Cox and Holland, 1998; Dubinsky et al., 1995; Ollero et al., 2008). Die Wanderung verläuft in zwei Phasen: Zunächst eine Leber-Lungen assoziierte Phase gefolgt von der myotropen-neurotropen Phase. Der erste Abschnitt findet in den ersten Wochen *post infectionem* statt, danach können Larvenstadien im restlichen Körper in Geweben wie Muskulatur oder Gehirn nachgewiesen werden (Abo-Shehada and Herbert, 1984). Dubinsky et al. (1995) haben neben der Infektionsdosis auch die Wanderungsmuster von *T. canis*/*T. cati* in Mäusen (*Mus musculus*) verglichen. Mit niedrigen Infektionsdosen wurden generell wenige Larven gefunden. Bei hohen Dosen wurden die meisten Larven von *T. canis* im Gehirn und Muskel 70 Tage *post infectionem* festgestellt. Hingegen wurden bei *T. cati* Infektionen unter gleichen Bedingungen die Mehrzahl der Larven in der Muskulatur detektiert. Auch andere Autoren haben diese Beobachtung gemacht (Bisseru, 1969; Piergili Fioretti et al., 1989). Buren (1992) vermutete gleiche Verteilungsmuster, jedoch eine langsamere Einwanderung von *T. cati* in das ZNS. Weitere Vergleiche sind aber schwierig, da in dieser Studie zum direkten Nachweis der Larvenstadien

im Wildnager eine PCR basierend auf der ITS-Region angewendet wurde und in den anderen Studien der direkte Nachweis über die Verdauung des Gewebes sowie anschließende mikroskopische Durchmusterung des Lysates geschah (Taira et al., 2011; Talvik et al., 2006).

In einer Studie in Estland wurde die Verteilung von *Toxocara*-Stadien in der Umwelt untersucht, wobei neben Kot- und Sandproben auch Ratten gefangen wurden. Gehirn und Muskel des Hinterbeines wurden enzymatisch verdaut und das Lysat mikroskopisch untersucht (Talvik et al., 2006). Es konnten keine Larvenstadien nachgewiesen werden. Ein Vergleich mit dieser Studie ist direkt nicht möglich, da in der gesamten Fangzeit keine Ratte gefangen werden konnte. Talvik et al. (2006) hat neben den Kot- und Rattenproben auch Sandproben von Spielplätzen in Tartu untersucht. In nur einer Probe von 45 Sandproben wurden *Toxocara*-Eier gefunden. Eine ähnliche Beprobung von Spielplätzen hat in Hannover über ein Jahr monatlich stattgefunden. Es wurden von 46 Spielplätzen insgesamt 1362 Sandproben genommen. Die Prävalenzen schwanken hier saisonal von 6,5 % (3/46 im September) bis hin zu 41,3 % (19/46 im Februar) (Kleine et al., 2017).

Der ELISA, der in der vorliegenden Arbeit verwendet wurde, basiert auf der Verwendung von *T. canis* ES-Antigenen. Dieser ELISA wird generell als spezifisch betrachtet. Im Infektionsversuch mit Mäusen zeigt er keine Kreuzreaktivität mit Seren von *Ascaris suum* und *Toxascaris leonina* infizierten Tieren (Cuellar et al., 1992). Es sollte jedoch von einer gewissen Kreuzreaktivität zwischen *T. canis* und *T. cati* ausgegangen werden. Allerdings lässt sich dies in dieser Studie nicht bestätigen, da keines der vier in der PCR *T. cati*-positiven Tiere auch positiv im ELISA getestet wurde. Dafür waren sieben der acht in der PCR *T. canis* positiven Wildnager ebenfalls positiv im ELISA. Dieses Ergebnis legt eine gewisse Spezifität nahe, allerdings sind die Zahlen der positiven Tiere generell zu niedrig, um eine allgemeine Aussage zu erlauben.

In dieser Studie in Berlin konnten insgesamt 14,2 % der Seren positiv auf *T. canis* getestet werden. Im Vergleich zu anderen serologischen Untersuchungen ist die Seroprävalenz in Wildnagern in Berlin relativ hoch. Reperant et al. (2009) konnten 6,5 % positive Tiere in der Schweiz nachweisen. In der Schweiz befanden sich drei Feldmäuse, zwei Rötelmäuse und vier Gelbhalsmäuse unter den positiven Tieren. Auch zwei weitere Studien aus der Slowakei zeigten ähnliche Prävalenzen mit 6,4 % und 7,7 % (Antolova et al., 2004; Antolova et al., 2013). Bei der einen Studie aus der Slowakei verlief über einen Zeitraum von 2001 bis 2004 und die Speziesverteilung betreffend wurde ein deutlich häufigerer Nachweis bei Brandmäusen mit 11,0 % beobachtet, hingegen bei Gelbhalsmäusen nur 4,3 % und bei Rötelmäusen 3,6 %. Ähnliche Prävalenzen liegen auch bei der zweiten Studie von 2004 von der Arbeitsgruppe um Daniela Antolova aus der Slowakei vor. Hier fällt ebenfalls eine höhere Seroprävalenz bei Brandmäusen (15,9 %) als bei Gelbhalsmäusen (3,5 %) und Rötelmäusen (2,7 %) auf. In der hier vorliegenden Studie tauchten ebenfalls größere Unterschiede in der Verteilung der Seroprävalenzen auf. Die Brandmaus zeigte mit 33,3 % die häufigsten positiven Ergebnisse. Den zweithöchsten Prozentsatz hatte die Waldmaus mit 28 %, gefolgt von der Rötelmaus mit 3,6 % und der Gelbhalsmaus mit 1,3 %. Es lagen nicht nur ähnliche Ergebnisse im Bezug auf die Befallsrate der Wildnager zwischen den Studien aus der Slowakei und der eigens durchgeführten vor, sondern auch die Standortverteilungen der Positivfunde. So war in den bereits oben aufgeführten Studien aus der Schweiz und der Slowakei (Antolova et al., 2004; Reperant et al., 2009), die Wahrscheinlichkeit ein seropositives Tier in den urbanen Bereichen zu finden größer als in periurbanen Regionen. Dies legt nahe, dass die höheren Seroprävalenzen bei bestimmten Arten durch unterschiedliches Vorkommen in urbanen Bereichen hervorgerufen werden. Durch die hohe Kolinearität zwischen den Variablen Nagerspezies und Standorttyp ist es aber statistisch schwierig, hier eindeutige Korrelationen zu identifizieren, da in den urbanen Ökosystemen

immer andere Nagerspezies dominieren als in den periurbanen Ökosystemen.

Bei Hunden ist eine laktogene Übertragung von *Toxocara*-Larven auf die Welpen beschrieben, bei Katzen ist dieser Infektionsweg experimentell nicht nachgewiesen (Coati et al., 2004). Tomasovicova (1993) konnte bei Mäusen in einem experimentellen Versuchsaufbau die intrauterine und laktogene Übertragung von *Toxocara*-Larven an den Wurf feststellen, wobei die nachgewiesene Anzahl an Larven von Generation zu Generation abnahm. Am Standort Moabit war die Anzahl der Mäuse sehr begrenzt sowie auch die Möglichkeit neuer Mäuse aus benachbarten Habitaten zuzuwandern, da die Grünanlage umringt von Mehrfamilienhäusern lag. Geht man davon aus, dass alle 25 Waldmäuse zu einer Population oder Familie gehören, lässt es die Frage zu, ob sich alle sieben im ELISA positiv getesteten Tiere aus der Umwelt infiziert haben müssen oder ob es zu einer intrauterinen/laktogenen Übertragung kam. Insbesondere die Tatsache, dass sich unter den positiv befundenen Tieren neben adulten Tieren auch zwei juvenile und zwei subadulte Individuen befanden, verstärkt den Verdacht, dass die vertikale Übertragung eine Rolle spielen könnte. Andererseits ist es natürlich auch leicht vorstellbar, dass ein so kleines Habitat von einer einzigen, hohe Mengen an *T. canis* Eier ausscheidenden, Hund oder Fuchs langfristig hochgradig kontaminiert wurde, sodass dort lebende Nager einem sehr hohen Infektionsrisiko ausgesetzt waren.

5.2 Diskussion zu den Untersuchungen der Zestoden

In Europa sind die häufigsten Vertreter der Gattung *Mesocestoides* die Arten *M. litteratus* und *M. lineatus* (Dalimi et al., 2006; Hrckova et al., 2011; Okulewicz et al., 2005). Neben der Studie von Hrckova et al. haben auch Literák (2006) und Tenora (2005) das Vorkommen von *Mesocestoides* spp. in Rotfüchsen untersucht und stellten fest, dass *M. litteratus* häufiger auftritt als *M. lineatus*. Bei Hunden und Katzen konnten in zwei Studien in Deutschland in Kotproben nur sehr niedrige Prävalenzen festgestellt werden (Barutzki and Schaper, 2003, 2011). Über die Fauna in Wildnagern ist nur wenig bekannt. *M. lineatus* wurde in anderen Untersuchungen nachgewiesen (Behnke et al., 2008; Behnke et al., 2001; Conn et al., 2010). Des Weiteren konnte bei Untersuchungen von Wildnagern in Polen *M. litteratus* bei Brandmäusen und Rötelmäusen nachgewiesen werden (Zalesny and Hildebrand, 2012). Dies deckt sich mit den Ergebnissen aus Berlin, wo zusätzlich auch noch positive Gelbhalsmäuse und eine positive Feldmaus gefunden wurden.

In keiner der untersuchten Proben konnte ein Befall mit *E. multilocularis* nachgewiesen werden. Angesichts dieser Tatsache lässt sich vermuten, dass der Parasit in Berlin nicht vorkommt oder nur mit einer sehr geringen Prävalenz vorhanden ist. In Kombination mit den steigenden Fuchszahlen auch in urbanen Bereichen von Berlin, ist dies als ein erfreulicher Befund für die öffentliche Gesundheit anzusehen. Für Berlin liegen derzeit keine Daten zu Prävalenzen von Echinokokken-Infektionen bei Füchsen vor. Hingegen konnte ca. 60 - 100km nordwestlich von Berlin in Brandenburg eine Prävalenz von 2,4% festgestellt werden (Staubach et al., 2001; Tackmann et al., 1998). In anderen Bundesländern wurden in der jüngeren Vergangenheit eher Anstiege des Nachweises von *E. multilocularis* festgestellt: Thüringen von 11,9 % auf 42 % zwischen 1990 und 2005 und Sachsen-Anhalt von 13,6 % auf 23,4 % in einem Zeitraum von 1991 bis 2010) (Denzin et al., 2014). Marder sind Endwirte von *T. martis*. Dieser Parasit wird neuerdings als „emerging infectious disease“ betrachtet, da die Larven des Parasiten gelegentlich schwerwiegende Infektionen des Auges und des Gehirns bei Menschen auslösen können (Brunet et al., 2015; Eberwein et al., 2013). Auch bei anderen Primaten wurden Infektionen beobachtet, die mitunter tödlich verliefen (Brunet et al., 2014; De Liberato et al., 2014).

Es ist auch bemerkenswert, dass keine Larven der typischen Bandwürmer von Hunden und

Katzen wie *T. crassiceps* und *T. taeniaformis* gefunden wurde. Dies steht im Gegensatz zur Studie von Reperant et al. (2009), in der diese Erreger in Nagern im Kanton Genf (Schweiz) gefunden wurden.

5.3 Diskussion zu den Untersuchungen der Kokzidien

Generell sollte in dieser Studie mittels PCR in der Gruppe der Kokzidien der Nachweis von *T. gondii* erfolgen. Mit der durchgeführten Kokzidien-PCR mit den ITS-1 Primern wurden jedoch keine *T. gondii*-Nachweise verzeichnet, sondern lediglich *F. glareroli* detektiert. Dieser Parasit zirkuliert zwischen der Rötelmaus und dem Mäusebussard. Bei den Untersuchungen konnte dieser außer in 26 positiven Rötelmäusen auch in zwei anderen Mäusespezies, in diesem Fall der Gelbhalsmaus und der Brandmaus, nachgewiesen werden. In einer Studie von Fichet-Calvet in Frankreich wurden 2848 Wildnager unterschiedlicher Spezies und davon 1714 Gehirnproben auf Frenkelien untersucht (Fichet-Calvet et al., 2004). Dort wurde in 178 Rötelmäuse (47 %), einer Feldmaus (2 %), einer Erdmaus (1,4 %) und in vier *Apodemus*-Nagern (1,3 %) *F. glareoli* nachgewiesen. Neben *F. glareoli* konnte in der Studie auch noch *Frenkelia microti* in drei Rötelmäusen (1 %), 66 Feldmäusen (9,2 %), sechs Erdmäusen (8,2 %) und keiner *Apodemus*-Maus festgesellt werden. In einer weiteren Studie aus der Tschechischen Republik, wo 1760 Wildnager untersucht wurden, wurde *F. microti* größtenteils in *Apodemus*-Gehirnen beobachtet und nur in wenigen Rötelmäusen. Hingegen konnte *F. glareoli* nur in einer *Apodemus*-Maus nachgewiesen werden (Svobodova, 2004). Zusammenfassend im Vergleich aller drei Studien wurde *F. glareoli* am häufigsten in Rötelmäusen gefunden. Weitere Vergleiche der beiden Studien mit dieser hier sind schwierig, da zum einen die Anzahl der gefundenen *Microtus* spp. in der Berliner Untersuchung sehr gering war und zum anderen wurden auch hier wie schon bei den Vergleichen zu den *Toxocara*-Studien unterschiedliche Methoden angewendet. In der hier vorliegenden Studie erfolgte eine PCR und in den anderen beiden wurde das Gehirn lysiert und dann das Lysat auf das Vorhandensein von Zysten untersucht. Außerdem lag zum Untersuchungszeitpunkt keine Gen-Sequenz zu der ITS-2 Region bei *F. microti* in der Gen-Bank zum Vergleich vor.

Nachdem in der PCR mit den Kokzidien ITS-1 Primern keine *Toxoplasma*-Funde verzeichnet wurden, wurde eine spezifischere und sensitivere PCR durchgeführt. Dort wurden dann eine geringe Anzahl von zwölf positiven Tieren festgestellt, mit einer Tendenz *Toxoplasma* eher in *Microtus* zu finden als in *Apodemus*. In der Studie von Reperant et al. (2009) in der Schweiz, in der Wildnager ebenfalls als Indikatoren für zoonotische Parasiten untersucht wurden, konnte *Toxoplasma* in einer Feldmaus, keiner Rötelmaus und zwei Gelbhalsmäusen gefunden werden. Die Untersuchung erfolgt hier ebenfalls via PCR und zusätzlich erfolgte dort noch ein serologischer Nachweis. Dabei zeigten 22 Tiere einen positiven *Toxoplasma*-Antikörper-Titer. Eine nachträgliche ergänzende Untersuchung des Serums der Wildnager erfolgte auch in der hier vorgelegten Studie in Kooperation mit dem Institut für Parasitologie der Universität Zürich. Dabei wurde allerdings kein Tier positiv getestet. Da auch alle 12 PCR positiven Tiere in der serologischen Untersuchung negativ waren, wurde davon ausgegangen, dass die serologische Untersuchung nicht aussagekräftig war. Die Kollegen in Zürich vermuteten, dass das Antigen zu alt war und nicht mehr die notwendige Qualität hatte. Allerdings wurden ähnliche Beobachtungen in einer anderen Studie von Vujanic et al. (2011) beschrieben. Hier wurden Ratten auf *Toxoplasma* untersucht, davon waren elf Gehirnproben mikroskopisch positiv, fünfzehn in der PCR mit Gehirn-DNA sowie fünf Tiere bei beiden Tests. Dabei konnten in neun seronegativen Tieren Gehirnzysten festgestellt werden (Vujanic et al., 2011).

Generell lässt sich auch in anderen Studien ein Nachweis von *T. gondii* mit nur niedriger Häufigkeit verzeichnen. Bei einer groß angelegten Studie von Hejlícek et al. (1997) über einen Zeitraum von 1981-1990 in der Tschechischen Republik wurden von insgesamt 5163

untersuchten Wildnagern lediglich 42 positive Proben ermittelt, davon waren drei Rötelmäuse, vierzehn Feldmäuse, eine Erdmaus, siebzehn Gelbhalsmäuse und sieben Brandmäuse. Das Gehirn wurde hier mikroskopisch auf Zysten untersucht. Meerburg et al. (2012) hat ebenfalls Gehirnproben von 250 Wild-Kleinsäugetern analysiert. In der Studie wurde eine real-time-PCR verwendet, in der das gleiche Primerpaar benutzt wurde wie in der eigenen durchgeführten Studie. Am Ende konnten dort in nur zehn Tieren *T. gondii* nachgewiesen werden. Die positiven Nager waren eine Feldmaus, sieben *M. musculus* und zwei Weißzahnspechtmäuse (Meerburg et al., 2012). Eine andere Studie, die im westlichen Brandenburg in der Nähe zur Grenze nach Sachsen-Anhalt durchgeführt wurde, beschreibt bei einer Untersuchung von 72 Wildnagern (69 Feldmäuse und eine Brandmaus) keinen positiven Fund von *T. gondii* (Herrmann et al., 2012). In dieser Untersuchung wurden Seren mittels Immuno-Blot und DNA-Proben aus den Herzen mittels PCR untersucht. Die niedrigeren Prävalenzen für *T. gondii* lassen sich eventuell durch die unterschiedlichen Herkunftsgebiete der Wildnager (ländliche vs. Urban/periurbane Standorte) erklären. Außerdem wurde die DNA für die PCR aus unterschiedlichen Geweben gewonnen. Herrmann et al. (2012) nutzte DNA aus dem Herz und in dieser Studie wurde DNA aus dem Gehirn isoliert. Auch in einer Studie in Österreich konnten bei PCR-Untersuchungen von Gehirnproben von 286 Feldmäusen nur 0,7% positiv getestet werden (Fuehrer et al., 2010).

5.4 Non-metric multidimensional scaling

Das „non-metric multidimensional scaling“ und die allgemeine Clusteranalyse wurden durchgeführt, um allgemeine Verteilungsmuster in den Datensätzen zu finden. Es konnten hohe signifikante Unterschiede zwischen den Fangorten als auch zwischen periurban/urban festgestellt werden. Die Datenpunkt der NMDS Plots zwischen den drei Standorten Gatow, Tegel (periurban) und Steglitz (urban) lagen nah beieinander. Cluster A enthält Daten von allen drei Standorten hingegen sind im Cluster B nur Fangwochen aus Gatow und Tegel enthalten. Das vorzugsweise urbane Cluster wurde charakterisiert durch ein hohes Vorkommen von Askariden während im periurbanen Cluster ein hohes Auftreten von *F. glareoli* zu verzeichnen war. Dies lässt sich dadurch erklären, dass die Rötelmaus, die als primärer Zwischenwirt gilt, nicht an den urbanen Standorten gefangen wurde. Auch das Vorkommen des Endwirtes des Parasiten, des Mäusebussards, in eher ländlichen periurbanen Bereichen als der Stadt, unterstreicht dieses. Die am häufigsten vorkommende Parasitengruppe im urbanen Bereich waren die Askariden, was zu einem gewissen Grad erstaunlich ist, da die meisten positiven Wildnager (*T. canis* ELISA) aus dem Stadtpark in Steglitz stammen, der für Hunde nicht zugänglich ist. Jedoch ist der Park für Füchse zugänglich und es liegt vermutlich eine dichte Fuchspopulation in Berlin vor, allerdings gibt es dazu aktuell keine Studien. In Zürich konnte bereits festgestellt werden, dass es im Stadtbereich wesentlich dichtere Fuchspopulationen gibt als in ländlichen Regionen (Šálek et al., 2015; Stieger et al., 2002). Eine weitere Erklärung für die hohe Anzahl an positiven *T. canis* ELISA-Ergebnissen bei Wildnagern aus dem Stadtpark trotz fehlendem Zugang von Hunden zu der Parkanlage kann die generelle hohe Dichte von Askarideneiern in den Stadtbereichen mit einem hohen Vorkommen an Hunden und Katzen sein. Es gibt Modellansätze, die zum einen Hundewelpen und zum anderen streunende Katzen als Infektionsquelle sehen. Füchse sollen hingegen nur marginal zur Kontamination der Umwelt mit *Toxocara* Eiern beitragen (Morgan et al., 2013; Nijse et al., 2015). Dementsprechend führt eine hohe Dichte von ausgeschiedenen Askarideneiern zu einer Kontamination von eigentlich Hunde-freien Bereichen durch Übertragungseffekte mittels passivem Transport, wobei Oberflächengewässer, Verbringung von Erdboden sowie Weitertransport mit Schuhen und Fahrzeugen eine Rolle spielen könnten.

Die hier vorgelegte Studie konnte zeigen, dass Untersuchungen an Nagetieren in der Lage sind einen Einblick in die epidemiologische Rolle dieser Tiere als Zwischenwirte für

parasitäre Zoonosen oder wichtige Erkrankungen unserer Haustiere zu gewinnen. Dabei ist allerdings zu beachten, dass nicht mit allen Untersuchungsmethoden eine hinreichende Sensitivität erzielt werden konnte (ELISA vs. PCR) und dass für manche beim Menschen weitverbreitete Erreger wie *T. gondii* bei den Nagern mit ihrer im Vergleich zu Menschen kurzen Lebenserwartung nur niedrige Prävalenzen beobachtet werden. Eine wesentliche größere Anzahl von Fangorten wäre natürlich wünschenswert, denn unter epidemiologischen Gesichtspunkten sind hier nicht 257 Nagetiere sondern vier Standorte untersucht worden, was alle statistischen Aussagen über Standorteigenschaften schwierig macht. Nichtsdestotrotz werden viele der hier beobachteten Probleme in den statistischen Analysen auch bei deutlich erhöhter Anzahl von Standorten bestehen bleiben. So werden z.B. Rötelmäuse nie in nennenswerter Abundanz in urbanen Standorten auftreten und das hat zur Folge, dass es schwierig bleiben wird abzuschätzen, ob Unterschiede in der Parasitenfauna durch Eigenschaften von Standorten oder den dort vorkommenden Nagerspezies abhängen, da beide Variablen immer selbst hoch korreliert sind.

In Bezug auf *E. multilocularis*, den wahrscheinlich wichtigsten zoonotischen Parasiten mit Nagern als Zwischenwirt legen die Ergebnisse dieser und anderer Studien (Tackmann et al., 1998) nahe, dass es sinnvoller ist, Füchse zu beproben als Nagetiere. In Bezug auf *Toxocara*-Infektionen als ebenfalls wichtige Zoonoseerreger.

Die Funde von Zestodenlarven der Arten *M. litteratus* und *T. martis*, beides Erreger schwerer zoonotischer Erkrankung, weisen auf ein mögliches Infektionsrisiko im städtischen Raum hin. Auch hier stellt die systematische Untersuchung von Nagetieren eine sinnvolle Option dar, um das Risiko abzuschätzen, das von solchen Infektionserregern ausgeht.

VI. Zusammenfassung

Wildnager als Zwischenwirt und paratenischer Wirt von Hunde- und Katzenparasiten

Wildnager sind wichtige Zwischenwirte und paratenische Wirte für Parasiten von Hunden und Katzen. Dazu gehören auch Parasiten der Gattungen *Toxoplasma*, *Echinococcus* und *Toxocara*, die eine bedeutende Rolle als Zoonosen spielen. Wildnager können als Indikator für die Kontamination der Umwelt mit infektiösen Stadien dieser Pathogene genutzt werden und damit zur Einschätzung des Infektionsrisikos für Menschen und Haustiere beitragen.

In der vorliegenden Studie wurden im November 2010 sowie zwischen April und November 2011 an vier verschiedenen Standorten in Berlin Wildnager gefangen. Zwei der Standorte lagen im städtischen/urbanen Bereich und die anderen beiden waren periurban im Randbereich von Berlin lokalisiert. Die gefangenen Nager wurden einer kompletten parasitologischen Untersuchung unterzogen, in der verschiedene Organproben genommen wurden, um diese später auf Parasitenstadien zu untersuchen. Es wurden verschiedene PCRs durchgeführt, um DNA Protozoen speziell von *T. gondii*, und Helminthen, insbesondere von *Toxocara* spp., in Gewebeproben vom Gehirn (*Toxocara* und *T. gondii*) oder vom Muskel (*Toxocara*) der Tiere nachzuweisen. Zusätzlich wurden während der Sektion Metazestoden gesammelt, die ebenfalls über eine PCR gefolgt von Sequenzierung bestimmt wurden. Des Weiteren wurde ein ELISA zur Detektion von Antikörpern gegen *T. canis* durchgeführt.

Insgesamt konnten 257 Wildnager über den Fangzeitraum gefangen werden. Es wurden bei 14,2 % der Nager Antikörper gegen *T. canis* nachgewiesen. In Muskulatur oder Gehirn wurden acht Tiere auf *T. canis*, vier für *T. cati* und ein Tier für *Parascaris* sp. positiv getestet. Der am häufigsten nachgewiesene Parasit war *F. glareoli* mit einer Prävalenz von 13,6 %. Erwartungsgemäß wurde dieser Parasit überwiegend in Rötelmäusen gefunden (44,1 % Prävalenz), er wurde hier aber erstmals auch in wenigen Gelbhals- und einer Brandmaus nachgewiesen. Lediglich in 12 Wildnagern wurde *T. gondii* detektiert, was einer Prävalenz von 4,7 % entspricht. Dabei waren Nager aus der Gattung *Microtus* signifikant häufiger *T. gondii*-positiv als solche der Gattung *Apodemus*. Es gab keinen Nachweis von *Echinococcus* und die vorhandenen Metazestoden wurden molekularbiologisch den Arten *M. litteratus* und *T. martis* zugeordnet. Außerdem wurde in einer Rötelmaus *C. globifera* identifiziert, ein Parasit der bei Greifvögeln vorkommt. Bei der statistischen Untersuchung der Daten ergab eine Analyse mittels „Non-metric multidimensional scaling“ (NMDS) in Kombination mit einer Clusteranalyse, dass die Parasitenfauna in eine urbane und periurbane Gruppe aufgeteilt werden können. In der urbanen Gruppe wurde ein hohes Vorkommen von Askariden-Larven positiven Tieren verzeichnet, hingegen wurde die periurbane Gruppe durch das Auftreten von *F. glareoli* geprägt.

Abschließend lässt sich sagen, dass bei dieser durchgeführten Studie Parasiten mit zoonotischen Potential nachgewiesen wurden. *E. multilocularis* als bedeutendster zoonotischer Erreger wurde in keinem der Wildnager gefunden. *Toxocara* spp. war der am häufigsten nachgewiesene Parasit. In diesem Fall scheint die serologische Untersuchung mittels ELISA von Nagetieren eine sinnvolle Maßnahme um die Kontamination der Umwelt mit *T. canis* zu monitoren. Es scheint aber aufgrund der besonders schnell ansteigenden Zahl von Hauskatzen wünschenswert entsprechende Assays auch für *T. cati* zu entwickeln und einzusetzen.

VII. Summary

Small rodents as intermediate host and paratenic host of parasites from dogs and cats

Wild rodents are important intermediate and paratenic hosts of canine and feline parasites. Among these are parasites of the genera *Toxoplasma*, *Echinococcus* and *Toxocara*, which play an important role as causes of zoonotic diseases. Wild rodents can be used as indicators of environmental contamination with infectious stages of these pathogens and thus to estimate risk of transmission for humans and companion animals.

In the present study wild rodents were captured at four study sites in Berlin in November 2010 and between April and November 2011. Two of the sites were located in urban areas in the city while the other two were in periurban areas at the periphery of the city. The trapped rodents were subjected to a complete parasitological examination during which several organ samples were taken to be analysed later for the presence of parasitic stages. Various PCRs were conducted to detect DNA of protozoa, particularly *Toxoplasma gondii*, and helminths, especially *Toxocara* spp., in tissue samples from brain (*T. gondii* and *Toxocara* spp.) and from muscle (*Toxocara* spp.). In addition, metacestodes were collected during necropsies and identified by PCR and sequencing. Moreover, an ELISA for the detection of antibodies against *T. canis* was performed.

In total, 257 wild rodents were trapped during the study period. Antibodies against *T. canis* were detected in 14.2% of all rodents. In muscle or brain, eight animals were positive by PCR for *T. canis*, four for *T. cati* and one for *Parascaris* sp. With a prevalence of 13.6% *Frenkelia glareoli* was the most frequently found parasite. As expected, this parasite was predominantly found in bank voles (44.1% prevalence) but for the first time it was also found in a few yellow-necked mice and a striped field mouse. *T. gondii* was found in only 12 wild rodents, which corresponds to a prevalence of 4.7%. Rodents of the genus *Microtus* were significantly more frequently infected than those of the genus *Apodemus*. None of the rodents was positive for *Echinococcus* and the collected metacestodes were identified as *Mesocestoides litteratus* and *Taenia martis*. Furthermore, *Cladotaenia globifera*, a parasite of prey birds, was identified in one bank vole. The statistical evaluation of the data by non-metric multidimensional scaling (NMDS) in combination with a cluster analysis revealed that the parasite fauna can be grouped into an urban and a periurban group. The urban group was characterised by a high frequency of rodents carrying larvae of ascarids while the periurban group showed a high frequency of *F. glareoli*.

VIII. Abkürzungsverzeichnis

95 % KI	95 % Konfidenzintervall
AG	Antigen
AIC	Akaike Information Criterion
AK	Antikörper
Bp	Basenpaare
DNA	Desoxyribonukleinsäure
ELISA	Enzym-linked Immunosorbent Assay
× g	Vielfaches der Erdbeschleunigung
G	Gauge
Ha	Hektar
Kb	Kilobase
L	Larve
LB	Lysogeny Broth
LRT	Likelihood-ratio test
NMDS	Non-metric multidimensional scaling
OLM	Okulare <i>Larva migrans</i>
PCR	Polymerasekettenreaktion
PV	Parasitophore Vakuole
VLM	Viszerale <i>Larva migrans</i>

IX. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Puffer und Lösungen

Tabelle 2: Medien und Organismen

Tabelle 3: Primer

Tabelle 4: Software

Tabelle 5: Verteilung von in die Studie eingegangene Nager-Spezies auf die verschiedenen Standorte verteilt

Tabelle 6: Nachweis von *Toxocara canis* mittels PCR in verschiedenen Wildnager-Spezies, Altersgruppen, Geschlechtern und Standorten

Tabelle 7: Nachweis von *Toxocara canis* mittels ELISA in verschiedenen Wildnager-Spezies, Altersgruppen, Geschlechtern und Standorten

Tabelle 8: Modelle a-d der Logistischen Regression für das Vorhandensein von *T.canis* Antikörpern (s.Tabellenanhang)

Tabelle 9: Nachweis von *Frenkelia glareoli* mittels PCR in verschiedenen Wildnager-Spezies, Altersgruppen, Geschlechtern und Standorten

Tabelle 10: Modelle f-i der Logistischen Regression für das Vorhandensein von *F.glareoli* DNA (s.Tabellenanhang)

Tabelle 11: Nachweis von *Toxoplasma gondii* mittels PCR in verschiedenen Wildnager-Spezies, Altersgruppen, Geschlechtern und Standorten

Tabelle 12: Modelle j-k der Logistischen Regression für das Vorhandensein von *T.gondii* DNA (s.Tabellenanhang)

Tabelle 13: Coinfektionen

X. Tabellenanhang

Tabelle 8 Modelle a-e

Modell a

	Parameter	Estimate	Standard error	p value	Odd ratio	95% CI
	Intercept	-4.331	1.007	1.69e-05	1.315789e-02	7.457414e-04 - 5.920597e-02
Spezies	<i>Apodemus sylvaticus</i>	3.386	1.101	0.002095	2.955556e+01	4.843041e+00 - 5.710772e+02
	<i>Apodemus agrarius</i>	3.510	1.039	0.000726	3.344000e+01	6.691329e+00 - 6.083494e+02
	<i>Myodes glareolus</i>	1.035	1.238	0.403039	2.814815e+00	2.632472e-01 - 6.147645e+01
	<i>Microtus agrestis</i>	-13.235	2797.442	0.996225	1.786352e-06	0.000000e+00 - 5.915554e+54
	<i>Microtus arvalis</i>	-13.235	1398.721	0.992450	1.786352e-06	5.007826e-183 - 3.250776e+24
Genus	<i>Myodes</i>					
	<i>Microtus</i>					
Fangort	Tegel					
	Moabit					
	Steglitz					
	AIC	158.21				
	Pseudo-R ² (McFadden)	0.2242805				
	p value:LRT vs. null model	6.614298e-10				
	p value:LRT vs. fully parameterised model	0.9999986				
	p value:Wald test for variable Spezies					
	p value:Wald test for variable genus					
	p value:Wald test for variable Fangort					
	p value:LRT (drop out) for variable Spezies					
	p value:LRT (drop out) for					

Tabellenanhang

	variable Fangort					
	p value:LRT for nested models: Model 3 vs. Model 1	0.00393877				
	p value:LRT for nested models: Model 3 vs. Model 2	1.859333e-08				
	p value:LRT for nested models: Model 5 vs. Model 2	0.2843152				
	p value:LRT for nested models: Model 5 vs. Model 4	0.0110681				
Referenzfaktoren	Spezies	<i>A.flavicollis</i>				
	Genus	<i>Apodemus</i>				
	Fangort	Gatow				

Modell b

	Parameter	Estimate	Standard error	p value	Odd ratio	95% CI
	Intercept	-3.3440	0.5875	1.25e-08	0.03529412	0.008662791 - 0.09409487
Spezies	<i>Apodemus sylvaticus</i>					
	<i>Apodemus agrarius</i>					
	<i>Myodes glareolus</i>					
	<i>Microtus agrestis</i>					
	<i>Microtus arvalis</i>					
Genus	<i>Myodes</i>					
	<i>Microtus</i>					
Fangort	Tegel	1.0415	0.8437	0.21704	2.83333333	0.501110143 - 16.04155637
	Moabit	2.3455	0.7352	0.00142	10.43859649	2.647432303 - 51.98313843
	Steglitz	1.9844	0.6413	0.00197	7.27477477	2.361934316 - 31.83978761
	AIC	178.74				
	Pseudo-R ² (McFadden)	0.09415179				
	p value:LRT vs. null model	0.0001401158				
	p value:LRT vs. fully parameterised model	0.999525				
	p value:Wald test for variable Spezies					
	p value:Wald test for variable					

Tabellenanhang

	genus					
	p value:Wald test for variable Fangort					
	p value:LRT (drop out) for variable Spezies					
	p value:LRT (drop out) for variable Fangort					
	p value:LRT for nested models: Model 3 vs. Model 1					
	p value:LRT for nestes models: Model 3 vs. Model 2					
	p value:LRT for nestes models: Model 5 vs. Model 2					
	p value:LRT for nestes models: Model 5 vs. Model 4					
Referenzfaktoren	Spezies	<i>A.flavicollis</i>				
	Genus	<i>Apodemus</i>				
	Fangort	Gatow				

Modell c

	Parameter	Estimate	Standard error	p value	Odd ratio	95% CI
	Intercept	-20.2219	1027.4688	0.984	1.650986e-09	1.943454e-163 - 1.057637e+09
Spezies	<i>Apodemus sylvaticus</i>	20.0079	10754.0131	0.999	4.890138e+08	0.000000e+00 – NA
	<i>Apodemus agrarius</i>	20.6274	1027.4692	0.984	9.085482e+08	5.923124e-14 - 7.635685e+138
	<i>Myodes glareolus</i>	1.3863	1.2845	0.280	4.000000e+00	3.432911e-01 - 9.239418e+01
	<i>Microtus agrestis</i>	0.6558	7673.3363	1.000	1.926731e+00	3.413269e-165 - Inf
	<i>Microtus arvalis</i>	1.0204	3863.1040	1.000	2.774269e+00	1.564385e-35 - 4.919870e+35
Genus	<i>Myodes</i>					
	<i>Microtus</i>					
Fangort	Tegel	17.2262	1027.4685	0.987	3.028494e+07	1.974444e-15 - 2.544707e+137
	Moabit	-0.7305	10802.9851	1.000	4.816828e-01	9.659635e-232 – Inf
	Steglitz	-1.3322	0.9523	0.162	2.638889e-01	3.275592e-02 - 1.710170e+00
	AIC	153.14				

Tabellenanhang

	Pseudo-R ² (McFadden)	0.2830324				
	p value:LRT vs. null model	2.605249e-12				
	p value:LRT vs. fully parameterised model	0.9999999				
	p value:Wald test for variable Spezies	0.95				
	p value:Wald test for variable genus					
	p value:Wald test for variable Fangort	0.58				
	p value:LRT (drop out) for variable Spezies	1.141e-06				
	p value:LRT (drop out) for variable Fangort	0.01133				
	p value:LRT for nested models: Model 3 vs. Model 1					
	p value:LRT for nested models: Model 3 vs. Model 2					
	p value:LRT for nested models: Model 5 vs. Model 2					
	p value:LRT for nested models: Model 5 vs. Model 4					
Referenzfaktoren	Spezies	<i>A.flavicollis</i>				
	Genus	<i>Apodemus</i>				
	Fangort	Gatow				

Modell d

	Parameter	Estimate	Standard error	p value	Odd ratio	95% CI
	Intercept	-1.5686	0.2007	5.45e-15	2.083333e-01	0.13801700 - 3.039846e-01
Spezies	<i>Apodemus sylvaticus</i>					
	<i>Apodemus agrarius</i>					
	<i>Myodes glareolus</i>					
	<i>Microtus agrestis</i>					
	<i>Microtus arvalis</i>					

Tabellenanhang

Genus	<i>Myodes</i>	-1.7272	0.7475	0.0209	1.777778e-01	0.02816019 6.167124e-01
	<i>Microtus</i>	-15.9975	1251.0541	0.9898	1.128222e-07	NA - 6.771523e+34
Fangort	Tegel					
	Moabit					
	Steglitz					
	AIC	183.23				
	Pseudo-R ² (McFadden)	0.05970833				
	p value:LRT vs. null model	0.003599269				
	p value:LRT vs. fully parameterised model	0.9985874				
	p value:Wald test for variable Spezies					
	p value:Wald test for variable genus					
	p value:Wald test for variable Fangort					
	p value:LRT (drop out) for variable Spezies					
	p value:LRT (drop out) for variable Fangort					
	p value:LRT for nested models: Model 3 vs. Model 1					
	p value:LRT for nestes models: Model 3 vs. Model 2					
	p value:LRT for nestes models: Model 5 vs. Model 2					
	p value:LRT for nestes models: Model 5 vs. Model 4					
Referenzfaktoren	Spezies	<i>A.flavicollis</i>				
	Genus	<i>Apodemus</i>				
	Fangort	Gatow				

Modell e

	Parameter	Estimate	Standard error	p value	Odd ratio	95% CI
	Intercept	-2.9579	0.6763	1.22e-05	5.192988e-02	1.077853e-02 - 1.631006e-01

Tabellenanhang

Spezies	<i>Apodemus sylvaticus</i>					
	<i>Apodemus agrarius</i>					
	<i>Myodes glareolus</i>					
	<i>Microtus agrestis</i>					
	<i>Microtus arvalis</i>					
Genus	<i>Myodes</i>	-0.6599	0.8718	0.4491	5.169110e-01	7.062475e-02 - 2.594385e+00
	<i>Microtus</i>	-15.3242	1194.1037	0.9898	2.212084e-07	1.462111e-157 - 1.894539e+19
Fangort	Tegel	0.8559	0.8544	0.3165	2.353415e+00	4.080276e-01 - 1.355835e+01
	Moabit	1.9808	0.7990	0.0132	7.248873e+00	1.650573e+00 - 4.109373e+01
	Steglitz	1.6396	0.7240	0.0235	5.153211e+00	1.447201e+00 - 2.653349e+01
	AIC	180.22				
	Pseudo-R ² (McFadden)	0.10749694				
	p value:LRT vs. null model	3.983706e-05				
	p value:LRT vs. fully parameterised model	0.9995992				
	p value:Wald test for variable Spezies					
	p value:Wald test for variable genus	0.75				
	p value:Wald test for variable Fangort	0.074				
	p value:LRT (drop out) for variable Spezies					
	p value:LRT (drop out) for variable Genus	0.28432				
	p value:LRT (drop out) for variable Fangort	0.02919				
	p value:LRT for nested models: Model 3 vs. Model 1					
	p value:LRT for nestes models: Model 3 vs. Model 2					
	p value:LRT for nestes models: Model 5 vs. Model 2					
	p value:LRT for nestes models: Model 5 vs. Model 4					

Tabellenanhang

Referenzfaktoren	Spezies	<i>A. flavicollis</i>				
	Genus	<i>Apodemus</i>				
	Fangort	Gatow				

Tabelle 10 Modelle f-i

Modell f

	Parameter	Estimate	Standard error	p value	Odd ratio	95% CI
	Intercept	-2.3716	0.3952	1.96e-09	9.333333e-02	3.907702e-02 - 1.883946e-01
Spezies	<i>Apodemus sylvaticus</i>	-16.1945	1304.5278	0.9901	9.264503e-08	2.854644e-176 - 3.068872e+20
	<i>Apodemus agrarius</i>	-1.9722	1.0813	0.0682	1.391466e-01	7.351812e-03 - 8.082843e-01
	<i>Myodes glareolus</i>	2.1332	0.4743	6.87e-06	8.441558e+00	3.489642e+00 - 2.290140e+01
	<i>Microtus agrestis</i>	-16.1945	4612.2020	0.9972	9.264503e-08	NA - 5.148805e+306
	<i>Microtus arvalis</i>	-16.1945	1966.6496	0.9934	9.264503e-08	8.443655e-262 - 2.851138e+34
Genus	<i>Myodes</i>					
	<i>Microtus</i>					
Fangort	Tegel					
	Moabit					
	Steglitz					
	AIC	151.5				
	Pseudo-R ² (McFadden)	0.3054191				
	LRT vs. null model	4.796163e-14				
	LRT vs. fully parameterised model	1				
	Wald test for variable Spezies					
	Wald test for variable genus					
	Wald test for variable Fangort					
	LRT (drop out) for variable Spezies					
	LRT (drop out) for variable Fangort					
	LRT for nested models: Model 3 vs. Model 1					

Tabellenanhang

	LRT for nestes models: Model 4 vs. Model 2					
Referenzfaktoren	Spezies	<i>A. flavicollis</i>				
	Genus	<i>Apodemus</i>				
	Fangort	Gatow				

Modell g

	Parameter	Estimate	Standard error	p value	Odd ratio	95% CI
	Intercept	-3.0967	0.3615	< 2e-16	4.519774e-02	2.040534e-02 - 8.576359e-02
Spezies	<i>Apodemus sylvaticus</i>					
	<i>Apodemus agrarius</i>					
	<i>Myodes glareolus</i>					
	<i>Microtus agrestis</i>					
	<i>Microtus arvalis</i>					
Genus	<i>Myodes</i>	2.8583	0.4466	1.55e-10	1.743182e+01	7.561784e+00 - 4.434234e+01
	<i>Microtus</i>	-14.4694	1097.2471	0.989	5.200399e-07	1.351133e-148 - 7.778623e+16
Fangort	Tegel					
	Moabit					
	Steglitz					
	AIC	152.86				
	Pseudo-R ² (McFadden)	0.2687369				
	LRT vs. null model	1.906475e-12				
	LRT vs. fully parameterised model					
	Wald test for variable Spezies					
	Wald test for variable genus					
	Wald test for variable Fangort					
	LRT (drop out) for variable Spezies					
	LRT (drop out) for variable Fangort					
	LRT for nested models: Model 3 vs. Model 1					
	LRT for nestes models: Model					

Tabellenanhang

	4 vs. Model 2					
Referenzfaktoren	Spezies	<i>A. flavicollis</i>				
	Genus	<i>Apodemus</i>				
	Fangort	Gatow				

Modell h

	Parameter	Estimate	Standard error	p value	Odd ratio	95% CI
	Intercept	-2.2781	0.4906	3.43e-06	1.024784e-01	0.03917455 - 0.2680775
Spezies	<i>Apodemus sylvaticus</i>	1.9848	6651.8123	0.999762	7.277608e+00	0 – Inf
	<i>Apodemus agrarius</i>	-1.2993	1.2841	0.311610	2.727280e-01	0.02201567 - 3.3785292
	<i>Myodes glareolus</i>	1.9848	0.5189	0.000131	7.277608e+00	2.63193146 - 20.1234655
	<i>Microtus agrestis</i>	-16.2880	4612.2020	0.997182	8.437752e-08	0 – Inf
	<i>Microtus arvalis</i>	-16.0345	1946.5403	0.993428	1.087211e-07	0 - Inf
Genus	<i>Myodes</i>					
	<i>Microtus</i>					
Fangort	Tegel	0.3514	0.5024			0.53087746 - 3.8040977
	Moabit	-18.2728	6522.6386			0 – Inf
	Steglitz	-0.8473	1.0142			0.05871662 - 3.1282061
	AIC	154.69				
	Pseudo-R ² (McFadden)	0.3194130				
	LRT vs. null model	5.698369e-05				
	LRT vs. fully parameterised model	1				
	Wald test for variable Spezies	0.0061				
	Wald test for variable genus					
	Wald test for variable Fangort	0.68				
	LRT (drop out) for variable Spezies	7.854e-05				
	LRT (drop out) for variable	0.4218				

Tabellenanhang

	Fangort					
	LRT for nested models: Model 3 vs. Model 1	0.2453137				
	LRT for nested models: Model 4 vs. Model 2					
Referenzfaktoren	Spezies	<i>A. flavicollis</i>				
	Genus	<i>Apodemus</i>				
	Fangort	Gatow				

Modell i

	Parameter	Estimate	Standard error	p value	Odd ratio	95% CI
	Intercept	-2.3534	0.4845	1.19e-06		
Spezies	<i>Apodemus sylvaticus</i>					
	<i>Apodemus agrarius</i>					
	<i>Myodes glareolus</i>					
	<i>Microtus agrestis</i>					
	<i>Microtus arvalis</i>					
Genus	<i>Myodes</i>	2.0513	0.5154	6.88e-05		
	<i>Microtus</i>	-15.8879	1766.0296	0.9928		
Fangort	Tegel	0.3874	0.5023	0.4406		
	Moabit	-16.3987	1250.3261	0.9895		
	Steglitz	-15.384	0.8631			
	AIC	149.81				
	Pseudo-R ² (McFadden)	0.3138183				
	LRT vs. null model	2.065015e-14				
	LRT vs. fully parameterised model	1				
	Wald test for variable Spezies					
	Wald test for variable genus	0.00036				
	Wald test for variable Fangort	0.19				
	LRT (drop out) for variable Spezies					
	LRT (drop out) for variable	0.02858				

Tabellenanhang

	Fangort					
	LRT for nested models: Model 3 vs. Model 1					
	LRT for nested models: Model 4 vs. Model 2	0.01081374				
Referenzfaktoren	Spezies	<i>A.flavicollis</i>				
	Genus	<i>Apodemus</i>				
	Fangort	Gatow				

Tabelle 12 Modelle j-k

Modell j

	Parameter	Estimate	Standard error	p value	Odd ratio	95% CI
	Intercept	-3.0967	0.3615	< 2e-16	4.519774e-02	0.02040534 - 8.576359e-02
Spezies	<i>Apodemus sylvaticus</i>					
	<i>Apodemus agrarius</i>					
	<i>Myodes glareolus</i>					
	<i>Microtus agrestis</i>					
	<i>Microtus arvalis</i>					
Genus	<i>Myodes</i>	-164.694	1400.0533	0.99061	7.037975e-08	NA - 1.390294e+38
	<i>Microtus</i>	2.2858	0.7013	0.00112	9.833333e+00	2.29298395 - 3.820950e+01
Fangort	Tegel					
	Moabit					
	Steglitz					
	AIC	87.952				
	Pseudo-R ² (McFadden)	0.1548812				
	p value:LRT vs. null model	0.0005478678				
	p value:LRT vs. fully parameterised model	1				
	p value:Wald test for variable genus					
	p value:Wald test for variable Fangort					

Tabellenanhang

	LRT (drop out) for variable Genus					
	LRT (drop out) for variable Fangort					
	LRT for nested models: Model 2 vs. Model 1	0.2307687				
Referenzfaktoren	Genus	<i>Apodemus</i>				
	Fangort	Gatow				

Modell k

	Parameter	Estimate	Standard error	p value	Odd ratio	95% CI
	Intercept	-4.0500	0.9279	1.27e-05	1.742187e-02	0.002089809 - 8.125653e-02
Spezies	<i>Apodemus sylvaticus</i>					
	<i>Apodemus agrarius</i>					
	<i>Myodes glareolus</i>					
	<i>Microtus agrestis</i>					
	<i>Microtus arvalis</i>					
Genus	<i>Myodes</i>	-16.2173	1342.6234	0.990363	9.055991e-08	NA - 2.123505e+36
	<i>Microtus</i>	3.0094	0.9078	0.000916	2.027578e+01	3.512992964 - 1.371807e+02
Fangort	Tegel	1.7474	1.1879	0.141274	5.739911e+00	0.529995106 - 6.768680e+01
	Moabit	1.6077	1.1851	0.174926	4.991227e+00	0.463006308 - 5.856810e+01
	Steglitz	0.6877	0.9300	0.459654	1.989092e+00	0.359925859 - 1.507971e+01
	AIC	91.019				
	Pseudo-R2(McFadden)	0.18512405				
	p value:LRT vs. null model	0.0001264308				
	p value:LRT vs. fully parameterised model	1				
	p value:Wald test for variable genus	0.41				
	p value:Wald test for variable Fangort	0.0041				
	LRT (drop out) for variable Genus	0.0002025				
	LRT (drop out) for variable	0.4021217				

Tabellenanhang

	Fangort					
	LRT for nested models: Model 2 vs. Model 1					
Referenzfaktoren	Genus	<i>Apodemus</i>				
	Fangort	Gatow				

XI. Abbildungsverzeichnis

Abb.1: Odd ratio mit 95% KI für die Variablen auf die Chance Antikörper gegen *Toxocara canis* zu detektieren

Abb.2: Logistische Regressionsanalyse zum Einfluss von Parametern auf die Wahrscheinlichkeit *F.glareoli* DNA zu finden

Abb.3: Logistische Regressionanalyse zum Einfluss von Parametern auf die Wahrscheinlichkeit *T.gondii* DNA zu finden

Abb.4: Identifikation von Verteilungsmustern durch NMDS und k-means Clusteranalyse

XII. Literaturverzeichnis

- Abo-Shehada, M.N., Herbert, I.V., 1984. The migration of larval *Toxocara canis* in mice. II. Post-intestinal migration in primary infections. *Veterinary parasitology* 17, 75-83.
- Antolova, D., Reiterova, K., Miterpakova, M., Stanko, M., Dubinsky, P., 2004. Circulation of *Toxocara* spp. in suburban and rural ecosystems in the Slovak Republic. *Veterinary parasitology* 126, 317-324.
- Antolova, D., Reiterova, K., Stanko, M., Zalesny, G., Fricova, J., Dvorožnakova, E., 2013. Small mammals: paratenic hosts for species of *Toxocara* in eastern Slovakia. *Journal of helminthology* 87, 52-58.
- Barutzki, D., Schaper, R., 2003. Endoparasites in dogs and cats in Germany 1999-2002. *Parasitology research* 90 Suppl 3, S148-150.
- Barutzki, D., Schaper, R., 2011. Results of parasitological examinations of faecal samples from cats and dogs in Germany between 2003 and 2010. *Parasitology research* 109 Suppl 1, S45-60.
- Behnke, J.M., Bajer, A., Harris, P.D., Newington, L., Pidgeon, E., Rowlands, G., Sheriff, C., Kulis-Malkowska, K., Sinski, E., Gilbert, F.S., Barnard, C.J., 2008. Temporal and between-site variation in helminth communities of bank voles (*Myodes glareolus*) from N.E. Poland. 1. Regional fauna and component community levels. *Parasitology* 135, 985-997.
- Behnke, J.M., Barnard, C.J., Bajer, A., Bray, D., Dinmore, J., Frake, K., Osmond, J., Race, T., Sinski, E., 2001. Variation in the helminth community structure in bank voles (*Clethrionomys glareolus*) from three comparable localities in the Mazury Lake District region of Poland. *Parasitology* 123, 401-414.
- Berger-Schoch, A.E., Herrmann, D.C., Schares, G., Muller, N., Bernet, D., Gottstein, B., Frey, C.F., 2011. Prevalence and genotypes of *Toxoplasma gondii* in feline faeces (oocysts) and meat from sheep, cattle and pigs in Switzerland. *Veterinary parasitology* 177, 290-297.
- Bisseru, B., 1969. Studies on the liver, lung, brain and blood of experimental animals infected with *Toxocara canis*. *Journal of helminthology* 43, 267-272.
- Boch, J., Supperer, R., Schnieder, T., 2006. Stamm: Nematoda (Nematoden, Rund-, Schlauchwürmer, In: *Veterinärmedizinische Parasitologie*. Parey Verlag, pp. 68-71.
- Brunet, J., Benoild, A., Kremer, S., Dalvit, C., Lefebvre, N., Hansmann, Y., Chenard, M.P., Mathieu, B., Grimm, F., Deplazes, P., Pfaff, A.W., Abou-Bacar, A., Marescaux, C., Candolfi, E., 2015. First Case of Human Cerebral *Taenia martis* Cysticercosis. *Journal of clinical microbiology* 53, 2756-2759.
- Brunet, J., Pesson, B., Chermette, R., Regnard, P., Grimm, F., Deplazes, P., Ferreira, X., Sabou, M., Pfaff, A.W., Abou-Bacar, A., Candolfi, E., 2014. First case of peritoneal cysticercosis in a non-human primate host (*Macaca tonkeana*) due to *Taenia martis*. *Parasites & vectors* 7, 422.
- Centers for Disease, C., Prevention, 2011. Ocular toxocariasis--United States, 2009-2010. *MMWR. Morbidity and mortality weekly report* 60, 734-736.
- Chertkova, A., Kosupko, GA, 1978. The suborder Mesocostoides, In: *Principles of cestodology*. pp. 118-229.
- Claerebout, E., Casaert, S., Dalemans, A.C., De Wilde, N., Levecke, B., Vercruysse, J.,

- Geurden, T., 2009. Giardia and other intestinal parasites in different dog populations in Northern Belgium. *Veterinary parasitology* 161, 41-46.
- Coati, N., Hellmann, K., Mencke, N., Epe, C., 2003. Recent investigation on the prevalence of gastrointestinal nematodes in cats from France and Germany. *Parasitology research* 90 Suppl 3, S146-147.
- Coati, N., Schnieder, T., Epe, C., 2004. Vertical transmission of *Toxocara cati* Schrank 1788 (Anisakidae) in the cat. *Parasitology research* 92, 142-146.
- Conn, D.B., Galan-Puchades, M.T., Fuentes, M.V., 2010. Interactions between anomalous excretory and tegumental epithelia in aberrant *Mesocestoides* tetrathyridia from *Apodemus sylvaticus* in Spain. *Parasitology research* 106, 1109-1115.
- Cox, D.M., Holland, C.V., 1998. The relationship between numbers of larvae recovered from the brain of *Toxocara canis*-infected mice and social behaviour and anxiety in the host. *Parasitology* 116 (Pt 6), 579-594.
- Cuellar, C., Fenoy, S., Guillen, J.L., 1992. Cross-reactions of sera from *Toxocara canis*-infected mice with *Toxascaris leonina* and *Ascaris suum* antigens. *International journal for parasitology* 22, 301-307.
- Dalimi, A., Sattari, A., Motamedi, G., 2006. A study on intestinal helminthes of dogs, foxes and jackals in the western part of Iran. *Veterinary parasitology* 142, 129-133.
- De Liberato, C., Berrilli, F., Meoli, R., Friedrich, K.G., Di Cerbo, P., Cocumelli, C., Eleni, C., 2014. Fatal infection with *Taenia martis* metacestodes in a ring-tailed lemur (*Lemur catta*) living in an Italian zoological garden. *Parasitology international* 63, 695-697.
- Denzin, N., Schliephake, A., Frohlich, A., Ziller, M., Conraths, F.J., 2014. On the move? *Echinococcus multilocularis* in red foxes of Saxony-Anhalt (Germany). *Transboundary and emerging diseases* 61, 239-246.
- Despommier, D., 2003. Toxocariasis: clinical aspects, epidemiology, medical ecology, and molecular aspects. *Clinical microbiology reviews* 16, 265-272.
- Dubey, J.P., 1976a. Reshedding of *Toxoplasma* oocysts by chronically infected cats. *Nature* 262, 213-214.
- Dubey, J.P., 1976b. A review of *Sarcocystis* of domestic animals and of other coccidia of cats and dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 169, 1061-1078.
- Dubey, J.P., Lindsay, D.S., Speer, C.A., 1998. Structures of *Toxoplasma gondii* tachyzoites, bradyzoites, and sporozoites and biology and development of tissue cysts. *Clinical microbiology reviews* 11, 267-299.
- Dubinsky, P., Havasiova-Reiterova, K., Petko, B., Hovorka, I., Tomasovicova, O., 1995. Role of small mammals in the epidemiology of toxocariasis. *Parasitology* 110 (Pt 2), 187-193.
- Eberwein, P., Haeupler, A., Kuepper, F., Wagner, D., Kern, W.V., Muntau, B., Racz, P., Agostini, H., Poppert, S., 2013. Human infection with marten tapeworm. *Emerging infectious diseases* 19, 1152-1154.
- Eckert, J., Friedhoff, K.-T., Zahner, H., Deplazes, P., 2005a. Gattung *Mesocestoides*: Erreger der Mesocestoidose und Tetrahyridiose. Enke Verlag, 171-173 pp.
- Eckert, J., Friedhoff, K.-T., Zahner, H., Deplazes, P., 2005b. Gattung *Sarcocystis*: Erreger der Sarcocystiosen. Enke Verlag, 85-90 pp.
- Eckert, J., Friedhoff, K.-T., Zahner, H., Deplazes, P., 2005c. Klasse Cestoda. Enke Verlag, 165-168 pp.

- Eckert, J., Friedhoff, K.-T., Zahner, H., Deplazes, P., 2005d. Protozoa. Enke Verlag, 26-28 pp.
- Eckert, J., Friedhoff, K.-T., Zahner, H., Deplazes, P., 2005e. *Toxoplasma gondii*: Erreger der Toxoplasmose. Enke Verlag, 75-81 pp.
- Elsheikha, H.M., Lacher, D.W., Mansfield, L.S., 2005. Phylogenetic relationships of *Sarcocystis neurona* of horses and opossums to other cyst-forming coccidia deduced from SSU rRNA gene sequences. *Parasitology research* 97, 345-357.
- Epe, C., Coati, N., Schnieder, T., 2004. [Results of parasitological examinations of faecal samples from horses, ruminants, pigs, dogs, cats, hedgehogs and rabbits between 1998 and 2002]. *DTW. Deutsche tierärztliche Wochenschrift* 111, 243-247.
- Etges, F.R., 1991. The proliferative tetrahydrium of *Mesocestoides vogae* sp. n. (Cestoda). *Journal of Helminthological Society of Washington* 58, 181-185.
- Fan, C.K., Liao, C.W., Cheng, Y.C., 2013. Factors affecting disease manifestation of toxocarosis in humans: genetics and environment. *Veterinary parasitology* 193, 342-352.
- Ferguson, D.J., 2009. *Toxoplasma gondii*: 1908-2008, homage to Nicolle, Manceaux and Splendore. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* 104, 133-148.
- Fichet-Calvet, E., Kia, E.B., Giraudoux, P., Quere, J.P., Delattre, P., Ashford, R.W., 2004. *Frenkelia* parasites in a small mammal community. Dynamics of infection and effect on the host. *Parasite* 11, 301-310.
- Flowerdew, J.R., 1984. Woodmice and yellow-necked mice. R.Burton, The Mammal Society.
- Fok, E., Szatmari, V., Busak, K., Rozgonyi, F., 2001. Prevalence of intestinal parasites in dogs in some urban and rural areas of Hungary. *The Veterinary quarterly* 23, 96-98.
- Fuehrer, H.P., Bloschl, I., Siehs, C., Hassl, A., 2010. Detection of *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum*, and *Encephalitozoon cuniculi* in the brains of common voles (*Microtus arvalis*) and water voles (*Arvicola terrestris*) by gene amplification techniques in western Austria (Vorarlberg). *Parasitology research* 107, 469-473.
- Gasser, R.B., Chilton, N.B., 1995. Characterisation of taeniid cestode species by PCR-RFLP of ITS2 ribosomal DNA. *Acta tropica* 59, 31-40.
- Geisel, O., Kaiser, E., Krampitz, H.E., Rommel, M., 1978. [Life cycle of *Frenkelia*. IV. Pathomorphological findings in the organs of experimentally infected bank voles]. *Veterinary pathology* 15, 621-630.
- Glickman, L.T., Schantz, P.M., 1981. Epidemiology and pathogenesis of zoonotic toxocarosis. *Epidemiologic reviews* 3, 230-250.
- Grimmberg, E., Rudolff, K., 2009. Atlas der Säugetiere Europas, Nordafrikas und Vorderasiens. Natur und Tier-Verlag.
- Gubanov, N.M., 1951. [Giant nematoda from the placenta of Cetacea; *Placentonema gigantissima* nov. gen., nov. sp.]. *Doklady Akademii nauk SSSR* 77, 1123-1125.
- Hecking-Veltman, J., Tenter, A., Dauschgiess, 2001. Studien zur Parasitenfauna bei streunenden Katzen im Raum Mönchengladbach. *Der Praktische Tierarzt* 82, 563-569.
- Hejlícek, K., Literak, I., Nezval, J., 1997. Toxoplasmosis in wild mammals from the Czech Republic. *Journal of wildlife diseases* 33, 480-485.
- Herrmann, D.C., Maksimov, P., Maksimov, A., Sutor, A., Schwarz, S., Jaschke, W., Schliephake, A., Denzin, N., Conraths, F.J., Schares, G., 2012. *Toxoplasma gondii* in

- foxes and rodents from the German Federal States of Brandenburg and Saxony-Anhalt: seroprevalence and genotypes. *Veterinary parasitology* 185, 78-85.
- Herrmann, D.C., Pantchev, N., Vrhovec, M.G., Barutzki, D., Wilking, H., Frohlich, A., Luder, C.G., Conraths, F.J., Schares, G., 2010. Atypical *Toxoplasma gondii* genotypes identified in oocysts shed by cats in Germany. *International journal for parasitology* 40, 285-292.
- Hill, D., Dubey, J.P., 2002. *Toxoplasma gondii*: transmission, diagnosis and prevention. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 8, 634-640.
- Ho, M.S., Barr, B.C., Marsh, A.E., Anderson, M.L., Rowe, J.D., Tarantal, A.F., Hendrickx, A.G., Sverlow, K., Dubey, J.P., Conrad, P.A., 1996. Identification of bovine Neospora parasites by PCR amplification and specific small-subunit rRNA sequence probe hybridization. *Journal of clinical microbiology* 34, 1203-1208.
- Hofer, S., Gloor, S., Muller, U., Mathis, A., Hegglin, D., Deplazes, P., 2000. High prevalence of *Echinococcus multilocularis* in urban red foxes (*Vulpes vulpes*) and voles (*Arvicola terrestris*) in the city of Zurich, Switzerland. *Parasitology* 120 (Pt 2), 135-142.
- Homan, W.L., Vercammen, M., De Braekeleer, J., Verschueren, H., 2000. Identification of a 200- to 300-fold repetitive 529 bp DNA fragment in *Toxoplasma gondii*, and its use for diagnostic and quantitative PCR. *International journal for parasitology* 30, 69-75.
- Hotez, P.J., 2008. Neglected infections of poverty in the United States of America. *PLoS neglected tropical diseases* 2, e256.
- Hotez, P.J., Gurwith, M., 2011. Europe's neglected infections of poverty. *International journal of infectious diseases : IJID : official publication of the International Society for Infectious Diseases* 15, e611-619.
- Hotez, P.J., Wilkins, P.P., 2009. Toxocariasis: America's most common neglected infection of poverty and a helminthiasis of global importance? *PLoS neglected tropical diseases* 3, e400.
- Howe, D.K., Sibley, L.D., 1995. *Toxoplasma gondii* comprises three clonal lineages: correlation of parasite genotype with human disease. *The Journal of infectious diseases* 172, 1561-1566.
- Hrckova, G., Miterpakova, M., O'Connor, A., Snabel, V., Olson, P.D., 2011. Molecular and morphological circumscription of *Mesocestoides* tapeworms from red foxes (*Vulpes vulpes*) in central Europe. *Parasitology* 138, 638-647.
- Hutchison, W.M., 1965. Experimental transmission of *Toxoplasma gondii*. *Nature* 206, 961-962.
- Hutchison, W.M., Dunachie, J.F., Work, K., Siim, J.C., 1971. The life cycle of the coccidian parasite, *Toxoplasma gondii*, in the domestic cat. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 65, 380-399.
- Ishiwata, K., Shinohara, A., Yagi, K., Horii, Y., Tsuchiya, K., Nawa, Y., 2004. Identification of tissue-embedded ascarid larvae by ribosomal DNA sequencing. *Parasitology research* 92, 50-52.
- Jenrich, J., Löhr, P.-W., Müller, F., 2010. Kleinsäuger: Körper- und Schädelmerkmale, Ökologie. Verein für Naturkunde in Osthessen e.V., Michael Imhof Verlag.
- Jogi, N.O., Svanes, C., Siiak, S.P., Logan, E., Holloway, J.W., Igland, J., Johannessen, A.,

- Levin, M., Real, F.G., Schlunssen, V., Horsnell, W.G.C., Bertelsen, R.J., 2018. Zoonotic helminth exposure and risk of allergic diseases: A study of two generations in Norway. *Clinical and experimental allergy : journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology* 48, 66-77.
- Kapperud, G., Jennum, P.A., Stray-Pedersen, B., Melby, K.K., Eskild, A., Eng, J., 1996. Risk factors for *Toxoplasma gondii* infection in pregnancy. Results of a prospective case-control study in Norway. *American journal of epidemiology* 144, 405-412.
- Kayes, S.G., 1997. Human toxocariasis and the visceral larva migrans syndrome: correlative immunopathology. *Chemical immunology* 66, 99-124.
- Kleine, A., Springer, A., Strube, C., 2017. Seasonal variation in the prevalence of *Toxocara* eggs on children's playgrounds in the city of Hanover, Germany. *Parasites & vectors* 10, 248.
- Kraft, R., 2008. Mäuse und Spitzmäuse in Bayern: Verbreitung, Lebensraum, Bestandssituation. Ulmer Verlag.
- Krapp, F., Nithammer, J., 1982. *Microtus agrestis* (Linnaeus, 1761) - Erdmaus. J.Niethammer, F. Krapp, Aula Verlag.
- Lindsay, D.S., Blagburn, B.L., Dubey, J.P., 1997. Feline toxoplasmosis and the importance of the *Toxoplasma gondii* oocyst, In: Compendium on Continuing Education for the Practising Veterinarian. pp. 448-461.
- Literák, I.T., F.; Letková, V.; Goldová, M.; Torres, J.; Olson, P.D., 2006. *Mesocestoides litteratus* (Batsch, 1786) (Cestoda: Cyclophyllidea: Mesocestoididae) from the red fox: morphological and 18S rDNA characterization of European isolates. *Helminthologia* 43, 191-195.
- Loos-Frank, B., 1980. The common vole, *Microtus arvalis* Pall. as intermediate host of *Mesocestoides* (Cestoda) in Germany. *Zeitschrift für Parasitenkunde* 63, 129-136.
- Loos-Frank, B., Zeyhle, E., 1981. Zur Parasitierung von 3603 Rotfüchsen in Württemberg. *Zeitschrift für Jagdwissenschaft* 27, 258-266.
- Marsh, A.C.W., Montgomery, W.I., 2008. Yellow-necked-mouse *Apodemus flavicollis*, Vol 4. Ausgabe. S.Harris & D. W. Yalden.
- Martinez-Carrasco, C., Berriatua, E., Garijo, M., Martinez, J., Alonso, F.D., de Ybanez, R.R., 2007. Epidemiological study of non-systemic parasitism in dogs in southeast Mediterranean Spain assessed by coprological and post-mortem examination. *Zoonoses and public health* 54, 195-203.
- Meerburg, B.G., De Craeye, S., Dierick, K., Kijlstra, A., 2012. *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in brain tissue of feral rodents and insectivores caught on farms in the Netherlands. *Veterinary parasitology* 184, 317-320.
- Mehlhorn, H., Piekarski, G., 2002. Grundriss der Parasitenkunde: Parasiten des Menschen und der Nutztiere, Vol 6. Auflage. Spektrum Akademischer Verlag.
- Meylan, A., 1995. *Microtus arvalis* (Pallas, 1778), Vol Band 103. J. Hausser, Birkhäuser Verlag.
- Montoya, J.G., Liesenfeld, O., 2004. Toxoplasmosis. *Lancet* 363, 1965-1976.
- More, G., Maksimov, A., Conraths, F.J., Schares, G., 2016. Molecular identification of *Sarcocystis* spp. in foxes (*Vulpes vulpes*) and raccoon dogs (*Nyctereutes procyonoides*) from Germany. *Veterinary parasitology* 220, 9-14.
- Morgan, E.R., Azam, D., Pegler, K., 2013. Quantifying sources of environmental

- contamination with *Toxocara* spp. eggs. Veterinary parasitology 193, 390-397.
- Mugridge, N.B., Morrison, D.A., Johnson, A.M., Luton, K., Dubey, J.P., Votypka, J., Tenter, A.M., 1999. Phylogenetic relationships of the genus *Frenkelia*: a review of its history and new knowledge gained from comparison of large subunit ribosomal ribonucleic acid gene sequences. International journal for parasitology 29, 957-972.
- Nagakura, K., Tachibana, H., Kaneda, Y., Kato, Y., 1989. Toxocariasis possibly caused by ingesting raw chicken. The Journal of infectious diseases 160, 735-736.
- Nijssen, R., Mughini-Gras, L., Wagenaar, J.A., Franssen, F., Ploeger, H.W., 2015. Environmental contamination with *Toxocara* eggs: a quantitative approach to estimate the relative contributions of dogs, cats and foxes, and to assess the efficacy of advised interventions in dogs. Parasites & vectors 8, 397.
- Okulewicz, A., Hildebrand, J., Okulewicz, J., Perek, A., 2005. [Red fox (*Vulpes vulpes*) as reservoir of parasites and source of zoonosis]. Wiadomosci parazytologiczne 51, 125-132.
- Ollero, M.D., Fenoy, S., Cuellar, C., Guillen, J.L., Del Aguila, C., 2008. Experimental toxocariosis in BALB/c mice: effect of the inoculation dose on brain and eye involvement. Acta tropica 105, 124-130.
- Overgaauw, P.A., 1997. Aspects of *Toxocara* epidemiology: toxocarosis in dogs and cats. Critical reviews in microbiology 23, 233-251.
- Piergili Fioretti, D., Moretti, A., Mughetti, L., Bruschi, F., 1989. Eosinophilia, granuloma formation, migratory behaviour of second stage larvae in murine *Toxocara canis* infection. Effect of the inoculum size. Parassitologia 31, 153-166.
- Priemer, J., 1983. On the problem of European *Mesocestoides* species (Cestoda) from mammals. Helminthologia 20, 89-95.
- Qualizza, R., Incorvaia, C., Grande, R., Makri, E., Allegra, L., 2011. Seroprevalence of IgG anti-Toxocara species antibodies in a population of patients with suspected allergy. Int J Gen Med 4, 783-787.
- Quééré, J.P., Le Louran, H., 2011. Les rongeurs de France: Faunistique et biologie. Editions Quae.
- Rausch, R., 1994. Family Mesocestoides Fuhrmann, 1907, In: Keys to the cestode parasites of vertebrates. CAB International, pp. 309-314.
- Reperant, L.A., Hegglin, D., Tanner, I., Fischer, C., Deplazes, P., 2009. Rodents as shared indicators for zoonotic parasites of carnivores in urban environments. Parasitology 136, 329-337.
- Rohen, M. 2009. Endoparasitenbefall bei Fund- und Abgabehunden und -katzen in Niedersachsen und Untersuchungen zur Anthelminthikaresistenz (Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover).
- Rommel, V.M., Krampitz, H.E., 1975. [The life cycle of *Frenkelia*. 1. The identity of isospore *buteonis* from common buzzards and a *Frenkelia* species (*F. clethrionomyobuteonis* spec. n.) from red-backed mice]. Berl Munch Tierarztl Wochenschr 88, 338-340.
- Šálek, M., Drahníková, L., Tkadlec, E., 2015. Changes in home range sizes and population densities of carnivore species along the natural to urban habitat gradient. Mammal Review 45, 1-14.
- Salem, G., Schantz, P., 1992. Toxocaral visceral larva migrans after ingestion of raw lamb liver. Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases

- Society of America 15, 743-744.
- Sanmartin, M.L., Alvarez, F., Barreiro, G., Leiro, J., 2004. Helminth fauna of Falconiform and Strigiform birds of prey in Galicia, Northwest Spain. *Parasitology research* 92, 255-263.
- Schantz, P.M., 1989. *Toxocara larva migrans* now. *The American journal of tropical medicine and hygiene* 41, 21-34.
- Schares, G., Vrhovec, M.G., Pantchev, N., Herrmann, D.C., Conraths, F.J., 2008. Occurrence of *Toxoplasma gondii* and *Hammondia hammondi* oocysts in the faeces of cats from Germany and other European countries. *Veterinary parasitology* 152, 34-45.
- Schnieder, T., Tenter, H., 2006. Erreger von Parasitosen: Taxonomie, Systematik und allgemeine Merkmale, In: *Veterinärmedizinische Parasitologie*. Parey, pp. 26-72.
- Sibley, L.D., Boothroyd, J.C., 1992. Virulent strains of *Toxoplasma gondii* comprise a single clonal lineage. *Nature* 359, 82-85.
- Sibley, L.D., Howe, D.K., 1996. Genetic basis of pathogenicity in toxoplasmosis. *Current topics in microbiology and immunology* 219, 3-15.
- Specht, D., Voge, M., 1965. Asexual Multiplication of Mesocestoides Tetrathyridia in Laboratory Animals. *The Journal of parasitology* 51, 268-272.
- Sprent, J.F., 1956. The life history and development of *Toxocara cati* (Schrank 1788) in the domestic cat. *Parasitology* 46, 54-78.
- Sprent, J.F., 1958. Observations on the development of *Toxocara canis* (Werner, 1782) in the dog. *Parasitology* 48, 184-209.
- Staubach, C., Thulke, H.H., Tackmann, K., Hugh-Jones, M., Conraths, F.J., 2001. Geographic information system-aided analysis of factors associated with the spatial distribution of *Echinococcus multilocularis* infections of foxes. *The American journal of tropical medicine and hygiene* 65, 943-948.
- Stehr, H., 1982. Rötelmaus. H. Stehr, Verlagsgruppe Bertelsmann.
- Stieger, C., Hegglin, D., Schwarzenbach, G., Mathis, A., Deplazes, P., 2002. Spatial and temporal aspects of urban transmission of *Echinococcus multilocularis*. *Parasitology* 124, 631-640.
- Strube, C., Heuer, L., Janecek, E., 2013. *Toxocara* spp. infections in paratenic hosts. *Veterinary parasitology* 193, 375-389.
- Sturchler, D., Weiss, N., Gassner, M., 1990. Transmission of toxocariasis. *The Journal of infectious diseases* 162, 571.
- Svobodova, M.V., P.; Votypka, J.; Weidinger, K., 2004. Heteroxenous coccidia (Apicomplexa: Sarcocystidae) in the population of their final and intermediate hosts: European buzzard and small mammals. *Acta Protozoologica* 43, 251-260.
- Tackmann, K., Loschner, U., Mix, H., Staubach, C., Thulke, H.H., Conraths, F.J., 1998. Spatial distribution patterns of *Echinococcus multilocularis* (Leuckart 1863) (Cestoda: Cyclophyllidae: Taeniidae) among red foxes in an endemic focus in Brandenburg, Germany. *Epidemiology and infection* 120, 101-109.
- Tadros, W., Laarman, J.J., 1982. Current concepts on the biology, evolution and taxonomy of tissue cyst-forming eimeriid coccidia. *Advances in parasitology* 20, 293-468.
- Taira, K., Saitoh, Y., Kapel, C.M., 2011. *Toxocara cati* larvae persist and retain high infectivity in muscles of experimentally infected chickens. *Veterinary parasitology* 180, 287-291.

- Talvik, H., Moks, E., Magi, E., Jarvis, T., Miller, I., 2006. Distribution of *Toxocara* infection in the environment and in definitive and paratenic hosts in Estonia. *Acta veterinaria Hungarica* 54, 399-406.
- Tenora, F., 2005. *Mesocestoides litteratus* (Batsch, 1786) (Cestoda), parasite of *Vulpes vulpes* (L., 1758) (Carnivora) in the Czech Republic. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis* 53, 25-34.
- Tenter, A.M., Heckeroth, A.R., Weiss, L.M., 2000. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. *International journal for parasitology* 30, 1217-1258.
- Tomasovicova, O.H., K.; Dubinsky, P.; Hovorka, I., 1993. Intrauterine and lactogenic transfer of *Toxocara canis* larvae in paratenic hosts. *Helminthologia* 30, 111-113.
- van Knapen, F., van Leusden, J., Conijn-van Spaendonk, M.A., 1983. [*Toxocara* infections, diagnosis and occurrence in man in the Netherlands]. *Tijdschrift voor diergeneeskunde* 108, 469-474.
- Vujanic, M., Ivovic, V., Kataranovski, M., Nikolic, A., Bobic, B., Klun, I., Villena, I., Kataranovski, D., Djurkovic-Djakovic, O., 2011. Toxoplasmosis in naturally infected rodents in Belgrade, Serbia. *Vector borne and zoonotic diseases* 11, 1209-1211.
- Wanha, K., Edelhofer, R., Gabler-Eduardo, C., Prosl, H., 2005. Prevalence of antibodies against *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in dogs and foxes in Austria. *Veterinary parasitology* 128, 189-193.
- Webster, G.A., 1958. A Report On *Toxocara Canis* Werner, 1782. *Canadian journal of comparative medicine and veterinary science* 22, 272-279.
- Wehner, R., Gehring, W., 1995. 12.1 Protozoa (Einzeller), In: *Zoologie*. Thieme Verlag, pp. 606-613.
- Wolfe, A., Hogan, S., Maguire, D., Fitzpatrick, C., Vaughan, L., Wall, D., Hayden, T.J., Mulcahy, G., 2001. Red foxes (*Vulpes vulpes*) in Ireland as hosts for parasites of potential zoonotic and veterinary significance. *The Veterinary record* 149, 759-763.
- Yariktas, M., Demirci, M., Aynali, G., Kaya, S., Doner, F., 2007. Relationship between *Toxocara* seropositivity and allergic rhinitis. *American journal of rhinology* 21, 248-250.
- Zalesny, G., Hildebrand, J., 2012. Molecular identification of *Mesocestoides* spp. from intermediate hosts (rodents) in central Europe (Poland). *Parasitology research* 110, 1055-1061.

XIII. Publikationsliste

Posterbeiträge/Vorträge:

Maaz, D., Blümke, J., Krücken, J., Richter, D., Matuschka, F. R., Hartmann, S., Demeler, J., von Samson-Himmelstjerna, G. (2014) „Diversity and zoonotic risk of Rodent-associated arthropods in Berlin“, Workshop Netzwerk Nagetier – übertragende Pathogene, Leipzig, 2014

Maaz, D., Rausch, S., Richter, D., Krücken, J., Kühl, A. A., Demeler, J., Blümke, J., Matuschka, F. R., von Samson-Himmelstjerna, G., Hartmann, S. (2013) „Additive systemic TH2 response in mice co-infected with intestinal nematodes and ticks“, 17th Annual Woods Hole Immunoparasitology Meeting, Woods Hole USA, 2013

Maaz, D., Blümke, J., Krücken, J., Richter, D., Matuschka, F. R., Hartmann, S., Demeler, J., von Samson-Himmelstjerna, G. (2012). „The pathogens of mice and voles in Berlin and their relevance for Public Health“, 86. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Säugetierkunde, Frankfurt a. Main, 2012

Maaz, D., Blümke, J., Demeler, J., Krücken, J., Hartmann, S., Schaper, R., von Samson-Himmelstjerna, G. (2011). „Small Mammals – Big Reservoir? The relevance of mice in Berlin as reservoir hosts for zoonotic pathogens“, 85. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Säugetierkunde, Luxembourg 2011

Maaz, D.; Blümke, J.; Demeler, J.; Krücken, J.; Richter, D.; Matuschka, F. R.; Hartmann, S.; Kohn, B.; Schaper, R.; von Samson-Himmelstjerna, G. (2011). „Die Bedeutung peridomestischer Mäuse und Ratten in Berlin als Reservoirwirte für Zoonoseerreger“ Tagung der DVG-Fachgruppe für Parasitologie und parasitäre Krankheiten Berlin 4.7.-6.7.2011

Publikationen:

Maaz, D., Krücken, J., Blümke, J., Richter, D., Mc-Kay Demeler, J., Matuschka, F. R., Hartmann, S., von Samson-Himmelstjerna, G., (2018). „Factors associated with diversity and zoonotic potential of Ectoparasites on urban mice and voles“. PLoS one; (13)6

Krücken, J., Blümke, J., Maaz, D., Demeler, J., Ramünke, S., Antolová, D., Schaper, R., von Samson-Himmelstjerna, G., (2017). „Small rodents as paratenic or intermediate host of carnivore parasites in Berlin, Germany“. PLoS one, 18(3): S.1-22

Maaz, D., Rausch, S., Richter, D., Krücken, J., Kühl, A. A., Demeler, J., Blümke, J., Matuschka, F. R., von Samson-Himmelstjerna, G., (2016). „Susceptibility to Ticks and Lyme Disease Spirochetes is not affected in mice coinfecting with Nematodes“. Infect Immun, 84(5): S.1274-1286

XIV. Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich zuerst bei Herrn Prof. Dr. von Samson-Himmelstjerna für die Vergabe dieses interessanten Promotionsthemas und die Bereitstellung des Arbeitsplatzes bedanken. Ich danke Ihnen für die Möglichkeit der Teilnahme an Fachtagungen, die Bemühungen um finanzielle Unterstützung sowie die Kooperationsmöglichkeiten mit anderen Arbeitsgruppen im Ausland.

Ein besonderer Dank gilt Herrn PD Dr. Jürgen Krücken, der eine unverzichtbare Hilfe bei der Umsetzung und Verfassung dieser Arbeit war. Danke für die nie endende Geduld und einem offenen Ohr zu jeder Zeit. Des Weiteren bedanke ich mich bei Frau Prof. Dr. Janina Demeler für die engagierte Betreuung dieses Projektes in den ersten Jahren der Promotionszeit.

Ich danke allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Institutes für Parasitologie und Tropenveterinärmedizin in Berlin für die freundliche Aufnahme und Unterstützung. Ein besonderer Dank gilt Sabrina Ramünke für die große Hilfe und den Einsatz bei der geleisteten Laborarbeit und Tanja Bartmann für so manches fachfremde Gespräch in den Kaffeepausen samt Kaffeeversorgung.

Liebe Paradoxs, Danke für die tolle gemeinsame Zeit im Institut und so manches verrückte Treffen nach dem Feierabend. Ich danke Denny für die gemeinsame Umsetzung des Projektes und der gemeinsamen Zeit on the road quer durch Berlin auf Mäusejagd.

Ich danke Roland Schaper und der Bayer Animal Health AG für ihre freundliche Unterstützung und Interesse an meiner Arbeit sowie die finanzielle Förderung des Projektes.

Außerdem danke ich PhD. MVDr. Daniela Antolová für die tolle Gastfreundschaft, kompetente Hilfe und die Möglichkeit einen Teil meiner Untersuchungen zusammen mit ihr im Institute of Parasitology in Kosice in der Slowakei durchzuführen. Ich bedanke mich bei Peter Deplazes und seiner Arbeitsgruppe in Zürich für die weiterführenden Untersuchungen zu einem Teil meiner Mäuseproben.

Ein ganz besonderer Dank gilt meiner Familie! Dabei gilt der größte Dank meiner Mutter für das Vertrauen, die Geduld, die nicht endende Motivation, die Liebe und die Auszeiten in der Heimat oder auf Borkum. Ohne dich wäre ich nicht dort, wo ich heute bin! Ich danke meinem Lieblingsbruder Jonas für die Versorgung mit japanischer Nervennahrung in der letzten Schreibphase dieser Arbeit und dass du so bist wie du bist!

Last - but not least - ein besonderer Dank an meine Freunde! Gleich vorne hinweg 1,2,3uns! Neele und Anne, ich würde an dieser Stelle gerne den Songtext von „Jetzt und Hier“ von den Wise Guys zitieren, aber das würde die Länge des Danksagungstextes sprengen... Danke für 13 Jahre Freundschaft (bis jetzt...), immer offene Ohren und Türen trotz der örtlichen Trennung!

XV. Selbstständigkeitserklärung

Hiermit bestätige ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig angefertigt habe. Ich versichere, dass ich ausschließlich die angegebenen Quellen und Hilfen in Anspruch genommen habe.

Berlin, den 11.02.2019

Julia Blümke



mbvberlin mensch und buch verlag

49,90 Euro | ISBN: 978-3-96729-004-2