

Phlebotomen und Culiciden als Vektoren in Mitteleuropa

Bericht über die 12. AMAE-Tagung, 30.9. und 1.10.2004, Dresden

Der Arbeitskreis Medizinische Arachno-Entomologie diente ursprünglich dem Zweck, Entomologen und Parasitologen der DGP und DGaE zu interdisziplinärer Arbeit zusammenzubringen. Inzwischen hat sich gezeigt, dass die Bedeutung des Faches wieder im Zunehmen begriffen ist., dass aber außer den Parasitologen und Entomologen die Mitarbeit von Bakteriologen, Virologen und Geographen unverzichtbar ist, um die anstehenden Herausforderungen des Fachs im globalen Wandel für den Raum Deutschland bewältigen zu können. Mit der Gründung des Vereins AMAE e.V. soll die gesamte Medizinische Entomologie im deutschsprachigen Raum gefördert werden. Das bisher so erfolgreiche Konzept der Tagungen im Sinne der Fortbildung durch praktisches Arbeiten und der Darstellung der Forschungsergebnisse durch Vorträge konnte in Dresden wieder eindrucksvoll demonstriert werden. Der Verein ist natürlich weiterhin offen für Teilnehmer der DGaE und der DGP.

Die Überschwemmungen vor allem an Oder und Elbe haben gezeigt, dass auch in Deutschland plötzlich ausgedehnte Brutplätze für Stechmücken entstehen können. Um die Konsequenzen solcher Ereignisse für die Krankheitsübertragung werten zu können, hatte der AMAE das Thema „Culiciden als Vektoren in Mitteleuropa“ ausgesucht. Ebenso wichtig erschien der Aufsehen erregende Befund unseres Mitglieds TORSTEN NAUCKE, dass Phlebotomen auch in Deutschland vorkommen, der gleichfalls zur Diskussion gestellt werden sollte.

Die Organisation vor Ort hatte Frau Dr. ANGELA ENGE in vorbildlicher Weise übernommen: die Bestimmungsübungen an Culiciden und Sandmücken fanden im Mikroskopiersaal des neu errichteten Medizinisch-Theoretischen Zentrums der TU Dresden statt. ACHIM KAISER (KABS/Waldsee) führte in die Morphologie und Systematik der Culiciden ein, wobei er insbesondere das neu formierte Genus *Ochlerotatus* vorstellte. Im Anschluss führte er (mit Hilfe von Material, das u.a. Dr. RONALD SCHMÄSCHKE zur Verfügung gestellt hatte) durch praktische Bestimmungsübungen. Im Rahmen eines Vortrages demonstrierte Dr. HELGE KAMPEN die Differenzierung von *Anopheles*-Zwillingsarten (*A. maculipennis*- und *A. claviger*-Komplex) mit Hilfe der Polymerase-Kettenreaktion und machte deutlich, wie sich klassische und moderne molekularbiologische Methoden ergänzen sollten. Einen Vergleich herkömmlicher mit einer von der Fa. Biogents neu entwickelten Falle für Stechmücken stellte Dr. ANDREAS ROSE vor. Gerade im Hinblick auf die bereits angelaufenen EUVAK- Projekte ist es wichtig, die beste Technik auswählen zu können.

Erstmals in der Geschichte des AMAE hatten die Teilnehmer die Gelegenheit, alles über die Zucht, Haltung und Morphologie von Sandmücken zu erfahren. Dr. TORSTEN NAUCKE hat als einziger in Deutschland Zuchten, die er vorstellen konnte. So mancher Teilnehmer hat sich wohl gefragt, ob er ohne diesen Kurs Sandmücken im Freien erkannt hätte. Vor allem Verwechslungen mit der nahe verwandten Gattung *Psychoda* sollen häufig vorkommen.

Schon während dieses Praktikums waren Möglichkeiten zum wissenschaftlichen und privaten Informationsaustausch gegeben, die sich dann bis zum gemeinsamen Abendessen im Italienischen Dörfchen mitten im wunderschönen Herzen Dresdens neben der Oper und der Hofkirche hinzogen. Auch am nächsten Tag fanden sich die Teilnehmer vor dieser herrlichen Kulisse ein, nicht wie geplant im historischen „Blockhaus“, sondern im Konferenzsaal des Hotels Bellevue, das in den Pausen freien Blick auf die Elbe und auch die Silhouette der Frauenkirche etc. ermöglichte und die Teilnehmer in jeder Hinsicht optimal versorgte.

Dr. MICHAEL FAULDE, der im Rahmen von Auslandseinsätzen der Bundeswehr die zunehmende Bedeutung der „emerging diseases“ persönlich kennengelernt hat, stellte das weite Feld der vektorassoziierten Krankheiten und die Mechanismen der Ausbreitung in Europa und weltweit vor. DR. NAUCKE hatte danach Gelegenheit, die Situation der Leishmaniose in Europa und Deutschland und deren Verknüpfung mit den deutschen Sandmückenarten darzustellen. Zumindest für *Phlebotomus perniciosus*, auch in

Deutschland nachgewiesen, ist die Vektorrolle für *Leishmania infantum* belegt. Für *P. mascittii* stehen Versuche zur Vektorkompetenz noch an.

Ausführlich würdigte dann Professor Dr. HORST ASPÖCK die Rolle der Culiciden als Virusüberträger und der Viren als Krankheitserreger in Europa und Deutschland. Welche Rolle Zugvögel und Culiciden als Vektoren für das SINDBIS-Virus spielen wurde durch den Vortrag von Dr. MARTIN PFEFFER deutlich: So stimmen die gefundenen SINV-Genotypen gut mit den großen Flugrouten der Zugvögel überein. Ob das importierte Virus sich in einem neuen Naturherd ausbreiten kann, hängt ganz entscheidend von der Vektorkompetenz der vorhandenen Culiciden ab. Herr PFEFFER sieht in diesem Beispiel einen überzeugenden Hinweis, dass der Vektorkompetenz die zentrale Rolle bei der Etablierung von neuen Naturherden zukommt und dass Vektorkompetenzstudien im Rahmen der Risikoabschätzung unverzichtbar sind.

Da im Zusammenhang mit der Klimadiskussion die Öffentlichkeit immer zuerst die Frage nach der Wiederkehr der Malaria stellt, trug Professor Dr. WALTER A. MAIER die neuesten Erkenntnisse über die wirklichen Ursachen des Verschwindens der Malaria aus Nordeuropa vor. Wie in der Diskussion deutlich wurde, sind offenbar alle die Faktoren, die Deutschland so veränderten, dass die Plasmodien nicht mehr überleben konnten, heute in Afghanistan in der Gegenrichtung aktiviert worden. Die Folge ist eine Wiederkehr der Malaria in ungeahntem Ausmaße. Hoffen wir, dass die Bedingungen in Deutschland niemals in gleicher Weise rückgängig gemacht werden.

Relativ unbemerkt, selbst von Parasitologen, haben sich auch die von Culiciden übertragenen Dirofilarien in Europa ausgebreitet. Vom Süden Europas drängen *Dirofilaria immitis* und *D. repens* nach Norden. Möglich wird das offenbar vor allem durch den zunehmenden Import von Hunden und Katzen aus dem Mittelmeerraum. Dr. JÖRG GRUNEWALD, schwerpunktmäßig früher mit *Onchocerca volvulus* befasst, stellte die aktuelle Situation dieser Parasiten und deren Vektoren dar.

Schließlich hatten die AMAE-Mitglieder die Möglichkeit, den Anwendungsbereich geographischer Informationssysteme (GIS) für die Medizinische Entomologie kennenzulernen. Professor Dr. WINFRIED SCHRÖDER, der in EUVAK-Projekten bereits tätig ist, stellte u.a. dar, wie die Phänologie von Pflanzen z.B. zum Beleg für einen Wandel des Klimas herangezogen werden kann. Dipl. Biol. ALEXANDRA SCHWARZ konnte auch schon ein Beispiel für den GIS-Einsatz im Rahmen der Medizinischen Entomologie vorstellen: Sie führte eine Risikoabschätzung zur Verbreitung der Borrelien-übertragenden *Ixodes*-Stadien im Siebengebirge bei Bonn durch.

Nach einem vorzüglichen Lunch im Bellevue setzte ein großer Teil der Mitglieder den Ideen- und Informationsaustausch auf einem Raddampfer der historischen Flotte auf der Elbe fort, besichtigte die herrlichen Gärten und Anlagen von Schloss Pillnitz und traf sich in den gemütlichen Lokalen des alten Dresden, um mit den Einheimischen den Tag der Deutschen Einheit zu begehen. Da die Wurzeln des AMAE in den sogenannten neuen Bundesländern liegen, eine passende Gelegenheit auch darüber nachzudenken. Nicht umsonst war auf der Mitgliederversammlung der Vorschlag gemacht worden, Herrn DR. BRITZ als langjährigen Leiter des Arbeitskreises in der damaligen DDR besonders zu ehren.

Besonders erfreulich war, dass sehr viele junge Wissenschaftler/innen durch ihre Teilnahme demonstrierten, wie interessant die Beschäftigung mit den vektorassoziierten Krankheiten ist.

Die nächste Tagung wird in Stuttgart (LGA) und Hohenheim (Universität) voraussichtlich am 29. und 30. September 2005 stattfinden. Professor Dr. Dr. PETER KIMMIG und Frau Professor Dr. UTE MACKENSTEDT stellten das geplante Programm vor. Schwerpunkte werden die Diagnostik vektorassoziierten Krankheiten, Methoden der Vektorbekämpfung und Madentherapie sein.

Danksagung an die Sponsoren: Die für die Saalmiete an der TU anfallenden Gebühren konnten durch die freundliche Unterstützung durch Merial aufgefangen werden, so dass wir wie immer keine Teilnehmergebühren einziehen mussten. Durch einen glücklichen Umstand konnten wir am 2. Tag kostenlos den Konferenzsaal sowie die Verpflegung im

Hotel Westin Bellevue nutzen. Der Verein sagt herzlichen Dank an die Sponsoren der Veranstaltung.

Vektorassoziierte Erkrankungen als „emerging diseases“

MICHAEL FAULDE

*Zentrales Institut des Sanitätsdienstes der Bundeswehr, Andernacher Straße 100,
56070 Koblenz, e-mail: michaelfaulde@bundeswehr.org*

Vektoren haben weltweit einen bedeutenden Stellenwert bei der Erregerverbreitung auf Mensch und/oder Tier. Im Jahre 2000 waren insgesamt 1709 verschiedene Erreger bekannt, die Erkrankungen am Menschen hervorrufen können. Von diesen wiederum waren 823 (=49%) Zoonosen, also Erkrankungen, die vom Tier aus auf den Menschen übertragbar sind. Derzeit sind von den 1709 Erregerspezies 156 als sich gegenwärtig ausbreitend („emerging“) definiert worden. Von diesen sich gegenwärtig ausbreitenden 156 Infektionserkrankungen sind 114 (=73%) Zoonosen. Dies bedeutet gleichzeitig, dass bei $\frac{3}{4}$ der häufiger werdenden Infektionserkrankungen des Menschen Tiere, sei es als Reservoir (=Erregerträger), oder als Vektor (=Erregerträger und -überträger) bei der Ausbreitung beteiligt sind. Analysen verdeutlichen weiterhin, dass sich Zoonosen aufgrund ihrer speziellen Eigenschaften durchschnittlich 3-mal schneller ausbreiten als von Mensch-zu-Mensch übertragene Infektionen. Zu ihnen gehören auch eine Reihe lebensbedrohender und hochkontagiöser Erreger wie verschiedenste hämorrhagische Fieber-Viren, das Affenpockenvirus, das SARS-Coronavirus sowie die Erreger der Lungenpest und des Lungenmilzbrands. Bei den gefürchteten, hämorrhagisches Fieber hervorrufenden Ebola- und Marburg-Viren (Filoviren), ist das Naturreservoir derzeit noch unbekannt. Jüngste Ergebnisse lassen Fledermäuse als Naturreservoir für das Ebola-Virus vermuten.

Gegenwärtig zeichnen sich 6 Arthropoden-übertragene Infektionserkrankungen dadurch aus, dass entweder mehr als 1 Million Menschen pro Jahr neu infiziert werden wie bei Malaria, Dengue-Fieber und der Leishmaniose, oder mehr als 1 Million Menschen chronisch infiziert sind wie bei der Lymphatischen Filariose, Onchozerkose und Chagas-Krankheit. Die weltweit häufigste durch Vektoren übertragene Erkrankung ist die Malaria mit 1,1 bis 2,7 Millionen Todesfällen für das Jahr 2003. Dies bedeutet gleichzeitig, dass etwa alle 30 Sekunden ein Mensch an nur einer Stechmücken-übertragenen Erkrankung stirbt.

In Deutschland sind derzeit 24 Arthropoden- und Nagetier-übertragene Infektionserkrankungen endemisch, von denen 13 durch Schildzecken, 5 durch Ratten und Mäuse, 3 durch Stechmücken sowie eine durch Kleiderläuse übertragen werden. Weiterhin wird das Auftreten zusätzlicher 9 Infektionserkrankungen vermutet. Von den endemischen Infektionserkrankungen werden 72% (13 von 18) der Erreger von Schildzecken übertragen. Die bei weitem häufigste Erkrankung Deutschlands ist die Lyme-Borreliose mit einer angenommenen Inzidenz von etwa 60.000 Fällen pro Jahr, weshalb Schildzecken im Vergleich zu anderen heimischen Vektoren qualitativ und quantitativ das größte Gefährdungspotential darstellen.

Global betrachtet breiten sich derzeit gleich eine ganze Reihe Vektoren-übertragener Infektionserkrankungen aus, wobei Europa bislang vergleichsweise gering betroffen ist. Oftmals werden neu eingeschleppte Vektoren oder Infektionserreger eher zufällig gefunden. Hierzu gibt es für Mitteleuropa gleich mehrere Beispiele wie die geographische Ausbreitung der Frühsommer-Meningoenzephalitis, des Mittelmeerfleckfiebers, des Mäusefleckfiebers, der Maul- und Klauenseuche, der caninen Ehrlichiose und des Erregers der Bovinen Spongiformen Enzephalopathie (BSE). Im Jahr 1999 wurden erstmals Phlebotomen im Oberrheingraben nachgewiesen. Parallel zu diesen Funden traten mehrere Fälle von Leishmaniose bei Mensch und Tier ohne Reisanamnese in Endemiegebiete auf, so dass hinsichtlich autochthoner Leishmanienübertragung und Vektorkompetenz in Deutschland vorkommender Phlebotomenspezies ein akuter Forschungsbedarf besteht. Ähnliches gilt für

die geographische Ausbreitung des West Nil Fieber-Virus (WNV). Als Vektoren des WNV sind derzeit 49 Stechmückenarten aus den Gattungen *Culex*, *Aedes*, *Anopheles*, *Mimomyia* und *Aedeomyia*, 2 Lederzeckenspezies (*Argas hermanni* und *Ornithodoros capensis*) sowie 6 Schildzeckenspezies aus den Gattungen *Hyalomma*, *Rhipicephalus*, *Amblyomma* und *Dermacentor* bekannt. Je nach Habitatbedürfnissen (sylvatisch, rural, urban, aquatisch, etc.), Stecheigenschaften (endophag, exophag, diurnal, nocturnal) und Wirtsspezifität (ornithophil, zoophil, anthropophil) vektorkompetenter Stechmücken sind unterschiedliche Transmissionsketten des WNV möglich und bekannt. WNV wurde während und nach der Oderflut im Sommer 1997 nahe der deutschen Grenze in Tschechien bei *Culex pipiens* und beim Menschen nachgewiesen, 1998 kam es zu einem Ausbruch bei Pferden in Norditalien, im Jahre 2000 in Südfrankreich. Ein 1998 in Israel untersuchter und in Deutschland bringter Storchjährling aus Mecklenburg-Vorpommern war West Nil Virus-positiv. Laufende Studien des RKI verzeichnen eine Seroprävalenz von 19% unter deutschen Weißstorch-Nestlingen im Neutralisationstest, wobei der Virusgenom-Nachweis mittels quantitativer PCR bislang in allen Fällen negativ ausfiel. Autochthon in Deutschland erworbenes West Nil Fieber wurde beim Menschen bisher nicht nachgewiesen.

Hinsichtlich der Ausbreitungsprinzipien lässt sich grundsätzlich in eine eigenständige (=aktive) Ausbreitung und eine passive Ein- oder Verschleppung von Erreger, Vektor, Erreger plus Vektor, potentiell Erregerträger (=Reservoir) und infiziertem Erregerträger (=Reservoir plus Erreger) unterscheiden. Während die schon immer vorhandene aktive Ausbreitung bedingt ist durch Klimaveränderungen, Evolutionsprozesse sowie Veränderung von Biotopstrukturen und Umweltbelastungen (z.B. Pestizideinsatz), nimmt gegenwärtig die Gefährdung der Verschleppung durch stark zunehmenden Güterverkehr und Welthandel, Flüchtlinge, steigenden Tourismus, Tiertransporte, aber auch durch Wanderungsbewegungen von Tieren (z.B. Zugvögeln) erheblich zu. Bisher ist unklar, ob und in welchem Umfang Vektoren, Erreger oder Reservoir nach Deutschland durch Handel, Verkehr und Tourismus verschleppt werden, oder einschleppbar sind. Internationale Erfahrungen der letzten Jahre belegen, dass davon hauptsächlich Häfen und Flughäfen, in Europa aber auch der Landweg, betroffen sind. Aktuelles Beispiel hierzu ist das Riftalfieber-Virus, das bis zum Jahr 2000 ausschließlich in Afrika endemisch war, und Mitte 2000 im Jemen (1087 Verdachtsfälle; 121 gemeldete Todesfälle) sowie in Saudi-Arabien (884 Verdachtsfälle; 124 Todesfälle) unerwartet epidemisch auftrat. Offensichtlich ist das Virus über den illegalen Transport von Nutztier, insbesondere Kamele und Ziegen, aus den Endemiegebieten Kenias und Somalias über Häfen in Djibouti und Berbera, Somalia, zunächst in den Jemen und anschließend nach Saudi-Arabien eingeschleppt worden. Die dort heimischen vektorkompetenten Stechmückenspezies haben daraufhin die Infektionskette über die infizierten Tierreservoir auf den Menschen schließen können.

Neue Entwicklungen in der Taxonomie der Stechmücken (Diptera: Culicidae)

ACHIM KAISER, Heidelberg

Seit Erscheinen des "catalog of the mosquitoes of the world" (KNIGHT & STONE, 1977) und seiner Ergänzungen (KNIGHT, 1978; WARD, 1984; 1992) haben sich in der Systematik innerhalb der Familie der Culicidae eine Vielzahl von Änderungen ergeben. Die meisten dieser Änderungen betreffen in erster Linie tropische oder subtropische Taxa, sie sind detailliert an anderer Stelle wiedergegeben (REINERT, 2001). Im Folgenden sollen drei wichtige Neuerungen kurz zusammengefasst werden:

- a) Die z.Zt. anerkannte Phylogenie der Familie der Culicidae geht auf die Arbeit von HARBACH & KITCHING (1998) zurück und erkennt 2 monophyletische Unterfamilien, Anophelinae und Culicinae, wobei die erstere als die ursprüngliche gilt. Die frühere Unterfamilie Toxorhynchitinae wird herabgestuft und erkannt als monogenerischer Tribus Toxorhynchitini innerhalb der Unterfamilie Culicinae. Die Larven aller Arten des Genus

Toxorhynchites besitzen modifizierte Mundbürsten zum Beutefang und leben räuberisch. Im Falle von Nahrungsmangel kommt es sogar zu Kannibalismus, so ist z.B. in den engen Brutplätzen in Bambusstümpfen selten mehr als eine vollständig ausgewachsene Larve von *Toxorhynchites spec.* anzutreffen. Die Weibchen mit ihrem charakteristisch gebogenen Stechrüssel saugen kein Blut, sondern ernähren sich wie die Männchen von Pflanzensäften.

- b) Basierend auf einer phylogenetischen Analyse innerhalb der Unterfamilie Anophelinae wurde der ehemalige Genus *Bironella* herabgestuft und plaziert als Synonym des Genus *Anopheles* (SALLUM et al., 2000). Innerhalb von *Bironella* sind lediglich sieben Arten beschrieben, die ausschließlich in der Australischen Region verbreitet sind. Über deren Lebensweise ist wenig bekannt, die Weibchen sind vermutlich keine Blutsauger. Die Unterfamilie Anophelinae umfasst somit nur noch die beiden Genera *Anopheles* und *Chagasia*.
- c) Die dritte und auch für viele europäischen Arten bedeutende Neuerung betrifft die Umstrukturierung des schon immer sehr heterogenen Genus *Aedes* (REINERT, 2000). Der frühere Subgenus *Ochlerotatus* wurde auf den Rang eines Genus gehoben und gleichzeitig innerhalb der beiden Gattungen Umschichtungen durchgeführt, was zur Folge hat, dass viele der uns wohl bekannten *Aedes*-Arten jetzt *Ochlerotatus*-Arten sind. Glücklicherweise haben beide Gattungsnamen das gleiche Geschlecht, so dass zumindest die Endung des Artnamens unberührt bleibt. Die systematische Ordnung der sieben in Europa verbreiteten Untergattungen innerhalb des Tribus Aedini (Unterfamilie Culicinae) sieht nun wie folgt aus:

(alt)	(neu)
Genus <i>Aedes</i> Subgenera <i>Aedes</i> , <i>Aedimorphus</i> , <i>Finlayia</i> , <i>Fredwardsius</i> , <i>Ochlerotatus</i> , <i>Stegomyia</i> , <i>Rusticoidus</i>	Genus <i>Aedes</i> Subgenera <i>Aedes</i> , <i>Aedimorphus</i> , <i>Fredwardsius</i> , <i>Stegomyia</i>
	Genus <i>Ochlerotatus</i> Subgenera <i>Finlayia</i> , <i>Ochlerotatus</i> , <i>Rusticoidus</i>

Die morphologische Differenzierung von *Ochlerotatus* und *Aedes* gestaltet sich äußerst schwierig. Die Larven unterscheiden sich lediglich durch die An- bzw. Abwesenheit einer einzigen Borste auf der Ventralseite des 1. Abdominalsegments und für die korrekte Bestimmung der Weibchen ist gar eine aufwändige Präparation der Genitalsklerite notwendig. Oft wird deshalb in neueren Bestimmungsschlüsseln auf eine Abgrenzung der beiden Gattungen verzichtet (BECKER et al., 2003).

Hier einige Beispiele für die neue Nomenklatur:

Name bleibt erhalten: <i>Aedes (Aedimorphus) vexans</i>	aber: <i>Ochlerotatus (Ochlerotatus) sticticus</i> <i>Ochlerotatus (Ochlerotatus) cantans</i>
<i>Aedes (Aedes) cinereus</i>	<i>Ochlerotatus (Rusticoidus) rusticus</i>
<i>Aedes (Stegomyia) aegypti</i> <i>Aedes (Stegomyia) albopictus</i>	<i>Ochlerotatus (Finlaya) geniculatus</i>

Die Liste verdeutlicht, dass die bei uns bekannteste und sehr häufig plageerregend auftretende Art *A. vexans*, aber auch die als Vektoren wichtigen *A. aegypti* und *A. albopictus* von den Änderungen nicht betroffen sind. Hingegen gehören die bei uns beheimateten Waldarten (*O. cantans*, *O. rusticus*) und auch der Baumhöhlenbrüter *O. geniculatus* dem neu entstandenen Genus *Ochlerotatus* an.

In neuester Zeit sind die genannte Änderung innerhalb der Gattung *Aedes* aber umstritten. Es wird von einigen Seiten dafür plädiert, die althergebrachte Taxonomie

zuzulassen und *Ochlerotatus* wieder als Subgenus von *Aedes* zu behandeln (SAVAGE & STRICKMAN, 2004). Begründet wird dies mit der großen morphologischen Ähnlichkeit in allen Stadien, aber auch aus praktischen Gesichtspunkten heraus, was jedoch nach den Regeln der Nomenklatur nicht zulässig ist. Es ist eine sehr interessante Diskussion über das Für und Wider entstanden (BLACK, 2004) und man darf gespannt sein, wo diese Entwicklung hinführen wird.

Literatur:

- Becker, N., Petrić, D., Zgomba, M., Boase C., Dahl, C., Lane, J. & Kaiser, A. (2003): Mosquitoes and their Control. – Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, 498 pp.
- Black, W.C. (2004): Learning to use *Ochlerotatus* is just the beginning. – J. Am. Mosq. Control Assoc. 20(2): 215-216.
- Harbach, R.E. & Kitching, I.J. (1998): Phylogeny and classification of the Culicidae. – Syst. Entomol. 23: 327-370.
- Knight, K.L. (1978): Supplement to a catalog of the mosquitoes of the world (Diptera: Culicidae). – Thomas Say Found., Ent. Soc. Am., Vol 6 (Suppl.), 107 pp.
- Knight, K.L. & Stone, A. (1977): A catalog of the mosquitoes of the world (Diptera: Culicidae). 2nd edition. – Thomas Say Found., Ent. Soc. Am., Vol. 6, xi + 611 pp.
- Reinert, J.F. (2000): New classification of the composite genus *Aedes* (Diptera: Culicidae: Aedini), elevation of subgenus *Ochlerotatus* to generic rank, reclassification of the other subgenera, and notes on certain subgenera and species. – J. Am. Mosq. Control Assoc. 16(3): 175-188.
- Reinert, J.F. (2001): Revised list of abbreviations for genera and subgenera of Culicidae (Diptera) and notes on generic and subgeneric changes. – J. Am. Mosq. Control Assoc. 17(1): 51-55.
- Sallum, M.A., Schultz, T.R. & Wilkerson, R.C. (2000): Phylogeny of Anophelinae (Diptera: Culicidae) based on morphological characters. – Ann. Entomol. Soc. Am. 93: 745-775.
- Savage, H.M., & Strickman, D. (2004): The genus and subgenus categories within Culicidae and placement of *Ochlerotatus* as a subgenus of *Aedes*. – J. Am. Mosq. Control Assoc. 20(2): 208-214.
- Ward, R.A. (1984): Second supplement to "A catalog of the mosquitoes of the world" (Diptera: Culicidae). – Mosq. Syst. 16: 227-270.
- Ward, R.A. (1992): Third supplement to "A catalog of the mosquitoes of the world" (Diptera: Culicidae). – Mosq. Syst. 24:177-230.

Identifizierung der Zwillingsarten des *Anopheles maculipennis*- und des *A. claviger*-Komplexes mit Hilfe der Polymerase-Kettenreaktion (PCR)

HELGE KAMPEN

Institut für Medizinische Parasitologie der Universität Bonn, Sigmund-Freud-Straße 25, 53105 Bonn, e-mail: hkampen@parasit.meb.uni-bonn.de

Von den 18 für Europa beschriebenen *Anopheles*-Arten sind neun in Artenkomplexen zusammengefasst: sieben gehören zum *A. maculipennis*-Komplex und zwei zum *A. claviger*-Komplex. Da die Zwillingsarten eines Artenkomplexes entweder isomorph sind oder sich nur minimal in bestimmten Entwicklungsstadien voneinander unterscheiden, sind sie lange Zeit nicht als separate Spezies erkannt worden. Nichtsdestoweniger zeichnen sie sich durch charakteristische Verhaltensweisen, ökologische Ansprüche und Vektorkompetenzen für Krankheitserreger aus. Zu den Methoden, die zu ihrer Differenzierung etabliert wurden, gehören z.B. Kreuzungsexperimente, Zytotaxonomie, Zymotaxonomie und Analyse der kutikulären Kohlenwasserstoffe. In den letzten Jahren wurden darüber hinaus molekularbiologische Techniken entwickelt, die verschiedene Nachteile der klassischen Methoden nicht aufweisen. So können mit Hilfe der Polymerase-Kettenreaktion (PCR) schnell und einfach alle Entwicklungsstadien beider Geschlechter identifiziert werden, das Material benötigt keine besondere Fixierung, und es wird vom Untersucher keine langjährige Übung und Erfahrung verlangt.

Wie auch bei anderen Arthropodengruppen wird zur Artidentifizierung von *Anopheles*-Zwillingsarten mittels PCR bevorzugt die ITS2 (internal transcribed spacer 2)-Region der ribosomalen DNA herangezogen. Diese wird von konservierten DNA-Abschnitten flankiert,

so dass sie leicht mit Hilfe konservierter Primer amplifiziert und ihre Nukleotidsequenz ermittelt werden kann. Diese wiederum enthält aufgrund ihrer besonderen Evolutionsgeschwindigkeit kaum intraspezifische, dafür umso mehr interspezifische Unterschiede, die man sich zur Konstruktion artspezifischer Primer zunutze machen kann.

Das Prinzip der Zwillingarten-Identifizierung beruht auf der Amplifikation von DNA-Abschnitten artcharakteristischer Länge, so dass ein PCR-Produkt nach gelelektrophoretischer Auftrennung unweigerlich eine ganz bestimmte Spezies kennzeichnet. Zur DNA-Extraktion kann ein Kurzprotokoll eingesetzt werden, bei dem z.B. das Mückengewebe grob homogenisiert und aufgekocht wird. Wenige Mikroliter des Überstandes werden in einen Reaktionsansatz gegeben, der neben einem Universalprimer einen oder mehrere Spezies-spezifische Primer enthält. Die Spezies-spezifischen Primer sind so konstruiert, dass im Falle einer Multiplex-PCR lediglich der eine, für die jeweilige Mückenart spezifische Primer an die Zielsequenz bindet, während alle anderen mangels Hybridisierungsmöglichkeit in Lösung bleiben. Für den *A. maculipennis*-Komplex wurde das System inzwischen für sieben der neun paläarktischen Zwillingarten etabliert, d.h. ein Reaktionsansatz enthält einen Universalprimer und bis zu sieben Spezies-spezifische Primer. Für die Differenzierung der beiden Zwillingarten des *A. claviger*-Komplexes werden entsprechend neben dem Universalprimer zwei Spezies-spezifische Primer eingesetzt.

Trotz der hohen Spezifität der Primer sollten die Mücken vor der PCR-Identifizierung morphologisch bis zur Komplexebene vorbestimmt werden. Bei der Austestung der diagnostischen PCR-Tests kam es nämlich in einem Fall zu einer Kreuzhybridisierung: Der für *A. petragrani* (*A. claviger*-Komplex) spezifische Primer fand in der DNA von *A. beklemishevi* (*A. maculipennis*-Komplex) eine weitgehend komplementäre Sequenz und bildete ein PCR-Produkt, das nur minimal und elektrophoretisch nicht nachweisbar kürzer war als das *A. claviger*-spezifische (*A. claviger*-Komplex).

Literatur:

- Proft, J.; Maier, W.A.; Kampen, H. (1999): Identification of six sibling species of the *Anopheles maculipennis* complex (Diptera: Culicidae) by a polymerase chain reaction assay. –Parasitol. Res. 85: 837-843.
- Kampen, H. (2004): Integration of *Anopheles beklemishevi* (Diptera: Culicidae) in a PCR assay diagnostic for palaeartic *Anopheles maculipennis* sibling species. – Parasitol. Res., zur Publikation eingereicht
- Kampen, H.; Sternberg, A.; Proft, J.; Bastian, S.; Schaffner, F.; Maier, W.A.; Seitz, H.M. (2003): Polymerase chain reaction-based differentiation of the mosquito sibling species *Anopheles claviger* s.s. and *Anopheles petragrani* (Diptera: Culicidae). – Am. J. Trop. Med. Hyg. 69: 195-199.
- Kampen, H. (2004): Die Differenzierung von *Anopheles*-Zwillingarten. – Denisia 13: 497-513.

Verfeinerte und neu entwickelte Fallen für Stechmücken

A. ROSE¹, M. GEIER¹, A.E. EIRAS²

¹ BioGents GmbH, Regensburg, e-mail: biogents@biogents.com

² Departamento de Parasitologia / Instituto de Ciencias Biologicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brasilien, e-mail: alvaro@icb.ufmg.br

Für den Fang von Stechmücken und die Überwachung ihrer Populationsstärken werden verschiedene Methoden und Fallentypen eingesetzt. Eine Möglichkeit ist das Absuchen in Frage kommender Gewässer nach Larven oder Puppen. Neben der Verwendung von Freiwilligen als Köder werden ansonsten Fallen für Stechmücken benutzt, die sich auf der Suche nach dem Wirt befinden, oder es werden Tiere nachgewiesen, die nach einem Eiablageplatz suchen.

Diese Methoden sind häufig arbeits- und zeitaufwendig und teuer. Im Falle der Verwendung des unspezifischen Lockstoffes Kohlendioxid oder des von Wiederkäuern

abgegebenen Octenol werden zudem nicht immer die Mückenarten angelockt, die für den Menschen als Lästlinge und Krankheitsüberträger besonders wichtig sind. Bei der Verwendung von Freiwilligen als für den Nachweis von anthropophilen Arten optimalem Köder gibt es in Regionen mit von Stechmücken übertragenen Krankheiten zudem moralische Bedenken.

In dem Vortrag präsentieren wir eine neuartige Falle für wirtssuchende anthropophile Stechmücken („BG-Trap“), sowie eine weitere Falle für den Fang von *Aedes aegypti* Weibchen auf der Suche nach einem Eiablageplatz („MosquiTrap“).

Grundlage für die BG-Trap ist eine Mischung von Substanzen, die auch auf der menschlichen Haut vorkommen. Die Stoffe sind ungiftig, billig, leicht zu transportieren und unbrennbar. Aus einem speziell entwickelten Dispenser („BG-Lure“) können sie monatelang abgegeben werden. Die Lockstoffe werden aus der Falle in einer der menschlichen Duftfahne ähnelnden Form abgegeben. Ursprünglich wurden Lockstoff und Falle für *Aedes aegypti* entwickelt. Labor- und Feldversuche in Europa, den USA, Brasilien, Mali und Australien haben aber inzwischen gezeigt, daß auch andere Mückenarten angelockt werden, die den Menschen anfliegen.

Die inzwischen ebenfalls in verschiedenen Städten Brasiliens getestete MosquiTrap ist eine Weiterentwicklung der Ovitrap, mit denen über die Feststellung von Mückeneiern die Population der Erwachsenen Gelbfiebermücken nachgewiesen wird. Dieses Verfahren ist aufwendig und vor allem langsam. Im Gegensatz dazu fängt die MosquiTrap erwachsene Weibchen, die sofort und vor Ort bestimmt und gezählt werden können. Zur Anlockung wird ebenfalls ein Duftstoffdispenser („AtrAedes“) verwendet, der wochenlang attraktiv bleibt und effizienter ist als die herkömmlich verwendeten Heuaufgüsse. Ein rechnergesteuertes geographisches Informationssystem (GIS) ermöglicht es zudem, die Fangdaten in kürzester Zeit in Karten mit Indizes für Populationsdichte oder Risikohöhe zu übertragen.

Culiciden als Hundefilarien-Überträger in Europa

JÖRG GRUNEWALD

*Institut für Allgemeine Hygiene und Umweltmedizin, Medizinische Entomologie,
Wilhelmstraße 31, 72074 Tübingen, e-mail: jgwald@web.de*

Verschiedene Filarien-Arten (Nematoda, Filarioidea) parasitieren in Hunden und Katzen weltweit, wie z.B. *Dirofilaria immitis*, *D. repens*, *Acanthocheilonema* (syn. *Dipetalonema*) *reconditum*, *A. dranculoides*, und *Cercopithifilaria* (syn. *Dipetalonema*) *grassi*. Während *Acanthocheilonema* und *Cercopithifilaria* *grassi* vorwiegend von Flöhen, Zecken und Fliegen (*Stomoxys*) übertragen werden, spielen bei der Übertragung der beiden Dirofilarien-Arten in Europa zahlreiche Arten der verschiedensten Culiciden-Gattungen wie *Aedes*, *Anopheles*, *Coquillettidia*, *Culiseta*, *Culex* und *Ochlerotatus* eine Rolle. Die häufigsten Filarien-Arten sind *D. immitis*, *D. repens* und *A. reconditum*. *A. reconditum* ist ein Kosmopolit, während *D. repens* diffus in Europa, dem mittleren Osten, Asien und Afrika verbreitet ist. In Europa verteilen sich die Arten vor allem auf die Mittelmeerländer wie Italien, Spanien, Portugal, Frankreich, Griechenland und Türkei. In Mittel- und Nordeuropa, d.h. in der Schweiz, Deutschland, Großbritannien, in Holland, Schweden und Ungarn mehren sich Fälle vor allem von *D. immitis*- und *D. repens*-Infestationen bei Hunden und Katzen. *D. repens* und *A. reconditum* verursachen bei Hunden und Katzen eine subcutane Filariose. Zu schweren klinischen Erscheinungen mit tödlichem Ausgang kann es bei *D. immitis*-Infestationen bei Hund und Katze kommen. Hier blockieren die Adultwürmer die Lungenarterien, können aber auch in der rechten Herzkammer und in der *Vena cava inferior* und *superior* nachgewiesen werden. Auch Menschen können mit *D. immitis* infiziert werden, was zu Lungenläsionen und Lungenembolien sowie zu Hautläsionen führen kann. In der Regel entwickelt sich der Parasit in dem Fehlwirt Mensch nicht zu geschlechtsreifen Adultwürmern. Trotz Kontroll- und Präventionsmaßnahmen scheint sich die Parasitose ständig weiter auszubreiten.

Culiciden als Virusüberträger in Mitteleuropa

HORST ASPÖCK

Abteilung für Medizinische Parasitologie, Klinisches Institut für Hygiene und Medizinische Mikrobiologie, Medizinische Universität Wien, Kinderspitalgasse 15, A-1095 Wien, e-mail: horst.aspoeck@meduniwien.ac.at

In Mitteleuropa kommen rund 50 Stechmückenarten vor, die sich auf die beiden Subfamilien Anophelinae (mit sieben Spezies des Genus *Anopheles*) und Culicinae (mit ca. 45 Spezies der Genera *Coquilletidia*, *Uranotaenia*, *Orthopodomyia*, *Aedes*, *Ochlerotatus*, *Culiseta* und *Culex*) verteilen. Die meisten saugen auch am Menschen Blut, mehrere Spezies (vor allem der Genera *Aedes* und *Ochlerotatus*) treten alljährlich massenhaft auf und führen zu den bekannten Stechmückenplagen.

Culiciden treten besonders in den Tropen und Subtropen als Überträger von Viren auf. Dabei handelt es sich durchwegs um Arboviren, also Viren, die sowohl in Arthropoden als auch in Vertebraten vermehrt werden. (Der Begriff „Arboviren“ ist rein funktionell zu verstehen; die durch Arthropoden – vor allem durch Ixodidae, Culicidae oder Phlebotominae – übertragenen Viren gehören sehr verschiedenen Virusfamilien – Flavoviridae, Togaviridae, Bunyaviridae, Reoviridae u.a. - an.)

Dass Stechmücken auch in Mitteleuropa als Überträger von Arboviren fungieren, weiß man erst seit dem Jahre 1958. Heute kennt man mindestens sechs durch Culiciden übertragene Viren, die in Mitteleuropa entweder endemisch im Sinne einer über den Winter bestehenden Etablierung von Zyklen in der Natur auftreten (Tahyna-, Calovo- und vermutlich Usutu- und Lednice-Virus) oder mehr oder weniger regelmäßig, vorwiegend durch Zugvögel, nach Mitteleuropa eingeschleppt werden (Sindbis-, West Nile-, zum Teil Usutu- und Lednice-Virus) und dann vermutlich mehrere Wochen bis Monate in geeigneten Biotopen zirkulieren können. Von diesen sechs Viren sind nachweislich drei – Tahyna-, Sindbis- und West Nile-Virus, zudem vermutlich das Usutu-Virus – für den Menschen pathogen. In der Regel rufen sie – soweit die Infektion nicht überhaupt asymptomatisch verläuft – akut einsetzende febrile Erkrankungen, meist mit grippeähnlichen Zustandsbildern, selten mit Bronchopneumonien (Tahyna) oder Affektionen des ZNS (Tahyna, West Nile) hervor (ASPÖCK 1996, 2001, 2002). Die in Mitteleuropa bisher nachgewiesenen durch Culiciden übertragenen Viren verteilen sich auf drei Familien: Flaviviridae (West Nile- und Usutu-Virus), Togaviridae (Sindbis-Virus) und Bunyaviridae (Tahyna-, Calovo- und Lednice-Virus).

Das Ockelbo-Virus ist offenbar mit dem Sindbis-Virus identisch (bzw. ein Derivat von diesem); es ist in Nordeuropa weit verbreitet und führt zu bereits lange bekannten Krankheitsbildern (Ockelbo-Fieber, Pogosta-Fieber, Karelisches Fieber), die durch Exantheme und Arthralgien ausgezeichnet sind.

Das Usutu-Virus wurde erstmals 2001 in Mitteleuropa und zwar in Österreich im Gefolge eines zunächst rätselhaften „Amsel-Sterbens“ nachgewiesen (WEISSENBOCK et al. 2002). – In weiterer Folge konnte die Pathogenität des Virus auch für andere Vögel (bisher 8 Spezies) bestätigt werden, 90% der untersuchten toten und virologisch positiven Vögel sind allerdings Amseln. Für den Menschen ist das Virus vermutlich harmlos, möglicherweise führt es manchmal zu benignen febrilen Infekten, vielleicht mit Exanthemen. Das Usutu-Virus wurde in Österreich auch in den folgenden Jahren nachgewiesen (WEISSENBOCK et al. 2003), so dass man davon ausgehen kann, dass sich der Erreger in Mitteleuropa etabliert hat und in Stechmücken (vermutlich in überwinterten Weibchen von *Culex* spp., möglicherweise aber auch, bei transovarierlicher Übertragung, in Eiern ornithophiler *Aedes*- (und *Ochlerotatus*-?) Arten persistiert.

Das West Nile-Virus, das erstmals 1937 in Uganda und in den folgenden Jahrzehnten in vielen Teilen der Alten Welt, so auch in Mitteleuropa, nachgewiesen wurde, tauchte 1999 plötzlich im Osten der USA auf, wo es (wie das Usutu-Virus in Österreich) zu zahlreichen tödlichen Infektionen bei Vögeln führte, bald aber auch als gefährlicher Erreger von Infektionen des Menschen erkannt wurde. Inzwischen hat sich das Virus über einen Großteil Nordamerikas ausgebreitet und zu mehreren 100 Todesfällen in der Bevölkerung geführt

(TYLER 2004). Auch in Europa hat es bereits West Nile-Virus-Epidemien gegeben (vor allem 1996-1997 in Rumänien) (HUBÁLEK & HALOUZKA 1999). Mitteleuropa ist bisher verschont geblieben.

Man muss damit rechnen, dass in Mitteleuropa außer den erwähnten sechs Viren noch weitere durch Stechmücken übertragene Viren vorkommen oder zumindest nach Einschleppung auftreten können; auch muss mit dem Auftauchen von Stämmen bekannter Viren mit höherer Virulenz gerechnet werden. Weitere Forschungsarbeiten erscheinen, auch unter dem Gesichtspunkt möglicher Klimaveränderungen, daher dringend notwendig (MAIER 2002).

Eine großflächige Bekämpfung von Stechmücken – mit all den negativen Auswirkungen auf die Gesamtbiozönose – ist wegen der genannten Viren in Mitteleuropa keinesfalls gerechtfertigt. Individueller Schutz (vorwiegend durch Repellentien und durch Meiden von Gebieten zu Zeiten von Stechmückenplagen, besonders gilt dies für kranke oder alte Personen sowie für Neugeborene und auch Kleinkinder) erscheint ausreichend, solange nicht wirklich gefährliche Viren (bzw. gefährliche Stämme bekannter Viren) in Mitteleuropa auftreten.

Literatur

- Aspöck, H. (1996): Stechmücken als Virusüberträger in Mitteleuropa. – Nova Acta Leopoldina NF 71(292): 37-55.
- Aspöck, H. (2001): Arboviruses; ASF Viruses; Bunyaviridae; Flaviviridae; Flavivirus; Orthomyxoviridae; Reoviridae; Rhabdoviridae; Togaviridae. – In: H. Mehlhorn (Ed.): Encyclopedic Reference of Parasitology. Second Edition, Volume I. Biology, Structure, Function: pp. 59-66, 71, 97-99, 242-247, 460, 554-555, 558, 634, 638. Springer-Verlag. Berlin-Heidelberg-New York.
- Aspöck, H. (2002): Zecken, Insekten und andere Gliederfüßer als Erreger und Überträger von Krankheiten. – In: H. ASPÖCK (wiss. Red.): Amöben, Bandwürmer, Zecken ... Parasiten und parasitäre Erkrankungen des Menschen in Mitteleuropa. – Denisia 6: 397-445.
- Becker, N., D. Petrić, C. Boase, J. Lane, M. Zgomba, Ch. Dahl & A. Kaiser (2003): Mosquitoes and their control. – Kluwer Academic / Plenum Publishers, New York: 498 pp.
- Hubálek, Z. & J. Halouzka (1999): West Nile Fever – a reemerging mosquito-borne viral disease in Europe. – Emerging Infectious Diseases 5: 643-650.
- Maier, W.A. (2002): Umweltveränderungen und deren Einflüsse auf krankheits-übertragende Arthropoden in Mitteleuropa am Beispiel der Stechmücken. – In: H. ASPÖCK (wiss. Red.): Amöben, Bandwürmer, Zecken ... Parasiten und parasitäre Erkrankungen des Menschen in Mitteleuropa. – Denisia 6: 535-547.
- Tyler, K.L. (2004): West Nile virus infection in the United States. – Archives of Neurology 61: 1190-1195.
- Weissenböck, H., J. Kolodziejek, A. Url, H. Lussy, B. Rebel-Bauder & N. Nowotny (2002): Emergence of Usutu virus, an African mosquito-borne flavivirus of the Japanese encephalitis virus group, central Europe. – Emerging Infectious Diseases 8: 652-656.
- Weissenböck, H., J. Kolodziejek, K. Fagner, R. Kuhn, M. Pfeffer & N. Nowotny (2003): Usutu virus activity in Austria, 2001-2002. – Microbes Infect. 5: 1132-1136.

Weshalb verschwand die Malaria wirklich aus Deutschland: Zufall oder Notwendigkeit?

WALTER A. MAIER

Institut für Medizinische Parasitologie der Universität Bonn, Sigmund-Freud-Str. 25,
D-53105 Bonn, e-mail: wa.maier@web.de

Nach der Eiszeit breiteten sich *Anopheles*-Populationen und die Menschheit nach Norden aus. Nördlich der Alpen blieb *A. atroparvus* der einzige, mäßig effektive Malariavektor. Für die Menschen der Jäger- und Sammlerzeit war die Infektionsgefahr gering, erst mit zunehmender Dichte der seßhaften Bevölkerung konnten Epidemien entstehen. Seit der Römerzeit traten zunehmend auch Infektionen mit *Plasmodium falciparum* (Malaria tropica-Erreger) auf. In Deutschland dominierte aber die Malaria tertiana und der in Europa ehemals

verbreitete *P. vivax*-Stamm war offenbar niemals so polymorph wie *P. falciparum*. Denn vor Beginn der letzten Eiszeit wurde er im Mittelmeerraum durch die Klimabedingungen isoliert und eingeschlossen. Dort lebte der Neandertaler in ausgesprochen niedriger Siedlungsdichte, so dass man von einer sehr ungleichmäßigen Verteilung und geringer Transmissionsrate ausgehen kann. Noch vor dessen Aussterben vor etwa 30.000 Jahren ging der Stamm dann auf den modernen Menschen über und breitete sich in historischer Zeit nach Norden aus (CARTER 2003).

Nach einer Blütezeit im 17. und 18. Jahrhundert befand sich die Malaria wieder auf dem Rückzug: Durch Drainage und andere Kultivierungsarbeiten wurden primär die Stechmückenbrutplätze reduziert, dann aber auch durch die Verbesserung der Tierhaltung zoophile Stechmückenarten vom Menschen abgelenkt. Die besseren Lebensbedingungen der Orts-treuen Bevölkerung erlaubten es dem „kollektiven Immunsystem“ die weitgehend gleich bleibenden Klone, auch mit Hilfe des Chinins, allmählich unter Kontrolle zu bekommen.

Es wird die These aufgestellt, dass durch die Veränderung der sozioökonomischen Bedingungen die Malariapopulationen in den nördlichen Randgebieten der Verbreitung (Dänemark, Schleswig-Holstein, Niedersachsen, Holland, Essex, Kent, Sussex) in ein Patchwork („patchy distribution“) zerfielen. In diesen sogenannten „Metapopulationen“ kam es zur genetischen Verarmung, zu Reduktion der Gamontenproduktion und zu einer hochgradigen Virulenzabschwächung, so dass die Krankheit schließlich im Bewusstsein der Bevölkerung nur noch als harmloser Infekt verankert war (SCHUBERG 1927, DOBSON 1994) (Eine *Metapopulation* ist nach LEVINS Definition „eine Population von Populationen, bestehend aus kleinen Populationen, die fleckförmig verteilt sind mit einer Balance zwischen Auslöschung (extinction) und Ausbreitung (colonisation)“).

Welche Vorgänge sich in den Plasmodien-Populationen abspielten, beginnen wir erst jetzt auf der Basis neuester Untersuchungen zu verstehen:

Virulenzabschwächung könnte im Rahmen der Koevolution von Wirt und Parasit aufgetreten sein. Virulenz und Übertragbarkeit scheinen bei *P. falciparum* genetisch und funktionell gekoppelt zu sein (DAY et al. 1993). Die meisten Stämme stehen tatsächlich eher in Zusammenhang mit einem „milden“ Verlauf. Da aber keine ausgeprägte Kreuzimmunität vorhanden ist, können wenige hoch virulente Stämme sich durchsetzen, obwohl die Übertragbarkeit bei diesen Stämmen reduziert ist. Denn hohe Parasitämie kann eine schwere unspezifische Immunantwort hervorrufen, die die Infektiosität der Gamonten reduzieren kann (GUPTA et al. 1994). Dies ist auch für *P. vivax*- Stämme, z.B. in Sri Lanka, experimentell belegt (GAMAGE-MENDIS et al (1992). Für *P. falciparum* in den Tropen wurde dieser Nachteil u.a. dadurch ausgeglichen, daß hocheffiziente Vektoren wie *A. gambiae* zur Verfügung standen (Coluzzi 1999), wie dies nördlich der Alpen niemals der Fall war.

Nun muß man aber in Gebieten mit niedriger Übertragungsrate immer mit geringer Diversität rechnen (CUI et al. 2003). Dies ist z.B. heute bei der wieder aufflackernden *vivax*-Malaria in Korea der Fall (LIM et al. 2000). Was aber sind die Ursachen der geringen Diversität in Metapopulationen? Offenbar ist Selbstbefruchtung (*Verschmelzung von Gamonten, die von einer einzelnen haploiden Zelle stammen*) und Inzucht (*Vereinigung von Gameten, die von derselben Zygote oder von eng verwandten Zygoten stammen*) und die dadurch bedingte Entstehung echter Klone in *Plasmodium*-Populationen häufiger als erwartet (DAY et al. 1992, HARTL et al. 2002). Bei häufiger Selbstbefruchtung wären hinreichend oft relativ stabile Subpopulationen in Raum und Zeit zu erwarten. Zwischen 17 und 70% der *P. falciparum*-Infektionen bestehen aus nur einem Klon und bei *P. vivax* in Indien wurde in über 80% der Infektionen nur ein einziger Klon gefunden (JOSHI et al. 1989). So konnten offenbar durch räumliche Trennung, Mutation und Selektion Subpopulationen oder Metapopulationen entstehen (ARIEY et al. 2003). Ein wichtiger selektiver Faktor dabei ist die Stamm-spezifische Immunität (DAY et al. 1992, HELLRIEGEL 2001). Je geringer die Klon-Zahl desto schneller entsteht eine gewisse Immunität dagegen. Wichtig ist in diesem Zusammenhang allerdings, daß die Mobilität der Bevölkerung die Bildung von Subpopulationen eher stört als die vergleichsweise geringe Mobilität der Stechmücken (Forsyth et al 1989).

Es war also kein Zufall, dass die Malaria aus Europa verschwand, sondern eine Folge der sich räumlich und zeitlich ändernden Umstände, die Vektor, Mensch und Plasmodien in gleicher Weise beeinflussten. So lange diese Veränderungen, die zum Erlöschen der Malaria führten, nicht rückgängig gemacht werden, wird sie bei uns nicht wieder heimisch werden.

Literatur:

- Ariey, F., Duchemin, J.-B., Robert, V. (2003): Metapopulation concepts applied to *falciparum* malaria and their impacts on the emergence and spread of chloroquine resistance. – *Infection, Genetics & Evolution* 2:
- Coluzzi, M. (1999): The clay feet of the malaria giant and its African roots: hypotheses and inferences about origin, spread and control of *Plasmodium falciparum*. – *Parassitologia* 41: 277-283.
- Cui, L., Escalante, A.A., Imwong, M., Snounou, G. (2003): The genetic diversity of *Plasmodium vivax* populations. – *Trends in Parasitology* 19(5): 220-226.
- Day, K.P., Koella, J.C., Nee, S., Gupta, S., Read, A.F. (1992): Population genetics and dynamics of *Plasmodium falciparum*: an ecological view. – *Parasitology* 104: 35-52.
- Dobson, M.J. (1994): Malaria in England: A geographical and historical perspective. – *Parassitologia* 36: 35-60.
- Forsyth K.P., Philip G., Smith T., Klim E, Southwell B., Brown, G.V. (1989): Diversity of antigens expressed on the surface of erythrocytes infected with mature *Plasmodium falciparum* parasites in Papua New Guinea. – *American J. Trop. Med. Hyg.* 41: 259-265.
- Gamage-Mendis, A.C., Rajakaruna J., Carter R., Mendis, K.N. (1992): Transmission blocking immunity to human *Plasmodium vivax* malaria in an endemic population in Kataragama, Sri Lanka. – *Parasite Immunol.* 14: 385-396.
- Gupta, S., Hill, A.V.S., Kwiatkowski, D., Greenwood, B.M., Day, K.P. (1994): Parasite virulence and disease patterns in *Plasmodium falciparum* malaria. – *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91(9): 3715-3719.
- Hartl, D.L., Volkman, S.K., Nielsen, K.M., Barry, A.E., Day, K.P., Wirth, D.F., Winzeler, E.A. (2002): The paradoxical population genetics of *Plasmodium falciparum*. – *Trends in Parasitology* 18(2): 266-271.
- Hellriegel, B. (2001): Immunoepidemiology-bridging the gap between immunology and epidemiology. – *Trends in Parasitology* 17(2): 102-106.
- Lim, C.S., Kim, S.H., Kwon, S.I., Song, J.-W., Song, K.-J., Lee, K.N. (2000): Analysis of *Plasmodium vivax* merozoite surface protein-1 gene sequences from resurgent Korean isolates. – *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 62: 261-265.
- Maier, W.A. (2004): Das Verschwinden des Sumpffiebers in Europa: Zufall oder Notwendigkeit? – *Denisia* 13: 515-527.
- Schuberg, A. (1927): Das gegenwärtige und frühere Vorkommen der Malaria und die Verbreitung der Anophelesmücken im Gebiete des Deutschen Reiches. – *Arb. a.d. Reichsgesundheitsamt* 59: 1-424.

Risikoabschätzung der Verbreitung von *Ixodes ricinus* L. (Acari: Ixodidae) im Naturpark Siebengebirge bei Bonn mittels Geographischer Informationssysteme (GIS)

SCHWARZ, A.; MAIER, W.A.; KITEMANN, T.; KAMPEN, H.
*Institut für Medizinische Parasitologie, Universität Bonn, Sigmund-Freud-Str. 25,
53105 Bonn, e-mail: alexandraschwarz@arcor.de*

Das Siebengebirge bei Bonn ist ein bewaldetes Naturschutzgebiet, das als Naherholungsgebiet des Köln-Bonner Raumes von großer Bedeutung ist. Frühere Studien im Siebengebirge zum Vorkommen von Zecken und deren Durchseuchung mit dem Erreger der Lyme-Borreliose haben gezeigt, dass die Zeckendichte kleinräumige Unterschiede aufweist, die mit der jeweiligen Pflanzengesellschaft korrelieren, und die Infektionsprävalenz der Zecken mit *Borrelia burgdorferi* s.l. (bis zu 20%) unter anderem ein Faktor der Zeckendichte ist.

Im Rahmen der präsentierten Arbeit wurde eine Risikoabschätzung der *I. ricinus*-Verbreitung mit Hilfe von Geographischen Informationssystemen (GIS) im Siebengebirge durchgeführt. Zu diesem Zweck wurden von Juni bis Ende November 2003 in fünf

verschiedenen Pflanzengesellschaften wöchentlich wirtssuchende Nymphen und adulte Zecken gesammelt. Die Aktivitätsdichten der Zecken wurden ermittelt und zur Charakterisierung der Vegetationseinheiten wurden pflanzensoziologische Aufnahmen sowie mikroklimatische und bodenkundliche Untersuchungen durchgeführt.

Insgesamt wurden 2832 Zecken gesammelt, darunter 2660 Nymphen und 172 Adulte. Alle Zecken wurden als *I. ricinus* bestimmt. Der Vergleich der Zeckenabundanzen zwischen den Pflanzengesellschaften zeigte, dass generell hochsignifikante Unterschiede auftraten. Ein direkter Zusammenhang wurde zwischen der Zeckenaktivität und den abiotischen Standortparametern ‚Bodenwassergehalt‘ und ‚Lufttemperatur‘ festgestellt. Es stellte sich heraus, dass sich die bevorzugten Standortfaktoren der Zecken in den Pflanzengesellschaften mit hohen Zeckenabundanzen widerspiegeln. Die Risikoabschätzung der *I. ricinus*-Verbreitung erfolgte mit Hilfe von Daten zu Zeckendichten und Vegetationseinheiten aus weiteren Quellen. Hierzu wurden aufgrund ähnlich ermittelter Aktivitätsdichten der Zecken und vergleichbarer Standortbedingungen bezüglich der Pflanzengesellschaften sechs Risiko-Kategorien aufgestellt. Danach beträgt im Siebengebirge der Flächenanteil der Pflanzengesellschaften mit sehr hohen (ab 49 Zecken/100 m²) oder hohen Aktivitätsdichten (39-48 Zecken/100 m²) 58,8%. Mittelhohe Zeckenabundanzen (10-38 Zecken/100 m²) werden für 11,3% der Fläche vorausgesagt. Lediglich 4,9% der Naturparkfläche soll sich durch Vegetationseinheiten geringer (3-9 Zecken/100 m²) oder sehr geringer (1-2 Zecken/100 m²) Aktivitätsdichten auszeichnen. Auf 7,9% der Fläche des Siebengebirges ist nicht mit Zecken zu rechnen.

GIS scheint ein geeignetes Hilfsmittel, Risikoabschätzungen über Zeckenverbreitung und -dichte für unbekannte Gebiete vorzunehmen und so ‚hot spots‘ hoher Zeckendichten aufzudecken.

Sandmücken als Vektoren in Mitteleuropa

TORSTEN NAUCKE

*Institut für Medizinische Parasitologie der Universität Bonn, Sigmund-Freud-Straße 25,
53105 Bonn, e-mail: TJNaucke@aol.com*

Leishmaniose ist eine lang bekannte Erkrankung beim Menschen. Erste Hinweise auf diese Erkrankung finden sich bereits in den Ebers Papyri, einer Serie von medizinischen Dokumenten der ersten ägyptischen Dynastie, die bis in das Jahr 2000 v. Chr. zurückreichen.

In Mitteleuropa wird die Leishmaniose als klassische tropenmedizinische Infektionskrankheit angesehen. Die Überträger von Leishmaniose sind Sandmücken der Gattung *Phlebotomus*. Die ‚natürliche Barriere dieser Vektoren seien in Europa die Alpen‘ ist häufig in der Fachliteratur zu lesen. Die tatsächliche Verbreitungsgrenze von Sandmücken stellt jedoch die 10°C-Jahresisotherme dar. Dieser 10°C-Isotherme folgend, wären Sandmücken heute in Deutschland bis in die Region um Frankfurt und entlang des Rheingrabens bis Köln zu erwarten. Diese winzigen Stechmücken wurden erst 1999 in Deutschland entdeckt (NAUCKE & PESSON 2000), und bilden nun eine Interpretationsbasis für autochthone Leishmaniosefälle der letzten Jahre (NAUCKE & SCHMITT 2004). Die Verbreitungsgrenzen von Sandmücken in Deutschland sind derzeit unbekannt.

Sandmücken sind in allen Anrainerstaaten des Mittelmeeres, sowie in Portugal, der Schweiz, Belgien (DEPAQUIT et al. 2005), und Deutschland (Baden-Württemberg, Rheinland-Pfalz) verbreitet. Allein in Europa sind 23 Sandmückenarten zweier verschiedener Gattungen bekannt. Angaben zur bekannten Verbreitung, Wirtspräferenz und Vektorkompetenz jeder einzelnen europäischen Sandmückenart finden sich in NAUCKE (2002).

Leishmaniose nimmt im europäischen Mittelmeerraum stark zu und entwickelt sich daher auch zu einem reisemedizinischen Problem. Mit der steigenden Zahl von Reisenden in die Endemiegebiete steigt auch in Deutschland, der Schweiz und Österreich die Zahl der importierten Leishmaniosen bei Mensch und Tier.

Der derzeit Deutschland nächstgelegene aktive und lange bekannte Leishmaniose Focus ist Paris (GUILHON 1950; GUILHON et al. 1974). Das in der Mittelmeerregion am häufigsten aus Mensch, Hund und Fuchs isolierte Zymodem ist *Leishmania infantum* MON-1 (LANOTTE et al. 1981). Genau dieser Parasit, das Zymodem *L. infantum* MON-1, war auch verantwortlich für den ersten Fall einer in Deutschland erworbenen viszeralen Leishmaniose bei einem 15 Monate alten Jungen (BOGDAN et al. 2001).

Ein Schwerpunkt war auch die Entwicklung von Sandmücken: Die adulten Sandmücken ernähren sich von Pflanzensäften (MOORE et al. 1987) und/oder Blattläusexkreten (NAUCKE 1998). Daher sind besonders weibliche aber auch männliche Sandmücken während der Dämmerung in Obstbäumen zu finden, welche Blattläuse als Parasiten beherbergen. Die weiblichen Sandmücken benötigen für die Entwicklung der Eier zusätzlich Blut. Die Eiablage findet bei den Sandmücken auf dem Erdboden statt. Die Larven ernähren sich im Boden oder in der Detritusschicht von organisch-zersetzendem Material. Der Bodenbereich darf über die lange Larvalentwicklung nie trocken fallen. Auch tolerieren Larven eine Temperatur über 30°C nicht. Die Brutmöglichkeiten sind daher streng limitiert.

In ihrer Larvalentwicklung durchlaufen Sandmücken vier Larvenstadien. Die Überwinterung erfolgt in Europa im vierten Larvenstadium, dann folgt die Verpuppung und wenige Tage später das Schlüpfen des adulten Insektes.

Die mittleren Entwicklungszeiten für die verschiedenen Sandmückenarten betragen unter Laborbedingungen bei 26-28°C vom Blutmahl bis zum Adultstadium der nächsten Generation zwischen 40 und 57 Tagen (vgl. NAUCKE 2002). Diese kurzen Entwicklungszeiten treffen auch für die Tropen zu. Im mediterranen Raum dauert die Entwicklung der 'Wintergeneration' zwangsläufig, temperatur-gebunden, länger. Meist erscheinen nur zwei Generationen pro Jahr, die erste im Juni (Wintergeneration), die zweite im September (Sommergeneration). Die Sandmückenart *P. mascittii* entwickelt in Deutschland nur eine Generation pro Jahr.

Mit dem ersten Auftreten von Sandmücken im mediterranen Raum und Mitteleuropa ist zu rechnen, wenn die niedrigste Nachttemperatur drei Nächte in Folge 20°C erreicht. Diese klimatischen Bedingungen werden in Südfrankreich, Norditalien, Nordspanien, Portugal, gesamt Ex-Jugoslawien und Nordgriechenland etwa ab Mitte Mai erreicht. In diesen Regionen verschwinden Sandmücken wieder gegen Ende Oktober, wenn die Nachttemperatur unter 15°C sinkt. In Südgriechenland (incl. der großen Inseln), Süditalien, an der Mittelmeerküste Spaniens (in den Provinzen Valencia und Alicante) sind Sandmücken etwa von April bis November aktiv, auf Sizilien bereits ab März. In Südspanien, in besonderen 'Wärmeinseln' der Provinz Granada, aber auch auf Gibraltar ist eine ganzjährige, wenn auch geringe Aktivität der Sandmückenart *Phlebotomus ariasi* dokumentiert (MORILLAS MARQUEZ et al. 1983).

Für Mitteleuropa, so die Südschweiz sind Sandmücken von Mitte Juni bis Mitte August zu erwarten. In Süddeutschland wurde die Flugperiode der Sandmücke *Phlebotomus mascittii* in Baden-Württemberg vom 20.06. bis zum 28.08. festgestellt (SCHMITT 2002).

Über die Brutplätze von Sandmücken im mediterranen Raum oder gar in Mitteleuropa (Deutschland, Belgien, der Schweiz) ist sehr wenig bekannt. Den ersten nachgewiesenen Sandmückenbrutplatz in Europa fand GRASSI (1907) mitten in Rom. Aus einem Keller eines Hauses in der 'Via Panisperna' sammelte er einige Larven und Puppen von *Phlebotomus papatasi*. NAJERA (1946) fand mitten in Madrid im Juni 1943 und im September 1944 einige Sandmückenlarven in Erdproben, welche er aus Mauerritzen zerbombter Häuser sammelte. KILLICK-KENDRICK (1987) fand in einem Keller in den Cévennen (Südfrankreich) sechs Larven von *P. ariasi*. GRIMM et al. (1993) schlossen auf einen Sandmückenbrutplatz von *P. mascittii* in zwei benachbarten Kellerräumen mitten in der Ortschaft Sessa (Südschweiz). Die Beschreibung eines Grabens, einer Wasserpumpstation und eines Brunnens als nachgewiesene Sandmückenbrutplätze auf Chalkidike (Griechenland) findet sich bei NAUCKE (1998).

Kürzlich (2001/02) konnte in Anlehnung an die Erkenntnisse aus der Arbeit von GRIMM et al. (1993) auch in Deutschland ein Sandmückenbrutplatz nachgewiesen werden. In einer ca. 200 Jahre alten Scheune in der Ortschaft Neuenburg (Baden-Württemberg) brütet die Sandmückenart *P. mascittii* (vgl. NAUCKE 2002).

Literatur:

- Bogdan C, Schönian G, Banuls AL et al. (2001): Visceral leishmaniasis in a German child who had never entered a known endemic area: Case report and review of the literature. – *Clinical and Infectious Diseases* 32(2): 302-306.
- Depaquit J, Naucke TJ, Schmitt C et al. (2005 in press): A molecular analysis of the subgenus *Transphlebotomus* Artemiev, 1984 (*Phlebotomus*, Diptera, Psychodidae) inferred from ND4 mtDNA with new northern records of *Phlebotomus mascittii* Grassi, 1908. – *Parasitology Research*.
- Grassi GB. (1907): Ricerche sui flebotomi. – *Memorie di Matematica e di Scienze Fisiche e Naturali della Società Italiana delle Scienze, Napoli*. 40 (Serie 3)(14): 353-394.
- Grimm F, Gessler M, Jenni L. (1993): Aspects of sandfly biology in Southern Switzerland. – *Medical and Veterinary Entomology* 7(2): 170-176.
- Guilhon J. (1950): Un nouveau cas de leishmaniose canine autochtone dans la région parisienne. – *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France* 23(7): 361-362.
- Guilhon J, Jolivet G, Marchand A. (1974): La leishmaniose canine autochtone dans la région parisienne et dans l'ouest de la France. – *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France* 47(4): 199-211.
- Killick-Kendrick R. (1987): Breeding places of *Phlebotomus ariasi* in the Cevennes focus of leishmaniasis in the south of France. – *Parassitologia, Roma* 29(2-3): 181-191.
- Lanotte G, Rioux JA, Maazoun R et al. (1981): Application de la méthode numérique à la taxonomie du genre *Leishmania* Ross, 1903. A propos de 146 souches originaires de l'Ancien Monde. Utilisation des allozymes. Corollaires épidémiologiques et phylétiques. – *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée* 56: 575-592.
- Moore JS, Kelly TB, Killick-Kendrick R et al. (1987): Honeydew sugars in wild-caught *Phlebotomus ariasi* detected by high performance liquid chromatography (HPLC) and gas chromatography (GC). – *Medical and Veterinary Entomology* 1(4): 427-434.
- Morillas Marquez F, Guevara Benitez DC, Ubeda Ontiveros JM, Gonzalez Castro J. (1983): Fluctuations annuelles des populations de phlébotomes (Diptera, Phlebotomidae) dans la province de Grenade (Espagne). – *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée* 58(6): 625-632.
- Najera L. (1946): Observaciones sobre la ecología de los Phlebotomos en su fase larvaria principalmente. – *Revista Iberica de Parasitologia* 6: 139-158.
- Naucke TJ. (1998): Untersuchungen zur Vektorkontrolle von Sandmücken in Nordostgriechenland. (in German). – S. Roderer Verlag: 1-205.
- Naucke TJ, Pesson B. (2000): Presence of *Phlebotomus (Transphlebotomus) mascittii* Grassi, 1908 (Diptera : Psychodidae) in Germany. – *Parasitology Research* 86(4): 335-336.
- Naucke TJ. (2002): Leishmaniose, eine Tropenkrankheit und deren Vektoren (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) in Mitteleuropa. – *Denisia* 6: 163-178.
- Naucke TJ, Schmitt C. (2004): Is leishmaniasis becoming endemic in Germany? – *International Journal of Medical Microbiology* 293(Suppl. 37): 179-181.
- Schmitt C. (2002): Untersuchungen zu Biologie und Verbreitung von *Phlebotomus (Transphlebotomus) mascittii*, Grassi 1908 (Diptera: Psychodidae) in Deutschland. – Diplomarbeit. Institut für Medizinische Parasitologie, Universität Bonn: 1-93.

Informationssysteme (GIS) in der Umweltbeobachtung

WINFRIED SCHRÖDER

Der Vortrag behandelt einleitend die Funktionen und Einsatzfelder von Geografischen Informationssystemen (GIS). Im Mittelpunkt stehen Anwendungen von GIS und damit gekoppelten geostatistischen und multivariat-statistischen Verfahren in der Umweltbeobachtung. Vor diesem Hintergrund wird ein Projektentwurf zur GIS-basierten Abschätzung der räumlichen Verteilung tier- und humanmedizinisch relevanter Vektoren unter veränderten Klimabedingungen vorgestellt.

GIS sind EDV-Systeme zur Verwaltung, räumlichen Analyse und kartografischen Darstellung von Daten, die neben den üblicherweise erfassten Merkmalen realer Objekte

auch deren geometrische Form und geografische Lage abbilden. GIS werden deswegen u.a. in der Infrastrukturplanung (Wasser-, Strom-, Telekommunikationsleitungen, Verkehrswege) und im Marketing verwendet. Sie sind aber auch in der geowissenschaftlichen Forschung und in der Umweltbeobachtung ein etabliertes Datenanalyse-Instrument, denn räumliche Strukturen sind stets das Ergebnis energetischer Prozesse und bieten somit einen Zugang zu deren Verständnis.

In der Umweltbeobachtung ist man bestrebt, die Messnetze an den räumlichen Strukturen landschaftsökologischer Merkmale wie Bodenausstattung, Klima und Vegetation zu orientieren. Es wird gezeigt, wie sich mit GIS und multivariat-statistischen Verfahren eine landschaftsökologische Raumgliederung Deutschlands berechnen und zur Analyse der Landschaftsrepräsentanz von Umweltmessnetzen nutzen lässt. Ferner werden die weitgehende Zusammenfassung von Umweltdaten sowie die Kartierung der von ihnen abgebildeten räumlichen und zeitlichen Trends dargestellt. Als Beispiel dienen Daten über die 1990, 1995 und 2000 gemessene Akkumulation von As, Cd, Cr, Cu, Fe, Hg, Ni, Pb, Sb, Ti, V, Zn in Moosen von bis zu 1028 Standorten in Deutschland. Die Fülle der Messdaten wird stufenweise komprimiert: Die stoffliche Differenzierung wird durch ordinal skalierten Index reduziert, der die aus den Daten aller Metalle geostatistisch berechneten Flächeninformationen integriert. Die räumlichen Trends werden auf die 21 Klassen der landschaftsökologischen Raumgliederung reduziert. Die Lokalisierung von Hot Spots der Metallakkumulation bietet Ansatzpunkte für eine Optimierung des Moos-Monitoring-Messnetzes 2005.

Abschließend wird am Beispiel der Metallverlagerung aus dem Boden in das Grundwasser gezeigt, wie man anhand der landschaftsökologischen Flächendaten ökologische Risikoanalysen mit GIS berechnet. Dieser Ansatz bildet die methodische Grundlage für den Entwurf eines Projektes zur Abschätzung der räumlichen Verteilung tier- und humanmedizinisch relevanter Vektoren unter veränderten Klimabedingungen.

Erfolgreiche Verbreitung von Alpha- und Flaviviren durch Vektoradaptation

M. PFEFFER¹, R. KUHN², T. BAKONYI⁴, H. WEISSENBÖCK³, N. NOWOTNY^{4,5},
J.O. LUNDSTRÖM⁶

¹ *Institut für Mikrobiologie der Bundeswehr, Neuherbergstr. 11, 80937 München, e-mail: martin1pfeffer@bundeswehr.org*

² *Institut für Zoologie, Universität Mainz*

³ *Institut für Pathologie und forensische Veterinärmedizin, Veterinärmedizinische Universität Wien, Österreich*

⁴ *Institut für Virologie, Veterinärmedizinischen Universität Wien, Österreich*

⁵ *Department of Medical Microbiology, Faculty of Medicine and Health Sciences, United Arab Emirates University, Al Ain, United Arab Emirates*

⁶ *Dept. of Population Biology, Evolutionary Biology Center, Uppsala University, Sweden*

Sindbis Virus (SINV) ist das Prototypvirus der Alphaviren und geographisch weit verbreitet. SINV wurde in Skandinavien und einigen südeuropäischen Ländern, in ganz Afrika, großen Teilen Asiens bis hin nach Australien und Neuseeland nachgewiesen. Bisher ist unbekannt, warum das SINV im globalen Sinne so erfolgreich ist. Mit molekularbiologischen Methoden haben wir versucht eine Erklärung für die weltweite Verbreitung von SINV zu finden. Für diese Studien wurde eine Teilsequenz aus dem E2 Hüllproteingen ausgewählt. Von diesem 113 Aminosäuren langen Abschnitt ist bekannt, dass er die für die Virusneutralisation wichtigen Epitope enthält. In Bezug auf Virusdiversifikation und Evolution sollte dieser Bereich somit eine starke Aussagekraft besitzen. Der entsprechende Genomabschnitt von 58 SINV Isolaten aus der ganzen Welt wurde mittels RT-PCR amplifiziert, anschließend sequenziert und mit den entsprechenden Bereichen der am nächsten verwandten Alphaviren HJV, BCRV, FMV, WEEV und AURAV verglichen.

Die Unterschiede in diesem E2-Peptid innerhalb der untersuchten SINV betragen tatsächlich bis zu 22 %. Aufgrund der phylogenetischen Ergebnisse lassen sich die Sindbis Viren in fünf Genotypen unterteilen. Dabei besteht eine rein geographische Korrelation innerhalb dieser SINV-Genotypen: Der als SINV-AE bezeichnete Genotyp wird ausschließlich in Europa und Afrika gefunden, SINV-SA stellt einen in Süd-Ost-Asien endemischen Genotyp dar und SINV-A Isolate kommen nur in Australien vor. SINV-NZ wird von einem einzigen Isolat aus Neuseeland repräsentiert und der zentral-asiatische SINV-CA von je einem Isolat aus China und Aserbaidschan (Kyzylgach Virus). An der Basis dieses Stammbaumes befindet sich das nicht als SINV klassifizierte Aura Virus.

Diese Ergebnisse unterstützen die Annahme, dass die Alphaviren in der „neuen Welt“ entstanden sind (Weaver et al., 1997). Auch die rekombinanten Alphaviren der „neuen Welt“ (WEEV, HJV, FMV, BCRV) zweigen weit vor dem ersten SINV ab, was bedeutet, dass die Rekombination zwischen einem EEEV- und SINV-Vorläufer zeitlich vor der Entstehung der heutigen SINV-Genotypen stattgefunden hat. Verfolgt man den Stammbaum weiter, so folgen nun sukzessive die asiatischen, die australischen Isolate und das neuseeländische Isolat. Die unter SINV-AE subsummierten Isolate aus Europa und Afrika sind evolutionär am jüngsten.

Wie kann man sich nun diese globale Verteilung erklären? Die Antwort ist beim Vertebratenwirt zu finden: Speziell in den zoogeographischen Regionen der „alten Welt“ (paläarktisch, äthiopisch, oriental und austral-asiatisch) stimmen die gefundenen SINV-Genotypen gut mit den großen Flugrouten der Zugvögel überein. Somit erfolgte die globale Verbreitung von SINV, zumindest in der „alten Welt“, entlang der westlichen und östlichen europäischen sowie der indo- und ostasiatischen Flugroute. Ein regelmäßiger genetischer Austausch findet nur innerhalb bestimmter Längengrade statt. Die dabei beteiligten Viren sind aber trotz der teilweise enormen Nord-Süd-Distanzen (Südafrika-Skandinavien) näher miteinander verwandt als mit Isolaten aus westlich oder östlich gelegenen Regionen. Dies liegt daran, dass nur wenige Vogelarten über die Bering Straße, zwischen Indonesien und Australien, über die Tasmanische See (zwischen Australien und Neuseeland), zwischen dem indischen Subkontinent und Vorderasien oder gar zwischen Afrika und Südamerika über den Atlantik fliegen. Ein Ost-West-Austausch von SINV erfolgt wesentlich seltener und das erklärt somit auch die Unterschiede zwischen den einzelnen SINV-Genotypen.

Der Vertebratenwirt (Zugvogel) ist also verantwortlich für die globale Verteilung von SINV. Doch wieso gelingt es den Sindbis Viren sich in geographischem Neuland so erfolgreich zu etablieren und entsprechende Endemiegebiete zu gründen? Die Antwort liegt sehr wahrscheinlich an der Adaptation an Stechmückenvektoren aus dem Genus *Culex*, aus denen SINV vornehmlich isoliert worden sind. HERTZ & HUANG (1995) haben bei alternierender *in vitro*-Passagierung von SINV in Vertebraten- und in Stechmücken-Zellkulturen zeigen können, dass das Virus in den Vektorenzellen einem höheren Selektionsdruck ausgesetzt ist. Dies bedeutet gleichzeitig, dass eine Etablierung von SINV in geographisch bislang nicht endemisiertem Gebiet das Vorhandensein einer geeigneten Vektorenart voraussetzt. Das Sub-Genus *Culex* innerhalb des Genus *Culex* hat weltweit 236 Arten, die eine lokale Adaptation an neueingeführte SINV ermöglichen können. Im Vergleich hierzu gibt es für das Sub-Genus *Climacura* im Genus *Culiseta* nur 5 Spezies weltweit (eine in der „neuen Welt“ und vier in der „alten Welt“). Im Gegensatz zu den beschriebenen SINV-Genotypen sind daher auch nur genetisch einheitliche EEEV und HJV mit der *Culiseta* (*Climacura*) Vektorspezies (*Culiseta melanura*) in Nordamerika vergesellschaftet. Das ist ein überzeugender Hinweis, dass der Vektorkompetenz die zentrale Rolle bei der Etablierung von neuen Naturherden zukommt. Darüber hinaus verdeutlicht dieses Beispiel wie wichtig Vektorkompetenzstudien im Rahmen der Risikoabschätzung und Vorhersagbarkeit sind.

Am Beispiel von Deutschlands häufigster Stechmückenart, *Aedes vexans*, haben wir untersucht, ob diese in der Lage ist, SINV zu übertragen. Wie oben ausgeführt, sind virämische Zugvögel für die Verbreitung von SINV über größere Strecken verantwortlich. In Deutschland werden hauptsächlich zwei Nord-Süd-Routen von Zugvögeln benutzt: Die westliche Route orientiert sich am Rhein, während die östliche Route von der Seenplatte nordöstlich von Berlin nach Süden verläuft, um dann der Donau folgend Richtung Osten oder Süden gen Balkan oder Schwarzem Meer weiterzuführen. An beiden Haupttrouten sind

entlang der Flussläufe Brutstätten für *Aedes*-Stechmücken in großer Zahl vorhanden. Es bestünde somit ausreichend Gelegenheit für *Aedes vexans*, SINV von rastenden Zugvögeln durch eine Blutmahlzeit aufzunehmen.

Um ein solches Szenario nachzuvollziehen, haben wir kolonisierte *Aedes vexans* im Insektarium mit Karelian Fieber Virus (KFV) infiziert, welches als europäisches Isolat zu dem SINV-Genotyp AE gehört. Innerhalb einer Woche nach der intrathorakalen Applikation von 40 Plaque-bildenden Einheiten (PFU) Virus, stieg der Virustiter in der Stechmücke auf bis das 350-fache. Die Hämolymphe der deutschen *Aedes vexans* war demnach ein sehr guter Nährboden für das „ausländische“ SINV. Nahmen die Stechmücken das Virus jedoch oral mit einer Blutmahlzeit auf, so stellte sich heraus, dass die initialen Virustiter im Verlauf von zwei Tagen fast völlig verschwanden. Diese Ergebnisse änderten sich auch nicht, wenn die Tiere mit 10.000 PFU erheblich höhere Virusmengen oral aufgenommen hatten. Die verwendete *Aedes vexans* Kolonie, die ursprünglich aus dem Oberrheingebiet stammte, erwies sich somit als refraktär gegenüber KFV auf Grund einer sogenannten „midgut-infection-barrier“. Nach derzeitigem Verständnis fehlen diesen *Aedes vexans* die spezifischen Rezeptoren auf den Mitteldarmzellen, die eine Internalisierung von SINV ermöglichen würden. Für die eingangs gestellte epidemiologische Fragestellung konnte mit Hilfe dieser Vektorkompetenzstudie nachgewiesen werden, dass *Aedes vexans* somit weder eine Rolle als Brückenvektor für humane SINV-Infektionen spielen kann, noch dass es bei der Etablierung eines SINV-Naturherdes in Deutschland involviert sein würde. Diese Ergebnisse gelten nur für SINV und *Aedes vexans*. Einheimische *Culex*-Stechmücken könnten womöglich besser dazu beitragen, „exotischen“ SINV eine Existenz zu ermöglichen.

Die West Nil-Virus-Epidemie in Nordamerika ist ein eindrucksvolles Beispiel dafür, wie ein *Culex*-assoziiertes Arbovirus (Genus *Flavivirus*, Familie *Flaviviridae*) innerhalb von nur drei Jahren fast den gesamten nordamerikanischen Kontinent erobern kann. Wahrscheinlich wird die Art, wie WNV von Vorderasien nach New York gelangt ist, nie endgültig geklärt werden, aber die Adaptation an *Culex*-Stechmücken mag eine wesentliche Voraussetzung zur erfolgreichen Einbürgerung in der Neuen Welt gewesen sein. Als weiteres Beispiel aus der Gruppe der Flaviviren könnte das erst im Jahr 2000 in Österreich aufgetauchte Usutu Virus (USUV) von seiner Adaptation an Stechmücken aus dem Genus *Culex* profitieren. Auch hier ist bislang nicht klar, wie das eigentlich im südlichen Afrika vorkommende Virus nach Österreich gelangt ist, aber es hat sich hier erfolgreich etabliert und hat einen Weg gefunden, die mitteleuropäischen Winter zu überdauern. Im Unterschied zu der Situation mit WNV in Nordamerika, breitet sich USUV in Österreich „nur“ mit einer Geschwindigkeit von ca. 50 km pro Jahr aus (WEISSENBOCK et al., 2003).

Literaturhinweise:

- Modlmaier, M.; R. Kuhn, O.-R. Kaaden & M. Pfeffer (2002): Transmission studies of an European Sindbis virus in the floodwater mosquito *Aedes vexans* (Diptera: Culicidae). – International Journal of Medical Microbiology 291 (Suppl.33): 164-170.
- Weissenböck, H.; J. Kolodziejek, K. Fagner, R. Kuhn, M. Pfeffer & N. Nowotny (2003): Usutu virus activity in Austria, 2001-2002. – Microbes and Infection 5: 1132-1136.
- Weaver, S.C.; W. Kang, Y. Shirako, T. Rumenapf, E.G. Strauss und J.H. Strauss (1997): Recombinational history and molecular evolution of western equine encephalitis complex alphaviruses. – Journal of Virology 71: 613-623.
- Aktuelles zur Verbreitung von Usutu Virus in Österreich: <http://www.vu-wien.ac.at/i117/news/usutu/usutu.html>