



*Im Auftrag des Kantons Aargau, Departement Bau, Verkehr und Umwelt,
Abteilung Wald*

Vorkommen von Stechmücken im Naturwaldreservat Langholz, Kanton Aargau

Impressum

Auftraggeber

Kanton Aargau, Departement Bau, Verkehr und Umwelt, Abteilung Wald

Auftragnehmer

Schweizerisches Tropen- und Public Health-Institut, Socinstrasse 57, Postfach, 4002 Basel

Autoren

Barbara Colucci

Tobias Suter

Laura Vavassori

Dr. Pie Müller

Hinweis

Diese Studie wurde im Auftrag des Kantons Aargau, Departement Bau, Verkehr und Umwelt, Abteilung Wald, durchgeführt. Für den Inhalt ist allein der Auftragnehmer verantwortlich.

Abkürzungen

BG	Biogens
L	Larven
MALDI-TOF MS	Matrix assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry
OT	Ovitrap; Eiablagefalle
Swiss TPH	Swiss Tropical and Public Health Institute (Deutsch: Schweizerisches Tropen- und Public Health-Institut)
WGS	World Geodetic System

Inhaltsverzeichnis

Auftraggeber	2
Auftragnehmer	2
Autoren	2
Hinweis	2
Zusammenfassung	5
1 Einleitung	6
2 Material und Methoden	7
2.1 Studiengebiet und Zeitrahmen	7
2.2 Sampling Protokoll	7
2.3 Sammeln der Mückenlarven	9
2.3.1 Ausgewählte Wasserstellen für das Sammeln der Stechmückenlarven	10
2.4 Eiablagefallen (Ovitrap) für invasive <i>Aedes</i> Arten	11
2.4.1 Fallenstandorte für Eiablagefallen (Ovitrap)	12
2.5 Bestimmen ausgewachsener Stechmücken	13
2.5.1 Fallenstandorte der BG Sentinel Fallen	13
3 Bestimmung der Stechmücken	15
3.1 Aufzucht von kleinen Larven	15
3.2 Bestimmung der Stechmückenarten	15
3.2.1 Morphologische Bestimmung	15
3.2.2 Bestimmung der Art mit MALDI-TOF MS	16
4 Resultate und Diskussion	16
4.1 Räumliche und zeitliche Verteilung der Stechmückenarten	17
4.2 Relevanz der einzelnen Stechmückenarten für die Besucher des Langholzes	21
5 Schlussfolgerungen	24
6 Empfehlungen	24
7 Danksagung	24
8 Literaturverzeichnis	25

Zusammenfassung

Im Naturwaldreservat Langholz wurden in drei Bauetappen neue Dämme gebaut um viele Bereiche wieder unter Wasser zu setzen. Welchen Einfluss diese neuen Teiche und Tümpel auf die Stechmückenpopulationen im Gebiet haben, wurde 2014 im Rahmen einer ersten Studie untersucht. Dazu wurden vom 14. Juli bis 7. Oktober 2014 alle zwei Wochen ausgewählte Teiche nach Mückenlarven abgesucht. Zusätzlich wurden Mückenfallen aufgestellt, die blutsuchende Stechmückenweibchen anlocken sollen, sowie Eiablagefallen, um das Vorhandensein von invasiven *Aedes* Arten abzuklären. In der Untersuchungsperiode wurden insgesamt 1'849 Stechmücken von 17 verschiedenen Arten gesammelt und ausgewertet. Häufige Arten waren *An. maculipennis* s.l., *Cx. martinii*, *Cx. pipiens/torrentium*, *An. claviger* und *An. territans*. Neben den einheimischen Arten wurde auch die invasive, asiatische Buschmücke (*Ae. japonicus*) nachgewiesen. Einige dieser Arten könnten verschiedene Viren oder Malaria auf den Menschen übertragen. Diese Mücke müsste sich durch ein vorgängiges Blutmahl infiziert haben und das Klima müsste die Entwicklung des Parasiten in der Mücke erlauben. Die Wahrscheinlichkeit, dass all diese Faktoren gegeben sind, ist sehr gering. Da die Wiedervernässung erst seit kurzem besteht, ist noch unklar, ob und wie sich die Situation in naher Zukunft verändern wird. Deshalb wird ein reduziertes Langzeitmonitoring für das Gebiet, mit Einbezug von Vergleichsflächen ohne Wiedervernässung, empfohlen. Zudem wäre im Sinne einer Interessensabwägung zwischen Naturschutz und Freizeitnutzung eine Erhebung der effektiven Belästigung durch Mückenstiche im und um die Wiedervernässungszone nützlich.

1 Einleitung

In der Vergangenheit wurde der Wald im Gebiet des Naturwaldreservats Langholz (Abbildung 1), Kanton Aargau, durch ein dichtes Grabensystem entwässert. Damit das Gebiet für die standorttypischen wechselfeuchten bis nassen Waldgesellschaften und die darauf angewiesenen seltenen Tier- und Pflanzenarten wieder zurückgewonnen werden kann, wurden in den vergangenen Jahren in drei Bauetappen die alten Gräben wieder verschlossen und neue Dämme erstellt.

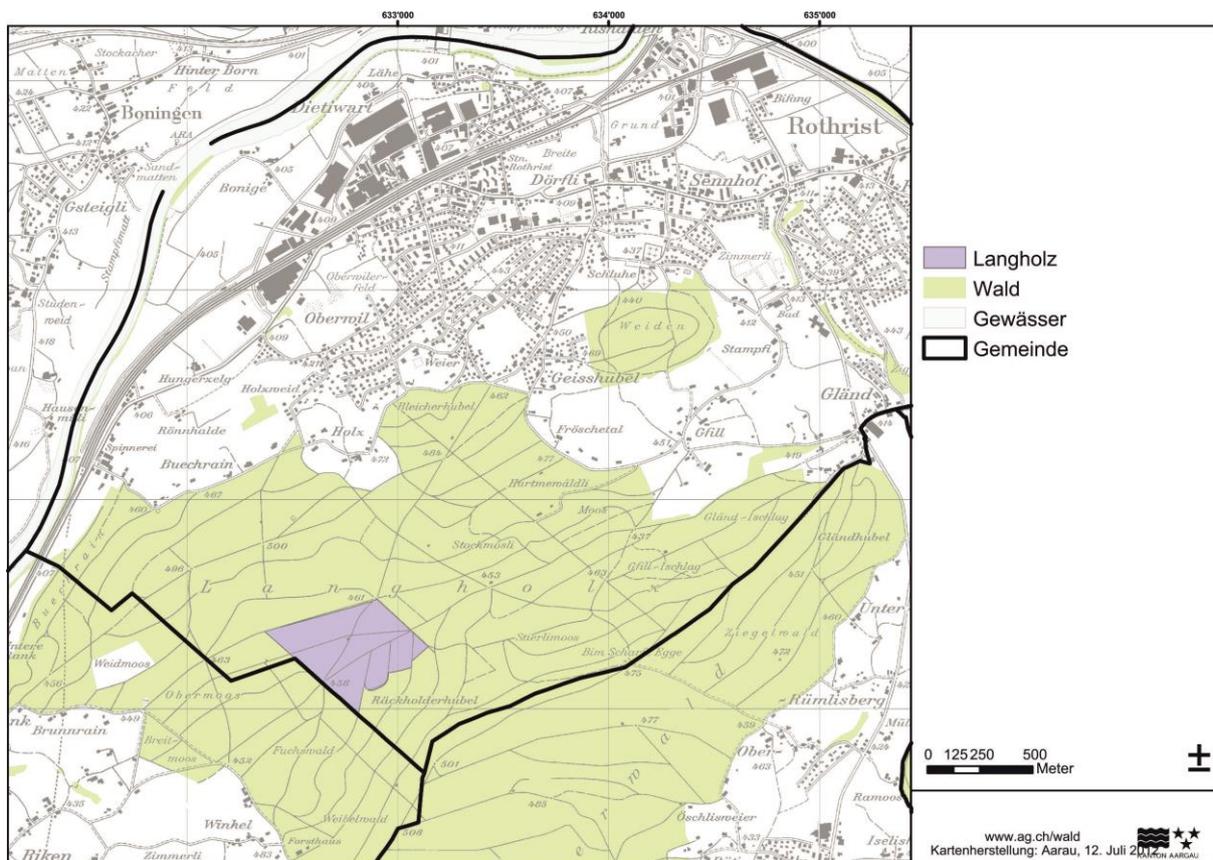


Abbildung 1: Naturwaldreservat Langholz mit Wiedervernässungsgebiet in der Gemeinde Rothrist, Kanton Aargau. Violett eingefärbte Fläche: Wiedervernässungsgebiet. Quelle: https://www.ag.ch/de/bvu/wald/naturschutz_im_wald/waldreservate_im_aargau/kulm_zofingen/langholz/langholz_1.jsp

Bisher ist nicht bekannt, welchen Einfluss die Wiedervernässung im Langholz auf das Vorkommen von Stechmücken hat, bzw. haben wird. Die Wiedervernässung könnte zu höheren Mückendichten führen und auch neuen, invasiven Arten, wie der asiatischen Buschmücke, *Aedes japonicus*, ideale Brutstätten bieten. Eine hohe Dichte an Stechmücken könnte zu einer ernstzunehmenden Belästigung für die Besucher des Langholzes führen. Im Extremfall wäre sogar ein erhöhtes Risiko von durch Mücken übertragenen Krankheiten, wie z.B. das von Vögeln auf Menschen übertragene West-Nil-Fieber, möglich. Zudem liegen die nächstgelegenen Wohngebiete nur rund einen Kilometer vom Waldnaturreservat entfernt (Abbildung 1).

Der Lebenszyklus der Stechmücke durchläuft vier Stadien: Ei, Larve, Puppe und Imago (ausgewachsene oder adulte Stechmücke). Die Entwicklung vom Ei bis zur Puppe findet im Wasser statt und ist temperaturabhängig. Stechmücken kommen in warmen und feuchten Sommermonaten gehäuft vor.

In der vorliegenden Studie wurden während den Sommermonaten (Juli bis Oktober 2014) die Artenzusammensetzung, sowie die zeitliche und lokale Verbreitung der Stechmücken im Wiedervernässungsgebiet Langholz dokumentiert. Folgende Fragen standen bei der Untersuchung im Vordergrund:

1. Welche Stechmückenarten kommen im Langholz vor?
2. Gibt es invasive Stechmückenarten wie die asiatische Buschmücke?
3. Wie ist die saisonale und räumliche Verbreitung der Stechmücken?
4. Welche Probleme mit Stechmücken könnte es geben in Bezug auf die Erholungsnutzung des Langholzes (z.B. Spazieren, Biken oder Vita Parcours)?
5. Ist eine dauernde Überwachung der Wiedervernässungszone im Langholz, oder in anderen Gebieten, notwendig?

Das Projekt soll wichtige Daten über das lokale Vorkommen und die Artenzusammensetzung der Stechmücken im Naturwaldreservat Langholz liefern. Die Ergebnisse bilden die Grundlage für eine Einschätzung der möglichen Probleme im Zusammenhang mit der Nutzung des Langholzes als Freizeit- und Erholungsgebiet. Weiter sollen sie eine erste Einschätzung des Risikopotentials für Mensch und Tier (Übertragung von Infektionskrankheiten) wie auch für die Umwelt (invasive Mückenarten) ermöglichen. Darüber hinaus werden die Ergebnisse aus dem Langholz aufzeigen, ob und wieweit Renaturierungsprojekte allgemein ein Problem in Bezug auf die Verbreitung von Stechmücken darstellen.

2 Material und Methoden

2.1 Studiengebiet und Zeitrahmen

Die Erhebungen wurden im Naturwaldreservat Langholz in der Gemeinde Rothrist, Kanton Aargau, vom 14. Juli 2014 bis 7. Oktober 2014 durchgeführt (Abbildung 1 und 2).

2.2 Sampling Protokoll

Da der zeitliche und personelle Aufwand zu gross wäre, um sämtliche Wasserstellen im Studiengebiet nach Mückenlarven abzusuchen, wurde eine möglichst repräsentative Auswahl getroffen. Dazu wurden die Wasserstellen nach einem Zufallsprinzip vor Studienbeginn ausgewählt. Diese Stellen wurden dann alle zwei Wochen aufgesucht und auf das Vorhandensein von Stechmückenlarven geprüft und anschliessend ausgewertet. Der maximale Zeitaufwand für die Erhebungen im Feld sollte zwei Arbeitstage nicht überschreiten.

Für die Auswahl der Wasserstellen wurde ein virtuelles Raster von 25 m x 25 m über das Studiengebiet gelegt. Die Rasterquadrate wurden nach Bauetappen der Wiederverwässerung (Bauetappe 1+2 und Bauetappe 3) stratifiziert und durchnummeriert. Danach wurde mit

einem Zufallsgenerator [2] eine Sequenz erstellt, wonach die einzelnen Raster im Feld abgesehen und untersucht wurden. Im zufällig ausgewählten Rasterquadrat wurden dann alle Wasserstellen nach Mückenlarven abgesehen. Alle zu Beginn gewählten Standorte wurden während der gesamten Studie beibehalten (Abbildung 2).

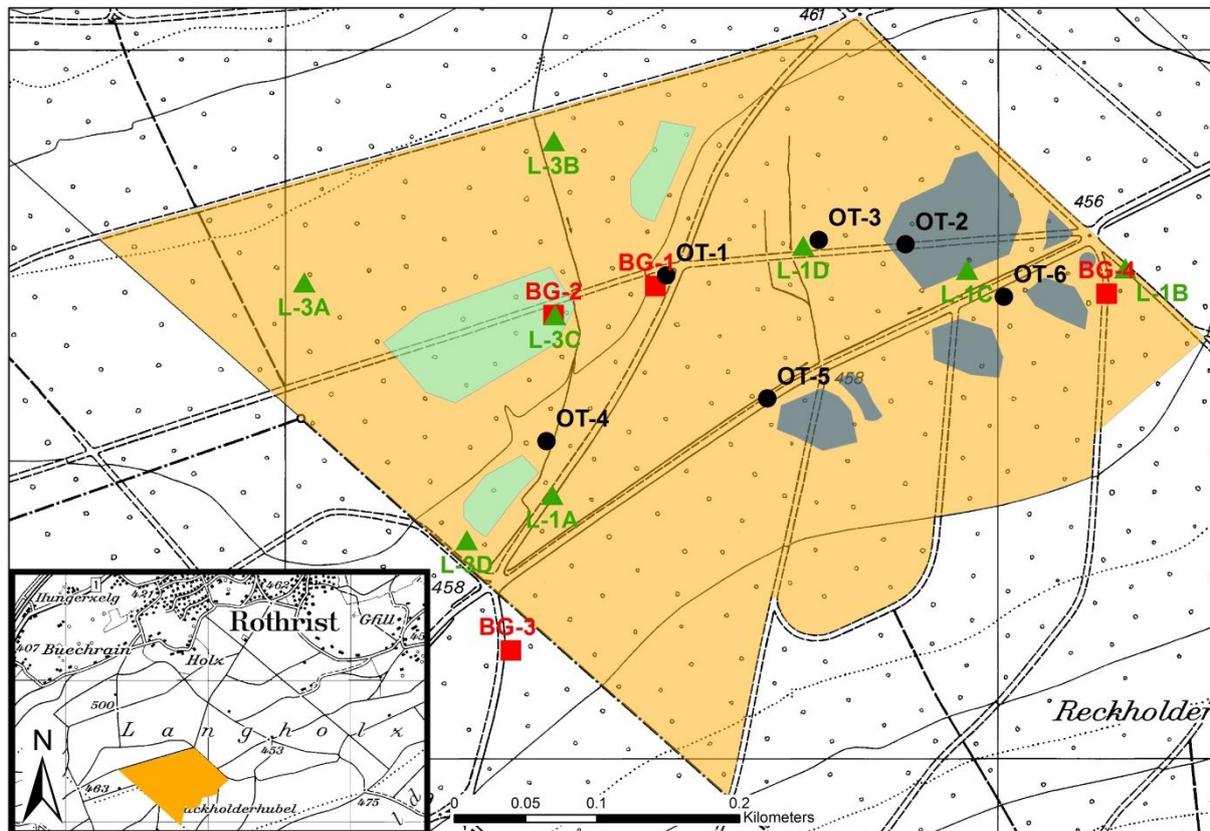


Abbildung 2: Studiengebiet. Die Erhebungen wurden innerhalb des Perimeters (orange) durchgeführt. Hellgrüne Flächen: Gewässer, die während der ersten und zweiten Bauetappe entstanden waren. Graue Flächen: Gewässer, die während der dritten Bauetappe gebildet wurden. L: Sammelstellen der Larven, BG: Standorte der BG Sentinel Fallen, OT: Standorte der Ovitrap (Eiablagefallen).

Zu den Larvensammlungen wurden zusätzlich Mückenfallen aufgestellt, die mit Kohlenstoffdioxid (CO₂) und einem synthetischen Lockstoff ausgerüstet waren. Diese Biogents (BG) Sentinel Fallen (Biogents, Regensburg, Deutschland) fangen frei herumfliegende, hungrige Mückenweibchen.

Um festzustellen, ob im Gebiet auch invasive Stechmücken der Gattung *Aedes* vorkommen, wurden Eiablagefallen (Ovitrap) aufgestellt. Diese sind für die invasiven Mücken, wie die asiatische Tigermücke (*Ae. albopictus*) oder asiatische Buschmücke (*Ae. japonicus*), besonders sensitiv [1].

Sämtliche Proben wurden anschliessend zur taxonomischen Bestimmung ins Mückenlabor des Swiss TPH gebracht. Dort wurden alle gesammelten Stechmückenstadien morphologisch bestimmt.

Als Qualitätskontrolle und wenn eine eindeutige Bestimmung nicht möglich war, wurden diese Mücken mittels einer kürzlich entwickelten massenspektrometrischen Methode (MALDI-TOF MS) identifiziert [5,6] (3.2.2). MALDI-TOF MS (Matrix Assisted Laser Desorption/Ionisation Time-of-flight Mass Spectrometry) ist eine Methode, bei welcher Massen von

Proteinen und andere Fragmente gemessen und gegen spezifische Spektren in einer Datenbank verglichen werden.

2.3 Sammeln der Mückenlarven

Die Stechmückenlarven wurden mit einer standardisierten Schöpfkelle (Volumen 350 ml) aus den Wasserstellen abgeschöpft. Die Suchzeit wurde je nach Grösse des Gewässers angepasst. Als Annäherung für die Grösse eines Teiches oder Tümpels wurde der maximale Durchmesser genommen.

Tabelle 1: Zeitlicher Aufwand für die Larvensuche abhängig von der Grösse der Brutstätte

Durchmesser (Meter)	Suchzeit (Minuten)
< 1	5
1 ≤ 3	10
3 ≤ 6	15
6 ≤ 10	20
> 10	30

Alle beprobten Wasserstellen wurden aufgrund einer einheitlichen Ontologie [3] beim ersten Durchgang beschrieben. Das Wetter wurde in einem Feldprotokoll bei jedem Durchgang erfasst [4].

2.3.1 Ausgewählte Wasserstellen für das Sammeln der Stechmückenlarven

Die ausgewählten Wasserstellen wurden fotografiert und alle zwei Wochen nach Mückenlarven abgesucht. Die Suchdauer für die einzelnen Tümpel wurde gemäss Tabelle 1 bestimmt.

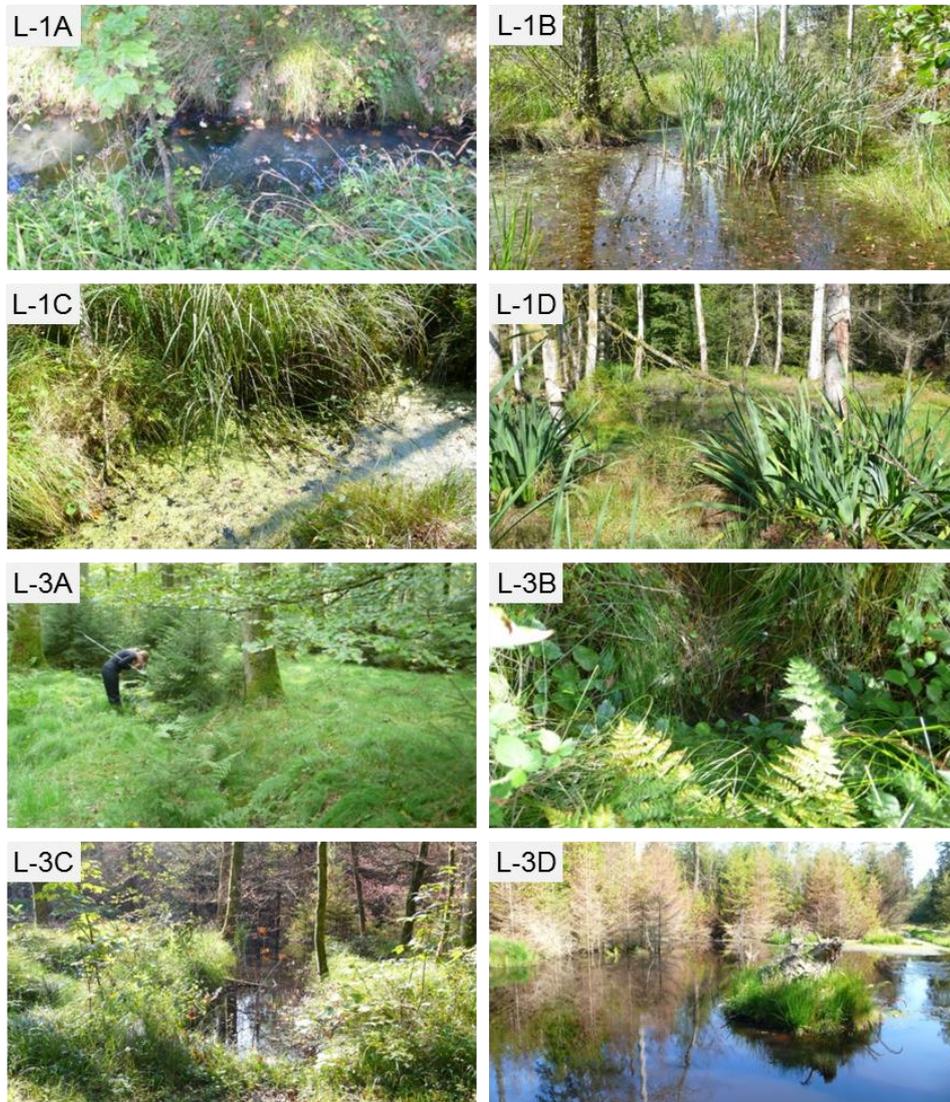


Abbildung 3: Gewässer, die nach Larven abgesucht wurden. Die Positionen sind in Tabelle 2 und Abbildung 2 angegeben.

Tabelle 2: Ausgewählte Wasserstellen, die nach Larven abgesucht wurden

Bauetappe	Stelle	Koordinaten	Beschreibung	Suchzeit (Minuten)
1+2	L-1A	N 47.28476° O 7.87070°	Stehendes Gewässer, bei viel Regen leichte Strömung möglich, teilweise besonnt	30
	L-1B	N 47.28619° O 7.87602°	Grosser Tümpel, stark besonnt. Viel Laub im Wasser, Gräser, Schilf vorhanden	30
	L-1C	N 47.28698° O 7.87455°	Stehendes Gewässer, stark mit Wasserlinsen bewachsen, umgeben von vielen hohen Gräsern, Wasser sehr klar	30
	L-1D	N 47.28633° O 7.87303°	Grosser Weiher, stark besonnt, viel Laub im Wasser, trüb	30
3	L-3A	N 47.28612° O 7.86840°	Zwei versch. Gewässer, eines meistens ausgetrocknet, anderes führte nur wenig Wasser, leichte Strömung möglich nach viel Regen	2 x 30
	L-3B	N 47.28701° O 7.87073°	Führte meistens sehr wenig Wasser, leichte Strömung nach viel Regen. Stark zugewachsen von Gräsern und Farnen, wenig Sonnenlicht	30
	L-3C	N 47.28590° O 7.87073°	Beprobung von zwei grossen Wasserstellen Ein stehendes Gewässer, stark besonnt. Zweites Gewässer mit leichter Strömung nach starkem Regen.	2 x 30
	L-3D	N 47.28447° O 7.86990°	Grosses, stehendes Gewässer, stark besonnt.	30

Als Referenzsystem für die geodätischen Koordinaten wurde das WGS 84 angewandt.

2.4 Eiablagefallen (Ovitrap) für invasive *Aedes* Arten

Um das Vorhandensein der asiatischen Buschmücke (*Ae. japonicus*) und der asiatischen Tigermücke (*Ae. albopictus*) nachzuweisen, wurden an sechs Standorten sogenannte „Ovitrap“ aufgestellt [1]. Ovitrap sind Nachahmungen natürlicher Brutstätten, die trüchtige Weibchen zur Eiablage anlocken.

Für die Überwachung der asiatischen Tiger- und Buschmücke ist es einfacher, Eier nachzuweisen als herumfliegende adulte Tiere einzufangen. Die Ovitrap ist diesbezüglich im Vorteil gegenüber den anderen hier aufgeführten Methoden und hat sich in der Vergangenheit in ähnlichen Studien bestens bewährt [1,8].

Die Ovitrap bestehen aus einem schwarzen 1.5 Liter Plastikblumentopf, der mit ca. 1.2 l Wasser gefüllt wurde (Abbildung 4). Die Weibchen legen ihre Eier typischerweise oberhalb der Wasseroberfläche ab. In der Ovitrap wurden zu diesem Zweck die Eier auf einem Holzbrettchen, welches aus dem Wasser ragt, gesammelt.

Die Holzbrettchen wurden alle zwei Wochen ausgewechselt und im Labor unter dem Binokular nach Mückeneiern abgesucht. Falls Eier vorhanden waren, wurden Stichproben oder, bei geringer Anzahl, alle Eier mit MALDI-TOF MS bis auf die Art bestimmt [5]. Die Eier verschiedener, invasiver Mückenarten unterscheiden sich morphologisch kaum.



Abbildung 4: Ovitrap und BG Sentinel Falle. (A) „Ovitrap“, um Eier von invasiven Mückenarten zu sammeln. (B) BG Sentinel Falle für das Fangen von ausgewachsenen Stechmücken verschiedener Arten.

Damit die Fallen selber nicht zu potentiellen Brutstätten wurden, wurde das Wasser mit dem Bakterium *Bacillus thuringiensis var. israelensis* (*Bti*) versetzt, welches geschlüpfte Mückenlarven abtötet und biologisch vollständig abgebaut wird [7].

2.4.1 Fallenstandorte für Eiablagefallen (Ovitrap)

Die Ovitrap wurden an sechs verschiedenen Standorten, verteilt auf das gesamte Untersuchungsgebiet, aufgestellt (Tabelle 3, Abbildung 2 und 5).

Tabelle 3: Ovitrap Standorte

Falle	Koordinaten
OT-1	N 47.28628°, O 7.87185°
OT-2	N 47.28635°, O 7.87398°
OT-3	N 47.28637°, O 7.87318°
OT-4	N 47.28510°, O 7.87065°
OT-5	N 47.28537°, O 7.87270°
OT-6	N 47.28600°, O 7.87270°

Als Referenzsystem für die geodätischen Koordinaten wurde das WGS 84 angewandt.

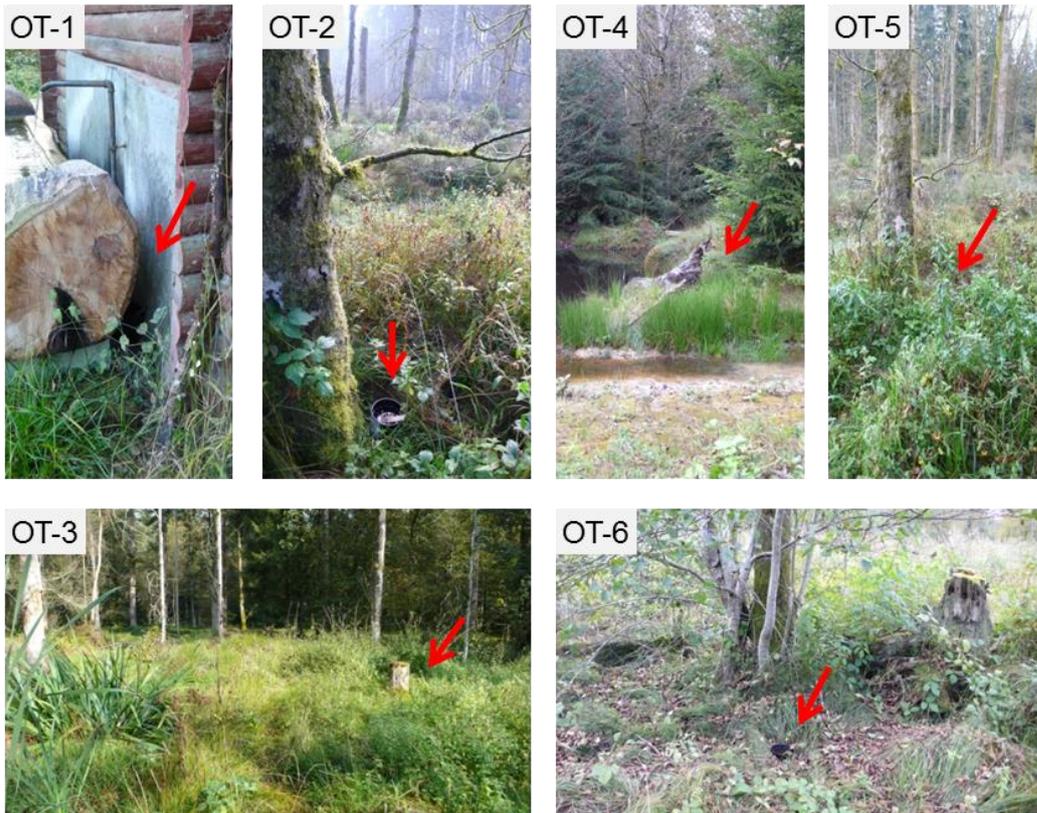


Abbildung 5: Aufnahmen der Standorte, an welchen Ovitrapps aufgestellt wurden.
Die Positionen sind in Tabelle 3 und Abbildung 2 angegeben.

2.5 Bestimmen ausgewachsener Stechmücken

Zusätzlich zu den Ovitrapps und dem Sammeln von Stechmückenlarven wurden an vier Standorten BG Sentinel Fallen (Biogents Deutschland) aufgestellt (Abbildung 4). Diese Fallen wurden neben einem künstlichen Lockstoff (BG Lure, Biogents) auch mit Kohlenstoffdioxid (CO₂) ausgerüstet, um möglichst viele, frei fliegende Stechmücken, die auf der Suche nach einer Blutmahlzeit sind, anzulocken und einzufangen. Das CO₂ lieferte eine Gasflasche, die über ein Druckventil an die Fallen angeschlossen war. Der CO₂ Durchfluss betrug 500 ml pro Stunde.

Die mit einem Akku betriebenen BG Sentinel Fallen wurden alle zwei Wochen für 24 Stunden aufgestellt. Die gesammelten Mücken wurden zur morphologischen Bestimmung ins Mückenlabor am Swiss TPH gebracht und wurden, falls sie in sehr schlechtem Zustand der Mücken waren, weiter mittels MALDI-TOF MS identifiziert.

2.5.1 Fallenstandorte der BG Sentinel Fallen

An vier unterschiedlichen Orten im Langholz wurden BG Sentinel Fallen versteckt, welche adulte, fliegende Stechmücken anlocken und einfangen sollen (Tabelle 1, Abbildung 2 und 6).

Tabelle 4: Standorte der BG Sentinel Fallen

Falle	Koordinaten
BG-1	N 47.28613°, O 7.87203°
BG-2	N 47.28590°, O 7.87071°
BG-3	N 47.28377°, O 7.87030°
BG-4	N 47.28602°, O 7.87585°

Als Referenzsystem für die geodätischen Koordinaten wurde das WGS 84 angewandt.

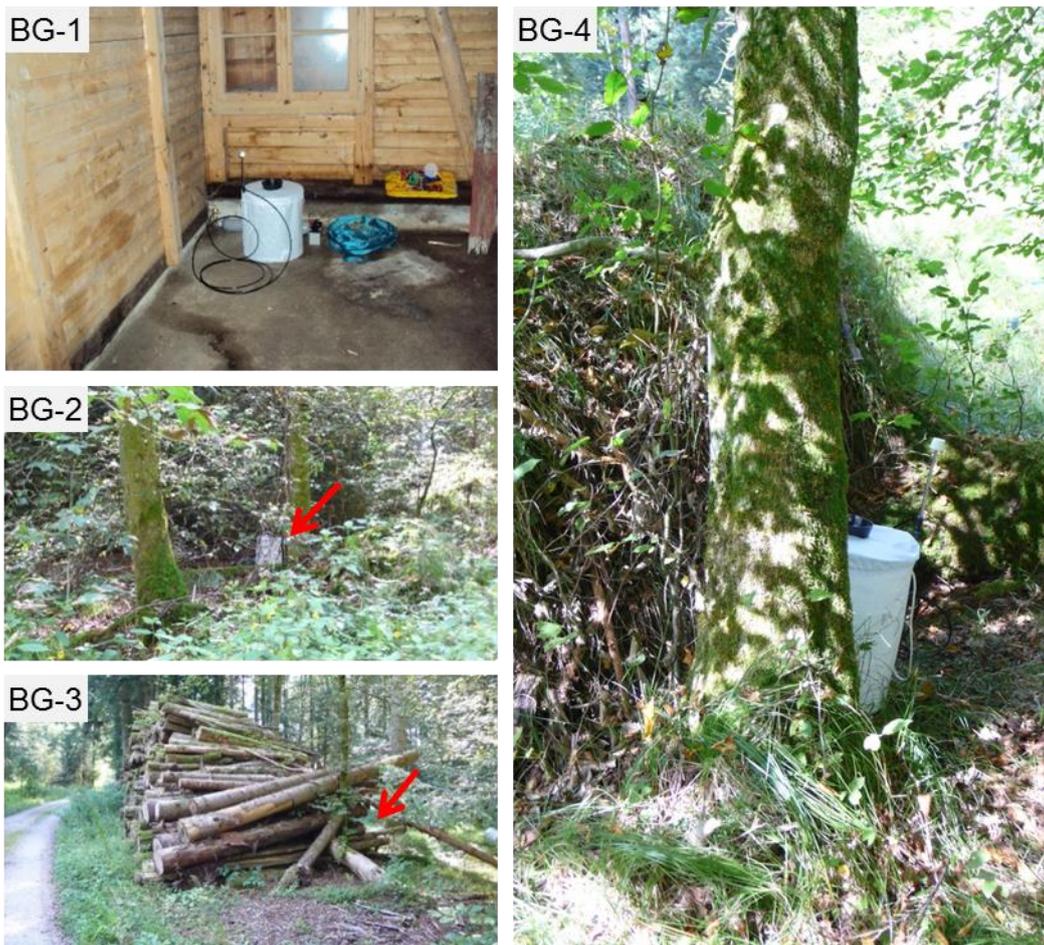


Abbildung 6: Aufnahmen der BG Sentinel Fallenstandorte. Die Positionen sind in Tabelle 4 und Abbildung 2 angegeben.

3 Bestimmung der Stechmücken

3.1 Aufzucht von kleinen Larven

Die eingesammelten Mückenlarven, welche für eine eindeutige Bestimmung noch zu klein waren, wurden in Becken (Abbildung 7) im Labor des Swiss TPH bei durchschnittlich 28.7 °C (25.6 - 29.7 °C) aufgezogen. Die Larven erhielten kleine Mengen an Fischfutter (TetraMin, Deutschland), welches zu feinem Pulver verrieben wurde. Erreichten die Stechmückenlarven das 3. oder 4. Larvenstadium, so wurden sie in 70% Ethanol konserviert und im Kühlschrank bis zur Bestimmung aufbewahrt.



Abbildung 7: Becken für die Aufzucht der Stechmückenlarven.

3.2 Bestimmung der Stechmückenarten

3.2.1 Morphologische Bestimmung

Die morphologische Bestimmung der Larven und der Adulten erfolgte unter dem Binokular (Abbildung 8) nach den Bestimmungsschlüsseln von Schaffner *et al.* [9] und Becker *et al.* [10].



Abbildung 8: Morphologische Bestimmung unter dem Binokular. (A) Binokular. (B) Petrischale mit Mückenlarven.

Adulte und Larven wurden aufgrund eindeutiger Körpermerkmale identifiziert. Falls eine morphologische Untersuchung nicht eindeutig möglich war, wurden die Exemplare mit Hilfe

des Verfahrens, MALDI-TOF MS, gemessen und gegen Spektren in einer validierten Datenbank verglichen [5,11].

3.2.2 Bestimmung der Art mit MALDI-TOF MS

Matrix assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) ist ein Verfahren zur Ionisation von Molekülen. Laserimpulse werden auf das Probenmaterial und die Matrix geschossen und die davonfliegenden Moleküle werden aufgezeichnet.

Für die Untersuchung mit MALDI-TOF MS wurde adulten Stechmücken das Abdomen abgetrennt und nur Thorax, Kopf und Beine verwendet. Im Abdomen würden die Proteine, welche von einer Blutmahlzeit stammen könnten, die Auswertung erschweren.

Bei Stechmückenlarven wurde nur der Kopf und Thorax verwendet. In diesem Fall war nicht eine mögliche Blutmahlzeit der Grund für die Abtrennung des Abdomens, sondern der hohe Fettgehalt (Lipide), welcher das Resultat beeinträchtigen würde.

Das zu untersuchende Material wurde in Ameisensäure aufgelöst, auf die Platte aufgetragen und mit Sinapinsäure versehen (Abbildung 9).

Die Mückenpräparationen und MALDI-TOF MS Messungen wurden bei der Firma Mabritec AG in Riehen, Basel-Stadt, durchgeführt.

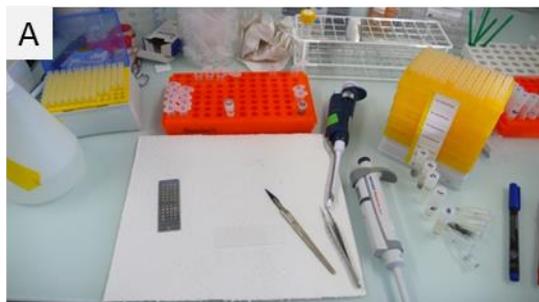


Abbildung 9: Präparation der Proben für die MALDI-TOF MS Messungen. (A) Vorbereitung der Larve bzw. Adulttier. (B) Platte mit aufgetragenen Proben, bereit für die Messungen.

4 Resultate und Diskussion

An vier zufällig ausgewählten Orten in Bauetappe 1+2 und Bauetappe 3 wurden Mückenlarven gesammelt (Abbildung 2). Die Probennahmen wurden zwischen dem 14. Juli und 7. Oktober 2014 durchgeführt und jeweils alle zwei Wochen wiederholt, sofern kein Regenwetter angesagt war. Bei Regen wurden die Beprobungen am nächstmöglichen Tag fortgesetzt. Dies war nötig, da Mückenlarven sehr empfindlich auf Bewegungen der Wasseroberfläche reagieren und das Einfangen massiv erschwert worden wäre.

An vier weiteren Standorten wurden die BG Sentinel Fallen aufgestellt (Abbildung 2), welche mit einer angeschlossenen CO₂-Flasche sowie einem künstlichen, volatilen Lockstoff (BG Lure, Biogents, Deutschland) ausgestattet waren. Mit den BG Sentinel Fallen wurden blutsuchende Mückenweibchen angelockt und eingefangen. Weil anfänglich Probleme mit der CO₂ Versorgung der Fallen aufgetreten waren, wurden zusätzlich auch noch Fallen zwischen dem zweiten und dritten Rundgang am 4. August 2014 aufgestellt.

Um gezielt nach invasiven Mückenarten der Gattung *Aedes* zu suchen, wurden Ovitrapps (Abbildung 4) an sechs verschiedenen Standorten aufgestellt (Abbildung 2). Diese Fallen

wurden am 14. Juli erstmals platziert. Alle zwei Wochen wurden die Holzstäbchen ausgetauscht und im Labor mittels Binokular auf Eier untersucht.

Aufgrund der Anzahl neu hinzukommender Arten in Abhängigkeit der durchgeführten Beprobungen gehen wir davon aus, dass die meisten vorhandenen Mückenarten gefunden wurden, die mit der vorliegenden Methode gefangen werden können. Dies wird durch die Kurve in Abbildung 10 verdeutlicht. Die Kurve zeigt die kumulative Anzahl der Arten für jede Runde und erreichte, sowohl bei den Larven, wie auch bei den adulten Stechmücken, ein Plateau bereits in der drittletzten Runde.

4.1 Räumliche und zeitliche Verteilung der Stechmückenarten

In der Untersuchungsperiode vom 14. Juli bis 7. Oktober 2014 wurden während sieben Erhebungen insgesamt 1'849 Stechmücken gesammelt und ausgewertet. Davon waren 21 Eier, 1'745 Larven und 83 Adulte (Tabelle 5). Von den 1'849 Stechmücken konnten 152 Exemplare (8.2%) nicht identifiziert werden. Diese waren entweder in einem schlechten Zustand oder produzierten nicht interpretierbare Spektren in der MALDI-TOF MS Analyse. Mit Ausnahme der meisten Ovitrapps wurden an allen Standorten Stechmücken gefangen.

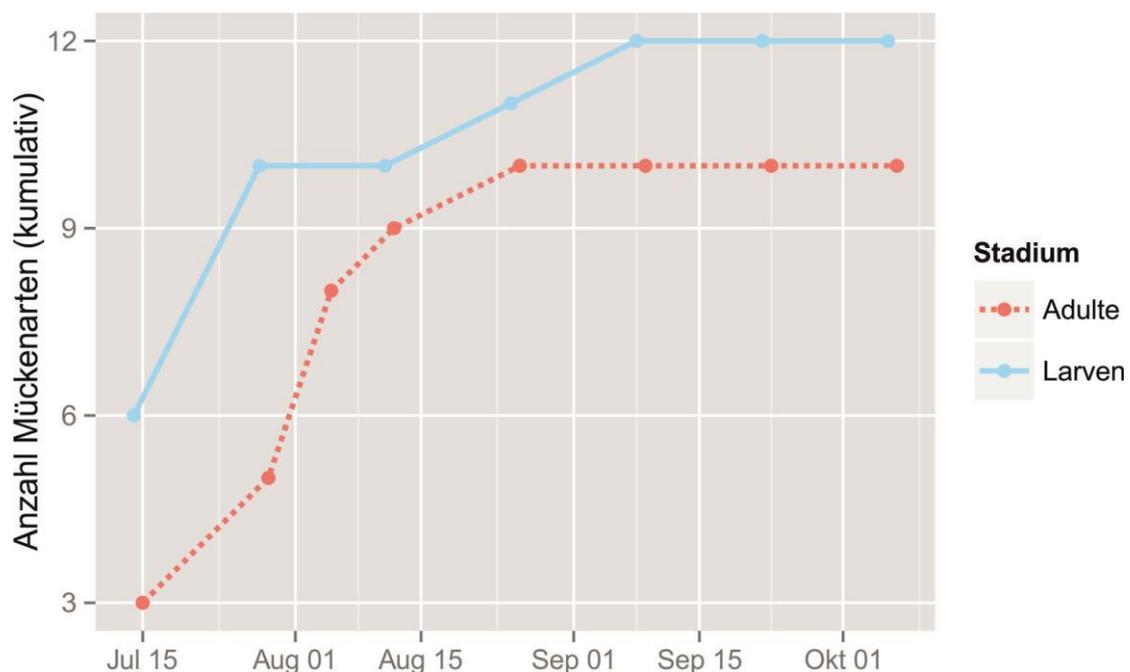


Abbildung 10: Neu hinzukommende Mückenarten in Abhängigkeit von der Anzahl Probenahmen. Sowohl beim Sammeln der Mückenlarven, wie auch beim Fangen der Adulttiere mit den BG Sentinel Fallen, erreichte die kumulative Häufigkeit der neu hinzukommenden Arten ein Plateau. Dies deutet darauf hin, dass die meisten Arten, welche mit diesen Fangmethoden gesammelt werden können, auch tatsächlich gefangen wurden.

In dieser Studie wurden 17 verschiedene Taxa identifiziert (Tabelle 5). Dies entspricht fast der Hälfte der bisher 36 in der Schweiz beschriebenen und bestätigten Mückenarten [12]. Im Vergleich zur Studie von Schaffner und Mathis [12] sind 17 Arten viel. In ihrer Studie wurden an acht natürlichen Standorten jeweils 6 bis 14 Arten gefunden.

Einige Stechmücken konnten mit den angewandten Methoden nicht auf Artebene bestimmt werden, da sie sich morphologisch nicht oder nur sehr geringfügig unterscheiden. Darunter

waren vier Gruppen mit solchen Geschwisterarten: *Aedes annulipes/cantans*, *Ae. cinereus/geminus*, *Culex pipiens/torrentium* und der *Anopheles maculipennis* Artenkomplex. Der *Anopheles maculipennis* Komplex enthält mindestens neun verschiedene Arten. Davon wurden in der Schweiz bisher aber nur zwei Arten beschrieben, *An. maculipennis* s.s. und *An. messeae* [13]. Während *An. maculipennis*, *Ae. annulipes/cantans* und *Ae. cinereus/geminus* weder morphologisch noch mit MALDI-TOF MS auseinander gehalten werden können, unterscheiden sich die MALDI-TOF MS Spektren zwischen *Cx. pipiens* von *Cx. torrentium*. In dieser Studie wurden sowohl *Cx. pipiens* wie auch *Cx. torrentium* nebeneinander identifiziert. Diese sind hier als eine Kategorie aufgeführt, da nicht alle Individuen mit MALDI-TOF MS bestimmt werden konnten.

Die häufigsten Arten waren *An. maculipennis* s.l., *Cx. martinii* und *Cx. pipiens/torrentium*. Aber auch *An. claviger* und *An. territans* waren relativ häufig (Tabelle 5 und 6). *Ae. sticticus*, *Coquilletidia richardii* und *Culiseta morsitans* wurden nur im Adultstadium gefangen. Dagegen wurden fünf *Culex* Arten nur im Larvenstadium gefangen: *Cx. hortensis hortensis*, *Cx. martinii*, *Cx. territans* und *Cx. theileri*.

Tabelle 5: Anzahl gefangener Stechmücken getrennt nach Bauetappe und Entwicklungsstadium.

Mückenart	Bauetappe 1+2		Bauetappe 3			Total
	Larven	Adulte	Eier	Larven	Adulte	
<i>Aedes annulipes/cantans</i> ¹	1	0	0	0	11	12
<i>Aedes cinereus/geminus</i> ¹	4	0	0	0	10	14
<i>Aedes geniculatus</i>	0	0	0	15	0	15
<i>Aedes japonicus</i>	0	0	21	0	0	21
<i>Aedes sticticus</i>	0	1	0	0	0	1
<i>Anopheles claviger</i>	44	0	0	31	2	77
<i>Anopheles maculipennis</i> Komplex ¹	310	0	0	227	4	541
<i>Anopheles plumbeus</i>	2	11	0	1	10	24
<i>Coquilletidia richardii</i>	0	5	0	0	1	6
<i>Culex hortensis hortensis</i>	3	0	0	27	0	30
<i>Culex martinii</i>	252	0	0	99	0	351
<i>Culex pipiens/torrentium</i> ²	200	15	0	176	7	398
<i>Culex territans</i>	133	0	0	31	0	164
<i>Culex theileri</i>	14	0	0	14	0	28
<i>Culiseta annulata</i>	9	1	0	0	0	10
<i>Culiseta morsitans</i>	0	3	0	0	2	5
Nicht bestimmt	72	0	0	80	0	152
Total	1'044	36	21	701	47	1'849

¹ Nahe verwandte Mückenarten, die nicht voneinander unterschieden werden konnten, wurden in derselben Kategorie zusammengefasst.

² Aufgrund der MALDI-TOF MS Analysen wissen wir, dass sowohl *Culex pipiens* wie auch *Cx. torrentium* in den Proben vorhanden waren. Die beiden Arten konnten morphologisch nicht eindeutig voneinander unterschieden werden, deshalb sind sie in hier in einer Kategorie zusammengefasst.

Neben den einheimischen Arten wurde auch eine invasive *Aedes* Art entdeckt. Zwischen dem 8. und 22. September 2014 fing die Ovitrap OT-4 (Abbildung 2) 21 Eier der asiatischen

Buschmücke (*Ae. japonicus*). Die asiatische Buschmücke, die häufig mit der asiatischen Tigermücke (*Ae. albopictus*) verwechselt wird (Abbildung 11), wurde bereits vermehrt im schweizerischen Mittelland gefunden [8,12,14].

Während die Gattung *Aedes* vor allem im August und September präsent war, wurden die Vertreter der Gattung *Anopheles* in allen Beprobungsrunden entdeckt, wie auch einige der *Culex* Arten (Abbildung 12). *Cq. richardii* war nur von Ende Juli bis Ende August vorhanden. Einige Arten, wie z.B. *Ae. sticticus*, kamen nur während einer einzigen Beprobung vor, deshalb erscheinen sie in Abbildung 12 nur einmal. Diese Ergebnisse sollten mit Vorsicht interpretiert werden. Es könnte auch sein, dass die Fangmethoden für gewisse Arten zu wenig sensitiv waren.

Die Anzahl gesammelter Arten zwischen den beiden Bauetappen lagen in ähnlichem Rahmen (Abbildung 13). In beiden Bauetappen wurden je 15 von insgesamt 17 verschiedenen Arten gefunden (Tabelle 5 und 6). Die Arten, die nur in Bauetappe 1+2 gefangen wurden, waren *Ae. sticticus* und *Cs. annulata*. Die beiden Arten *Ae. japonicus* und *Ae. annulipes/cantans* wurden hingegen nur in der Bauetappe 3 entdeckt. Der Unterschied der beiden Bauetappen war nicht signifikant¹. Vermutlich liegen die Bauetappen geographisch, wie auch zeitlich, zu nahe aufeinander, um mit der angewandten Methode Unterschiede auf dieser Ebene feststellen zu können.

Tabelle 6: Stechmückenarten und ihre Häufigkeit im Naturwaldreservat Langholz nach Bauetappe und Entwicklungsstadium. Die Zahlen geben an, in wie vielen Probenahmen eine bestimmte Art vorkam.

Mückenart	Bauetappe 1+2			Bauetappe 3		
	Eier	Larven	Adulte	Eier	Larven	Adulte
<i>Aedes annulipes/cantans</i> *	-	-	-	-	-	5
<i>Aedes cinereus/geminus</i> *	-	1	-	-	-	6
<i>Aedes geniculatus</i>	-	2	-	-	3	-
<i>Aedes japonicus</i>	-	-	-	1	-	-
<i>Aedes sticticus</i>	-	-	1	-	-	-
<i>Anopheles claviger</i>	-	10	-	-	10	2
<i>Anopheles maculipennis sensu lato</i> *	-	14	-	-	29	4
<i>Anopheles plumbeus</i>	-	1	-	-	1	5
<i>Coquilletidia richardii</i>	-	-	4	-	-	1
<i>Culex hortensis hortensis</i>	-	1	-	-	2	-
<i>Culex martinii</i>	-	12	-	-	6	-
<i>Culex pipiens/torrentium</i> *	-	7	5	-	6	5
<i>Culex territans</i>	-	20	-	-	9	-
<i>Culex theileri</i>	-	2	-	-	1	-
<i>Culiseta annulata</i>	-	2	1	-	-	-
<i>Culiseta morsitans</i>	-	-	3	-	-	2

* Nahe verwandte Mückenarten, die nichtvoneinander unterschieden werden konnten, wurden in derselben Kategorie zusammengefasst.

¹ Die Anzahl der Arten wurde zwischen den Bauetappen mit einem Generalised Linear Mixed Effect Modell verglichen. Im Modell war die Anzahl der Arten die abhängige Variable und die Bauetappe die unabhängige Variable. Für die lineare Verknüpfung der beiden Variablen wurde eine log-Poisson Link Funktion verwendet. Da die Erhebungen an denselben Stellen wiederholt wurden, und dadurch die jeweiligen Beobachtungen miteinander korreliert sind, wurde die Beprobungsrunde als zufälliger Faktor modelliert.

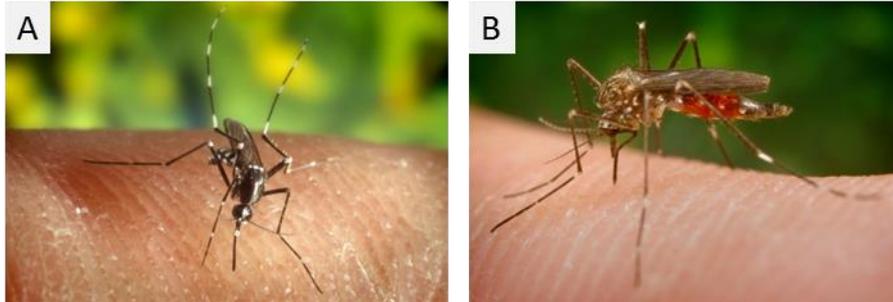


Abbildung 11: Invasive Aedes Arten in der Schweiz. (A) Asiatische Tigermücke (*Ae. albopictus*). **(B)** Asiatische Buschmücke (*Ae. japonicus*). Aufgrund ihrer Ähnlichkeit wird die asiatische Buschmücke in der Bevölkerung oft mit der der asiatischen Tigermücke verwechselt. Quelle: James Gathany, CDC Public Health Image Library.

	Jul.	Aug.	Sep.	Okt.
<i>Aedes annulipes/cantans</i> *				
<i>Aedes cinereus/geminus</i> *				
<i>Aedes geniculatus</i>				
<i>Aedes japonicus</i>				
<i>Aedes sticticus</i>				
<i>Anopheles claviger</i>				
<i>Anopheles maculipennis</i> Komplex*				
<i>Anopheles plumbeus</i>				
<i>Coquilletidia richardii</i>				
<i>Culex hortensis hortensis</i>				
<i>Culex martinii</i>				
<i>Culex pipiens/torrentium</i> *				
<i>Culex territans</i>				
<i>Culex theileri</i>				
<i>Culiseta annulata</i>				
<i>Culiseta morsitans</i>				

Abbildung 12: Zeitliches Vorkommen von Stechmückenarten im Naturwaldreservat Langholz. Das Vorhandensein der verschiedenen Stechmückenarten ist hier durch farbige Schattierungen dargestellt. Bei den weissen Kästchen wurden keine Larven der entsprechenden Arten gefunden. Für diese Abbildung wurden die Daten der verschiedenen Entwicklungsstadien (Eier, Larven und Adulte) zusammengefasst. Die verschiedenen Farben repräsentieren die verschiedenen Gattungen. * Nahe verwandte Mückenarten, die nicht voneinander unterschieden werden konnten, wurden in derselben Kategorie zusammengefasst.

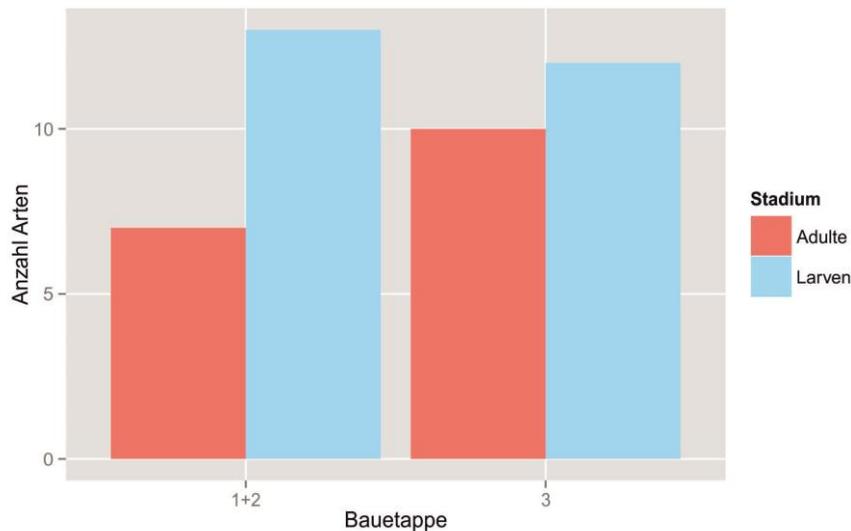


Abbildung 13: **Anzahl Mückenarten im Naturwaldreservat Langholz getrennt nach Bauetappen.**

4.2 Relevanz der einzelnen Stechmückenarten für die Besucher des Langholzes

Einige der im Langholz vorkommenden Arten, sind potentielle Überträger von pathogenen Viren und Parasiten, sowohl beim Menschen wie auch beim Tier (Tabelle 7).

Mehrfach wurden die *Anopheles* Arten *An. claviger*, *An. maculipennis* und *An. plumbeus* gefunden. Diese Arten spielten in der Vergangenheit eine Rolle in der Übertragung von Malaria, bis diese in West- und Südeuropa während des 19. und anfangs des 20. Jahrhunderts verschwand [15]. Faktoren, die zu dem Verschwinden der Malaria beitrugen, waren verbesserte Wohnverhältnisse, insbesondere die Trennung von Stallungen und Wohnräumen, der Einsatz von Medikamenten, die Trockenlegung von Brutstätten und der Einsatz von Insektiziden in der Mückenbekämpfung. Der in Europa wohl am häufigsten vorkommende Malariaerreger war sehr wahrscheinlich *Plasmodium vivax*. *P. vivax* führte damals, zusammen mit anderen Faktoren, zu einer erheblichen Sterblichkeit. Unter heutigen Bedingungen führt *P. vivax* in der Regel zu weniger gravierenden Erkrankungen. Dagegen führt der vorwiegend in den tropischen Ländern verbreitete Parasit, *P. falciparum*, zur lebensbedrohlichen Malaria tropica. Von den im Naturwaldreservat Langholz identifizierten *Anopheles* Mücken könnte *An. plumbeus* auch *P. falciparum* übertragen [16]. Damit eine Übertragung der Malaria stattfinden könnte, bräuchte es neben einem Stich bei einer infektiösen Person durch eine Malariaemücke auch eine längere Wärmeperiode, damit der Parasit seinen Entwicklungszyklus in der Mücke durchlaufen könnte und die Mücke infektiös würde. Dann müsste diese Mücke eine weitere Person stechen. Nur so kann eine Malariaübertragung stattfinden. Tatsächlich gab es in Duisberg, Deutschland, einen solch aussergewöhnlichen Fall einer lokalen Übertragung von *P. falciparum* durch *An. plumbeus* [17]. Dort war der Ursprung ein aus Angola hospitalisiertes Kind mit einer chronischen *P. falciparum* Infektion. Aber im Gegensatz zu diesem Einzelfall aus einem Spital scheint eine Malariaübertragung im Naturwaldreservat Langholz sehr unwahrscheinlich und nicht wahrscheinlicher als an anderen Orten, wie das Beispiel aus Duisburg zeigt, da eine Malariaübertragung nur von einer erkrankten Person ausgehen kann.

Einige der im Langholz gefundenen Arten können Viren übertragen. Ein solches mückenübertragenes Virus ist das West-Nil-Virus. Das West-Nil-Virus wurde aber in der Schweiz

bisher nicht nachgewiesen, jedoch in den Nachbarländern Österreich und Italien. Es wäre denkbar, dass in Zukunft das West-Nil-Virus auch in der Schweiz eine Rolle spielen könnte. Unklar ist noch, welche Auswirkungen das Aufkommen der invasiven, asiatischen Buschmücke auf die Artenzusammensetzung der Stechmücken im Langholz und in der Schweiz haben wird. Wenn auch die medizinische und ökologische Bedeutung der asiatischen Buschmücke unklar ist, könnte eine Zunahme dieser Mückenart zu einer erhöhten Belästigung durch Mückenstiche für die Waldbesucher führen. Dies speziell, weil diese Mückenart tagsüber aktiv ist und so eher mit dem Menschen in Kontakt kommt. Generell ist die Antwort auf die Auswirkung der Wiedervernässung auf die Belästigung durch Mückenstiche noch offen und könnte Gegenstand einer weiterführenden Arbeit sein.

Tabelle 7: Klassifizierung der Stechmücken im Langholz in Bezug auf ihre potentielle Gefahr als Krankheitsüberträger. Die Relevanz bezieht sich auf die Vektorkompetenz, also für die Übertragung von Viren (Arboviren), Malaria, Pathogenen bei Tieren, sowie die Bedrohung der Biodiversität bei invasiven Arten. Dabei bedeutet ein Wert von 3 oder höher, dass die Art für diese Kategorie relevant ist. Die Einstufung der Relevanz wurde von Schaffner und Mathis übernommen [14] und ist dort im Detail beschrieben.

Art	Bevorzugtes Brutgebiet	Stech-aktivität	Wirt	Relevanz			
				Arboviren	Malaria	Tiere	Biodiversität
<i>Anopheles claviger</i>	Fast überall, bevorzugen sauberes Wasser	In Häusern und draussen	Mensch, Vieh	3	4	5	
<i>An. maculipennis</i> s.s.	Geschützte, ruhige Gewässer	Nur draussen	Mensch, Vieh	1	3	5	
<i>An. plumbeus</i>	Baumhöhlen, Wald Kontainer, ländliche Gebiete	Draussen, Waldränder	Mensch, Säugetiere	2	3	2	
<i>Ae. japonicus</i>	Kleine Tümpel, Container, Friedhofvasen	Draussen	Säugetiere, Vögel	3		3	3
<i>Culex martinii</i>	Wald, sumpfiges Gebiet	Unbekannt	nicht bekannt				
<i>Cx. pipiens (pipiens)</i>	Baumhöhlen, alle Arten von Gewässer	Draussen	Säugetiere	5		5	
<i>Cx. territans</i>	Teiche, Weiher, Bäche mit schwacher Strömung	Draussen	Amphibien, Reptilien, Vögel				
<i>Culiseta morsitans</i>	Teiche, Gräben, Bäche mit schwacher Strömung	Draussen	Vögel, Reptilien, Säugetiere	4		1	
<i>Cs. theileri</i>	Bäche, Gräben, Entwässerungskanäle, Kontainer	Drinnen und draussen	Tiere, Mensch	4		1	

5 Schlussfolgerungen

Das Naturwaldreservat Langholz bietet zahlreichen Stechmückenarten passende Brutgebiete. Dies schlägt sich in einer grossen Artenvielfalt nieder. Wir konnten 17 von 36 in der Schweiz beschriebenen Stechmückenarten im Langholz finden, was einer überdurchschnittlich hohen Artenvielfalt entspricht. Die Artenvielfalt war zwischen den beiden Bauetappen vergleichbar.

Stechmücken dienen vielen Tierarten als Nahrung, sei dies im Larvenstadium im Wasser oder als fliegende Adulttiere. Stechmückenlarven im Wasser werden zum Beispiel von Ruderfusskrebse, Fischen, Libellenlarven, Fröschen, Unken, Molchen und Salamandern verspeist. Die adulten Stechmücken dienen diversen Amphibien (Fröschen, Kröten, Unken) und Vögeln als Nahrungsquelle.

Einige der vorhandenen Stechmücken bevorzugen den Menschen als Wirt für ihr Blutmahl. Mit dem Blutmahl können diese auch diverse Krankheiten übertragen, sofern diese Mücken bei einem früheren Blutmahl mit einem Virus oder Malaria infiziert wurden. Stechmücken der Gattung *Culex*, wie die hier gefundenen *Culex pipiens* und *Culex theileri*, sind bekannt als Überträger von West-Nil- und anderen Viren. Auch die malariaübertragenden *Anopheles plumbeus* und *An. claviger* wurden gefunden. Jedoch wird die Wahrscheinlichkeit einer Malariaübertragung im Naturwaldreservat Langholz als sehr gering eingeschätzt.

Neben den einheimischen Stechmücken haben wir auch die invasive, asiatische Buschmücke (*Ae. japonicus*) entdeckt. Im Vergleich zur asiatischen Tigermücke (*Ae. albopictus*) wird diese Art als Krankheitsüberträger für den Menschen als weniger relevant eingestuft. Die asiatische Buschmücke könnte jedoch bei höheren Dichten zu einer starken Belästigung für Waldbesucher werden, da sie auch tagsüber aktiv ist.

6 Empfehlungen

Wir haben im Langholz eine grosse Vielfalt an Stechmückenarten gefunden und einige davon könnten verschiedene Viren, oder bei sehr warmen Sommermonaten, Malaria auf den Menschen übertragen, sofern diese durch ein Blutmahl infiziert wären. Zudem konnte auch die invasive, asiatische Buschmücke (*Ae. japonicus*) nachgewiesen werden. Da die Wiedervernässung erst seit kurzem besteht, ist noch unklar, ob und wie sich die Situation in naher Zukunft verändern wird. Deshalb würden wir ein reduziertes Langzeitmonitoring für das Gebiet, mit Einbezug von Vergleichsflächen ohne Wiedervernässung, empfehlen.

Das Langholz wird als Naherholungsgebiet rege genutzt, sei dies von Spaziergängern, Joggern, Bikern oder anderen wald- und naturverbundenen Mitmenschen. Im Sinne einer Interessensabwägung zwischen Naturschutz und Freizeitnutzung wäre eine Erhebung der effektiven Belästigung durch Mückenstiche im und um die Wiedervernässungszone nützlich.

7 Danksagung

Wir bedanken uns herzlich für die wertvolle Zusammenarbeit mit Stefanie Burger, Franziska Kaiser und Marcel Murri mit Team. Danke für den Zugang zur Staatswaldhütte und die Fahrerlaubnis zum Langholz.

Wir bedanken uns beim zuständigen Förster Hansrudolf Fischer und dem zuständigen Jagdaufseher Harry Burgherr.

Grosser Dank gebührt Lea Grass von der Abteilung Wald für die grossartige Zusammenarbeit im Wald beim Fallen stellen und abbauen sowie dem Sammeln von Stechmückenlarven.

Danke auch den Helfern, welche durch einen einmaligen Einsatz im Langholz zum Gelingen der Arbeit beigetragen haben: Noëmi Brüggemann (Abteilung Wald), Nikita Lysenko (Swiss TPH), Henry Owusu (Swiss TPH), Salome Keller (Swiss TPH), Lea Colucci.

Wir bedanken uns bei Valentin Pflüger und Dominik Ziegler, der Firma Mabritec AG, für die massenspektrometischen Analysen.

8 Literaturverzeichnis

1. Rakotoarivony, L.M. und Schaffner, F. (2012) ECDC guidelines for the surveillance of invasive mosquitoes in Europe. *Eurosurveillance* 17: 29.
2. R Core Team (2014). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL: <http://www.R-project.org/>.
3. Delarze R., Gonseth Y., Galland P. (2008): Lebensräume der Schweiz. Ökologie - Gefährdung - Kennarten. Auflage: 2. überarbeitete, aktualisierte Auflage. Bern: Ott Verlag.
4. Suter, T. (2011) A Field Survey of Biting Mosquitoes in the Greater Area of the Euro Airport Basel-Mulhouse: A Mapping Project. MSc Thesis, University of Basel.
5. Schaffner F., Kaufmann C., Pflüger V., Mathis A. (2014): Rapid protein profiling facilitates surveillance of invasive mosquito species. *Parasites and Vectors* 7: 142.
6. Müller P., Pflüger V., Wittwer M., Ziegler D., Chandre F., Simard F., Lengeler C. (2013) Identification of cryptic Anopheles mosquito species by molecular protein profiling. *PLoS ONE* 8: e57486.
7. Guidi V., Patocchi N., Lüthy P., Tonolla M. (2011) Distribution of *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* in soil of a Swiss wetland reserve after 22 years of mosquito control. *Applied Environmental Microbiology* 77: 3663–3668.
8. Müller P., Engeler, L., Tonolla M. (2013) Vorprojekt Nationales Programm zur Überwachung der asiatischen Tigermücke – Alpennordseite und Wallis. Basel: Swiss TPH.
9. Schaffner F., Angel G., Geoffroy B., Hervy J.-P., Rhaim A., Brunhes J. (2001) The Mosquitoes of Europe. An identification and training programme. *Didactiques. IRD Editions & EID Méditerranée*: Montpellier. CD-Rom.
10. Becker N., Petric D., Zgomba M., Boase C., Madon M., Dahl C., Kaiser A.: *Mosquitoes and Their Control*. 2nd ed. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag.
11. Müller P., Pflüger V., Wittwer M., Ziegler D., Chandre F., Simard F., Lengeler C.: Identification of cryptic Anopheles mosquito species by molecular protein profiling. *PLoS ONE* 8: e57486.
12. Schaffner F, Mathis A (2013) Spatio-temporal diversity of the mosquito fauna in Switzerland (2011-2012): Institute of Parasitology, University of Zurich: 19.

13. Briegel H., Kaeslin M., Proft J. (2002) *Anopheles maculipennis* complex in Switzerland: reassessing taxonomic status and malaria potential. *Mitteilungen der Schweizerischen Entomologischen Gesellschaft* 75: 119–125.
14. Schaffner F., Kaufmann C., Hegglin D., Mathis A. (2009) The invasive mosquito *Aedes japonicus* in Central Europe. *Medical and Veterinary Entomology* 23: 448–451.
15. Geigy, R. (1945) Malaria in der Schweiz. *Acta Tropica* 1: 1-15.
16. Schaffner F., Thiéry I., Kaufmann C., Zettor A., Lengeler C., Mathis A., Bourgouin C. (2012) *Anopheles plumbeus* (Diptera: Culicidae) in Europe: a mere nuisance mosquito or potential malaria vector? *Malaria Journal* 11: 393.
17. Krüger A., Rech A., Su X.-Z., Tannich E. (2001) Two cases of autochthonous *Plasmodium falciparum* malaria in Germany with evidence for local transmission by indigenous *Anopheles plumbeus*. *Tropical Medicine and International Health* 6: 983–985.