

Aus
der Medizinischen Fakultät
der Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg
Heidelberg Institut für Global Health
(Direktor: Prof. Dr. med. Till Bärnighausen)

in Zusammenarbeit mit dem Centre for Organismal Studies der Ruprecht-Karls-Universität
(Direktor: Prof. Jan Lohmann)

**Untersuchungen zur Abundanz, Phänologie und Verbreitung
von Sandmücken (Phlebotominae) als potenzielle Vektoren
für humanpathogene Krankheitserreger in Südwestdeutschland**

Inauguraldissertation

zur Erlangung des Doctor scientiarum humanarum (Dr. sc. hum.)

an der
Medizinischen Fakultät Heidelberg
der
Ruprecht-Karls-Universität

vorgelegt von
Dipl.-Ing. Biotechnologie (FH)
Sandra Isabell Oerther, MScIH

aus Landau i. d. Pfalz

2022

Dekan: Herr Prof. Dr. med. Dr. h.c. Hans-Georg Kräusslich

Doktorvater: Herr Prof. Dr. med. Michael Marx

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis.....	IV
Tabellenverzeichnis.....	VII
Abkürzungsverzeichnis.....	VIII
1 Einleitung	1
1.1 Allgemeiner Teil	1
1.2 Zielsetzung der Arbeit	4
1.3 Allgemeines zur Biologie der Phlebotominae.....	4
1.3.1 Phlebotominae – Sandmücken.....	4
1.3.2 Taxonomie und Klassifizierung.....	6
1.3.3 Morphologie von <i>Phlebotomus mascittii</i>	7
1.3.4 Lebensweise von <i>Phlebotomus mascittii</i>	8
1.3.5 Vorkommen von Sandmücken und deren Lebensraum.....	11
1.3.6 Sandmücken Situation in Deutschland.....	12
1.3.6.1 <i>Phlebotomus (Larrousius) perniciosus</i>	13
1.3.6.2 <i>Phlebotomus (Transphlebotomus) mascittii</i>	14
1.3.7 Bekämpfungsmaßnahmen von Sandmücken.....	15
1.4 Medizinische Bedeutung von Sandmücken als Überträger von Krankheiten	17
1.5 Epidemiologie und Klassifikation der Leishmaniose.....	18
1.5.1 Lebenszyklus von <i>Leishmania</i> spp.	19
1.5.2 Geographische Verbreitung der Leishmaniose	21
1.5.3 Situation der Leishmaniose in Europa.....	22
1.5.4 Leishmaniose und ihre Krankheitsbilder	24
1.5.4.1 Kutane Leishmaniose (CL).....	24
1.5.4.2 Die mukokutane Leishmaniose (MCL).....	26
1.5.4.3 Viszerale Leishmaniose (VL)	26
1.5.4.4 Harara	27
1.5.5 Erregerreservoir für Leishmanien.....	27
1.6 Weitere von Sandmücken übertragene Krankheitserreger	29
1.6.1 Bakterien	29
1.6.2 Arthropoden-übertragene Viren (Arboviren).....	30
1.6.2.1 Flaviviridae.....	32
1.6.2.2 Bunyavirales.....	33
1.6.3 Phenuiviridae.....	33
1.6.3.1 Von Sandmücken übertragene humanpathogene Phleboviren.....	34
1.7 Klimaveränderungen und Auswirkungen auf das Vorkommen von Sandmücken ..	35
2 Material und Methoden.....	37
2.1 Untersuchungszeitraum und Auswahl des Fanggebietes.....	37
2.1.1 Auffinden geeigneter Standorte.....	37
2.2 Methoden zum Fang von Sandmücken	38
2.2.1 Fang mit Lichtfallen	39
2.2.2 Klebepapierfallen.....	39
2.2.3 Zusatz von Lockstoffen	40
2.2.4 Fang von Sandmücken.....	41
2.2.5 Transport und Lagerung der Sandmückenfunde.....	42

2.3	Morphologische Bestimmung	42
2.3.1	Präparation der Sandmücken	42
2.3.2	Bestimmung der präparierten Sandmücken.....	43
2.4	Molekularbiologische Methoden	44
2.4.1	Homogenisierung von Sandmücken	44
2.4.2	RNA-/DNA-Extraktion.....	44
2.4.3	PCR-Untersuchungen	45
2.4.3.1	Quantitative Real-Time-PCR	46
2.4.3.2	Konventionelle Reverse Transkriptase-PCR (Pan-PCR).....	47
2.4.3.3	Blutmahlzeitbestimmung.....	49
2.4.4	Verifizierung der PCR-Produkte mittels Agarose-Gelelektrophorese	51
2.4.5	Sequenzierung von PCR-Endprodukten nach Sanger	52
2.5	Materialien	52
2.5.1	Chemikalien.....	52
2.5.2	Puffer und Lösungen	53
2.5.3	Kits.....	53
2.5.4	Technische Geräte	53
2.5.5	Verbrauchsmaterialien.....	54
2.5.6	Software und Datenbanken	55
2.6	Klimafaktoren Temperatur und Luftfeuchtigkeit	55
2.6.1	Statistische Auswertung der Klimadaten.....	56
2.7	Die Charakterisierung von Erdbodenproben	57
3	Ergebnisse	59
3.1	Untersuchungszeitraum und Fanggebiete in Deutschland	59
3.1.1	Übersicht aller untersuchten Standorte	60
3.1.2	Anwendung verschiedener Fangmethoden.....	65
3.1.2.1	Fänge mit der Lichtfalle.....	65
3.1.2.2	Fänge mit Klebepapierfallen	65
3.1.2.3	Einsatz von Lockstoffen.....	65
3.1.3	Beschreibung der positiven Standorte in Baden-Württemberg.....	66
3.1.3.1	Standorte im Markgräflerland	66
3.1.4	Beschreibung der negativen Standorte in Baden-Württemberg.....	71
3.1.5	Beschreibung der positiven Standorte in Rheinland-Pfalz	71
3.1.5.1	Standorte im Landkreis Südliche Weinstraße.....	72
3.1.5.2	Standorte im Donnersbergkreis.....	75
3.1.5.3	Standorte im Landkreis Kusel.....	76
3.1.6	Beschreibung der negativen Standorte in Rheinland-Pfalz	77
3.1.7	Stollen und Höhlensysteme	77
3.1.8	Fangrate von <i>Ph. mascittii</i> und Saisonalität.....	78
3.2	Einflussfaktor Temperatur und Luftfeuchtigkeit	81
3.2.1	Statistische Auswertung der Klimafaktoren	83
3.3	Morphologie von <i>Ph. mascittii</i>	85
3.4	Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchungen.....	87
3.4.1	Molekularbiologische Untersuchung auf Pathogene	87
3.4.2	Molekularbiologische Wirtsbestimmung.....	87
3.4.3	Molekularbiologische Artenbestimmung	87
3.4.4	DNA-Sequenzen durch <i>COI</i> -PCR.....	87

3.5	Ergebnisse der Bodenuntersuchung.....	88
3.5.1	Übersicht der Standorte untersuchter Bodenproben.....	88
3.5.2	Übersicht der Bodenarten der Untersuchungsgebiete.....	89
4	Diskussion	92
4.1	Zusammenfassende Diskussion	92
4.2	Beschreibung der untersuchten Gebiete.....	95
4.2.1	Positive und negative Fundorte	96
4.2.2	Sylvatische Gebiete	98
4.3	Vorkommen und Verhalten von <i>Ph. mascittii</i>	98
4.4	Vektorkompetenz von <i>Ph. mascittii</i>	100
4.5	Schlussfolgerung	103
5	Zusammenfassung	105
6	Literaturverzeichnis	107
7	Eigenanteil an Datenerhebung und -Auswertung und eigene Veröffentlichungen ...	124
8	Anhang.....	126
8.1	Glossar.....	126
8.2	Informationsblatt	128
8.3	Tabellen.....	130
	Tab. 8.3.1: Übersicht der Sandmückenfänge in Deutschland	130
	Tab. 8.3.2: Übersicht der negativen Standorte	134
	Tab. 8.3.3: Ergebnisse der Bodenprobenanalyse.....	137
8.4	Abbildung einer CDC-Miniatur-Lichtfalle.....	138
8.5	Protokoll zur MagMAX CORE Nukleinsäure-Aufreinigung.....	139
9	Lebenslauf	142
10	Danksagung	143
11	Eidesstattliche Versicherung	145

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Männchen der Art <i>Ph. mascittii</i> . Bild freundlicherweise zur Verfügung gestellt von Parasitus Ex e.V., Susanne Lorentz.	6
Abb. 2: Stadien im Lebenszyklus einer Sandmücke, <i>Phlebotomus</i> spp. (L1–L4) (Bogitsh et al., 2019).	10
Abb. 3: Lebenszyklus der Sandmücke: Eier – Pfeil zeigt auf den "Klettenfleck" (a); Larve des ersten Stadiums – Pfeil zeigt auf zwei Schwanzflossen (b); Larve des zweiten Stadiums – Pfeil zeigt auf 4 Schwanzflossen (c); Larve des 3. Stadiums (d); Larve des 4. Stadiums – Pfeil zeigt auf die dorsale Analplatte (e); Puppe – Pfeil zeigt auf das Exuvium des 4. Instanz am kaudalen Ende des Pupariums (f). Fotos nicht maßstabsgetreu. Fotos von E. Rowton und T. Rowland (Lawyer et al., 2017).....	10
Abb. 4: Verbreitung von <i>Ph. (Larrousius) perniciosus</i> in Europa. März 2022 (European Centre for Disease Prevention and Control, 2022a).....	14
Abb. 5: Verbreitung von <i>Ph. (Larrousius) mascittii</i> in Europa. März 2022 (European Centre for Disease Prevention and Control, 2022b).	15
Abb. 6: Lebenszyklus von <i>Leishmania</i> spp. Die Leishmanien werden durch den Stich infizierter Sandmücken während der Blutmahlzeit auf den Wirt übertragen. Die Entwicklung von Promastigoten (mit Geißeln) in der Sandmücke (Vektor) ist rot dargestellt, die Entwicklung von Amastigoten (ohne Geißeln) im Wirbeltierwirt ist blau dargestellt. Modifiziert nach (Centers for Disease Control and Prevention, 2020a).	20
Abb. 7: Status der Endemie der Leishmaniose weltweit. Verbreitung der Leishmaniose beim Menschen. VL, Viszerale Leishmaniose; CL, Kutane Leishmaniose; MCL, Mukokutane Leishmaniose (Esteves et al., 2018).	22
Abb. 8: Typische Läsion bei kutaner Leishmaniose. Kutane Leishmaniose in der Türkei (a) (Özgür, 2020), Verkrustete Läsion der Lippen Schleimhaut (b) (Valesky et al., 2007).	25
Abb. 9: Temperaturentwicklung in Deutschland (DWD) und weltweit (NOAA) im Zeitraum 1881 bis 2019 (Kaspar et al., 2020).....	36
Abb. 10: Übersichtskarte der untersuchten Bundesländer in Südwestdeutschland. Landkarte Deutschland (Topographische Karte)(Weltkarte, 2021).....	38
Abb. 11: Lichtfalle vom Typ CDC Miniature Light Trap (Bioquip, CA).	39
Abb. 12: Klebepapierfalle.....	40
Abb. 13: Sandmücken in 1,5 ml Eppendorf-Röhrchen in 100 % Ethanol.....	42

Abb. 14: Arbeitsschritte der Homogenisierung von Sandmücken. Sortierung der Sandmücken (a+b), Lagerung der Proben auf Eis (c), Tissue-Lyser zur Homogenisierung (d). Bild freundlicherweise zur Verfügung gestellt von Hanna Jöst.	45
Abb. 15: Hobo Pro v2-Datenlogger fixiert innerhalb der Scheune eines Standortes.	56
Abb. 16: Übersichtskarte der gesamten Standorte in Südwestdeutschland (untersuchte Bundesländer BW, RLP) im Zeitraum der Jahre 2015 bis 2018. Positive Standorte (rot); Negative Standorte (blau).	60
Abb. 17: Einzelne Darstellung der Untersuchungsergebnisse von BW und RLP nach Untersuchungsjahr mit Kennzeichnung aller positiven (rot) und negativen (blau) Standorten. QGIS, Geographic Information System. QGIS-Version 3.16.12-Hannover. WebAtlas-DE / Bundesanstalt für Kartographie und Geodäsie.	64
Abb. 18: Übersicht der untersuchten Standorte in Deutschland (Zeitraum der Jahre 2015 bis 2018); positiv getestet (orange), negativ getestet (blau).	64
Abb. 19: Anklebende Sandmücke auf Klebefalle. Bild freundlicherweise zur Verfügung gestellt von Francis Schaffner.	65
Abb. 20: Hofansicht und Innenansicht der Scheune in Obereggenen.	67
Abb. 21: Hofansicht und Innenansicht der Scheune in Bremgarten.	69
Abb. 22: Zugemauerter Tunnel am „Isteiner Klotz“ mit und ohne Lichtfalle.	70
Abb. 23: Hof- und Innenansicht des Naturfreundehaus in Hochstadt.	72
Abb. 24: Hof- und Innenansicht der Scheune in Freimersheim.	74
Abb. 25: Stollen in Queichhambach, RLP (49,21479°N, 7,99108°E) (a); Knöringen Erdkeller, RLP (49,23587°N, 8,14365°E) (b).	77
Abb. 26: Anzahl der Sandmücken in Südwestdeutschland und Anzahl der heißen Tage ($t_{max} \geq 30$) im Zeitraum 2015–2018.	80
Abb. 27. Klimakarten mit Jahresdurchschnittstemperatur des Zeitraums 1961–1990 (links), und der Jahre 2015, 2016, 2017 und 2018 mit Daten vom Deutschen Wetterdienst (Deutscher Wetterdienst, 2021, KLIWA, 2016).	82
Abb. 28. Pearson-Korrelationen zwischen analysierten Klimaparametern (P-Wert: $* < 0,05$, $** < 0,01$, $*** < 0,001$). Starke Korrelation (blau), keine Korrelation (weiß), starke negative Korrelation (rot).	84
Abb. 29: Vergleich klimatischer Parameter in nicht erfolgreichen (neg) und erfolgreichen (pos) Fangnächten, analysiert mittels Kruskal-Wallis-Test. Farbige Punkte über den	

Boxplots zeigen Einzelwerte an. Statistische Unterschiede zwischen nicht erfolgreichen und erfolgreichen Fangnächten werden folgendermaßen dargestellt: P-Wert: * $<0,05$, ** $<0,01$, *** $<0,001$ 84

Abb. 30: Lichtmikroskopische Aufnahmen morphologischer Bestimmungsmerkmale von *Ph. mascittii* (40-fach Objektiv (blau) und 1,6-fachen Auflösung). Pharynx von *Ph. mascittii*-Weibchen (a), Weiblicher Kopf *Ph. mascittii* (b), Spermatheke von *Ph. mascittii*-Weibchen (c) (sp: Spermatheke, d: Drüsenzellen), äußere Genitalien von *Ph. mascittii*-Männchen (d), Aedeagus von *Ph. mascittii*-Männchen (e), Aedeagus mit Genitalpumpe von *Ph. mascittii*-Männchen (f) (gp: Genitalpumpe, gf: Spermaröhre)..... 86

Abb. 31: DNA-Sequenz und Chromatogramm von *Ph. mascittii* RP1_1 aus Hochstadt. 87

Abb. 32: Alignment von *Ph. mascittii* RP1_1 in NCBI-Blast mit KX869078.1 (*Ph. mascittii* aus Slowenien). 88

Abb. 33: Bodendatenkarte des Untersuchungsgebietes in BW (a) (Landesamt für Geologie, 2021). Bodendatenkarte des Untersuchungsgebietes in RLP (Bereich Donnersbergkreis und Landkreis Kusel (b), Bereich Südliche Weinstraße (c)) (Landesamt für Geologie und Bergbau Rheinland-Pfalz, 2021)..... 90

Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Von Sandmücken medizinisch relevante übertragene humanpathogene Phleboviren (Familie: Phenuiviridae, Gattung: Phlebovirus) in Europa.	34
Tab. 2: PCR-Protokoll und Cycler Programm der Leishmanien qRT-TaqMan-PCR.....	47
Tab. 3: PCR-Protokoll und Cycler Programm der Phlebo RT-PCR.....	48
Tab. 4: PCR-Protokoll und Cycler Programm der Flaviviridae NS5.....	48
Tab. 5: PCR-Protokoll und Cycler-Programm der Burkett-PCR.	49
Tab. 6: PCR-Protokoll und Cycler-Programm der Kocher-PCR	50
Tab. 7: PCR-Protokoll und Cycler-Programm der COI-PCR.....	51
Tab. 8: Prävalenz von Sandmücken in Südwestdeutschland im Zeitraum der Jahre 2015–2018.	59
Tab. 9: Jährliche Fangrate und Geschlechterverhältnis von <i>Ph. mascittii</i> im Zeitraum 2015– 2018.....	79
Tab. 10: Standorte der Bodenuntersuchungen.....	89

Abkürzungsverzeichnis

°C	Temperatur in Grad (°) Celsius
Abb.	Abbildung
Ae.	Aedes
bp	Basenpaare
CaCO ₃	Calciumcarboate
CaO	Calciumoxid
CDC	Center for Disease Control and Prevention
CL	Kutane Leishmaniose (engl.: cutaneous leishmaniasis)
CO ₂	Kohlenstoffdioxid
CnL	Leishmaniose bei Hunden (engl.: canine leishmaniasis)
<i>COI</i>	Untereinheit 1 der Cytochrom c Oxidase (<i>cox1</i>)
<i>cytb</i>	Cytochrom B
DNA	Desoxyribonukleinsäure (engl.: deoxyribonucleic acid)
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle Medium
DMSO	Dimethylsulfoxid
dNTP	2'-Desoxynukleosid-5'-triphosphat
DWD	Deutscher Wetterdienst
ECDC	European Centre for Diseases Prevention and Control
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure (engl.: ethylenediaminetetraacetic acid)
EquL	Leishmaniose bei Pferden (engl.: equine leishmaniasis)
EVS	Encephalitis Vector Survey
FAM	Fluorescein
FCS	Fötales Kälberserum (engl.: fetal calf serum)
FL	Katzenleishmaniose (engl.: feline leishmaniasis)
H ₂ O, (d)dH ₂ O	Wasser, (doppel) destilliertes Wasser
HIV	Humanes Immundefizienz-Virus (engl.: <i>Human immunodeficiency virus</i>)
ICTV	International Committee on Taxonomy of Viruses
IPCC	Weltklimarat (engl.: Intergovernmental Panel on Climate Change)
kb	Kilobasen
KOH	Kalilauge (Kaliumhydroxid)
<i>L.</i>	<i>Leishmania</i>
L1–L4	Larvalstadien 1–4
<i>Lu.</i>	<i>Lutzomyia</i>
m	männlich (in Tabellen und Graphiken)
MCL	mukokutane Leishmaniose (engl.: mucocutaneous leishmaniasis)
MgCl ₂	Magnesiumchlorid
n	Anzahl

N	(Koordinaten) Nord
O	(Koordinaten) Ost
PBS	Phosphatgepufferte Salzlösung (engl.: phosphate buffered saline)
PCR	Polymerase chain reaction (Polymerase Kettenreaktion)
pH	Potentia hydrogenii, Maßzahl für die in Lösungen enthaltene Konzentration an Wasserstoffionen bzw. Hydroniumionen ($\text{pH} = -\log_{10} [\text{Protonenkonzentration (mol/l)}]$)
<i>Ph.</i>	<i>Phlebotomus</i>
qRT-PCR	Quantitative Real-Time-PCR
RNA	Ribonukleinsäure (engl.: ribonucleic acid)
rpm	Umdrehungen pro Minute (engl.: revolutions per minute)
RT	Raumtemperatur
RVFV	Rift-Valley-Fieber-Virus
<i>S.</i>	<i>Sergentomyia</i>
spp.	Spezies/Arten (Plural von sp.)
TagMan®	fluoreszenzmarkierte Sonde mit Reporter und Quencher kombiniert mit einem Minor-Groove-Binder
UV	Ultraviolett
VBD	Vektorübertragene Krankheit
VL	Viszerale Leishmaniose (engl.: visceral leishmaniasis)
w	weiblich (in Tabellen und Graphiken)
WHO	Weltgesundheitsorganisation (engl.: World Health Organization)

1 Einleitung

1.1 Allgemeiner Teil

Klimaveränderungen wie langsam steigende Temperaturen unterliegen einer hohen Public-Health Relevanz durch eine Erhöhung der damit verbundenen Belastungen. Es wird davon ausgegangen, dass die Erwärmung der globalen Durchschnittstemperaturen, die geografische Verteilung sowie das Auftreten von Infektionskrankheiten, insbesondere die Ausbreitung arboviraler Krankheiten verschärft. Diese Auswirkungen erfordern eine globale Herausforderung bei der Bekämpfung zum Teil vernachlässigter, vektorübertragener und zoonotischer Krankheiten (World Health Organization, 2017a). Zu den vektorübertragenen Krankheiten „Vector-borne diseases“ (VBDs) (The Lancet Infectious Diseases, 2017) zählen Infektionen, deren Erreger durch die sogenannten Vektoren (lat. sogenannte „Träger“) von einem Wirt auf einen anderen Organismus übertragen werden, ohne dabei selbst daran zu erkranken. Dies kann zwischen den Menschen oder von einem infizierten Tier Reservoir auf Menschen geschehen (Semenza und Menne, 2009). Da auch Ökosysteme Modifikationen durchlaufen, kann sich die globale Veränderung auf die biologische Vielfalt auswirken und somit eine Gefährdung für den Menschen hervorrufen (Heiland et al., 2016). Einen bestimmenden Faktor für eine Zunahme solcher Infektionen ist die Einschleppung durch zum Teil unbekannte Wege und Etablierung von Pathogenen außerhalb ihres natürlichen Herkunftsgebietes, was zu lokalen oder regionalen Epidemien führen kann. Internationale Mobilität und Migration beschleunigen die Wanderung von Krankheitserregern in neue Umgebungen. Somit könnten sich z. B. Städte oder Orte mit großen Menschenansammlungen zu Zentren erhöhten Infektionsgeschehens bilden (Alirol et al., 2011). Zoonosen stellen aktuell eines der größten globalen Risiken dar, bei denen es zur wechselseitigen Übertragung von Pathogenen kommen kann.

Die Übertragung von Erregern wird bestimmt durch die Verfügbarkeit potenter Vektoren und der jeweiligen Erregerlast. Vektoren sowie Pathogene werden signifikant durch das Klima beeinflusst, was bedeutet, dass Temperaturerhöhungen die Inkubationszeit dieser Pathogene und den Lebenszyklus von Vektoren beeinflussen können (Semenza und Menne, 2009). Je nach vorherrschender Klimalage steigt somit das Übertragungsrisiko durch eine Erhöhung von Vektor-Populationen (Heimfarth, 2018). Dies kann die Erweiterung der Lebensräume und die Verschiebung bekannter geografischer Grenzen von Arthropoden begünstigen und

folglich zu einem höheren Infektionsgeschehen in bisher gemäßigten Zonen führen (World Health Organization, 2017b, Fischer et al., 2011). Die verantwortlichen Faktoren sind sehr komplex und lassen sich aufgrund fehlender Informationen hinsichtlich des Vorkommens und der Dichte verschiedener Vektoren schwer einschätzen (Stark et al., 2009). Dies betrifft sowohl bereits endemische als auch neu eingeschleppte (invasive) Überträger und Erreger. Solche werden oftmals über den Transport von Tieren, den Reiseverkehr oder mit dem Güterverkehr importiert. Zu den einheimischen Vektoren zählt in Deutschland unter anderem die heimische Zeckenart *Ixodes ricinus* (Gemeiner Holzbock), welche zur Übertragung der FSME-Viren (Frühsommer-Meningoenzephalitis) und Borrelien führen kann. Die durch Arthropoden übertragene Viren nehmen an medizinischer Relevanz stetig zu (Stark et al., 2009), unter anderem die Bedeutung von Stechmücken, die weltweit zu den gefährlichsten Vektoren gehören. Sie können schwere bis hin zu tödlichen Krankheiten übertragen. Der geschätzte Anteil von VBDs beträgt 17 % aller Infektionskrankheiten weltweit und verzeichnet jährlich über 700.000 Todesfälle (World Health Organization, 2014). Als invasive Vektoren stehen zurzeit vor allem exotische Mückenarten der Gattung *Aedes* (z. B. *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse, 1895), *Aedes japonicus* (Theobald, 1901), *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) im Fokus. Seit Jahren breitet sich die Tigermücke *Aedes albopictus* auch in Deutschland aus. Diese kann das Dengue-, Chikungunya-, Zika- und West-Nil-Fieber-Virus übertragen (Das Bayerische Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit, 2017, McKenzie et al., 2019, Gratz, 2004, Paupy et al., 2009). Vektor-übertragene Krankheiten können von asymptomatisch verlaufenden Infektionen bis hin zu Fieber und Arthritis führen, aber auch neurologische Symptome und hämorrhagisches Fieber verursachen (Heimfarth, 2018). Erste autochthone Dengue-Infektionen sind bereits in Kroatien im Jahr 2010 aufgetreten (Robert Koch Institut, 2010). In Frankreich gibt es Meldungen autochthoner Dengue-Fälle seit 2010 in einem fast jährlichen Turnus (European Centre for Disease Prevention and Control, 2020), und auch in Italien kam es im August 2020 zum ersten Ausbruch von autochthonen Dengue-Virus Typ 1 Fällen (Lazzarini et al., 2020). Neben den Stechmücken rücken mittlerweile auch die Sandmücken (Phlebotominae), welche zu der Familie der Schmetterlingsmücken (Psychodidae) gehören, in den Vordergrund (Killick-Kendrick, 1990, Lawyer und Young, 1991, World Health Organization, 2000). Über 850 Arten der Gattung *Phlebotomus* spp. und Arten von *Lutzomyia* spp. wurden bisher beschrieben (Ready, 2013). Ihr weltweites Vorkommen erstreckt sich über die Tropen, Subtropen sowie

gemäßigten Zonen. In Europa sind vor allem im Mittelmeerraum etwa 25 bekannte Arten verbreitet (Cazan et al., 2019). In Deutschland wurden bisher zwei Arten nachgewiesen: *Phlebotomus perniciosus* und *Phlebotomus mascittii*. *Phlebotomus perniciosus* konnte bisher nur einmalig in Deutschland bestätigt werden. Sandmücken dienen als Vektoren für Leishmanien und Phleboviren (Ordnung *Bunyavirales*, Familie *Phenuiviridae*), darunter das Toskana Phlebovirus (TOSV). Von Sandmücken übertragene Phleboviren sind im Mittelmeerraum weit verbreitet und verursachen hauptsächlich leichte Erkrankungsbilder. Im letzten Jahrzehnt wurden in Europa mehrere neue Phleboviren entdeckt (Remoli et al., 2016, Charrel et al., 2009, Amaro et al., 2015, Jancarova et al., 2019, Cazan et al., 2019).

Auch die in Deutschland vorkommende Sandmücken Art *Ph. mascittii* steht im Verdacht, als potenzieller Vektor für Phleboviren geeignet zu sein. Die Verbreitung viraler, von Sandmücken übertragbarer Infektionen in Deutschland ist unbekannt. Fallberichte epidemiologischer Studien zeigten, dass die geografische Verbreitung des Toskana-Virus viel größer ist als bisher angenommen. Trotz seiner Bedeutung als humaner Erreger bleibt es ein vernachlässigtes Untersuchungsgebiet mit vielen Wissenslücken (Ayhan et al., 2020). Eine Studie in Österreich zeigte, dass die Exposition gegenüber Sandmücken, insbesondere bei Aktivitäten im Freien, zu einem signifikanten Risiko einer Infektion mit Phleboviren beitragen kann. Dies konnte bei Rückkehrern von Auslandseinsätzen aus dem Mittelmeerraum und dem Nahen Osten gezeigt werden (Kniha et al., 2019).

Im Jahr 2010 wurden in Süddeutschland bei 6,6 % (n=150) Fällen mit der Diagnose Meningitis oder Enzephalitis unbekannter Ätiologie Infektionen mit dem humanen Toskana-Virus nachgewiesen (Kimmig et al., 2010b). Bei mindestens einem dieser Fälle hatte die betroffene Person das Gebiet nie verlassen, sodass von einer autochthonen Übertragung ausgegangen werden muss (Meyer-König et al., 2010). Des Weiteren zeigt eine im Jahr 2021 veröffentlichte deutsche Kohortenstudie in Südwestdeutschland humane Fälle von TOSV-neuroinvasiver Erkrankung mit Meningoenzephalitis, mit dem Verdacht auf autochthone Infektionen (Dersch et al., 2021). Bisher gibt es keine signifikanten Rückschlüsse auf den Ursprung jeweiliger Sandmückenfunde, jedoch Anlass dafür, dass bei Patienten mit Meningoenzephalitis das TOSV in Deutschland in Erwägung gezogen werden kann. Seit dem Jahr 2008 wurden in Baden-Württemberg im Gebiet Markgräfler Land keine aktiven Feldarbeiten mehr durchgeführt. Daher zielt die hier vorgestellte Feldstudie darauf ab, erhobene Daten über die aktuelle Verbreitung, das Vorkommen und die Abundanz von

Sandmücken sowie vorhandener Arten in Südwestdeutschland zu berichten. Diese Studie soll Anlass dazu geben, weitere Untersuchungen durchzuführen und zu fördern. Der Bereich der medizinischen Entomologie gewinnt immer mehr an Bedeutung im Zusammenhang mit Global Health. Der Anstieg von Prävalenzen von durch Arthropoden verursachten Erkrankungen erbringt einen erhöhten Anspruch an epidemiologischen Studien sowie die Erarbeitung und Etablierung von Überwachungsmethoden auf globaler Ebene (Kiehl, 2015).

1.2 Zielsetzung der Arbeit

Eine ungenügend vorhandene Datenlage bezüglich biologischer und ökologischer Faktoren von Sandmücken und der Hypothese, dass ihr Vorkommen in Deutschland größer als bisher bekannt ist, führte zur Wiederaufnahme von Felduntersuchungen. Die Erhebung dieser Daten sollte weiter Auskunft über das Vorkommen potenziell zirkulierender Erreger in Deutschland geben. Folgende Methoden führen an die Ziele der vorliegenden Arbeit heran:

- I. Das primäre Ziel der vorgelegten Arbeit war, jene Standorte in Süddeutschland zu ermitteln, an denen aufgrund der klimatischen und örtlichen Gegebenheiten das Vorkommen von *Ph. mascittii* und anderen Sandmücken Arten wahrscheinlich ist. Dies umfasst die gezielte Evaluierung und Kartierung neuer Standorte sowie der Ermittlung von sogenannten Hotspots mit der Erfassung von Klimadaten. Die Fangmethoden erfolgten mit geeigneten Methoden als auch mit der Testung ergänzender Methoden.
- II. Des Weiteren wurden die Sandmücken morphologisch als auch molekularanalytisch identifiziert, auf mögliche Wirte und auf das Vorhandensein von Leishmanien und Arboviren untersucht.

1.3 Allgemeines zur Biologie der Phlebotominae

1.3.1 Phlebotominae – Sandmücken

Sandmücken (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) existieren seit der unteren Kreidezeit vor etwa 125 bis 150 Mio. Jahren (Azar und Nel, 2003) und wurden als Vektoren der Leishmanien assoziiert. Sie haben sich vermutlich vor den Säugetieren entwickelt und an Reptilien Blut gesaugt. Es wurden Blutmahlzeiten von Sandmücken identifiziert, die Entwicklungsstadien von fossilen Leishmanien enthielten (Kettle, 1984, Mullen und Durden,

2009). Dieser Ursprung hat basierend auf dem von Newstead (1911) vorgeschlagenen Klassifizierungssystem für Sandmücken zur Klassifizierungsentwicklung verschiedener Gattungen durch Theodor (Theodor, 1948, Theodor, 1958) geführt, einschließlich der Gattung *Phlebotomus* Rondani & Berté, 1840 (Rispaill, 1990), *Sergentomyia* França & Parrot, 1920, in der "Alten Welt" und in die drei Gattungen *Lutzomyia* França, 1924, *Brumptomyia* França & Parrot, 1921, und *Warileya* Hertig, 1948 in der "Neuen Welt" (Shimabukuro et al., 2017). Weiter gehört die Gattung *Chinius* Leng, 1987, zu einem eigenen Taxon, das chinesische Sandmückenarten mit primitiven Merkmalen umfasst (Leng, 1987).

Die Klassifikation von Lewis et al. (1977) wurde von Young und Duncan (1994) geändert (Shimabukuro et al., 2017, Young und Duran, 1994, Lewis et al., 1977). Von den weltweit beschriebenen Arten gelten ungefähr 70 als nachgewiesene Vektoren (Ready, 2013), von denen etwa 20 *Leishmania* spp. (*L. spp.*) Erregerarten pathogen sind für den Menschen (World Health Organization, 2020, Killick-Kendrick, 1990, Akhoundi et al., 2016). Noch weniger wurden mit Phleboviren und anderen Arboviren von biomedizinischer Bedeutung in Verbindung gebracht (Depaquit et al., 2010, Seccombe et al., 1993). Unterteilt werden die Phlebotominae in sechs Gattungen und zwölf Subgenera, von denen die Arten der Gattungen *Phlebotomus* (*Ph.*), *Lutzomyia* (*Lu.*) und *Sergentomyia* (*S.*) an Wirbeltieren Blut saugen. Die humanmedizinisch größte Relevanz als Überträger von Leishmanien haben Arten der Gattung *Phlebotomus* in der Alten Welt und *Lutzomyia* mit 25 Subgenera in der Neuen Welt. Die Arten der Gattung *Sergentomyia* ziehen Reptilien und Vögel als Blutwirte vor und haben daher einen geringeren Stellenwert als Überträger von Leishmanien auf den Menschen. In Europa kommen Sandmücken vorwiegend im Mittelmeerraum vor (Cazan et al., 2019).

Sandmücken sind mit etwa drei bis fünf Millimetern (mm) Körperlänge kleine hämatophage Insekten, die sich leicht von anderen kleinen Dipteren unterscheiden lassen. Sie haben sehr lange Beine und im Vergleich zu ihrem verhältnismäßig kleinen Kopf sehr auffällig große dunkle Augen. Namensgebend ist die insgesamt helle Färbung mit einem hellbraunen bis sandfarbenen Farbton, jedoch werden auch Arten mit dunklerer bis fast schwarze Farbe beobachtet (Abb. 1). Ein weiteres typisches Merkmal der Familie ist die starke Behaarung, welche die Flügel und den Kopf betrifft. Ihre spitzen Flügel sind in Ruheposition etwa einem 60° Winkel über dem Abdomen positioniert, was einem vertikalen V ähnelt (Theodor, 1958, Kettle, 1984). Der Stechapparat der Weibchen ist mäßig lang und besteht aus einem Mundwerkzeug mit sechs klingenartigen Stiletten (Labrum, Unterkiefer Paare, Oberkiefer

und Hypopharynx). Durch den Einstich entsteht eine kleine Blutlache, die folglich mit dem kurzen Stechrüssel aufgenommen wird (Krenn und Aspöck, 2012). Letztendlich resultiert der Stich aufgrund der beschriebenen Stilette als äußerst schmerzhaft und führt meist zu einer starken Rötung, einhergehend mit einer oft wochenlang juckenden Harara (Naucke, 2021).



Abb. 1: Männchen der Art *Ph. mascittii*. Bild freundlicherweise zur Verfügung gestellt von Parasitus Ex e.V., Susanne Lorentz.

Der Name der medizinisch relevantesten Sandmückenarten der Alten Welt, *Phlebotomus*, ist daher sehr treffend und ergibt sich aus dem griechischen (phlebotomon = Werkzeug zum Blutsaugen) (Kniha et al., 2020a). Bei den Männchen fehlt der Unterkiefer, weil sie nicht hämatophag sind. Männliche Sandmücken haben an der Spitze des Hinterleibs Klammerstrukturen, die zur Paarung dienen (Krenn und Aspöck, 2012). Im Vergleich zu Stechmückenarten (Diptera: Culicidae) sind Sandmücken bedeutend kleiner. Es ist wahrscheinlich, dass in städtischen und stadtnahen Umgebungen Menschen und Haushunde die Hauptwirte für Sandmücken sind. Die meisten anthropophilen Arten ernähren sich abends bis Sonnenaufgang, wenn die Temperaturen sinken und die relative Luftfeuchtigkeit steigt (Lawyer und Perkins, 2004).

1.3.2 Taxonomie und Klassifizierung

Sandmückenarten werden in die Unterfamilie der Phlebotominae eingeordnet, welche zur Familie der Schmetterlingsmücken (Psychodidae) innerhalb der Ordnung der Zweiflügler

(Diptera) gehören (Akhoundi et al., 2016). Sie sind Überträger von durch Gliederfüßer (Arbo)-übertragenen Viren, Bakterien und Protozoen. Es wurden über 3.000 Arten von Psychodidae beschrieben, die in sechs Unterfamilien unterteilt sind, nämlich die Bruchomyiinae, Trichomyiinae, Horellinae, Psychodinae, Sycoracinae und die Phlebotominae. Von diesen sind nur die Sycoracinae, und die Phlebotominae blutsaugend (Munstermann, 2019).

Systematische Einordnung und Klassifizierung der Sandmücken nach Theodor (1948, 1958), Young & Duncan (1994), Lewis et al. (1977) und Leng (1987):

Phylum: Arthropoda

Klasse: Insecta

Ordnung: Diptera

Unterordnung: Nematocera

Familie: Psychodidae

Unterfamilie: Phlebotominae

Genus: *Phlebotomus* (Ph.), *Lutzomyia* (Lu.), *Sergentomyia* (Se.), *Brumptomyia* (Br.), *Warileya* (Wa.), *Chinius* (Ch.)

1.3.3 Morphologie von *Phlebotomus mascittii*

Trotz einiger gemeinsamer morphologischer Merkmale innerhalb der Familie Psychodidae weisen Sandmücken einzigartige Bestimmungsmerkmale auf. Die Genitalien der Männchen weisen charakteristisch ausgefeilte, bilateral symmetrische äußere Umklammerungsstrukturen (Coxit und Stilus), Paramere, sklerotisierte Aedeagi und Surstyle am distalen Ende ihres Abdomens auf. Die Coxit trägt ein Büschel borstiger Haare in der Mitte auf der ventralen Seite. Der Aedeagus läuft spitz zusammen und seine Spitze, an der die Spermaröhre austritt, ist abgerundet. Intern sind die Genitalfilamente mit einer Spermapumpe verbunden, die das Sperma in einem Spermatophor ausstößt (Lane, 1993, Killick-Kendrick, 1999, Lawyer und Perkins, 2004). Bei den Weibchen bestehen die Spermatheken am vorderen Ende aus einem Kopf, einem kurzen Hals und sind an den Enden unregelmäßig gestreift. In der Mitte sind sie stark ausgedehnt, bevor sie eng und zylindrisch in der Furca auslaufen. Das Abdomen ist lotrecht zylindrisch und scheint mit zwei abgerundeten Segmenten (Cerci) zu enden. Die Bezahnung des Pharynx reicht etwa herunter bis zur Hälfte, wo es sich dann verdünnt (Steinhausen, 2005). Die Geschlechter sind

morphologisch einfach zu unterscheiden. Im Gegensatz zu den Weibchen, die ein abgerundetes Abdomen besitzen, verfügen die Männchen über einen kräftigen, auffallend großen Kopulationsapparat (Abonnenc und Pastre, 1972, Maßberg, 2008).

1.3.4 Lebensweise von *Phlebotomus mascittii*

In Deutschland sind Sandmücken hauptsächlich in den warmen Sommermonaten aktiv (Grimm et al., 1993). Die Verfügbarkeit des Wirts spielt eine wichtige Rolle und bestimmt das Fütterungsverhalten. Es konnte beobachtet werden, dass *Ph. mascittii* eine Vielzahl von Wirbeltierarten u.a. Nutztiere und Menschen bevorzugt (Bongiorno et al., 2003, Kniha et al., 2021). Außerdem ist bekannt, dass *Ph. mascittii* auch ein autogenes Fortpflanzungsverhalten aufweist (Ready et al., 1986), und die Fähigkeit besitzt, Eier ohne eine Blutmahlzeit zu produzieren. Sowohl Weibchen als auch Männchen müssen sich zur Deckung des Energiebedarfs von Pflanzensäften (z. B. Nektar) ernähren (Naucke et al., 2014).

Durch ihre winzige Körpergröße wirken sie, verglichen mit dem robusteren Aussehen von anderen Psychodidae, eher zerbrechlich. Dadurch sind sie sehr windanfällig und fliegen meistens nicht höher als einen Meter über dem Erdboden (Killick-Kendrick, 1999). Bei Windstille legen sie etwa 100–200 m zurück, jedoch kaum mehr als 1 m/Sek. und sie bewegen sich in der Regel nicht weiter als einen Kilometer von ihrer Brutstätte weg (Killick-Kendrick, 1987).

Vorwiegend lassen sie sich in schattigen und feuchten Höhlen, Gruben oder Felsspalten mit lockeren Böden aus organischem Material finden (Alexander, 2000). In Deutschland lassen sie sich bisher meistens in naturbelassenen windgeschützten, und oft wenig genutzten Scheunen finden. Das organische Material aus den Böden ist eine wichtige Nahrungsquelle für die Larven, da Sandmücken anders als die meisten stechenden Dipteren eine terrestrische Entwicklung haben. Bisher gibt es wenige Erfolge, um Brutstätten in der Natur zu identifizieren. Das Ei-Gelege befindet sich im Boden, der reich an organischer Substanz ist. Die Larven ernähren sich aus organisch zersetzbaren Materialien des Erdbodens (Naucke, 2021). Männchen sind nicht blutsaugend und ernähren sich ausschließlich von Pflanzensäften, reifen Früchten und natürlichen Kohlenhydratquellen, wie Blattläuse-Sekreten (Naucke, 1998, Alexander und Usma, 1994). Die Befruchtung des Weibchens erfolgt je nach Art, vor, während oder nach der Blutmahlzeit (Killick-Kendrick, 1999). Sie benötigen eine Blutmahlzeit vor der Eiablage (Boelaert und Sundar, 2014), welches sie ungefähr ein bis

zwei Tage vorher aufnehmen. Pro Ei-Gelege entwickeln sich 30–150 Eier, die bei den meisten Arten 300–400 µm große, dunkle, netzartig gemusterte Eier sind (Irungu et al., 1986). Die Ablage findet in geschützter, etwas feuchter, lockerer Erde statt (Theodor, 1958). Die Entwicklung zur adulten Mücke erfolgt über vier Larven- und ein Puppenstadium und variiert je nach Art und den klimatischen Randbedingungen (Abb. 2 und Abb. 3). Die Lebensdauer von adulten Sandmücken beträgt etwa 30–45 Tage, aber auch länger bis zu 60 Tagen (Ward, 1985).

In Deutschland entwickelt sich nach heutigem Wissensstand nur eine Sandmückengeneration pro Jahr. Bei niedrigen Temperaturen dauert die Gesamtentwicklung insgesamt länger (Theodor, 1958). Je nach Temperatur kann der Lebenszyklus im Winter auch anhaltend unterbrochen werden (Alexander, 2000). In dieser Zeit ernähren sich die Larven im Boden und sind auf Wasser als Flüssigkeit angewiesen (Theodor, 1958). Die Larven tolerieren hingegen auch keine Temperaturen von über 30 °C (Naucke, 2002). Die europäischen Sandmücken überwintern in der Regel im vierten Larvenstadium (Killick-Kendrick, 1999). Männliche Sandmücken haben ein definiertes Verhalten, welches sowohl Pheromone als auch akustische Kommunikation beinhaltet. In der Regel schlüpfen sie vor den Weibchen, sodass sie ihre Genitalien innerhalb der ersten 24 h nach dem Schlüpfen für die Kopulation um 180° drehen können. Tiere dienen sowohl als Nahrungsquelle für die Weibchen als auch als attraktiver Ort für die Paarung (World Health Organization, 1990). Sandmücken sind dämmerungs- bzw. nachtaktiv, jedoch gibt es einige Arten, die auch tagsüber aktiv sind (Killick-Kendrick, 1999). Für gewöhnlich ziehen sie sich tagsüber in kühle und feuchte Nischen zurück. Vermutlich hängt die Nachtaktivität europäischer Sandmücken daran, dass bei sinkenden Temperaturen die Luftfeuchtigkeit steigt (Cross und Hyams, 1996). Aufgrund ihrer Art und Weise, sowie der Dauer des Stechaktes werden sie als sogenannte „Poolsauger“ definiert. Nur die Weibchen sind hämatophag, und sie werden unter anderem von Kohlendioxid (CO₂) (z. B. menschlichem Atem) angelockt. Das Stechverhalten ist individuell, da sie meistens um den Wirt fliegende Sprünge machen, bevor sie sich tatsächlich zum Stich niederlassen. Im Unterschied zu anderen hämatophagen Dipteren hört man sie nicht (Obwaller et al., 2016, Krenn und Aspöck, 2012, Beran, 2010). Die Identifizierung von Sandmücken auf Artniveau stellt eine Herausforderung dar und erfordert die Untersuchung der inneren morphologischen Strukturen.

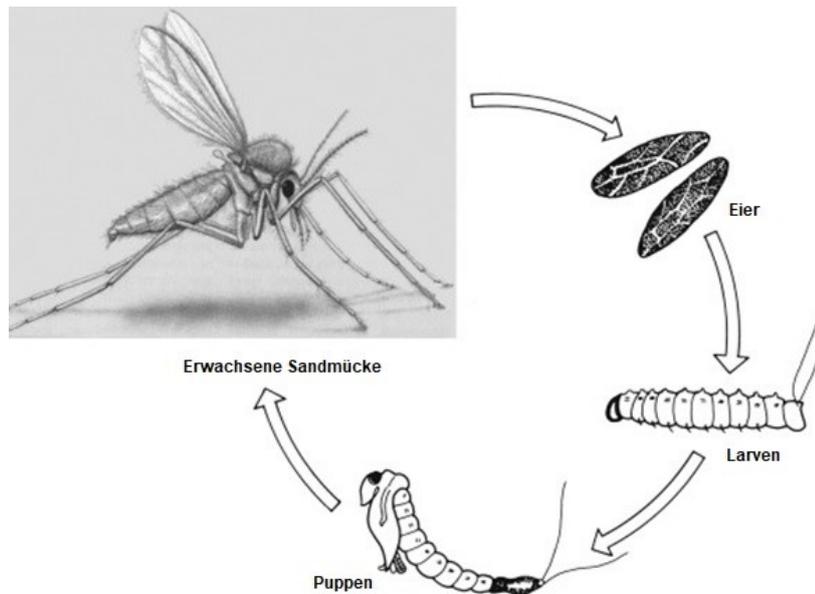


Abb. 2: Stadien im Lebenszyklus einer Sandmücke, *Phlebotomus* spp. (L1–L4) (Bogitsh et al., 2019).

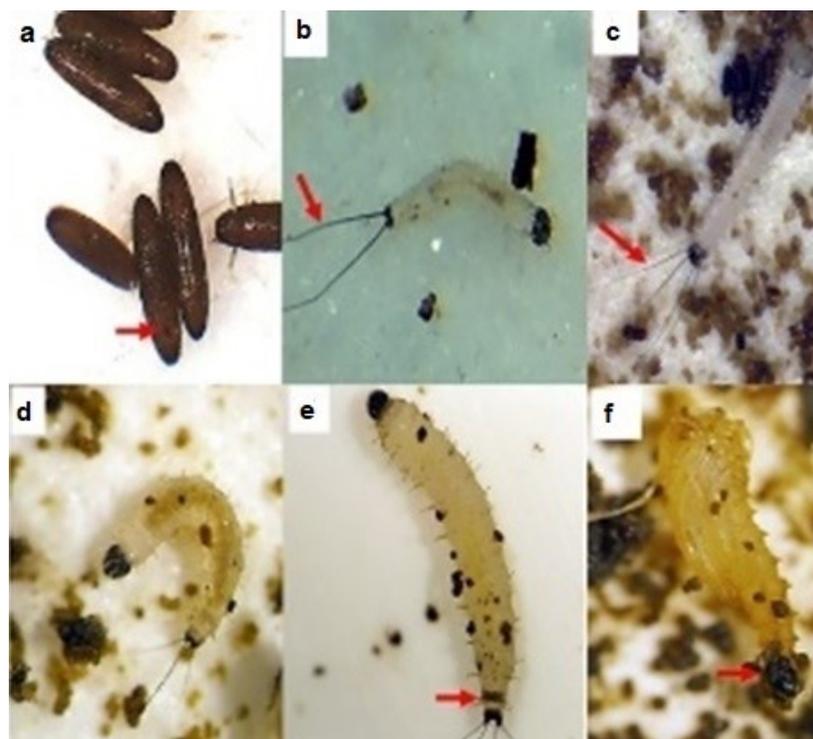


Abb. 3: Lebenszyklus der Sandmücke: Eier – Pfeil zeigt auf den "Klettenfleck" (a); Larve des ersten Stadiums – Pfeil zeigt auf zwei Schwanzflossen (b); Larve des zweiten Stadiums – Pfeil zeigt auf 4 Schwanzflossen (c); Larve des 3. Stadiums (d); Larve des 4. Stadiums – Pfeil zeigt auf die dorsale Analplatte (e); Puppe – Pfeil zeigt auf das Exuvium des 4. Instanz am kaudalen Ende des Pupariums (f). Fotos nicht maßstabsgetreu. Fotos von E. Rowton und T. Rowland (Lawyer et al., 2017).

1.3.5 Vorkommen von Sandmücken und deren Lebensraum

Sandmücken kommen in den Tropen und Subtropen sowie in gemäßigten Zonen vor. Auf dem amerikanischen Kontinent liegt das nördlichste Verbreitungsgebiet im Südwesten Kanadas (Young und Perkins, 1984). In Europa sind Sandmücken typische mediterrane Faunenelemente mit etwa 25 bekannten Arten der Gattung *Phlebotomus* (Cazan et al., 2019). Vor allem sind sie in Südeuropa weit verbreitet (Aspöck et al., 2008b) und reichen bis in die Region von Paris (Foley, 1923). Die Verbreitung und die Reichweite von Sandmücken Arten, zugehörig zu den Gattungen *Phlebotomus* und *Sergentomyia*, haben in den vergangenen Jahren in Europa zugenommen (European Centre for Disease Prevention und Control, 2018, Cazan et al., 2019). Sandmücken sind grundsätzlich in allen wärmeren Regionen wie Asien, Afrika, Australien, Süd-Europa und Amerika vorzufinden (Killick-Kendrick, 1999). Neuseeland und die Pazifischen Inseln stellen bislang noch die Ausnahme dar (Lane, 1993, Walochnik und Aspöck, 2010). Die allgemeine Höhenverteilung erstreckt sich von unterhalb des Meeresspiegels (Totes Meer) (Lane, 1993) bis 3300 m ü. M. in Afghanistan (Artemiev, 1980). In Italien ist *Ph. papatasi* bekannt, unter anderem auch in Stadtgebieten (Dantas-Torres et al., 2010). In Rumänien gibt es bisher Funde mehrerer Arten. Zwei Arten jedoch, *Ph. neglectus* und *Ph. perfilliewi*, waren dominant nachzuweisen (Cazan et al., 2019). In Europa reichen die Verbreitungsländer von Südeuropa, Westeuropa, Mitteleuropa bis Südosteuropa.

Im Jahr 1950 wurde *Ph. mascittii* in Straßburg nachgewiesen. Callot sammelte eine weibliche *Ph. mascittii* blutsaugend von einem Kind ab (Callot, 1950), welches dadurch den Nachweis für die Anthropophilie von *Ph. mascittii* erbrachte. Die Sandmückenfunde in Straßburg führten dazu, dass im Juli 1999 in Baden-Württemberg sporadische Fänge von Sandmücken mit Lichtfallen durchgeführt wurden. In Istein, Neuenburg und Bremgarten konnten vier Individuen der Art *Ph. mascittii* als Erstnachweis in Deutschland gefangen werden (Naucke und Pesson, 2000). Neben Deutschland konnte *Ph. mascittii* in Frankreich, darunter in Korsika, in der Schweiz, Belgien und Österreich nachgewiesen werden (Steinhausen, 2005). Mittlerweile gibt es steigende Funde im benachbarten Österreich (Poepl et al., 2013).

Die vertikale Verbreitung von *Ph. mascittii*, lässt vermuten, dass sie, verglichen mit *Ph. perniciosus* und *S. minuta*, in höheren Lagen anzutreffen sind. In der Schweiz wurde *Ph. mascittii* in einer Höhe von 400 m bis 630 m über NN gefunden (Knechtli und Jenni, 1989). Die bekannten, von Sandmücken genutzten Habitate variieren in einem breiten Spektrum. Es gibt Nachweise von Larven in Nagetier Höhlen als Brutstätten, im

Wurzelbereich von Bäumen, im Gestrüpp und Laub, in Höhlen und Felseinbuchtungen, bis hin zu Lehmboden in der Nähe von menschlichen Behausungen (Feliciangeli, 2004). Ein wichtiger Faktor einer möglichen Ausbreitung von Sandmücken ist vor allem die Verschleppung mit dem Wind, da sie ausgesprochen klein und windempfindlich sind.

1.3.6 Sandmücken Situation in Deutschland

Man kann davon ausgehen, dass Sandmücken in Deutschland schon immer sporadisch vorhanden waren, jedoch Veränderungen des Klimas zu einer Erweiterung geführt haben (Aspöck et al., 2008b). In Deutschland wurden die Arten *Ph. mascittii* und *Ph. perniciosus* nachgewiesen (Naucke und Pesson, 2000, Naucke und Schmitt, 2004). Im Jahre 1999 konnten in Südwestdeutschland die ersten Sandmücken der Art *Ph. mascittii* entlang der Rheinebene festgestellt werden (Naucke und Pesson, 2000). Die Annahme, dass sich Sandmücken nicht nördlich der Alpen ausbreiten können, wurde durch diesen Fund (Baden-Württemberg/Neuenburg) widerlegt (Naucke und Pesson, 2000). Im Jahr 2001 konnten erstmals vier Exemplare der Art *Ph. perniciosus* in einem dörflichen Ort namens Gehrweiler in Rheinland-Pfalz nachgewiesen werden (Naucke und Schmitt, 2004). In dieser Region wurden zwei an Leishmaniose erkrankte Hunde gemeldet. Möglicherweise bestand ein Zusammenhang mit den Sandmückenfunden und den damit zu vermutenden autochthonen kaninen Leishmaniose Fällen (Naucke et al., 2008, Desiree Maßberg). Des Weiteren konnten an zwei etwa 30 km entfernten Orten, im Jahre 2008 drei Individuen der Art *Ph. perniciosus* gefunden werden. Seit diesen Funden konnte diese Art in Deutschland bislang nicht mehr nachgewiesen werden. Somit gibt dies Anlass zur Frage, wie die Spezies dort hingelangt sind. Bis zum Jahr 2008 wurden über 200 Individuen der Sandmücken Art *Ph. mascittii* gefangen (Naucke et al., 2008). *Phlebotomus mascittii* kommt sowohl innerdörflich, innerstädtisch als auch forestrisch vor. Die nördliche Verbreitung scheint beeinflusst zu sein von der Jahresdurchschnittstemperatur, die laut Literatur die 10 nicht zu überschreiten scheint. Dieser Bereich liegt derzeit in Deutschland entlang des Rheingrabens bei Köln (Naucke et al., 2014).

Individuen von *Ph. mascittii* konnten im Jahr 2007 in der Nähe von Cochem gefunden werden (Kimmig et al., 2009), welches sich in der Umgebung von Köln befindet. Aktuell lassen sich Sandmücken der Art *Ph. mascittii* in Süddeutschland bisher in meist unbewohnten, lehmgestampften, alten und naturbelassenen Gebäuden wie Ställen, Scheunen oder

höhlenähnliche Gebilde wie dem Isteiner Klotz finden. Aufgrund das *Ph. mascittii* im Mittelmeerraum vorwiegend in Höhlen u.a. auch Tunneln mit konstanten Temperaturen vorkommt, geht man davon aus, dass *Ph. mascittii* in Deutschland als eine kälteadaptierte Sandmücke zu erklären ist (Steinhausen, 2005). Mit dem Isteiner Klotz, der einen besonderen Standort in Deutschland darstellt, wurde im Jahr 1999 das erste sylvatische Habitat für Sandmücken nachgewiesen. Hierbei handelt es sich um eine im Naturschutzgebiet gelegene Felsformation, durchzogen von Tunneln in umliegender Waldung (Steinhausen, 2005). Aufgrund der zunehmenden Modernisierung von alten Gebäuden und Scheunen stellt sich die Frage, ob sich die Lebensbedingungen der Sandmücken in Deutschland an andere Örtlichkeiten anpassen werden. Aufgrund dessen wurden im Rahmen dieser Arbeit weitere sylvatische Standorte aufgesucht und untersucht. Eine Anpassung der Sandmücken in bestimmte Regionen und die damit verbundene Etablierung, sowie verstärkte Infektionen bei Hunden kann nicht ausgeschlossen werden (Stark et al., 2009). Bislang sind Gebiete mit einzelnen autochthonen Leishmaniose-Fällen in Deutschland bekannt. Es stützt jedoch die Befürwortung, dass das Vorkommen von Sandmücken in deren unmittelbarer Umgebung sehr wahrscheinlich ist (Maßberg, 2008).

1.3.6.1 *Phlebotomus (Larroussius) perniciosus*

Phlebotomus perniciosus wurde von Newstead (1911) aus verschiedenen Regionen auf Malta (Floriana, Casa Leoni) dargelegt. Weitere Neubeschreibungen dieser Art folgten. So sind *Ph. nigerrimus* (Newstead, 1911) *Ph. legeri*, *Ph. lusitanicus* (Franka C., 1918) und *Ph. grassii* (Pierantoni, 1925) als *Ph. perniciosus* aufzufassen (Maier, 2003). Die geographische Erfassung von gemeldeten *Ph. perniciosus* Individuen umfasst neben der Schweiz (Knechtli und Jenni, 1989) in Europa Deutschland, Frankreich (inkl. Korsika), Italien (inkl. Sardinien und Sizilien) (Bettini und Gradoni, 1986, Maroli et al., 1994), Spanien (Martín-Sánchez et al., 2009) und Slowenien (Ivović et al., 2015). Darüber hinaus findet man *Ph. perniciosus* in Nordafrika (Zarrouk et al., 2016) und auf Malta (Fenech, 1997) (Abb. 4). *Phlebotomus perniciosus* gilt als nachgewiesener Vektor für *L. infantum* (Kniha, 2021). In Frankreich wurden Fälle humaner viszeraler Leishmaniose bis in die nördlichsten Departements nachgewiesen (Guilhon, 1965). In Spanien und Italien ist die Durchseuchungsrate mit *L. infantum* infizierter *Ph. perniciosus* stellenweise sehr hoch: Caserta Provinz (Italien) 6.2 % (Maroli et al., 1994), Neapel Provinz (Italien) 2.8 % (Maroli et al., 1994). In einem Tierheim bei Manresa (Nord-Spanien, ca. 50

Kilometer nord-westlich von Barcelona) in einer Höhe von über 500 m ü.d.M. liegend, wurde *Ph. perniciosus* zahlreich gefangen (Schmitt, 2002). Auch ist *Ph. perniciosus* ein nachgewiesener Vektor verschiedener Phlebovirus-Serotypen in Italien und Portugal. Bei 13 von 317 (4,1 %) deutschen Reisenden, die aus dem Mittelmeerraum zurückkamen, wurde das Toskana-Virus serologisch bestätigt (Schwarz, 1996). Das Verhalten von *Ph. perniciosus* ist anthropophil und zoophil, stark photophil (Glühlampen), jedoch auch endophil, sowie endo- und exophag. Transportwege von *Ph. perniciosus* nach Deutschland, z.B. durch Tiertransporte, sind nicht auszuschließen. Im Jahr 2001 und 2008 konnten Nachweise für *Ph. perniciosus* in Deutschland, Rheinland-Pfalz erbracht werden (Steinhausen, 2005, Maßberg, 2008).

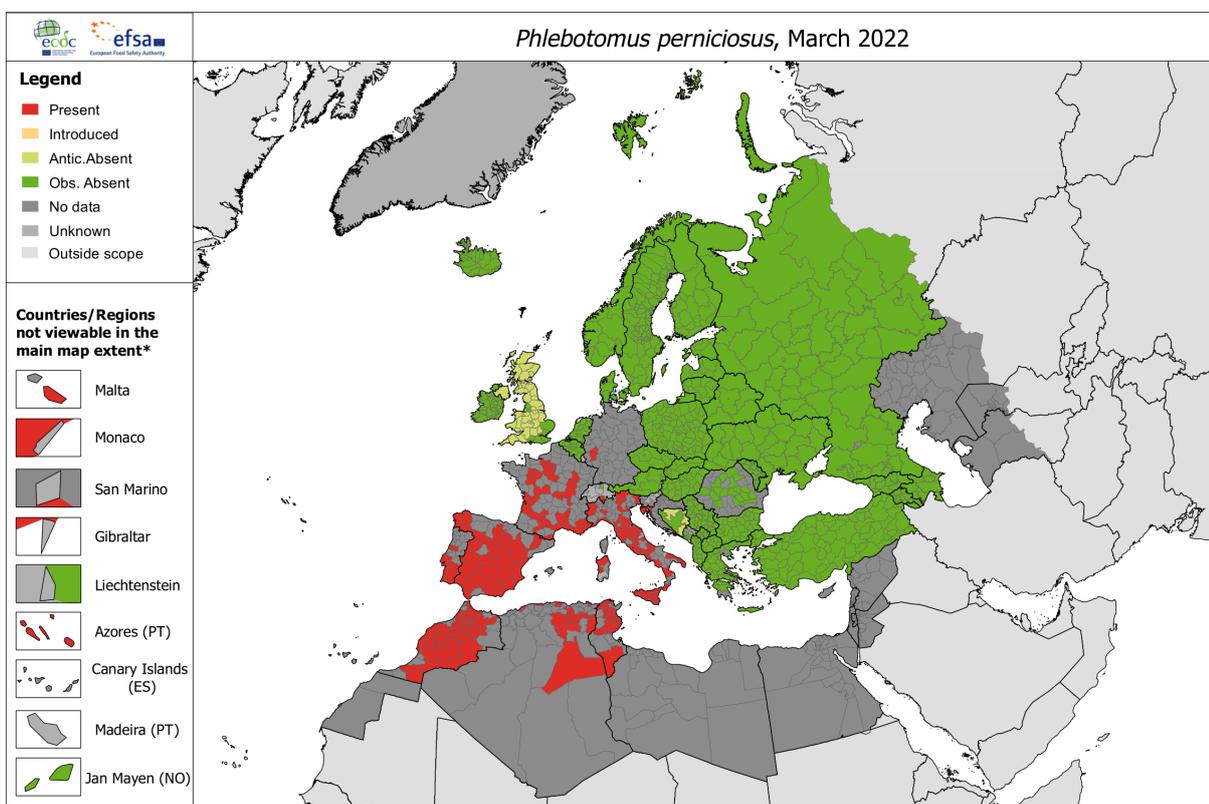


Abb. 4: Verbreitung von *Ph. (Larrousius) perniciosus* in Europa. März 2022 (European Centre for Disease Prevention and Control, 2022a).

1.3.6.2 *Phlebotomus (Transphlebotomus) mascittii*

Phlebotomus mascittii wurde von Grassi (1908) beschrieben. Mitten in Rom in der Via Panisperna konnten sowohl männliche als auch weibliche *Ph. mascittii* gefangen werden (Maier, 2003). Die geographische Erfassung von gemeldeten *Ph. mascittii* Individuen umfasst

neben der Schweiz (Knechtli und Jenni, 1989) in Europa Deutschland, Belgien (Depaquit et al., 2005), Österreich (Naucke et al., 2011), Ungarn (Trájer und Sebestyén, 2019), Italien (Dantas-Torres et al., 2014), die Slowakei (Dvorak et al., 2016), Slowenien (Praprotnik et al., 2019) und Spanien (Risueño et al., 2017). Darüber hinaus findet man *Ph. mascittii* in Nordafrika (Abb. 5). Über eine Vektorkompetenz von *Ph. mascittii* ist bisher nichts veröffentlicht worden. Das Verhalten von *Ph. mascittii* ist anthropophil und zoophil (Hund bevorzugend), bedingt photophil (lässt sich durch monochromatisches Licht 'rot, gelb, grün' anlocken), endo- und exophil, sowie endo- und exophag. Das Vorkommen von *Ph. mascittii* konnte in Deutschland in Baden-Württemberg erstmals im Jahr 1999 nachgewiesen werden (Schmitt, 2002).

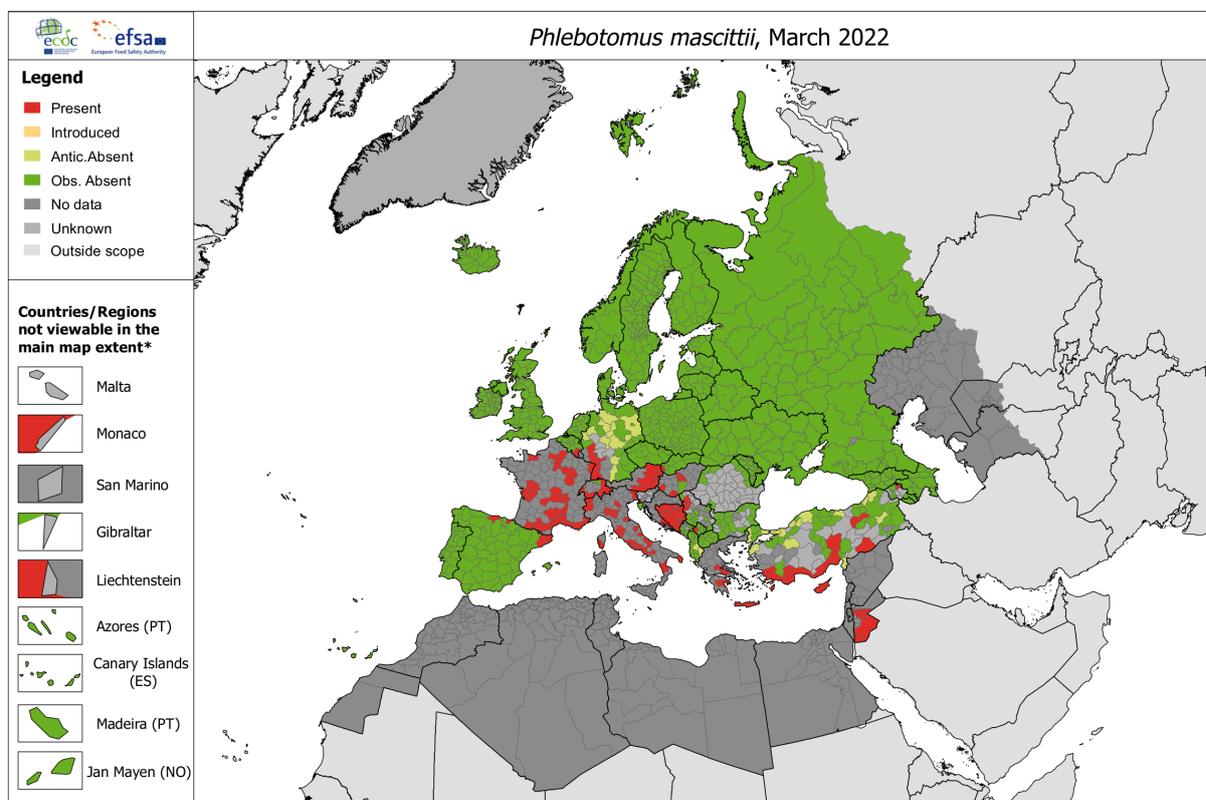


Abb. 5: Verbreitung von *Ph. (Larrousius) mascittii* in Europa. März 2022 (European Centre for Disease Prevention and Control, 2022b).

1.3.7 Bekämpfungsmaßnahmen von Sandmücken

Um die Verhinderung, Verringerung und Beseitigung der von Vektoren übertragenen Krankheiten beizutragen, wird die Kontrolle von Vektoren primär als Schlüsselansatz eingeordnet. Es gibt eine Reihe von Bekämpfungsmethoden, darunter Chemikalien, Umwelt-Management und persönliche Schutzmaßnahmen (World Health Organization, 2010b). Über

die biologische Bekämpfung der Sandmücke gibt es nur geringfügige Informationen. Die praktische Anwendung von Larviziden unter Feldbedingungen gestaltet sich aufgrund der vielfältigen Brutstätten als schwierig und ist daher limitiert. Auch zur Rolle synthetischer Pheromone als potenzielle Anlockstrategie gibt es nur wenige verfügbare Informationen und muss für den Einsatz zur Bekämpfung weiter untersucht werden (Sharma und Singh, 2008). Zu den persönlichen Maßnahmen gehören das Meiden von bestimmten Zeiten und Orten, an denen Sandmücken je nach Saisonalität aktiv sind und das Auftragen von Insektenschutzmitteln oder ätherischen Ölen auf exponierte Hautstellen.

Der Ansatz zur Sandmücken Bekämpfung hängt von der lokalen Epidemiologie, der jeweiligen Art und deren Verhalten ab, welches endophil, peridomestisch oder sylvatisch sein kann. Daher wird im Bedarfsfall empfohlen, mehr als eine Methode beim Vektor-Management anzuwenden. So kann bei endophilen Arten der Einsatz von Insektiziden in häuslichen Lebensräumen, bei peridomestischen Arten der Außenbereiche, und bei sylvatischen Arten von ökologischen Nischen angewandt werden (World Health Organization, 2010b). Des Weiteren gibt es zur Anwendung Insektizid-imprägnierte Materialien wie Hundehalsbänder, Moskitonetze oder Vorhänge (Çetin und Özbel, 2017). In Mexiko wurden als Kontrollmaßnahmen die Schmutzböden durch Zementböden ersetzt. In anderen erfolgreichen Experimenten wurden Zementsockel an der Wand und auf dem Boden angebracht oder die Wände mit Kalk verputzt, um die Vermehrung zu stoppen (Kishore et al., 2006). Auch gibt es Studien über die Anwendung von CS-Insektizid-Farb Formulierungen von Oberflächen (Wände und Decken), welche über reduzierte Sandmücken Dichten berichten (Raghavendra et al., 2011). Die technische Veränderung und Gestaltung von Baumaterialien kann somit zur Vertreibung von Populationen beitragen (Alirol et al., 2011) oder für die Vermehrung von Sandmücken ungeeignet werden (Kishore et al., 2006).

Die Vorkehrungen beim Vektor-Management erfordern bei jeder Veränderung von Vektor Habitaten neben dem jeweiligen Rechtsrahmen, außerdem die Berücksichtigung des Umweltschutzes und der lokalen Ökologie. Zusätzlich sind die Kosteneffizienz und die Akzeptanz der Gemeinden für Kontrollmaßnahmen von zentraler Bedeutung. Dies schließt die Förderung der Information der Gemeinden und ihre Beteiligung mit ein. Auch ist die Entwicklung und Notwendigkeit bei der Umsetzung der Vektorkontrolle von entscheidender Bedeutung. So sind gegebenenfalls auch Insektizidresistenzen zu berücksichtigen (Bowles et al., 2015).

Zusammenfassend sind Bekämpfungsmaßnahmen zur Kontrolle von Sandmücken vor allem abhängig von der Art und deren Lebensbedingungen, sowohl der Ort als auch des Vorkommens. Die bisher bekannten Standorte in Deutschland sind mit tropischen Gebieten nicht vergleichbar. Die Wohnverhältnisse in vielen einkommensschwachen Ländern weisen auf schlechte Behausungen ohne Rücksicht auf die Vektor-Hygiene. Um Sandmückenpopulationen zu bekämpfen, müssen deren Habitate zuerst ausfindig gemacht werden. Da die Brutstätten der Sandmücken im Allgemeinen nicht bekannt sind, stellen sich Bekämpfungsmaßnahmen von adulten Sandmücken oft als schwer durchführbar dar. In Deutschland sind bisher hauptsächlich naturbelassene Scheunen als Brutstätten bekannt. Viele dieser Gebäude werden gelegentlich modernisiert, sodass sie für die geeigneten Lebensbedingungen von Sandmücken aufgrund der Betonböden und -wände ungeeignet werden. Der Zeitpunkt, sich über Sandmückenkontrolle in Deutschland Gedanken machen zu müssen, scheint daher noch etwas entfernt. Jedoch ist nicht auszuschließen, dass sich vorhandene Populationen gegebenenfalls auch umsiedeln und andernorts anpassen.

1.4 Medizinische Bedeutung von Sandmücken als Überträger von Krankheiten

Sandmücken (Phlebotominae) spielen eine wichtige Rolle als Vektor von Pathogenen. Insbesondere sind sie die Hauptüberträger der parasitären Leishmaniose, wobei nur Arten der Gattungen *Phlebotomus* und *Lutzomyia* bekannte Überträger sind (Killick-Kendrick, 1999). Neben Parasiten können Sandmücken auch Bakterien der Art *Bartonella bacilliformis*, die Bartonellose (Oroya-Fieber, Aas-Krankheit) verursachen können und verschiedene Arten von Viren wie beispielsweise Phleboviren und Flaviviren (Fontenille et al., 1994, Moureau et al., 2010, Hukić et al., 2020) übertragen. Diese Erreger sind meistens zoonotisch. Medizinisch sehr relevant ist *Ph. perniciosus* als eindeutiger Überträger von *L. infantum* bei Hunden, Menschen und Pferden (Remadi et al., 2018), als auch bei Viren (Depaquit et al., 2010) und zeigt sich vorwiegend im Mittelmeerraum (Medlock et al., 2014).

In Europa ist Leishmaniose die häufigste, durch Sandmücken übertragene Krankheit (Walochnik und Aspöck, 2010). Bisher sind einige Meldungen als autochthon angesehene Nachweise der Erkrankung in Deutschland bekannt. Diesen wird kaum Beachtung geschenkt, denn Sandmücken werden bisher kaum als Vektoren von Leishmanien in Deutschland berücksichtigt (Naucke et al., 2014). Meist sind es von Veterinärmedizinern als auch betroffenen Privatpersonen berichtete Fälle. Derzeit geht man nicht von einer aktiven

Leishmaniose Problematik in Deutschland aus, und die Gefahr von humanen Infektionen wird bisher als sehr gering eingestuft (Maier, 2003). Vielmehr ist immer noch der Trend der Hundeimporte aus endemischen Leishmaniose-Gebieten aus Südeuropa wie z.B. Spanien eine mögliche Ursache, welche sekundär zunehmend für autochthones Auftreten dieser Erkrankung bei Menschen und Haustieren in Deutschland verantwortlich sein kann (Pantchev und Hirsch, 2018, Kimmig et al., 2010a).

Sandmücken zählen auch zu Vektoren für Phleboviren (Familie *Phenuiviridae*) (Depaquit et al., 2010), welche im Mittelmeerraum weit verbreitet sind (Remoli et al., 2016, Amaro et al., 2015, Charrel et al., 2009). *Ph. mascittii* steht im Verdacht, als Vektor für Phleboviren geeignet zu sein. Es wird angenommen, dass es auch in Deutschland zu einer Ausdehnung des Verbreitungsgebietes von Sandmücken und damit zu einer Erhöhung des Risikos von Sandmücken übertragenen Infektionen führen könnte (Fischer et al., 2011).

1.5 Epidemiologie und Klassifikation der Leishmaniose

Leishmaniose ist eine parasitäre Protozoen Erkrankung mit vielfältigen klinischen Erscheinungsformen, die in Teilen der Tropen, Subtropen und Südeuropas auftritt, und durch den einzelligen Erreger *Leishmania* spp. verursacht wird (Alvar et al., 2012). Die meisten Erreger werden in wilden Säugetieren vermutet, die in natürlichen Herden als Reservoir der Infektion fungieren (Alemayehu und Alemayehu, 2017). Epidemiologische und klinische Daten sind nur spärlich vorhanden (Weitzel et al., 2005). Sie ist eine vernachlässigte Krankheit, über die kaum berichtet wird, und in vielen Ländern für eine unterschätzte Belastung verantwortlich ist (World Health Organization, 2022). Die Inzidenz und Verteilung hängt von Eigenschaften der Parasitenarten ab, lokalen ökologischen Merkmalen der Übertragung und von menschlichem Verhalten. Die Parasiten passen sich zum Teil an neue Reservoirs und Mückenarten an und nutzen diese für ihre Verbreitung. Weltweit ist diese Erkrankung in etwa 90 Ländern auf 5 Kontinenten endemisch (Torres-Guerrero et al., 2017). Etwa 350 Mio. Menschen leben in Regionen mit dem Risiko, sich mit *Leishmania*-Parasiten zu infizieren, und über eine Mio. Neuinfektionen treten jährlich auf. Die Zahl der Infizierten liegt bei rund 10 Mio. (World Health Organization, 2010a, Pan American Health Organization und World Health Organisation, 2017). Die Todesfälle werden pro Jahr auf etwa 60.000 Todesfälle geschätzt (Wilhelm, 2019). Eine Übertragung von *Leishmania* spp. umfasst Sandmückenarten wie *Phlebotomus* (*Ph.*) spp. der Alten Welt und *Lutzomyia* (*Lu.*) spp. in der Neuen Welt (World

Health Organization, 1990, Salman, 1999). Gegenwärtig gibt es mindestens 20 *Leishmania*-Arten, die Humanpathogen sind (Sereno, 2017, Akhoundi et al., 2016). Die Spezies werden in zwei Subgenera eingeteilt: *Leishmania* und *Viannia* eingeteilt, welche wiederum in verschiedene Stämme unterteilt werden.

Dies umfasst den *L. donovani*-Komplex mit 2 Arten (*L. donovani*, *L. infantum* [in der Neuen Welt oftmals auch als *L. chagasi* bezeichnet]); der *L. mexicana*-Komplex mit 3 Hauptarten (*L. mexicana*, *L. amazonensis* und *L. venezuelensis*); *L. tropica*; *L. major*; *L. aethiopica*; und der *L. braziliensis*-Komplex (Centers for Disease Control and Prevention, 2020b, Akhoundi et al., 2016). Von den humanpathogenen Leishmanien sind einige entweder aktiv zoonotisch (d. h. der Reservoirwirt ist ein Tier, der Mensch ein Fehlwirt) oder sind adaptiert und aufgrund der Mensch zu Mensch Übertragung als Anthroponosen eingestuft (Ashford, 2000). Die Zunahme von anthroponotischen *Leishmania* Zyklen birgt ein zunehmendes Problem der öffentlichen Gesundheit, welches durch Umweltfaktoren wie Entwaldung, Urbanisierung, starke Migrationsbewegung, schlechte Gesundheitsversorgung, schlechtem Wohnraum, einem schwachen Immunsystem, HIV-Infektionen und einem Mangel an finanziellen Mitteln begünstigt wird (World Health Organization, 2020, Desjeux, 2004, Ebert und Fleischer, 2005). Wahrscheinlich werden die Erreger häufig von Caniden, Nagetieren, Beuteltieren, Mangusten, Fledermäusen und Hyraxen als Reservoirwirte beherbergt. Es gibt verschiedene Ausprägungen der Leishmaniose und das Krankheitsbild variiert je nach infizierender Spezies. Insgesamt gibt es im genaueren Sinne vier Arten der Krankheit. Unterschieden wird jedoch zwischen drei Leishmaniose Formen:

- kutane Leishmaniose – Hautleishmaniose (Orientbeule)
- mukokutane Leishmaniose – Schleimhautleishmaniose (Espundia, Uta)
- diffuse kutane Leishmaniose
- viszerale Leishmaniose (Kala-Azar)

1.5.1 Lebenszyklus von *Leishmania* spp.

Der Lebenszyklus von Leishmanien ist biphasisch. *Leishmania* spp. treten in zwei verschiedenen Formen auf, nämlich als gezeißelte, extrazelluläre Promastigote in der Sandmücke und als nicht gezeißelte, intrazelluläre Amastigote im Säugetier Wirt. Beide Formen enthalten einen Zellkern und ein Kinetoplastid, ein hoch organisiertes Cluster

mitochondrialer DNA (Waller und McConville, 2002). Die Wirte fungieren als natürliches Reservoir und sind somit für den Fortbestand von Leishmanien in der Natur verantwortlich (Cook und Zumla, 2009). Während der Blutmahlzeit einer infizierten Sandmücke werden die Parasiten in den Säugetier Wirt übertragen.

Ist der Wirt infiziert, beginnt der Lebenszyklus mit einer Blutmahlzeit einer weiblichen Sandmücke. Die infizierten Immunzellen des Wirts (meist Makrophagen) werden vom Vektor in der amastigoten Form aufgenommen (Abb. 6).

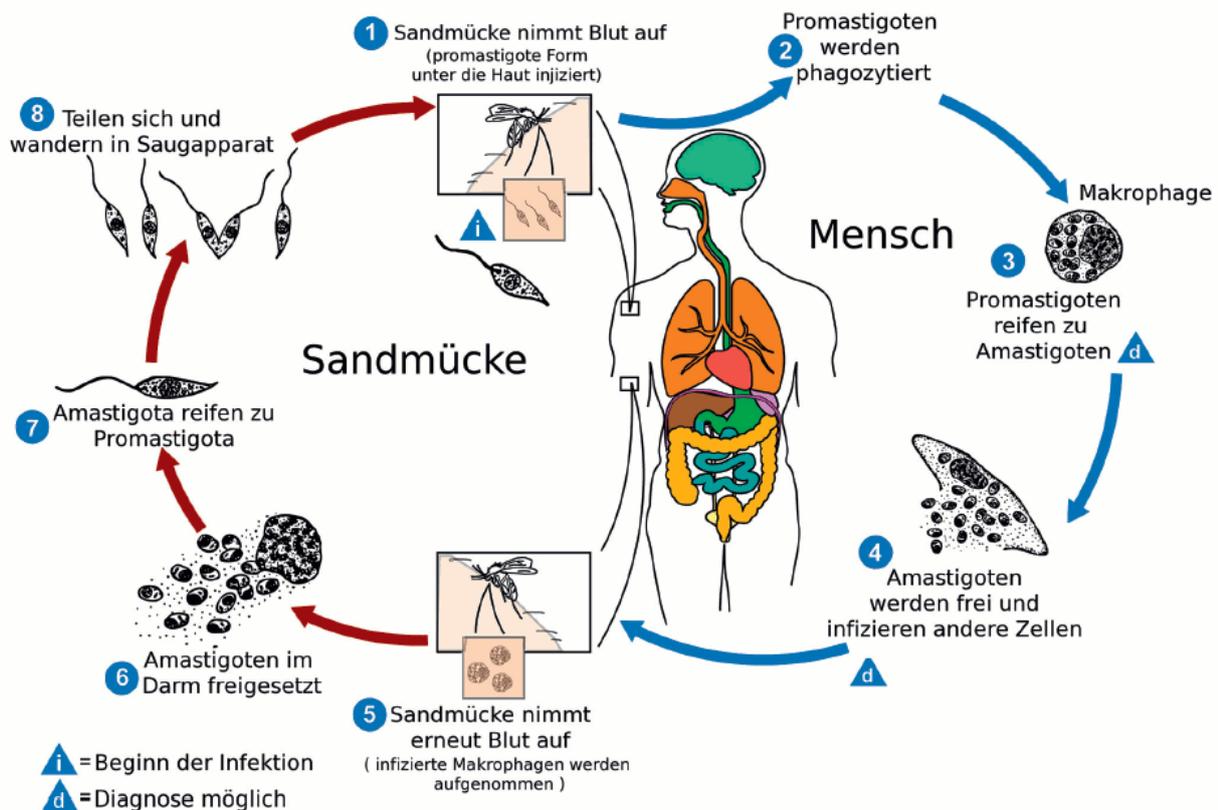


Abb. 6: Lebenszyklus von *Leishmania* spp. Die Leishmanien werden durch den Stich infizierter Sandmücken während der Blutmahlzeit auf den Wirt übertragen. Die Entwicklung von Promastigoten (mit Geißeln) in der Sandmücke (Vektor) ist rot dargestellt, die Entwicklung von Amastigoten (ohne Geißeln) im Wirbeltierwirt ist blau dargestellt. Modifiziert nach (Centers for Disease Control and Prevention, 2020a).

Die Sandmücken bleiben dann ihr komplettes Leben infektiös (Magill et al., 2012). Die infizierte Blutmahlzeit gelangt in den Mückendarm, und die *Leishmania*-Parasiten verwandeln sich innerhalb von 48 Stunden nach der Blutmahlzeit in Promastigoten. Es folgt die Vermehrung der Parasiten und die Transformation in eine hochinfektiöse Form, welche dann zum Rüssel wandert. Somit können Sandmücken das infektiöse Stadium der

Promastigoten während einer Blutmahlzeit auf einen Säugetier Wirt übertragen. Der Lebenszyklus der Parasiten ist damit geschlossen und kann aufs Neue beginnen (Dostálová und Volf, 2012). Promastigoten, die die Stichwunde erreichen, werden von Makrophagen und anderen Arten von mononukleären Phagozytenzellen phagozytiert (Walochnik und Aspöck, 2010). Unter natürlichen Bedingungen übertragen Sandmücken eine geringe Anzahl von Promastigoten (100–1000), die ausreichen, um eine Krankheit auszulösen (Ferrer et al., 1998).

1.5.2 Geographische Verbreitung der Leishmaniose

Das Vorkommen der Leishmaniose ist aufgeteilt in die neue und die alte Welt (22 Industrieländer und 66 Entwicklungsländer (Desjeux, 2001). Die Verbreitung der Leishmaniose beschränkt sich in der neuen Welt auf tropische und gemäßigte Regionen wie Zentral- und Südamerika (Abb. 7). Die Leishmaniose der Alten Welt bezieht sich auf Asien, Afrika und Südeuropa (Harms-Zwingenberger und Bienzle, 2007). Weltweit gibt es schätzungsweise 12 Mio. Prävalenz Fälle von Leishmaniose (Ashford, 2010). Von diesen Zahlen entsprechen etwa 1–1,5 Mio. Fälle der kutanen Leishmaniose und 500.000 Fälle der viszeralen Leishmaniose (World Health Organization, 1998). Neunzig Prozent der Fälle mit kutanen Formen der Leishmaniose treten in Ländern wie Afghanistan, Algerien, Brasilien, Iran, Peru, Saudi-Arabien und Syrien auf, während neunzig Prozent der Fälle von viszeraler Leishmaniose vorrangig in Bangladesch, Brasilien, Indien, Nepal und Sudan auftreten (World Health Organization, 2000). Im Jahre 1982 begann die epidemiologische Überwachung der Leishmaniose in Spanien, als diese in die Liste der meldepflichtigen Krankheiten (EDO) aufgenommen wurde. Seit 1993 wurde eine beträchtliche Zunahme der Fälle gemeldet. Eine Erhöhung der Exposition ist teilweise auf Umweltveränderungen, sowie die Verlagerung von Bevölkerungsgruppen aus endemischen Gebieten zurückzuführen (Ejov und Dagne, 2014). Es besteht Grund zur Annahme, dass die Zahl der Leishmaniose Fälle zunimmt (Seaman, 1996), jedoch als vernachlässigte Krankheit mit einer schwer erfassbaren Belastung in den meisten Ländern verweilt (Ejov und Dagne, 2014).

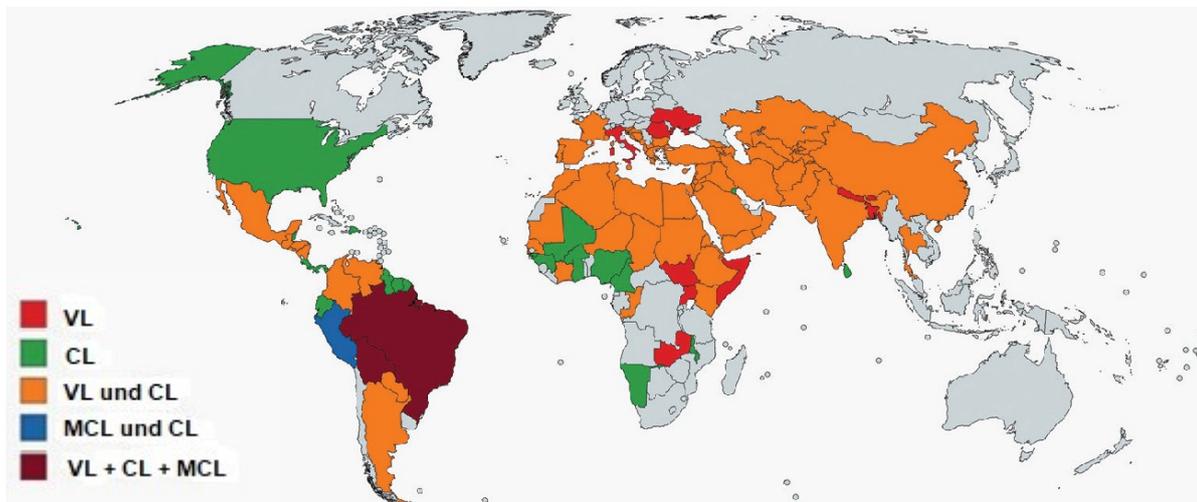


Abb. 7: Status der Endemie der Leishmaniose weltweit. Verbreitung der Leishmaniose beim Menschen. VL, Viszerale Leishmaniose; CL, Kutane Leishmaniose; MCL, Mukokutane Leishmaniose (Esteves et al., 2018).

1.5.3 Situation der Leishmaniose in Europa

In Deutschland ist Leishmaniose eine seltene, bisher nicht meldepflichtige Erkrankung. Leishmanien werden sporadisch durch infizierte Hunde oder Menschen nach Deutschland importiert, mit Schätzungen von ca. 50 humanen Fällen pro Jahr, jedoch mit unbekanntem Zahlen von infizierten Hunden (Ebert und Fleischer, 2005). Dies reduziert den Überblick über das Vorkommen, der Häufigkeit und Bedeutung der importierten Infektionen (Harms und Bienzle, 2000).

In Europa findet die Übertragung hauptsächlich durch *L. infantum* statt, das zur viszeralen bzw. kutanen Leishmaniose führen kann (Deutsche Gesellschaft für Tropenmedizin und Internationale Gesundheit und Paul-Ehrlich-Gesellschaft für Chemotherapie und der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft, 2010). Die kutane und viszerale Leishmaniose gelten in Teilen Westeuropas wie Portugal, Spanien, Frankreich und Italien als hoch endemisch. Auch konnte eine Ausbreitung in nördliche Regionen (Rossi et al., 2008) und bisher nicht als endemisch bekannte Gebiete beobachtet werden (Dereure et al., 2009, Ballart et al., 2012). Des Weiteren kam es zu autochthonen Fällen in anderen europäischen Ländern (Bogdan et al., 2001). Im Jahr 2018 wurden über 200 hauptsächlich aus Afrika und Amerika importierte Fälle gemeldet (World Health Organization, 2020). Im Mittelmeerraum ist die viszerale Leishmaniose die Hauptform, während sie in Griechenland und den umliegenden Ländern regelmäßiger zur kutanen Leishmaniose führt (Semenza und Suk, 2018).

Das Jahr 2001 führte zu einer Bestätigung eines Falles von menschlicher Leishmaniose in Deutschland bei einem Kind, welches zuvor keinen Aufenthalt in einem Land mit endemischem Vorkommen von Leishmaniose nachwies (Bogdan et al., 2001). Des Weiteren kam es zu einer kongenitalen Übertragung von Leishmanien von einer asymptomatischen Mutter auf das Kind (Meinecke, 1999). Im Jahr 1998/99 erkrankte ein Hund in Gehrweiler (Donnersbergkreis) (Naucke, 2007), mit dem Verdacht einer autochthonen Infektion. In der Nachbarschaft des Hundes lebte ein weiterer an Leishmaniose erkrankter Hund mit Ursprung aus der Türkei (Schmitt, 2002). Im Jahr 2001 erkrankte eine 4–5 Jahre alte Dogge aus Obereggenen, Baden-Württemberg an Leishmaniose, welcher im März 2002 verstarb. Nach Aussage der Besitzerin hat der Hund die Region nie verlassen (Steinhausen, 2005) und zur Infizierung kam es vermutlich in Freiburg, Deutschland (Deplazes et al., 2006). Auch gab es einen gemeldeten Fall bei einem Pferd (Koehler et al., 2002) und mehreren Hunden (Mencke, 2011, Gothe, 1991), bei denen die Anamnese möglicherweise auf eine autochthone Infektion innerhalb Deutschlands hinweist. Dies deutet darauf hin, dass in Deutschland nicht nur importierte Leishmaniosen vorkommen (Weitzel et al., 2005).

In Österreich konnte *L. infantum* in *Ph. mascittii* nahe der Grenze zur Slowakei nachgewiesen werden (Obwaller, 2016). Auf der italienischen Insel Montecristo konnten Leishmanien-Parasiten bei Ratten in Verbindung mit *Ph. mascittii* gefunden werden (Zanet et al., 2014). In den Niederlanden kam es bisher immer wieder zu importierten Leishmaniose-Fällen bei Hunden (Diaz-Espineira und Slappendel, 1997). Touristen kehren oft unwissend mit infizierten Hunden aus dem Mittelmeerraum nach Deutschland zurück. Darüber hinaus unterstützen mehrere Tierschutzorganisationen den Import von Hunden aus dem Mittelmeerraum (Ready, 2010). Nach aktuellen Schätzungen gibt es in Deutschland bereits mehr als 100.000 Leishmaniose-positive Hunde (Naucke, 2016). Innerhalb dieser Arbeit kam es zu vereinzelt Rückmeldungen von mit Leishmaniose erkrankten Hunden durch Privatpersonen, sowohl als auch eines Tierarztes in Rheinland-Pfalz, Edenkoben. Einige Hunde der Privatpersonen hatten ihren Ursprung im Mittelmeerraum, andere waren in Deutschland geboren, ohne wesentlichen Auslandsaufenthalt. Die meisten dieser Hunde waren zum Zeitpunkt des Gespräches bereits verstorben. Zusammenfassend zeigt sich, dass Leishmaniose als vernachlässigte Krankheit schlummert, in einigen Ländern Europas selten, in anderen jedoch endemisch, was große Auswirkungen auf den Einzelnen hat und das Potenzial, sich weiter auszubreiten. Die Krankheit und die jeweiligen Meldungen sollten

sowohl auf nationaler als auch auf transnationaler Ebene überdacht werden (Walochnik und Aspöck, 2010).

1.5.4 Leishmaniose und ihre Krankheitsbilder

Die Krankheit lässt sich in drei Hauptgruppen unterteilen (Stark et al., 2009). Der Ablauf der Symptome kann variieren. Es gibt still verlaufende Infektionen ohne Symptome oder viele Krankheitsbilder, die der geografischen Verbreitung der jeweiligen *Leishmania*-Arten zuzuordnen sind. Viele humane Infektionen verlaufen asymptomatisch und sind nur anhand spezifischer Antikörper zu erkennen. Solche reichen ohne Behandlung von lokal begrenzten, oft spontan abheilenden Läsionen, was bis zu zwei Jahre dauern kann, bis zur lebensgefährlich endenden manifesten Erkrankung (Naucke, 2007). Die klinische Ausprägung der Leishmaniose ist komplex und stark vom Zusammenspiel des Wirts, der Erreger Spezies, dem Vektor und den Umweltfaktoren abhängig. Entsprechende Therapeutika lassen sich folglich schwer entwickeln. Bisherige eingesetzte Therapeutika sind u.a. Amphotericin B. (Ashford, 2000) Es gibt bisher keine wirksamen Vakzine gegen Leishmaniose.

1.5.4.1 Kutane Leishmaniose (CL)

Die kutane Leishmaniose ist weltweit mit bis zu 1,2 Millionen Neuinfektionen jährlich die am weitesten verbreitete Form und verursacht Hautwunden (Alvar et al., 2012). Nach aktuellem Stand der WHO, tritt die Mehrzahl der Fälle unter anderem in Afghanistan, Algerien, Brasilien, Kolumbien, der Islamischen Republik Iran, Pakistan, Peru, Saudi-Arabien und der Arabischen Republik Syrien auf (World Health Organization, 2007). In Südeuropa ist *L. infantum* die häufigste Ursache für kutane Leishmaniose. Die klinischen Merkmale der kutanen Leishmaniose variieren tendenziell zwischen und innerhalb von Regionen (Deutsche Gesellschaft für Tropenmedizin und Internationale Gesundheit und Paul-Ehrlich-Gesellschaft für Chemotherapie und der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft, 2010). Abhängig vom regionalen Auftreten spricht man von einer Hautleishmaniose der „Neuen Welt“: Mittel- und Südamerika, oder der meist milder verlaufenden Hautleishmaniose in der "Alten Welt": Mittelmeerraum, arabischer Raum, Afrika, Indien (Tariverdian, 2021). Die Wunden entwickeln sich typischerweise innerhalb weniger Wochen oder Monate nach dem Sandmückenstich. Als Folge der Infektion durch die Einstichstelle der Sandmücke bilden sich zunächst eine Rötung und juckende Knötchen, welche durch die Vermehrung der

inokulierten Parasiten in den Makrophagen der Haut nach einer Inkubationszeit von wenigen Wochen bis hin zu Monaten (selten auch ein bis zwei Jahre) entstehen (Daubländer und Kämmerer, 2020, Walochnik und Aspöck, 2010). Die normalerweise schmerzlosen Wunden können sehr klein beginnen und als Geschwüre enden (wie ein Vulkan mit erhöhtem Rand und zentralen Krater), die auch von Schorf oder Krusten bedeckt sein können. Die Haut-Leishmaniose kann zu Hautläsionen im Gesicht, an Armen und Beinen führen (Abb. 8). Obwohl diese Form oft selbstheilend ist, kann sie begleitet sein von ernsthaften Behinderungen und bleibenden Narben sowie eine damit verbundene Stigmatisierung verursachen. Nach der Genesung oder erfolgreichen Behandlung induziert die kutane Leishmaniose meistens eine Immunität gegen eine erneute Infektion durch die Leishmanien-Spezies (World Health Organization, 2010a).

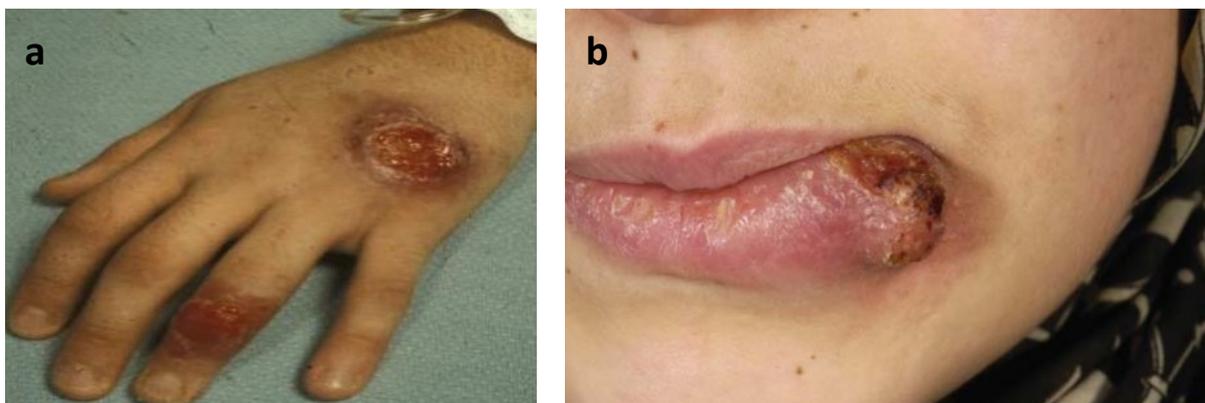


Abb. 8: Typische Läsion bei kutaner Leishmaniose. Kutane Leishmaniose in der Türkei (a) (Özgür, 2020), Verkrustete Läsion der Lippenschleimhaut (b) (Valesky et al., 2007).

Die diffuse Krankheitsform ähnelt schlecht abheilenden Läsionen wie der Lepra, die sich nur schwer behandeln lässt. Die Läsionen sind dabei nicht unbedingt beschränkt auf die Einstichstelle (Zahnärztliche Mitteilungen, 2015). Diese Form hängt im Großteil mit einem gestörten Immunsystem zusammen und ist häufig durch Rückfälle nach der Behandlung gekennzeichnet (Deutsche Gesellschaft für Tropenmedizin und Internationale Gesundheit und Paul-Ehrlich-Gesellschaft für Chemotherapie und der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft, 2010, Pearson, 2019).

1.5.4.2 Die mukokutane Leishmaniose (MCL)

Etwa 90 % aller Schleimhaut-Leishmaniosen kommen in Bolivien, Brasilien, Peru (Desjeux und Alvar, 2003) und Äthiopien (World Health Organization, 2020) vor und sind hauptsächlich durch *L. braziliensis* verursacht (Art der Untergattung *Viannia*). Die Schleimhaut-Leishmaniose wird auch als mukokutane Leishmaniose, bzw. auch Espundia oder Uta bezeichnet. Die Parasiten befallen dabei Haut und Schleimhäute und der Krankheitsverlauf ist schwerer als bei der kutanen Leishmaniose (Daubländer und Kämmerer, 2020).

1.5.4.3 Viszerale Leishmaniose (VL)

Die in Europa auftauchende viszerale Leishmaniose wird durch *L. infantum* verursacht (Maier, 2003), verläuft endemisch oder sporadisch (World Health Organization, 2010a) und ist auch als "Kala Azar" bekannt. Kommt es in Deutschland zu einer Diagnose, handelt es sich meist um importierte Fälle aus dem Mittelmeerraum. Symptome dieser Form sind unregelmäßiges Fieber, Gewichtsverlust, Hepatosplenomegalie (Forchhammer, 2017) sowie eine Anämie, Leukopenie oder Thrombopenie (Deutsche Gesellschaft für Tropenmedizin und Internationale Gesundheit und Paul-Ehrlich-Gesellschaft für Chemotherapie und der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft, 2016). Es ist die stärkste Form der Leishmaniose und verläuft unbehandelt, meistens tödlich. Die Inkubationszeit kann Monate oder Jahre betragen und befällt im Gegensatz zu den kutanen Formen die inneren Organe (lateinisch viscera: Eingeweide). Die meisten Fälle treten bei Kindern unter 10 Jahren auf, kommen aber auch bei jungen Erwachsenen vor. Bei einigen Menschen verläuft die Form asymptomatisch oder erholt sich spontan bei einem milden Verlauf. Zu den Risikofaktoren für das Fortschreiten dieser Form gehören Unterernährung, genetische Faktoren und andere Infektionskrankheiten sowie zunehmend HIV-Koinfektionen (World Health Organization, 2010a). Mit Leishmanien-HIV infizierte Menschen haben eine signifikante häufige beobachtete Wahrscheinlichkeit, die vollständige klinische Krankheit zu entwickeln mit einem meist schweren Verlauf mit einer hohen Rückfall- und Sterblichkeitsrate (Harms und Bienzle, 2000, Weitzel et al., 2005). Daher sind vor allem Kinder und Personen mit Immunsuppression im Falle einer Infektion stärker gefährdet (Kahle, 2021, Stark et al., 2009).

1.5.4.4 Harara

Harara (arabisch = Hitze) ist die Bezeichnung für eine allergische Reaktion des Menschen durch den Stich einer Sandmücke. Definieren lässt sich die Harara als heftige Reaktion und juckende Entzündung der Haut bei den Menschen, die häufig den Stichen der Sandmücke ausgesetzt sind und durch Toxine im Speichel der Sandmücke verursacht werden. Die Inzidenz dieser allergischen Hautreaktion ist im Nahen Osten weit verbreitet. Die Stiche von Sandmücken können mit Schmerzen verbundene, stark juckende Hautreaktionen hervorrufen, bei denen es oft durch pyogene Bakterien zu Sekundärinfektionen kommt und diese gelegentlich zu chronischen Schwellungen führen. Es kann zu einem schmerzhaften makulopapulösen Exanthem und kleinen Vesikeln kommen, die für mehrere Wochen bis Monate bestehen bleiben (Steinhausen, 2005). Später kommt es dann zu einer Desensibilisierung (Theodor, 1958). Die meisten Infektionen verhalten sich beim Menschen selbstlimitierend, daher gibt es bisher keine erprobte oder spezifische Therapie (Wiemer, 2019).

1.5.5 Erregerreservoir für Leishmanien

Als Reservoir Tiere für den Erreger *L. infantum* in Europa gelten Kleinsäuger und Hunde (Pozio et al., 1981, Fich, 1994, Aspöck et al., 2008a) sowie der Fuchs (Rioux et al., 1968). So stellen zahlreiche Wild- und Haustiere (z. B. Nagetiere, Füchse, Hunde und Katzen) ein Erregerreservoir als Zwischenwirt dar (Leishmaniose-Forum e.V., 2018). Der Hund gilt bisher im Mittelmeerraum und in Nordwestafrika als wichtigstes Erregerreservoir für die viszerale Leishmaniose (Obwaller et al., 2016, Naucke et al., 2014). Allein in der Mittelmeerregion sind ca. 2,5 Mio. Hunde mit Leishmanien infiziert (Leishmaniose-Forum e.V., 2018). Die Erkrankung beim Hund wird als canine Leishmaniose (CnL) bezeichnet. Im Gegensatz zu Füchsen erkrankten Hunde meist schwerer an dem parasitären Befall. Generell auffällig ist eine Mattigkeit, Lahmheit, zum Teil apathisches Verhalten, erschwerend durch Symptome wie Durchfall, Fieberschübe, Polyurie und Polydipsie, Anorexie sowie Geschwüre im Magen-Darm-Trakt und blutiger Kot (Leishmaniose-Forum e.V., 2018). Des Weiteren kommt es zur Hyperkeratose, zu einem auffallenden Krallenwachstum, Schuppenbildung und Ekzemen, kreisrundem Haarausfall um die Augen (Alopezie) sowie einer insgesamt schlechten Abheilung von Wunden (Naucke, 2008). Die parasitäre Erkrankung kann jahrelang unbemerkt bestehen oder äußert sich Monate nach der Infektion in recht unspezifischen, oft schubweise

auftretenden Symptomen, birgt jedoch Ansteckungsgefahr (Leishmaniose-Forum e.V., 2018). Streunende und hauptsächlich im Freien lebende Hunde sind besonders den Stichen der Mücken, die den potenziellen Erreger übertragen, ausgesetzt und größtenteils fehlt sämtlich medizinische Betreuung (Bundesverband für Tiergesundheit e.V., 2013).

Es gibt Untersuchungen, die darauf hinweisen, dass eine Übertragung über die Plazenta im Mutterleib einer an Leishmaniose erkrankten Hündin auf die Welpen möglich ist. Wichtig ist hierbei zu erwähnen, dass der Nachwuchs über Jahre Antikörper-negativ (Naucke, 2016), und es innerhalb des Wurfes einer infizierten Hündin sowohl infizierte als auch nicht infizierte Welpen geben kann (Bundesverband für Tiergesundheit e.V., 2013). Aktuellen Schätzungen zufolge leben über 100.000 Leishmaniose-positive Hunde in Deutschland (Naucke, 2016). Vor allem der Import aus endemischen Gebieten der Mittelmeerländer sowie osteuropäischen Staaten hat zu diesem Anstieg geführt (Weise, 2004). Ohne Behandlung sterben 90 Prozent der erkrankten Hunde innerhalb der ersten zwölf Monate. Überwiegend tritt der Tod infolge eines Nierenversagens (Niereninsuffizienz) ein (Bundesverband für Tiergesundheit e.V., 2013).

An Leishmaniose erkranken können auch Katzen, Pferde (EquL) und andere Säugetiere. Die feline Katzenleishmaniose (FL) ist schon sehr lange bekannt (Sergent et al., 1912), und stellt aufgrund des engen Kontakts mit Menschen ein Problem dar. Das klinische Erscheinungsbild bei Katzen zeigt sich ähnlich wie bei Hunden (LeishVet, 2018). Bekannte Leishmaniose-endemische Regionen bei Katzen beziehen sich hauptsächlich auf den mediterranen Raum (Cardoso et al., 2021). Als Vektor handelt es sich mehrheitlich um die Sandmücken Art *Ph. perniciosus*. Neben Säugetieren kann die Krankheit auch Vogelarten betreffen. Das Reservoir der Wildtiere trägt wahrscheinlich weniger zur zoonotischen Übertragung bei, mit Ausnahme von Hasen (Cardoso et al., 2021). Es gibt wenig Hinweise darauf, dass Nutztiere (Rinder, Schafe und Ziegen) mit *L. infantum* infiziert sind. Im Gegensatz dazu sind insbesondere Pferde ein größeres potenzielles Reservoir, was sich durch steigende Anzahl von Infektionen und Meldungen zeigt (Gazzonis et al., 2020). Aus veterinärmedizinischer Sicht sollten diese potenziellen Reservoirs mehr berücksichtigt und Tierärzte besser über die Leishmaniose informiert werden.

1.6 Weitere von Sandmücken übertragene Krankheitserreger

Im letzten Jahrzehnt sorgen mehrere durch Arthropoden übertragene Viren (Arboviren) für eine weltweite Verbreitung, die für neu auftretende und zurückkehrende Infektionskrankheiten von besonderer Bedeutung sind, und diese fördern (Kimmig et al., 2010a). Ein gravierendes, in den Vordergrund gerücktes Thema zeigt die Verbreitung von *Aedes albopictus*. Diese wird unter anderem durch den internationalen Handel und Lastwagenverkehr unwissend eingeschleppt, und ihre Populationen haben ihren Lauf genommen, welche folglich Kontrollmaßnahmen erfordert (Frank et al., 2014, Becker et al., 2017, Becker et al., 2022). Stechmücken gehören zu den Hauptvektoren für Arboviren und Parasiten (*Plasmodium* spp., *Dirofilaria* spp.). Von Vektoren übertragene Krankheiten (VBD) gewinnen weltweit immer mehr an Bedeutung durch die Gefahr einer Etablierung und geografischer Verbreitung in bisher nicht endemische Gebiete. Bei den Überträgern kann es sich um einheimische (endemische) oder um neu eingeschleppte (invasive) Spezies handeln (Frank et al., 2014, Centers for Disease and Control und Prevention, 2019). Sandmücken stellen einen weiteren potenziellen Vektor für Phleboviren (Familie Phenuiviridae) dar (Walochnik und Aspöck, 2010).

1.6.1 Bakterien

Sandmücken sind auch Überträger des Bakteriums *Bartonella bacilliformis*, dem Infektionserreger der bekannten Carrión-Krankheit oder Bartonellose. Die in Peru einheimische Art *Lu. Verrucarum* (Diptera: Psychodidae) ist ein natürlicher Vektor des Bakteriums *Bartonella bacilliformis* und in den Höhenlagen der Nachbarländer der Anden in Südamerika (einschließlich Ecuador, Kolumbien) auf einer Höhe von 600 bis 3200 m ü.d.M. endemisch (Caceres, 1993, Garcia-Quintanilla et al., 2019). Die Übertragungskapazität einer anderen Sandmückenart wird vermutet, bisher aber nicht bewiesen (Maroli et al., 2013). Bislang wurde nur der Mensch als Reservoir identifiziert. Infektionen verlaufen in der Regel zuerst mit dem potenziell lebensbedrohlichen "Oroya-Fieber", bei dem ohne Behandlung eine Letalitätsrate von bis zu 80 % berichtet wird. Die zweite chronische Phase zeigt sich in Form von Hautläsionen, die als "Verruga peruana" oder „peruanische Warzen“ bekannt sind. Diese können auch ohne die klinischen Symptome des "Oroya-Fieber" auftreten (Eremeeva et al., 2007, Maguiña Vargas et al., 2008, Minnick et al., 2014). Vor kurzem wurde die DNA von

B. bacilliformis in *Amblyomma*- und *Rhipicephalus*-Zecken nachgewiesen. Die Rolle dieser Zeckenarten als potenzielle Vektoren und Säugetiere als Reservoir ist jedoch nach wie vor unbekannt und bedarf dringend weiterer Studien (Silva-Caso et al., 2018).

1.6.2 Arthropoden-übertragene Viren (Arboviren)

Arboviren gehören zu sieben verschiedenen Virusordnungen, von denen die Familien Flaviviridae (z. B. Dengue-Virus (DENV), Gelbfieber-Virus (YFV), Zika-Virus (ZIKV), Frühsommer-Meningoenzephalitis-Virus (FSMEV), Peribunyaviridae (Hämorrhagisches Krim-Kongo-Fieber-Virus (CCHFV)), Phenuiviridae ((z. B. Riftalfieber-Phlebovirus (RVFV)) und Togaviridae (z. B. Chikungunya-Virus (CHIKV), Sindbis-Virus (SINV)) zu den medizinisch relevantesten Arboviren zählen (Gubler, 2001).

Viren der Gattung Phlebovirus (Ordnung Bunyavirales, Familie Phenuiviridae) gehören zu der bedeutendsten Gruppe der von Sandmücken übertragbaren Arboviren (Dobler und Aspöck, 2010). Hauptsächlich treten Infektionen mit Phleboviren bisher vorrangig im Mittelmeerraum auf (Charrel et al., 2005, Charrel et al., 2012). In Verbindung mit Klimaveränderungen werden sich Phleboviren in den kommenden Jahrzehnten vermutlich auch weiter ausbreiten und stellen somit eine nicht abschätzbare Bedrohung dar (Moriconi et al., 2017). Die meisten Arboviren sind zoonotisch und haben verschiedene Wirbeltiere als Wirte. Jedoch spielt der Mensch keine zentrale Rolle in diesen Übertragungszyklen aufgrund ökologischer oder physiologischer (geringe Virämie) Faktoren und wird als Endwirt betrachtet (Kniha, 2021). Die häufigsten Phleboviren in Europa stellt das Sandmückenvirus dar, welches das relevante Toskana-Virus umfasst (Depaquit et al., 2010). Entdeckt wurde der Zusammenhang zwischen dieser grippeähnlichen Erkrankung und Sandmücken im Jahr 1905 (Nicoletti et al., 1996). Das Toskana-Virus wurde im Jahr 1971 in *Ph. perniciosus* und *Ph. perfiliewi* in Italien isoliert und in anderen Mittelmeerländern nachgewiesen (Charrel et al., 2005, Charrel et al., 2012, Verani et al., 1988, Soldan und González-Scarano, 2014).

Der Subtyp TOSV ist der weitaus häufigste Erreger und besitzt das größte Verbreitungsgebiet, während die anderen Subtypen lokal begrenzt auftreten. Innerhalb des Subtypus Toskana-Virus werden drei Serotypen unterschieden, die nach ihrem ursprünglichen Entdeckungsort Toskana (T), Sizilien (S) und Neapel (N) benannt sind und geographisch unterschiedliches Verteilungsmuster aufweisen. Das natürliche Säugetier Reservoir für das TOSV ist bisher unbekannt. Hinweise führen jedoch zurück zu verschiedenen Nagetieren und Fledermäusen

als möglicher Primärwirt, möglicherweise auch Schafe, Ziegen und Rinder (Verani et al., 1988). Die Prävalenz von Antikörpern gegen das Toskana-Virus zeigt sich in endemischen Gebieten hoch (bis zu 25 %), was darauf hindeutet, dass asymptomatische Infektionen im Mittelmeerraum häufig sind (Soldan und González-Scarano, 2014). Die verschiedenen Virenstämme weisen unterschiedliche Virulenz auf, was folglich zu unterschiedlichen Erkrankungen führt. Betroffene sind vor allem Kinder und Touristen, die noch keine Immunität gegenüber dieser Infektion aufweisen (Kimmig et al., 2010a). Das Sandmückenfieber-Virus verursacht das sogenannte Pappataci-Fieber mit Vorkommen im Mittelmeerraum, in Mittelasien bis nach Indien und in Südamerika (Comanion Vectorborne Diseases (CVBD), 2020). Die Symptome reichen von Fieber, Kopfschmerzen, Myalgien und Unwohlsein und klingen in der Regel innerhalb einer Woche vollständig ab (Bartels et al., 2012). Infektionen mit dem Sandmückenfieber Sizilianisches Virus und Sandmückenfieber Neapel Virus zeigen sich jedoch, selbst wenn sie mild verlaufen, für die akute Infektionszeit der Patienten meistens als hoch belastend (Depaquit et al., 2010).

Die Toskana-Virus (TOSV) Infektion verläuft zum Teil asymptomatisch, ist jedoch neurovirulent, was bedeutet, dass es einen starken Tropismus für das Zentralnervensystem (ZNS) darstellt (Alkan et al., 2013, Venturi et al., 2007, Jaijakul et al., 2012). In Ländern, in denen dieses Virus zirkuliert, kann es zur aseptischen Meningitis und Enzephalitis führen (Punda-Polić et al., 2012). In Europa wurden im letzten Jahrzehnt mehrere Phleboviren entdeckt (Calzolari et al., 2018, Remoli et al., 2016, Charrel et al., 2009, Amaro et al., 2015). Weiter gab es neben Italien und Portugal Meldungen von neuroinvasiven Infektionen für das Naples-Virus in Spanien und Zypern (Jancarova et al., 2019, Cusi et al., 2010). Auch in verschiedenen Gebieten von Kroatien, bei denen zuvor keine Informationen zur TOSV-Verbreitung vorlagen, konnte die Prävalenz von TOSV-Antikörpern bei gesunder Bevölkerung erstmals bestimmt werden (Punda-Polić et al., 2012). Aseptische Fälle von Meningitis, die mit dem TOSV assoziiert sind, treten häufig in den Sommermonaten auf und erreichen ihren Höhepunkt meistens im August, was mit dem Lebenszyklus von *Ph. perniciosus* und *Ph. perfiliewi* korreliert. Eine serologische Studie über virale Meningitis in der südlichen Toskana zeigte, dass 81 % der viralen Meningitisfälle durch eine Infektion mit dem TOSV verursacht wurden. Darüber hinaus wurde von mehreren Fällen einer TOSV-Meningitis bei Reisenden berichtet, die aus endemischen Gebieten zurückkehrten. Die Neuropathogenese des TOSV ist spärlich untersucht (Soldan und González-Scarano, 2014). Im Jahr 2010 wurden in

Süddeutschland Infektionen mit dem humanen TOSV bei 6,6 % (n=150) Fällen unbekannter Ätiologie festgestellt (Kimmig et al., 2010a). Des Weiteren zeigen Ergebnisse einer im Jahr 2021 veröffentlichten deutschen Kohortenstudie in Südwestdeutschland humane Fälle von TOSV-neuroinvasiver Erkrankung mit Meningoenzephalitis, mit dem Verdacht auf autochthone Infektionen (Dersch et al., 2021). Eine geografische Verbreitung des TOSV zeigt sich deutlich in den letzten Jahren durch Ergebnisse von Virusisolierungen und serologischen Untersuchungen im mediterranen Raum u. a. Frankreich, sowie eine Ausdehnung in Länder wie Slowenien, Griechenland, und die Türkei. Obwohl das TOSV eine deutliche Zunahme zeigt und eine weitere Rolle bei der Gesundheitsgefährdung des Menschen einnimmt, bleibt es bisher wenig untersucht und teilweise unentdeckt. Es scheint, dass Mediziner sich des Potenzials der ZNS-Infektionen durch TOSV noch wenig bewusst sind (Charrel et al., 2005). Weitere Studien, einschließlich klinischer, virologischer und entomologischer Untersuchungen, sind erforderlich, um das TOSV im Rahmen der öffentlichen Gesundheit in Zukunft besser aufzuklären. Es ist empfehlenswert, dass auch Ärzte und Mediziner diese Thematik überdenken, um entsprechende Symptome, wie eine aseptische Meningitis in der Sommerzeit, als Möglichkeit einer Infektion mit dem TOSV ausschließen zu können (Punda-Polić et al., 2012).

1.6.2.1 Flaviviridae

Die Familie der Flaviviridae unterteilt sich in 4 Gattungen: die Flaviviren, die Pestiviren, die Hepaciviren und die Pegiviren. Im Durchschnitt bestehen die Flaviviridae aus einer kugelförmig umhüllten einsträngigen RNA mit einer Größe von 40–60 nm. Die Gattung der Flaviviren besitzt mehr als 60 Serotypen (Simmonds et al., 2017), und 53 valide Spezies (z. B. Dengue-Virus, West-Nil-Fieber-Virus, Japanische-Encephalitis-Virus, St. Louis-Encephalitis-Virus und auch das der Familie ihren historischen Namen gebende Gelbfieber-Virus (flavus lat. gelb). Als Vektor für die Übertragung von Flaviviren zählen hauptsächlich Stechmücken und Zecken. Sie sind weltweit zu finden, außer in der Antarktis. Anhand serologischer Kreuzreaktion Tests kann man die Gattung Flaviviridae in acht Antigengruppen einteilen, die sich aufgrund ihres Verbreitungsgebietes unterscheiden (Walentiny, 2012). Es gibt Nachweise von reinen Insekten-Flaviviren, die bisher in einer Vielzahl von Stechmückenarten isoliert werden konnten. Untersuchungen in Sandmücken auf das Vorhandensein von Flaviviren, einschließlich reiner Insekten Flaviviren, konnten bereits in Algerien in *Ph. perniciosus* gezeigt

werden. Dies ist eine der wenigen Beschreibungen von Phlebotomen-assoziierten Flaviviren (Moureau et al., 2010). Möglicherweise sind andere Arten zutreffend, jedoch zum jetzigen Zeitpunkt nicht genauer bekannt. Erste Isolierungen von Flaviviren aus Sandmücken konnten bereits in Westafrika gezeigt werden (Fontenille et al., 1994). Weiter wurde die RNA von humanpathogenen Flaviviren aus Sandmücken isoliert und nachgewiesen. Zur Humanpathogenität dieser Flaviviren ist bisher nichts bekannt und daher vermutlich als nicht medizinisch relevant angesehen (Hukić et al., 2020).

1.6.2.2 Bunyavirales

Die Ordnung Bunyavirales umfasst die größte Familie der RNA-Viren und besteht aus 14 Virusfamilien (<https://talk.ictvonline.org/taxonomy>). Alle diese Viren sind größtenteils einheitlich kugelförmig, 80–110 nm groß, besitzen eine einheitliche Membranhülle, das Genom besteht aus drei einzelsträngigen RNAs mit negativer oder gemischter Polarität. Sie besitzen vier Strukturproteine: zwei äußere Hüllproteine Gc und Gn, kodiert von dem M-Segment (medium), und zwei innere Proteine, das Nucleokapsidprotein kodiert von dem S-Segment (small), und die virale RNA Polymerase kodiert vom L-Segment (large) (Bishop et al., 1980).

1.6.3 Phenuiviridae

Die Phleboviren (Familie: Phenuiviridae, Gattung: Phlebovirus) sind die medizinisch wichtigsten und vielfältigsten durch Sandmücken übertragenen Viren. Die Gattung Phlebovirus enthält derzeit etwa 66 Phlebovirus-Arten und 33 Verdachtsarten (Elliott und Brennan, 2014, Marklewitz et al., 2019). Die Übertragung durch andere Arthropoden wie Stechmücken und Zecken ist möglich. Mit Ausnahme von Australien sind Phleboviren auf allen Kontinenten verbreitet. Bereits im 19. Jh. wurden im mediterranen Raum Krankheiten bekannt, die durch die Sandmücke übertragen wurden (Kallio-Kokko et al., 2005). Neben humanen Fällen, ließen sich auch Infektionen durch Nutztiere in Afrika häufig auf Phleboviren zurückführen (Swanepoel et al., 1986). Zu den wichtigsten Phleboviren gehören das Rift-Valley-Fieber-Virus (RVFV) und das Sandmückenfieber-Virus (Nicoletti und Ciufolini, 2008). Die pathogene Kapazität von Phleboviren kann teilweise erst nach Jahren festgestellt werden. Die Fähigkeit des TOSV, Krankheiten zu verursachen, wurde erst etwa fünfzehn Jahre nach der ersten Isolierung des Virus entdeckt (Calisher et al., 1987). Des Weiteren

können sich Phleboviren auch in einer Vielfalt zeigen, in dem sie zirkulieren, was auf Interaktionen zwischen ihnen hindeutet und eine komplexe Situation für ihre korrekte Identifizierung darstellen kann. Die Kozirkulation verschiedener Phleboviren scheint üblich zu sein. Möglicherweise stellen Sandmücken selbst das primäre Erregerreservoir für Phleboviren dar. Dazu scheint die Biodynamik von Sandmückenpopulationen eine relevante Rolle zu spielen. Dies unterstreicht die Notwendigkeit detaillierter Untersuchungen zur Charakterisierung dieser Viren, um ihr pathogenes Potenzial besser zu analysieren (Calzolari et al., 2018).

1.6.3.1 Von Sandmücken übertragene humanpathogene Phleboviren

Die wichtigsten medizinisch relevanten durch Sandmücken übertragene Phleboviren berücksichtigen das relevante TOSV, das Sandmückenfieber Neapel Virus (SFNV) und Sandmückenfieber Sizilien-Virus (SFSV), die zu den serologischen Komplexen Sandmückenfieber-Neapel Serokomplex gehören (Depaquit et al., 2010) (Tab. 1).

Während der letzten ICTV-Taxonomie-Berichterstattung im Jahr 2011, wurde die Gattung Phlebovirus kürzlich vollständig überarbeitet. Derzeit sind 66 Phlebovirus-Arten online aufgeführt (<https://talk.ictvonline.org/taxonomy/>). Zu den wichtigsten Änderungen in der Taxonomie gehört die Änderung der Familie Bunyaviridae innerhalb der neuen Ordnung Bunyavirales, die Einführung der neuen Familie Phenuiviridae, die Streichung des Rift-Valley-Fieber-Virus (RVFV) als Typusart sowie eine obligate Änderung der Nomenklatur für alle Phleboviren von "Virus" zu "Phlebovirus (z. B. "Toskana-Virus" in "Toskana-Phlebovirus")".

Tab. 1: Von Sandmücken medizinisch relevante übertragene humanpathogene Phleboviren (Familie: Phenuiviridae, Gattung: Phlebovirus) in Europa.

Phlebovirus	Natürliches Reservoir	Symptomatik beim Menschen	Verbreitung
Neapel-Phlebovirus	<i>Phlebotomus</i> spp.	Grippe-ähnliche Symptome, Kopfschmerzen, Fieber, Schüttelfrost, Übelkeit	Mediterraner Raum, Naher Osten, Zentralasien, Europa, Nordafrika
Toskana-Phlebovirus	<i>Phlebotomus</i> spp.	Grippe-ähnliche Symptome, Kopfschmerzen, Fieber, Schüttelfrost, Übelkeit, Meningitis, Meningoenzephalitis	Mediterraner Raum, sporadisch Mitteleuropa, Zentralasien, Europa, Nordafrika
Sizilianisches-Phlebovirus	<i>Phlebotomus</i> spp.	Grippe-ähnliche Symptome, Kopfschmerzen, Fieber, Schüttelfrost, Übelkeit	Mediterraner Raum, Naher Osten, Zentralasien, Europa, Nordafrika

1.7 Klimaveränderungen und Auswirkungen auf das Vorkommen von Sandmücken

Das Klima und seine Veränderung haben sich in den zurückliegenden Jahren durch eine deutliche Erwärmung bemerkbar gemacht und zukünftig ist mit steigenden Durchschnittstemperaturen zu rechnen. Eine globale Klimaerwärmung lässt sich besonders bis zum Ende des 21. Jh. nachweisen, was eine erhebliche Temperaturerhöhung gegenüber dem 20. Jh. vermuten lässt (Kromp-Kolb und Formayer, 2005). Seit 1900 kam es zu einem globalen Temperaturanstieg um $0,7\text{ °C}$ ($\pm 0,2\text{ °C}$). Bis zum Jahr 2100 wird je nach Region von einem mittleren globalen Temperaturanstieg zwischen $1,8\text{ °C}$ und $4,0\text{ °C}$ ausgegangen. Der durchschnittliche Temperaturanstieg in Europa betrug bis 2012 ca. $+1,3\text{ °C}$ gegenüber der vorindustriellen Zeit (Umweltbundesamt, 2021, Heimfarth, 2018). Die europäischen Durchschnittstemperaturen im Sommer wurden in den letzten 30 Jahren (1986–2015) anomal hoch eingestuft (Luterbacher et al., 2016).

Extrem heiße Tage (Tage mit Temperaturen über 30 °C) tropische Nächte und Hitzewellen haben sich seit den 1950er Jahren gehäuft, während extreme Klimaereignisse, wie Frost und Kälteperioden seltener geworden sind (Deutscher Wetterdienst, 2020, Kovats, 2014, Umweltbundesamt, 2021). Dies zieht nach sich, dass auch der Flusswasserstand in Nordeuropa zunehmend hoch ist, es aber auch in Südeuropa zu Trockenperioden kommt. Die mittlere Windgeschwindigkeit hat in Europa abgenommen (Umweltagentur, 2016, Heimfarth, 2018). Aktuellen Berichten des IPCC zufolge ist die aktuelle globale Erderwärmung bei $1,5\text{ °C}$. In Deutschland verhält sich der Anstieg bei $2,5\text{--}3,5\text{ °C}$ (Roeckner und Jacob, 2008, Intergovernmental Panel on Climate Change, 2007). Eine solche Temperaturänderung erfolgt mit einer Schnelligkeit, wie sie niemals zuvor beobachtet wurde.

Eine deutliche Zunahme des Temperaturanstiegs ist in den letzten Jahrzehnten erkennbar. Die Darstellung des linearen Trends dient der Veranschaulichung der langfristigen Entwicklung (Abb. 9). Seit 2014 lagen die Werte alle deutlich oberhalb der linearen Trendlinie. Der lineare Trend über den Zeitraum 1881 bis 2019 betrug $+1,6\text{ Kelvin [K]}$ (Kaspar et al., 2020). Renommierte Wissenschaftler, wie W. Jackson Davis, einem Mitverfasser des Kioto-Protokolls, sehen die überwiegend auf die Zeit nach 1880 beschränkte Klimaanalyse und Modellierung mit einigen Schwächen: Nicht beachtet werden oft die schwer in die Modelle integrierbaren natürlichen klimatischen Zyklen, die über die Eiskern-Analysen über 425 Mio. Jahre durch Daten belegt sind. Dem 200-Jahre Zyklus, der ca. 1850 seinen tiefsten Temperaturwert erreichte (kleine Eiszeit), folgte parallel zur Phase der Industrialisierung ein

natürlicher Anstieg, der bis 2050 etwa anhalten könnte. Die Erfassung der Interaktionen vom Meerwasser, CO₂-Entwicklungen und Temperaturschwankungen sind ebenfalls in den Klimamodellen noch nicht ausreichend integriert. So kam es 2016 infolge des El Nino zu einem globalen Temperaturanstieg von 0,6 °C, der aber im Folgejahr schon wieder mehr als neutralisiert wurde (Davis, 2017).

Die geografische Verbreitung der Vektoren, wie auch das Vorkommen der als Reservoir dienenden Wirte, werden durch klimatische Temperaturgrenzen maßgebend bestimmt. Zudem replizieren viele Pathogene nur innerhalb einer bestimmten Temperaturspanne in ihrem Vektor. Folglich nimmt dies Einfluss auf zukünftige Generationen von Arthropoden, in welcher Frequenz diese aufeinanderfolgen und in welcher Populationsdichte (Becker, 2008). Durch eine zunehmende Erwärmung ist auch in Deutschland mit einer weiteren Ausbreitung vorhandener Arthropoden und ggf. mit einer Neueinschleppung neuer Arten zu rechnen (Fischer et al., 2010b, Gálvez et al., 2011). Dies bietet neuen Lebensraum und begünstigt somit ebenfalls die Etablierung und Ausbreitung von Krankheitserregern in Deutschland (Kimmig et al., 2010a).

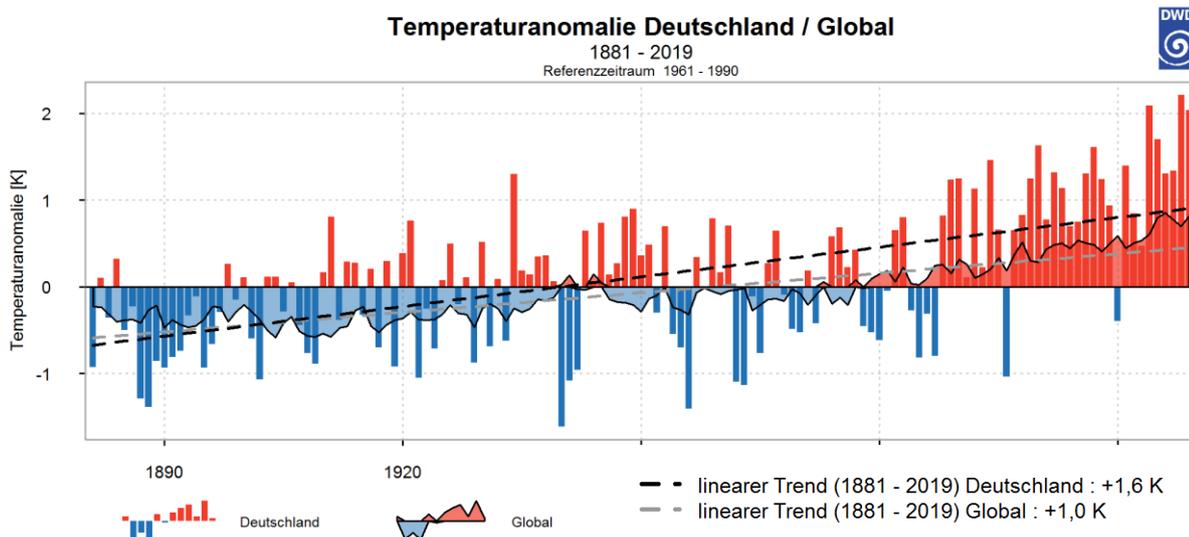


Abb. 9: Temperaturentwicklung in Deutschland (DWD) und weltweit (NOAA) im Zeitraum 1881 bis 2019 (Kaspar et al., 2020).

2 Material und Methoden

2.1 Untersuchungszeitraum und Auswahl des Fanggebietes

Die entomologische Untersuchung wurde in den Bundesländern Baden-Württemberg (BW) und Rheinland-Pfalz (RLP) im Zeitraum August 2015 bis September 2018 durchgeführt. Die Untersuchung erfolgte mit Hilfe von CDC-Lichtfallen (Typ #512, Bioquip, CA). Basierend auf der Information bereits bekannter Standorte konnte im Jahr 2015 durch eine erste Beprobung das Vorkommen von Sandmücken in Baden-Württemberg erneut bestätigt werden. Sechs bekannte Fundstellen mit etablierten Sandmückenpopulationen wurden ausgewählt. Zwei davon waren völlig neu, befanden sich jedoch in unmittelbarer Nähe zu vier bekannten Standorten. In den folgenden Jahren erfolgte die Auswahl der Standorte unter den folgenden zwei Bedingungen: Standorte, die bereits in früheren Studien untersucht wurden, und neu ausgewählte Standorte mit potenziell günstigen Umwelt- und Klimabedingungen (an drei aufeinanderfolgenden Nächten eine Mindesttemperatur von 15 °C) (Steinhausen, 2005). Die wichtigsten Faktoren bezogen sich auf alte Scheunen, bevorzugt mit unbetoniertem Boden und Windschutz. In den meisten Fällen wurden die Scheunen als Lager von großen Geräten genutzt, waren größtenteils unbenutzt und sorgten daher für eine ruhige Umgebung. Im Jahr 2016 wurde das Untersuchungsgebiet neben BW auf das Bundesland RLP ausgedehnt, unter anderem das Gebiet, in dem *Ph. perniciosus* im Jahr 2001 gefangen wurde. Im Jahr 2017 wurde in RLP weitläufiger nach neuen Standorten gesucht. Im Jahr 2018 war der Fokus auf positive Standorte gerichtet, welche mit einer erhöhten Frequenz untersucht wurden, um die Wahrscheinlichkeit der Detektion von potenziellen Pathogenen zu erhöhen.

2.1.1 Auffinden geeigneter Standorte

Um in den jeweiligen Standorten die Fallen anbringen zu können, mussten vorher die Gegebenheiten gesichtet und vorab die Zustimmung der Eigentümer bzw. Ansprechpersonen eingeholt werden. Um die Bürger und Interessengruppen zu erreichen bzw. Informationen über geeignete Gebäude zu erhalten, wurde im Jahr 2016 ein Informationsblatt angefertigt. Dieses wurde in Gesundheitsämtern, Gemeindeverwaltungen und Arzt- sowie Tierarztpraxen ausgelegt. Darüber hinaus wurden lokale Gesundheitsbehörden und Kommunen informiert, sowie Anzeigen in lokalen Zeitungen geschaltet. Die Bürger wurden gebeten, potenzielle

Gegebenheiten für Sandmücken zu melden, deren erforderliche Bedingungen im Informationsblatt beschrieben wurden. Um das Vorkommen von Sandmücken an ausgewählten Privatgrundstücken überprüfen zu können, musste vorerst die Zustimmung der Eigentümer erfolgen. Die meisten Genehmigungen erfolgten in mündlicher Form, ausgenommen einzelne Gebiete im Wald in Zuständigkeit der jeweiligen Forstämter. Nach entsprechenden Besichtigungen der jeweiligen Standorte konnte durch das jeweils persönliche Gespräch entschieden werden, ob der Standort für die Beprobung geeignet war. Allgemein wurde das Vorhaben mit meist positiver Reaktion und Akzeptanz durch die Bewohner angenommen und ermöglicht. Das Untersuchungsgebiet in BW wird als Markgräflerland bezeichnet und liegt im äußersten Südwesten Deutschlands, grenzt im Westen an Frankreich und im Süden an die Schweiz. Das Untersuchungsgebiet von RLP befindet sich an der Südlichen Weinstraße und grenzt an Frankreich, die Region Elsass. Darüber hinaus wurden bereits bekannte Dörfer und deren Umgebung aus Vorstudien im Donnersbergkreis, Gehrweiler (49°35'N, 7°46'E, 250 m ü.d.M) und im Landkreis Kusel in Nantzdietzweiler untersucht (Abb 10).



Abb. 10: Übersichtskarte der untersuchten Bundesländer in Südwestdeutschland. Landkarte Deutschland (Topographische Karte)(Weltkarte, 2021).

2.2 Methoden zum Fang von Sandmücken

Über die Verhaltensweisen von Sandmücken ist allgemein und vor allem in Deutschland bisher noch sehr wenig bekannt. Aufgrund dessen wurden im Zuge dieser Untersuchungen ausschließlich die effektivsten und gängigsten Methoden (Schmitt, 2002) zum Fang von Sandmücken eingesetzt.

2.2.1 Fang mit Lichtfallen

Die am weitesten verbreitete Fangmethode ist eine batteriebetriebene (Akku) Lichtfalle, die Sandmücken mit einem gelb-orangen Licht anlockt und sich zum Fang der Art *Ph. mascittii* bewährt hat (Killick-Kendrick, 1987). Entwickelt wurden die Fallen durch den „Centers for Disease Control and Prevention, USA (CDC-Traps). Die Lichtfallen ziehen wirtssuchende Sandmücken an, aber auch gravide Weibchen und Männchen. Der Apparat besteht aus einem Plexiglaszylinder, an dessen oberem Ende sich eine integrierte Lichtquelle (Glühbirne) und am unteren Ende ein Ventilator befindet (Abb. 11). Mit Hilfe eines kleinen Motors wird durch den Ventilator ein Unterdruck erzeugt, durch den die Sandmücken und auch andere photophile Insekten in das darunter befindliche Fangnetz eingesogen werden (Maßberg, 2008). Das Fangnetz besteht aus einem ca. 25 cm langen Sack aus sehr feiner kleinmaschiger Gaze (Maschenweite unter $0,5 \times 0,5$ mm). Damit wird das Entkommen der sehr kleinen Individuen verhindert. Der Durchmesser der Unterseite der Fangsäcke beträgt etwa 20 cm, die Höhe etwa 40 cm. Die Öffnung des Fangnetzes wird am unteren Ende der Falle mit einem Gummi leicht übergestülpt. Betrieben werden die Lichtfallen mit handelsüblichen, wiederaufladbaren Gel-Blei-Säure-Akkus mit einer Betriebsspannung von 6 Volt Gleichstrom. Die Fallenanzahl sowie der Abstand wurden je nach Zustand und Größe des Standortes angepasst. Die Fangergebnisse errechnen sich aus der Anzahl der Sandmücken pro Falle und Nacht.



Abb. 11: Lichtfalle vom Typ CDC Miniature Light Trap (Bioquip, CA).

2.2.2 Klebepapierfallen

Klebefallen fangen Sandmücken eher durch das Abfangen als durch Anziehung. Die sogenannten Klebepapierfallen sind günstig und sehr einfach selbst zu erstellen (standardmäßiges weißes, mit Rizinusöl beschichtetes DIN-A4-Papier). Das Papier wurde vor dem Einsatz mindestens an zwei oder drei aufeinanderfolgenden Tagen mit Rizinusöl

beschichtet (Abb. 12). Die Fallen wurden für 24 h am Fangabend in geeignete Wandlöcher gestellt oder am Boden in der Nähe der Lichtfalle fixiert, sodass eine oder beide Seiten des Papiers vollständig freigelegt waren. Pro Standort wurden in einzelnen Fangnächten etwa zwei Klebefallen ausgelegt. Bei dieser Methode werden ausschließlich tote Individuen gesammelt. Anhaftende Sandmücken wurden am Morgen mit einem kleinen Pinsel vorsichtig abgesammelt und in ein 1,5 ml Eppendorf Probenröhrchen überführt.

2.2.3 Zusatz von Lockstoffen

Vorhandene Arbeiten über Lockstoffe und Stimulanzen (Elnaiem et al., 2020), unterstützen die Hypothese, dass die Eiablage gravider Weibchen nicht wahllos erfolgt. Die teils aus Fäkalien von Hühnern oder Kaninchen stammenden Verbindungen (Dougherty et al., 1995), verbessern diese sogar, sowohl können sie nützlich sein in Bezug auf das Wachstum und Überleben der Larven (Marayati et al., 2015).



Abb. 12: Klebepapierfalle.

Außerdem benötigen sowohl männliche als auch weibliche Sandmücken Kohlenhydrate (Zucker) als Energiequelle. Im Jahr 2017 wurde durch das Angebot von leicht gegorenen Aprikosen als Zuckerquelle, CO₂, sowie dem Lockstoff (E)-oct-3-en-1-ol (Octenol) (National Library of Medicine, 2021) versucht eine erhöhte Anziehung von Sandmücken Weibchen zu erreichen. Experimente, die sowohl im Feld als auch unter Laborbedingungen mit Octenol durchgeführt wurden, zeigten positive Ergebnisse (Tavares et al., 2018). An mehreren Standorten wurden zusätzlich Lockstoffe wie Octenol, CO₂ und leicht vergorene Aprikosen ausgelegt. Octenol ist ein von der Environmental Protection Agency (EPA) registrierter sekundärer Lockstoff, der den menschlichen Atem imitiert. Er wurde erfolgreich zur Anlockung von männlichen und weiblichen Spezies *L. longipalpis* angewandt (Magalhães-Junior et al., 2014, Gallagher et al., 2008, Prada et al., 2010). Octenol ist aus der U.S. Food and Drug Administration als Lebensmittelzusatzstoff zugelassen. Er ist von mäßiger Toxizität mit einer LD50 von 340 mg/kg (MosquitoMagnet, 2017). CO₂ dient, wie bei der Anwendung

zur Anlockung von Stechmücken in EkoVS-Traps auch als Lockstoff, der den menschlichen Atem und den Ausstoß von CO₂ imitiert. Der Einsatz von CO₂, in Form von ca. 0,3 kg Trockeneis wurde im Jahr 2017 randomisiert zusätzlich zur CDC-Lichtfalle an folgenden Standorten angewandt: Obereggenen1, Obereggenen2, Bremgarten, Hochstadt, Freimersheim und Altdorf. Zusätzlich wurden Octenol als imitierender Lockstoff und vergorene Aprikosen als Zucker Reservoirs ausgelegt. Alle Lockstoffe wurden am Boden in der Nähe der Lichtfalle platziert.

2.2.4 Fang von Sandmücken

Die Sammlung wurde mit (CDC) Miniatur-Lichtfallen #512, Bioquip, CA, USA durchgeführt. Je nach Größe der Gegebenheiten wurden ein bis fünf CDC-Fallen in einem Abstand von mindestens 5 m innerhalb des Gebäudes voneinander aufgestellt und zwischen 18:00 Uhr und 8:00 Uhr betrieben. Die Fallen wurden vorwiegend in Bodennähe oder an den Wänden in einer Höhe von 1–1,5 m in den jeweiligen Scheunen angebracht (Naucke et al., 2008, Naucke und Pesson, 2000).

Am nächsten Morgen wurden die Fallen abgebaut. Bei mehrfachem Aufstellen der Fallen am gleichen Standort wurden die Fallen mit einer standortspezifischen Markierung gekennzeichnet. Am Standort wurden GPS-Koordinaten (Global Positioning System) aufgezeichnet. Im Jahr 2018 wurden Temperatur und Luftfeuchtigkeit in beiden Untersuchungsregionen (BW und RLP) mit Hobo Pro v2-Datenloggern an 12 verschiedenen Standorten (Tab. 8.3.1) von Juni bis Ende September aufgezeichnet. In BW und RLP wurden jeweils sechs Standorte ausgewählt, entsprechend der höchsten Erfassungsrate. Abhängig von den Fangergebnissen wurden die Fangnächte während einer Saison bis zu 9-mal wiederholt. Ein Sandmücken-Fangfaktor (Anzahl der Sandmücken/Fallennacht) wurde berechnet, um die Anzahl der an jeder Sammelstelle gefangenen Sandmücken zu vergleichen. Fallennächte sind definiert als die Anzahl der Fangnächte multipliziert mit der Anzahl der Fallen pro Standort. In BW wurde die Erhebung im Jahr 2015 vom 11.08. bis 21.08.2015 in 8 Fangnächten durchgeführt, insgesamt wurden sechs Standorte untersucht. Im Jahr 2016 wurde in BW und RLP die gleiche Region Markgräflerland vom 22. Juli bis 29. August in 9 Fangnächten an 36 Standorten untersucht. Im Jahr 2017 wurden vom 18. Juli bis 31. August in 31 Fangnächten insgesamt 100 Standorte untersucht. Im Jahr 2018 wurden in 31 Fangnächten insgesamt 34 Standorte von 29. Juni bis 21. September untersucht (Tab. 8).

2.2.5 Transport und Lagerung der Sandmückenfunde

Die Netze wurden direkt nach dem Abhängen mit einem Gummiband verschlossen, umgehend vorsichtig in einen Plastikbeutel überführt und dann für den Transport in ein Polystyrol Behälter mit Kühlakkus oder Trockeneis gelegt. Dadurch erfolgte ein schnelles Abtöten der gefangenen Sandmücken mittels CO₂. Im Labor wurden die Fangsäcke direkt geöffnet und die teils narkotisierten bzw. toten Sandmücken vorsichtig auf ein weißes Blatt gelegt, da die Sandmücken sehr feingliedrig und zerbrechlich sind. Sie wurden visuell identifiziert und von den Beifängen aussortiert. Unterhalb des Blattes wurde eine Kühlung anhand einer Kühlplatte vorbereitet. Im Jahr 2015 und 2017 wurden die Sandmücken einzeln in wiederverschließbare 1,5 ml Eppendorf Probenröhrchen mit 100 % Ethanol überführt, mit Standort und Datum beschriftet und danach in einem -20 °C Gefrierschrank aufbewahrt (Abb. 13). Im Jahr 2018 wurden die Sandmücken ohne Ethanol in 1,5 ml Eppendorf-Röhrchen bei -20 °C Gefrierschrank aufbewahrt.



Abb. 13: Sandmücken in 1,5 ml Eppendorf-Röhrchen in 100 % Ethanol.

2.3 Morphologische Bestimmung

2.3.1 Präparation der Sandmücken

Die Identifizierung von Sandmücken basiert hauptsächlich auf inneren Strukturen und erfordert daher, dass die Exemplare auf Objektträger aufgezogen werden. Für eine detaillierte morphologische Analyse wurde jeweils der Kopf vorsichtig vom Thorax, sowie beim Männchen die Genitalzange (Aedeagus) bis etwa zur Mitte des Abdomens abgetrennt und einzeln auf Objektträger gelegt, welche mit einem Tropfen 6 % Kaliumhydroxid (KOH) vorgebettet wurden. Durch die Behandlung mit KOH verlieren die Sandmücken fast komplett ihre Haare und der Chitinpanzer wird sehr weich, was die nachfolgende Aufbereitung erleichtert. Es wurde berücksichtigt, dass jeweils der Kopf so auf das Deckglas gelegt wurde, dass sich die Fühler unten befinden, und rechtes und linkes Auge, zwei Antennen, zwei

Palpen sichtbar waren. Die Antennen und Palpen wurden vorsichtig gestreckt und nach vorne ausgerichtet. Die Genitalien wurden seitlich auf das Deckglas aufgelegt. Überlagerndes EtOH wurde entfernt und zwei Tropfen 6 % KOH vorsichtig auf die Präparate geträufelt, um den Kopf und das Abdomen bis zu einer sichtbaren hellrotbraunen Färbung zu bedecken. Schließlich wurden die vorbereiteten Präparate vorsichtig mit Deckgläsern abgedeckt und mit Mikroskopie-Glyzerin (Kaisers Glyzerin-Gelatine, Merck, Darmstadt, Deutschland) zur Fixierung montiert.

2.3.2 Bestimmung der präparierten Sandmücken

Die morphologische Identifizierung der Sandmücken erfolgte mit Hilfe eines Lichtmikroskops (Nomarsky Optik, I. 1,6-fache Vergrößerung, II. Filterlicht), mit einer 40-fachen Vergrößerung (blau)-Interferenzphasenkontrast. Die morphologische Identifizierung wurde mit Hilfe der zur Verfügung gestellten Bestimmungsschlüssel durchgeführt (Theodor, 1958, Lane und Crosskey, 2012). Jeweils drei zufällig ausgewählte Männchen und Weibchen wurden für die Bestimmung verwendet. Anhand folgender morphologischer Merkmale wurden die Sandmücken taxonomisch bestimmt:

Männchen:

- Gestaltung von Aedeagus, Anzahl der Dornen am Stylus und Anordnung
- Der Borsten auf dem Coxit des männlichen Kopulationsapparats
- Pharynx und Cibarium sowie deren Bezahnung (kleiner, schmaler, weniger bezahnt)

Bei den Männchen sind die Länge des Coxit und Stylus, die Anzahl und die Anordnung der auf dem Stylus sitzenden Dornen, sowie die Anzahl und Anordnung der auf dem Coxit sitzende Haare bedeutsam.

Weibchen:

- Gestaltung der Spermatheken und deren basaler Endabschnitt (x2), Antennen, Pharynx und Cibarium sowie deren Bezahnung

Bei den Weibchen gehören zu den artspezifischen Merkmalen die Anzahl der Ringe auf der Spermatheke und die Bezahnung des Pharynx.

Phlebotomus spp. lassen sich allgemein sehr gut von *Sergentomyia* Arten unterscheiden. *Sergentomyia* spp. sind sehr kleine Spezies, haben kürzere, dickere Beine und das Genital ist beim Männchen sehr klein. Sie sind nicht mammophil, sondern nutzen eher Reptilien als Reservoirwirt.

2.4 Molekularbiologische Methoden

2.4.1 Homogenisierung von Sandmücken

Jede Sandmücke wurde einzeln untersucht. Zunächst wurden von jedem Individuum die Beine für die DNA-Extraktion entfernt und bei -20 °C gelagert. Dies geschah, um eine Artenbestimmung durchzuführen. Um jedem Sandmücken Exemplar die Beine zu entfernen, wurde jede Sandmücke einzeln mit Hilfe eines Nadelstäbchens vorsichtig in eine Petrischale (60 x 15 mm Sarstedt, Nümbrecht) gegeben. Mit einem Skalpell wurden die Beine vorsichtig abgetrennt und direkt in separate sterile 1,5 ml Eppendorf-Röhrchen mit 220 µl DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) ohne Fötale Kälberserum (FKS) überführt. Die verbleibenden Sandmücken wurden nach Entfernung der Beine wieder vorsichtig in separate sterile 1,5 ml Eppendorf-Röhrchen für das spätere Screening mit 100 µl DMEM (ohne FKS) versetzt und bei -20 °C gelagert. Danach wurden mit einem feinen Löffel jeweils etwa 10 Zirkonia Beads (Durchmesser 2 mm) in ein 2 ml Eppendorf-Röhrchen gegeben und 30 Sekunden auf Trockeneis gelagert. Im Folgeschritt wurden die Proben 5 Minuten (min) mit dem Tissuelizer bei 50 Hz homogenisiert. Bei 8000 rpm wurden die Proben 2 min bei 4 °C zentrifugiert. Es wurden 200 µl Überstand von jeder Probe in die Extraktionsplatte pipettiert. Danach erfolgte die Extraktion mit dem MagMAX™ Core Nucleic Acid Purification Kit nach Herstellerangaben.

2.4.2 RNA-/DNA-Extraktion

Die Ribonukleinsäure (RNA) und die Desoxyribonukleinsäure wurden mit dem automatisierten Extraktionssystem unter Verwendung des KingFisher™ Flex Magnetpartikelprozessor in Kombination mit dem MagMax™ Pathogen RNA/DNA Kit (Thermo Fisher Scientific, Langenselbold, Deutschland) nach Herstelleranweisung des MagMAX™ Core Flex Protokoll (siehe Anhang) extrahiert. Der KingFisher™ Flex Magnetpartikelprozessor (Thermo Fisher Scientific) ist ein Aufreinigungssystem, welches die gleichzeitige Nukleinsäureextraktion von Proben in einer Platte mit 96 Vertiefungen ermöglicht. Der Roboter arbeitet robust, schnell und die gewonnenen Extrakte weisen eine hohe Reinheit auf (Fang et al., 2007). Die Funktionsweise ist dabei simpel und beruht darauf, dass die nach der Lyse frei liegenden Nukleinsäuren aus der Sandmücken Probe an kleine, magnetische Kügelchen gebunden werden. Der Roboter entnimmt mittels Magnetstäbe die Kügelchen mit den Nukleinsäuren und gibt nach insgesamt vier Waschsritten mit zwei

verschiedenen Waschpuffern die DNA/RNA in einen Elutionspuffer ab. Durch schnelle Bewegungen sowie der Wechselwirkungen zwischen dem Elutionspuffer und den Nukleinsäuren können diese wieder von den Magnetpartikeln gelöst und die Kügelchen entfernt werden, sodass letztendlich ein klares, nukleinsäurehaltiges Eluat als Produkt vorliegt, welches dann zur Polymerase-Kettenreaktion (PCR) eingesetzt werden kann. Für die Extraktion wurde 50 µl Homogenisat eingesetzt. Das Eluat wurde bei -20 °C aufbewahrt (Abb. 14).

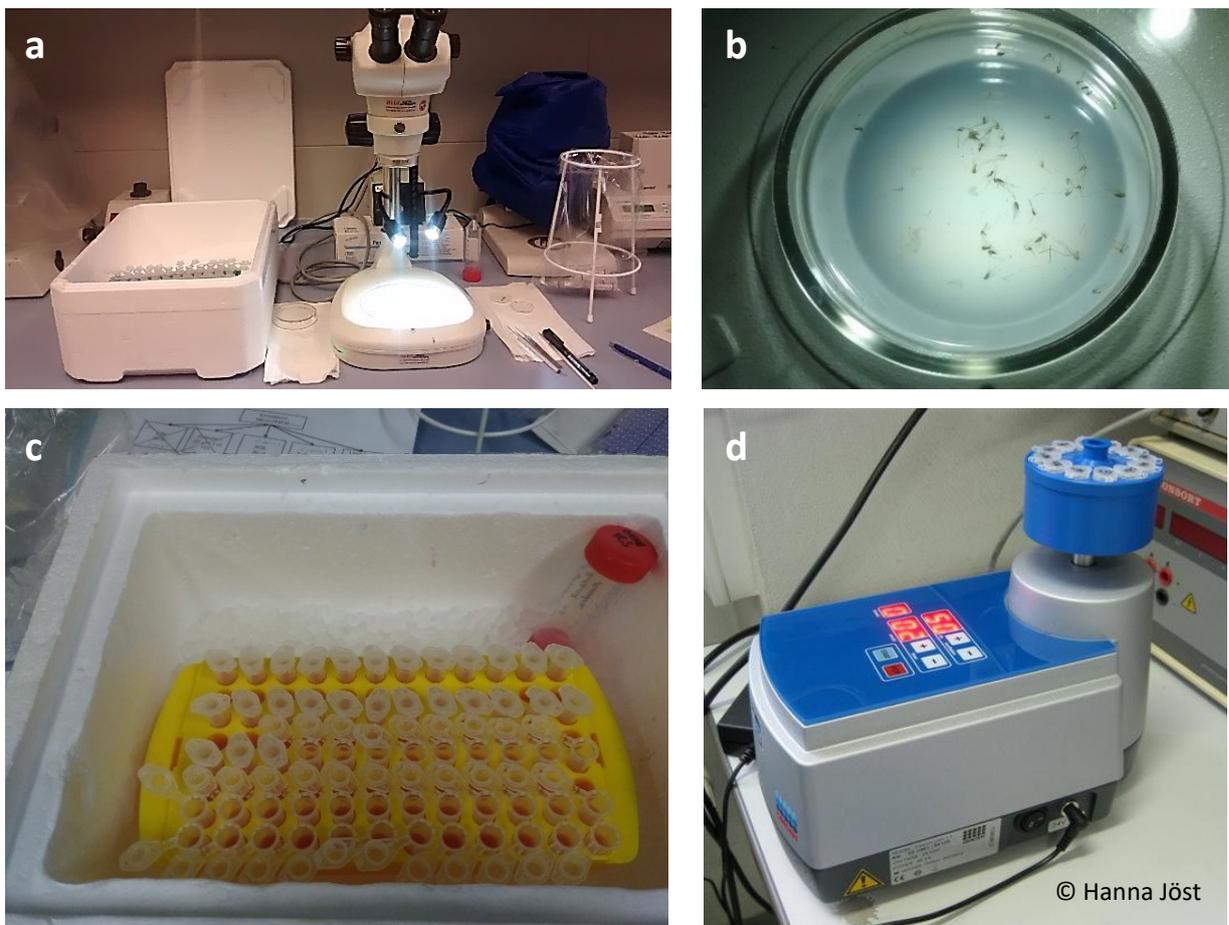


Abb. 14: Arbeitsschritte der Homogenisierung von Sandmücken. Sortierung der Sandmücken (a+b), Lagerung der Proben auf Eis (c), Tissue-Lyzer zur Homogenisierung (d). Bild freundlicherweise zur Verfügung gestellt von Hanna Jöst.

2.4.3 PCR-Untersuchungen

Die Strategie wurde zum einen zur Artenbestimmung der Sandmücken verwendet, zum anderen für die Wirtsbestimmung von blutgesogenen Sandmücken. Bereits geringe Mengen an DNA der Sandmücken bzw. der Wirts-DNA aus den blutgefüllten Abdomen reichen aus, um amplifiziert zu werden, um diese dann zu sequenzieren und anschließend mit bekannten

Sequenzen aus einer Datenbank abzugleichen. Des Weiteren wurde die PCR verwendet, um DNA von Viren und Parasiten nachzuweisen. Dazu werden die Sequenzen der Primer spezifisch ausgewählt, dass eine Amplifikation nur stattfindet, wenn genau die ausgewählte Virus-Parasiten-RNA-Sequenz in der Probe vorhanden ist. Damit kann festgestellt werden, ob die Sandmücken Nukleinsäuren von Viren oder Parasiten enthalten. Da es sich bei den nachweisenden Viren um RNA-Viren handelt, muss als erster Schritt eine Umschreibung der RNA in DNA erfolgen, die so genannte Reverse Transkription. Dabei schreibt eine RNA-abhängige DNA-Polymerase die RNA in cDNA um. Im Anschluss kann mittels konventioneller PCR der spezifische Nachweis der Virus Nukleinsäure erbracht werden. Die verwendeten PCR-Protokolle und Primer Sequenzen, sowie die Cyclex-Programme sind wie folgt in Tabelle 2–7 dargestellt.

2.4.3.1 Quantitative Real-Time-PCR

Im Jahr 2018 wurden 81 Proben mit einer quantitativen Polymerase-Kettenreaktion (qPCR) auf *Leishmania*-Parasiten untersucht. Die qPCR wurde mit dem SensiFAST™ Probe No-ROX Kit (Bioline) und 6 µl DNA-Template durchgeführt. Als Positivkontrolle wurde genomische DNA verwendet, die aus einer Sandmücke (*Ph. perniciosus*) unter Zusatz von 200 Parasiten der *L. infantum*-Stammes 3511 isoliert wurde. Das Nachweisminimum für den Parasiten wurde mit 50 *L. infantum*-Parasiten pro Sandmücke festgelegt.

Bei der quantitativen Real-Time-PCR (qRT-PCR) kann mit Hilfe der Zugabe eines fluoreszierenden Moleküls die Zunahme des Amplikons in Echtzeit verfolgt werden. Dadurch lässt sich die ursprünglich vorhandene Menge an Amplikon des Zielgens quantitativ bestimmen. Dabei ist das Fluoreszenzsignal, das man nach jedem Reaktionszyklus erhält, proportional zur Menge an vorhandener DNA, d.h. je stärker das Fluoreszenzsignal ist, desto mehr PCR-Produkt ist in der Reaktion tatsächlich amplifiziert worden. Der Fluoreszenzfarbstoff, der unspezifisch an doppelsträngige DNA bindet, wird bei 494 nm Licht angeregt und bei einer Wellenlänge von 518 nm emittiert. Als Fluorophorfarbstoff wurde FAM (6-carboxyfluorescein) verwendet. Die Quelle wurde auf 470 nm und der Detektor auf 510 nm eingestellt. Das PCR-Protokoll und das Cyclex-Programm sind in Tabelle 2 aufgeführt. Die Analyse wurde mit dem Programm Rotor Gene 6 durchgeführt. Die Schwelle wurde in der exponentiellen Amplifikationsphase eingestellt und die resultierenden CT-Werte (Zyklusschwelle) wurden für die Auswertung der Proben verwendet.

Tab. 2: PCR-Protokoll und Cycler Programm der Leishmanien qRT-TaqMan-PCR.

Material			
Corbett Rotor Gene RG 3000 mit 72Well Rotor			
SensiFAST Probe No-ROX Kit (2x MIX) (Bioline)			
Primer OWLeishkDNAfwd*: GCTTTAGTGGGTTGGAGCCT			
Primer OWLeishkDNArev*: TCAACCCAAGACCACCATCG			
Probe OWLeishkDNAProbe*: (6FAM)CGGGTGTCTTTGATGATGCTGGGGTGGGT(BHQ1)			
MgCl ₂ Lösung 25mM (Sigma)			
ddH ₂ O			
Positivkontrolle: gDNA isoliert aus einer Sandmücke und 200 <i>Leishmania infantum</i> 3511 Parasiten			
Negativkontrolle: ddH ₂ O			
Referenz: (Bifeld et al., 2016)			
Reaktionsansatz		PCR-Programm	
Master Mix Bioline (2x)	10 µl		
PrimerOWLeishkDNAfwd 900nM)	0,30 µl		
Primer OWLeishkDNArev (900nM)	0,30 µl	Temperatur	Zeit
Probe OWLeishkDNA (200nM)	0,50 µl	95 °C	5 min
MgCl ₂ (25mM)	1,20 µl	95 °C	10 sec
ddH ₂ O	1,70 µl	66–57,5 °C	40 sec
Total Master Mix	14,00 µl	40 °C	30 sec
Probenvolumen	6,00 µl		
gesamt	20,00 µl	*touchdown -0,5 °C für 17 Zyklen	

*Primer und Sonde wurden von Sigma-Aldrich erworben. Die TaqMan-Sonde hat ein kovalent an das 5'-Ende gebundenes Fluorochrom (6FAM) und einen Quencher (BHQ1) am 3'-Ende.

2.4.3.2 Konventionelle Reverse Transkriptase-PCR (Pan-PCR)

Bei der reversen Transkription wird eine RNA-abhängige DNA-Polymerase verwendet. Sie synthetisiert DNA-Kopien eines RNA-Moleküls (complementary DNA (cDNA)). Die RNA-Proben der Sandmücken wurden mit einer konventionellen reversen Transkriptase-PCR auf Flavi-, Phlebo-Viren getestet. Es wurden die Primer aus Lambert und Lanciotti (Lambert und Lanciotti, 2009) und Chao (Chao et al., 2007) verwendet. Mit Hilfe dieser PCRs ist es möglich 47 Viren aus der Ordnung Bunyavirales (Familie Phenuiviridae, Gattung Phlebovirus), der Flaviviridae (Familie Flaviviridae, Gattung Flavivirus) zu identifizieren. Das jeweilige PCR-Protokoll und das Cycler-Programm sind in Tabelle 3 und Tabelle 4 dargestellt. Die eingesetzte RNA der jeweiligen Sandmücke wurde, bevor sie in den PCR-Ansatz gegeben wurde, 1:20 verdünnt mit dH₂O. Dies dient dazu, gegebene Inhibitoren zu diluieren.

Tab. 3. PCR-Protokoll und Cycler Programm der Phlebo RT-PCR.

Material				
konventioneller Cycler (peqStar 96)				
Superscript III one-step RT-PCR kit, Invitrogen				
Primer #15 Phlebo forward 1: TTTGCTTATCAAGGATTTGATGC				
Primer #16 Phlebo forward 2: TTTGCTTATCAAGGATTTGACC				
Primer #17 Phlebo reverse: TCAATCAGTCCAGCAAAGCTGGGATGCATCAT				
2x Reaction Mix				
Mg ₂ SO ₄				
d H ₂ O				
Enzymmix				
Positivkontrolle: Phlebo Gel, Amplikon Größe ~370 bp				
Negativkontrolle: ddH ₂ O				
Referenz: (Lambert und Lanciotti, 2009)				
Reaktionsansatz		PCR-Programm		
2x Reaktions-Mix	3,25 µl			
Mg ₂ SO ₄	0,50 µl			
H ₂ O	0,68 µl	Temperatur	Zeit	
Phlebo forward 1	0,22 µl	60 °C	1 min	RT
Phlebo forward 2	0,22 µl	50 °C	45 min	
Phlebo reverse	0,44 µl	94 °C	2 min	
EnzymMix	0,19 µl	94 °C	15 sec	45 Zyklen
Total Master Mix:	5,50 µl	55 °C	30 sec	
Probenvolumen	3,00 µl	68 °C	30 sec	
gesamt	8,50 µl	68 °C	7 min	

Tab. 4: PCR-Protokoll und Cycler Programm der Flaviviridae NS5.

Material				
konventioneller Cycler (peqStar 96)				
Superscript III one-step RT-PCR kit, Invitrogen				
Primer #1 mFU1: TACAACATGATGGGAAAGCGAGAGAAAAA				
Primer #2 CFD2: GTGTCCCAGCCGGCGGTGTCATCAGC				
2x Reaktion Mix				
Mg ₂ SO ₄				
H ₂ O				
Enzymmix				
Positivkontrolle: FlaviGel im NS5 gen RdRp Domäne, Amplikon Größe ~260 bp				
Negativkontrolle: ddH ₂ O				
Referenz: modifiziert nach (Chao et al., 2007)				
Reaktionsansatz		PCR-Programm		
2x Reaktion Mix	3,25 µl			
Mg ₂ SO ₄	0,50 µl			
H ₂ O	0,68 µl	Temperatur	Zeit	
mFU1	0,44 µl	60 °C	1 min	RT
CFD2	0,44 µl	50 °C	45 min	
Enzymmix	0,19 µl	94 °C	2 min	
Total Master Mix	5,50 µl	94 °C	15 sec	45 Zyklen
Probenvolumen	3,00 µl	55 °C	30 sec	
gesamt	8,50 µl	68 °C	30 sec	
		68 °C	7 min	

2.4.3.3 Blutmahlzeitbestimmung

Für die Anwendung der PCR zur Blutmahlzeitbestimmung muss zunächst ein zu amplifizierender Erbgutbereich als Ziel gewählt werden. Der Vorteil hierbei ist, dass durch phylogenetische Studien an Wirbeltieren zur Aufklärung solcher Wirtsspektren von Arthropoden, bereits viele Sequenzen in Gendatenbanken existieren. Diese können zum Referenzabgleich mit den eigenen, durch enzymatische Amplifikation und durch anschließende Sequenzierung erhaltenen Daten verwendet und verglichen werden (Kent, 2009). Die Blutmahlzeitbestimmung der mit Blut gesaugten identifizierten Weibchen wurden mit der Burkett-PCR und der Kocher-PCR durchgeführt. Das PCR-Protokoll und das Cyclo-Programm sind in Tabelle 5 und 6 aufgeführt. Alle positiven Proben aus den vier Arbeitsschritten wurden nach Sanger sequenziert (LGC Genomics GmbH, Berlin, Deutschland). Die Sequenzierung erfolgt dabei einsträngig in eine Richtung mit dem jeweiligen Vorwärtsprimer. Jene Proben, die bei keiner der beschriebenen PCR als positiv detektiert werden können, sind als „negativ“ zu definieren.

Tab. 5: PCR-Protokoll und Cyclo-Programm der Burkett-PCR.

Material			
konventioneller Cyclo (peqStar 96)			
Erreger: Blutmahlzeit			
Phusion Blood Direct PCR Master Mix (2x), Thermofisher (*ohne Extraktion im Vorfeld)			
Primer L2513: GCCTGTTTACCAAAAACATCAC			
Primer H2714: CTCCATAGGGTCTTCTCGTCTT			
ddH ₂ O			
Positivkontrolle: Amplikon Größe ~244 bp			
Negativkontrolle: ddH ₂ O			
Referenz: (Burkett-Cadena et al., 2008) modifiziert nach (Kitano et al., 2007)			
Reaktionsansatz		PCR-Programm	
Phusion Blood Direct Master Mix (2x)	10 µl		
Primer L2513	1 µl		
Primer H2714	1µl	Temperatur	Zeit
ddH ₂ O	3µl	98 °C	5 min
Total Master Mix	15 µl	98 °C	1 sec
Probenvolumen	5µl	57 °C	5 sec
gesamt	20 µl	72 °C	30 sec
		72 °C	1 min
			40 Zyklen

Tab. 6: PCR-Protokoll und Cycler-Programm der Kocher-PCR.

Material			
konventioneller Cycler			
Erreger: Blutmahlzeit			
Phusion Blood Direct PCR Master Mix (2x), Thermo Fisher (*ohne Extraktion im Vorfeld)			
Primer L14841: CCA TCC AAC ATC TCA GCA TGA TGA AA			
Primer H15149: GCC CCT CAG AAT GAT ATT TGT CCT CA			
ddH ₂ O			
Positivkontrolle: Amplikon Größe ~358 bp			
Negativkontrolle: ddH ₂ O			
Referenz: (Kocher et al., 1989)			
Reaktionsansatz	PCR-Programm		
Phusion Blood Direct Master Mix (2x)	10 µl		
Primer L14841	1 µl		
Primer H15149	1 µl	Temperatur	Zeit
ddH ₂ O	3 µl	98 °C	5 min
Total Master Mix	15 µl	98 °C	1 sec
Probenvolumen	5 µl	50 °C	5 sec
gesamt	20 µl	72 °C	30 sec
		72 °C	1 min

40 Zyklen

2.4.3.4 Molekulare Bestimmung mittels DNA Barcoding Analyse

Beim DNA Barcoding („*COI*-PCR“) wird ein kleines Stück der Ziel-DNA verwendet, um diese zu amplifizieren. Basierend auf der Sequenzinformation der *COI*-Gene werden die entwickelten Primer LCOF1490wd und HCO2198rev genutzt, die spezifisch für ein mitochondriales Gen sind, das Cytochrom-c-Oxidase-Untereinheit 1 (*cox1*) genannt wird (Tab. 7). Das *COI*-Gen ist ein validierter taxonomischer Marker für die Definition und Abgrenzung von Sandmückenarten der Gattung *Phlebotomus* und *Lutzomyia* (Polseela et al., 2016). In der PCR-Reaktion findet die Amplifikation der DNA-Information zwischen den Primern statt. Die Reaktion findet wiederholend statt und die Anzahl der verfügbaren DNA-Stücke wächst exponentiell und nimmt mit jedem PCR-Zyklus zu. Dann werden die PCR-Amplifikate (etwa 3 µl) mittels Gelelektrophorese analysiert, um festzustellen, ob die amplifizierte DNA der richtigen Zielgröße entspricht. Die entsprechenden PCR-Amplifikate werden dann zur DNA-Sequenzierung bei LGC Genomics, Berlin, Deutschland eingereicht, und nach Sanger (Sanger et al., 1977) sequenziert. Die Ergebnisse werden mit Hilfe des Basic Alignment Search Tool (BLAST) in den DNA-Sequenzdatenbanken verglichen, um somit die Spezies dieses Organismus zu bestimmen. Als Ziel-DNA für die Replikation zur Artenbestimmung wurden die vereinzelt Beine der Sandmücken verwendet.

Tab. 7: PCR-Protokoll und Cycler-Programm der COI-PCR.

Material			
Biometra-Cycler			
GoTaq G2 Flexi			
GoTaq Flexi Buffer			
Primer LCOF1490wd*: 5'GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG 3'			
Primer HCO2198rev*: 5'TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA 3'			
dNTP			
MgCl ₂ solution			
H ₂ O			
Positivkontrolle: Sandmücken DNA*: # CAM-SF-108 Extr. 10.04.13, Amplikon Größe ~710 bp			
Negativkontrolle: ddH ₂ O			
Referenz: (Polseela et al., 2016)			
Reaktionsansatz		PCR-Programm	
Taq Flexi 5u/ µl	0,50 µl		
Taq Puffer 5x	10 µl	Temperatur	Zeit
MgCl ₂ 25mM	2 µl	95 °C	5 min
LCOF1490 10pmol/ µl	1 µl	94 °C	40 sec
HCO2198 10pmol/ µl	1 µl	45 °C	60 sec
dNTP 10mM	1 µl	72 °C	60 sec
			5 Zyklen
H ₂ O	32,50 µl	94 °C	40 sec
Total Master Mix	48 µl	72 °C	60 sec
Probenvolumen	2 µl		60 sec
gesamt	50 µl	72 °C	7 min
		4 °C	unendlich
*Primer und Sonde wurden von Sigma-Aldrich erworben. Die TaqMan-Sonde hat ein kovalent an das 5'-Ende gebundenes Fluorochrom (6FAM) und einen Quencher (BHQ1) am 3'-Ende			

2.4.4 Verifizierung der PCR-Produkte mittels Agarose-Gelelektrophorese

Die Agarose-Gelelektrophorese wurde angewandt, um die Ergebnisse aller durchgeführten PCR-Untersuchungen sichtbar zu machen. Es wurden 2,5 %ige Agarosegele eingesetzt. Zur Herstellung der Gele wird die Agarose (Invitrogen) in Tris-Acetat (TAE) Puffer aufgeköcht und gelöst. Anschließend wird der abgekühlten, noch flüssigen Lösung 3 µl Midori green für die spätere Verifizierung und Visualisierung der DNA-Banden hinzugefügt. Diese Lösung wird anschließend in einen Gelelektrophoreseschlitten gegossen und sofort ein Kamm für die Bildung von Taschen eingesetzt. Nach etwa 25 min ist das Gel fest und kann in die 1x TAE-Puffer enthaltene Gelelektrophoresekammer gesetzt werden. 5 µl eines Größenmarkers wird in die erste Tasche pipettiert und anschließend jeweils 3–5 µl Probe (PCR-Produkte) zusammen mit 1–2 µl 6x Probenladepuffer (Thermo Fisher Scientific) aufgetragen. Die Elektrophorese wird bei einer angelegten Spannung von 80 V bis 110 V (Consort EV231 Electrophoresis Power Supply, Consort, Turnhout, Belgien) 45 min durchgeführt. Erhaltene

Ergebnisse der PCR-Untersuchungen können durch das Midori green mit UV-Licht sichtbar gemacht und mit einer Videokamera (Gel iX20 Imager Intas Science Imaging Instruments GmbH, Göttingen, Deutschland) visualisiert werden. Die Agarose-Gele wurden zur Bestimmung des Amplikons für *COI*-PCR-Produkte (700-800 bp), der Amplikongrößen für das Pan-Phlebovirus-Screening (370 bp) und Pan-Flavivirus (260 bp), zur Blutmahlzeitbestimmung, und zur Bestimmung von Leishmanien visualisiert und digitalisiert. Für die Verifizierung der Bandenlänge wurde der DNA-Längenstandard Gene Ruler 100 bp Plus DNA Ladder (Thermo Fisher Scientific) verwendet, um die Fragmentgrößen einzuordnen und die Ergebnisse beurteilen zu können. Als „positiv“ werden nur diejenigen Proben definiert, die eine einzige Bande mit der entsprechend gesuchten Länge aufzeigen, welche durch den direkten Vergleich mit dem Marker bestimmt werden kann.

2.4.5 Sequenzierung von PCR-Endprodukten nach Sanger

Für alle Proben, die in der PCR-Untersuchung zuvor ein positives Ergebnis ergaben, wurde das Amplifikat zur Kontrolle nach Sanger (Sanger et al., 1977) sequenziert und anschließend analysiert. Um die Proben vorzubereiten, wurde 10 µl Probe verwendet und 4 µl Primer (Vorwärtsprimer) zugegeben. Falls nicht genug Probe vorhanden war, wurde dies mit ddH₂O auf 10 µl aufgefüllt. Anhand der Sequenz lässt sich eine eindeutige Aussage machen, worum es sich bei dem Amplifikat handelt. Die PCR-Proben wurden vereinzelt an LGC Genomics geschickt. Die erhaltenen DNA-Sequenzen wurden zur Artenbestimmung mit dem Basic Alignment Search Tool (BLAST) in den DNA-Sequenzdatenbanken der GenBank (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>) verglichen.

2.5 Materialien

2.5.1 Chemikalien

Agarose	Invitrogen, Karlsruhe
Amphotericin B	PAA Laboratories, Cölbe
Ampicillin	PAA Laboratories, Cölbe
DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium)	PAA Laboratories, Cölbe
2mM L-Glutamin, Natriumpyruvat und 10 % FBS	PAA Laboratories, Cölbe
Dimethylsulfoxid (DMSO)	Merck, Darmstadt
Ethanol (100 %)	Carl Roth GmbH, Karlsruhe
Fötale Kälberserum (FKS)	PAA Laboratories, Cölbe
Gelelektrophorese Ladepuffer	Qiagen, Hilden, Germany

Größenmarker GeneRuler 100bp Plus DNA Ladder	Thermo Scientific, USA
L-Glutamin	PAA Laboratories, Cölbe
Milchpulver	Pural Naturkost, Baden-Baden
Penicillin	PAA Laboratories, Cölbe
Primer, Sonden	Eurofins Genomics, Ebersberg
RNAlater Ambion	ThermoFisher Scientific, USA
Stahlkügelchen (stainless steel beads 5 mm)	Qiagen, Hilden
Streptomycin	PAA Laboratories, Cölbe
Trockeneis	Linde, Pullach
Trypsin /EDTA	PAA Laboratories, Cölbe
Wasser (RNase- frei)	Qiagen, Hilden
Wiesenheu	Heimtiernahrung GmbH, Kehl
Fötale Kälberserum (FKS) A15-649	PAA Laboratories, Cölbe
Penicillin / Streptomycin 10.000	PAA Laboratories, Cölbe
Kaliumhydroxid (KOH)	Titristar, Merck, Sigma-Aldrich
Midori green	Biozym, Hessisch Oldendorf
Mikroskopie-Glyzerin	Merck, Darmstadt
Octenol	Octenol EU, Irland

2.5.2 Puffer und Lösungen

Ladepuffer (6x), Rr0611	ThermoFisher Scientific, USA
PBS Puffer; P0436500	PAN-Biotech, Aidenbach
Tris-Acetat (TAE)-Puffer*	Carl Roth GmbH, Karlsruhe
Tris(hydroxymethyl)-aminomethan (TRIS)	Carl Roth GmbH, Karlsruhe
Phusion Blood Direct PCR Master Mix (2x)	ThermoFisher Scientific, USA
SensiFAST Probe No-ROX Kit (2x MIX)	Bioline, USA
Superscript III one-step RT-PCR kit	Invitrogen, Karlsruhe
Mikroskopie Kaisers Glyzerin-Gelatine	Merck, Darmstadt, Deutschland
Rizinusöl	Naissance, UK

2.5.3 Kits

MagMAX™ Pathogen-Ribonukleinsäure/DNA-Kits	ThermoFisher Scientific, USA
PCR Purification Kit	Qiagen, Hilden
Superscript II one-step RT-PCR Kit	Invitrogen, Karlsruhe
Viral RNA Mini Kit	Qiagen, Hilden

2.5.4 Technische Geräte

Analysenwaage CP 224S	Sartorius, Göttingen
CDC Miniature Light Trap	Bioquip, USA
testo 175 H1 - Datenlogger	Testo, Titisee-Neustadt
HOBO Pro v2 - Datenlogger (U23-001A)	Onset, Bourne, U.S.A.
ENERGY Blei-Akku 6 V, 12 AH	Conrad Electronic, Hirschau

Elektronik Glühbirnen, Fassung x	Conrad Electronic, Hirschau
LightCycler® 480 Real-Time PCR System	Roche, Mannheim
Pipetten (10 µl bis 1000 µl)	Eppendorf, Hamburg
Pipettierhelfer accu-jet pro	Brand, Wertheim
Zentrifugen	Heraeus Holding GmbH, Hanau
Tischzentrifuge 5415R	Eppendorf, Hamburg
Vortex MS2 Minishaker	IKA, Staufen
Waage PJ400	Mettler-Toledo, Gießen
UV-Licht-Gerät Olympus U-RFL-T	Olympus Optical Co. LTD., Japan
Zentrifugen: Zentrifuge 5810 R, 5417 R	Eppendorf, Hamburg
Lichtmikroskop Nomarski-Interferenzphasenkontrast	Carl Zeiss Microscopy GmbH, München
Kamera Mikroskop Fotografie	Canon Digital
Akkupipettierer Pipetus-akku	Hirschmann, Herrenberg
Gelelektrophorese-Kammer TM120	Biometra, Göttingen
Gelkamm	Thermofisher Scientific, USA
Schüttelgerät Vortex-2-gene	Scientific Industries, USA
UV-Illuminator TFX-20-M MWG	Eurofins Genomics, Ebersberg
Videokamera (Gel iX20 Imager)	Intas Science Imaging Instruments GmbH, Göttingen, Deutschland
Waage Basic-Plus BP1200	Sartorius, Göttingen
Kühlschränke, Gefrierschränke	Liebherr
Gefrierschränke -80 °C	Sanyo
Voltmeter	MsVoice M890C ⁺
Stirnlampe/ Taschenlampe	
Navigationsgerät und GPS- Gerät	

2.5.5 Verbrauchsmaterialien

48-Well-Platten für Zellkultur	Thermofisher Scientific, USA
LightCycler®480Multiwell Platte, 96, white	Roche, Mannheim
Pipettenspitzen (10 µl, 100 µl, 200 µl, 1000 µl)	Sarstedt, Nümbrecht
Reaktionsgefäße (0,5 ml, 1.5 ml, 2 ml)	Eppendorf, Hamburg
Deckgläschen für Morphologische Bestimmung 20 x 26 x 0,4 mm	Knittel, Braunschweig
Objektträger (geschnitten, Matt-Rand)	Engelbrecht, Edermünde
Falcon-Röhrchen (15 ml, 50 ml)	Sarstedt, Nümbrecht
Folie für PCR Platten	Thermofisher Scientific, USA
Nunc™ Kryoröhrchen (1,8 ml)	Thermofisher Scientific, USA
Parafilm® M A.	Hartenstein Würzburg
Pasteurpipetten aus Glas	Brand, Wertheim
Multwell-PCR-Platten mit 96 Vertiefungen	Thermofisher Scientific, USA
Petrischale 60 x 15 mm	Sarstedt, Nümbrecht
Tissue Culture Dishes, Gamma sterilized	Thermofisher Scientific, USA

Antistatische feinmaschige Gaze, Stoffsäcke Maschweite 0,5 x 0,5 mm	Bioquip, USA
Handlupe 10 x 21 mm	Studbedarf.de
Skalpell	
Pinzette	
Pinsel	
Nadelstäbchen	
Kühlbox Camping	
Styroporboxen	
Ablösbare Kleber für Markierung	

2.5.6 Software und Datenbanken

Microsoft Excel	Microsoft, USA
Microsoft PowerPoint	Microsoft, USA
Microsoft Word	Microsoft, USA
Microsoft Paint	Microsoft, USA
EndNote	Clarivate Analytics, UK
QGIS	QGIS Version 3.16.12-Hannover, https://qgis.org
NCBI, Datenbank	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/
Arbovirus Catalog	https://wwwn.cdc.gov/arboicat/
ICTV-Taxonomie	https://ictv.global/taxonomy
CDC	https://www.cdc.gov/parasites/leishmaniasis/
Pubmed	https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/3-Octen-1-OL
BLAST	https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/
Google Earth	http://earth.google.com/intl/de/
Wetteronline	http://www.wetteronline.de
Deutscher Wetterdienst	https://www.dwd.de/DE/Home/home_node.html
ECDC	https://www.ecdc.europa.eu/en
Parasitus Ex e.V.	https://www.parasitosen.de/
LGB-RLP	https://www.lgb-rlp.de/karten-und-produkte/online-karten/online-bodenkarten.html
LGRB	https://produkte.lgrb-bw.de/catalog/list/?wm_group_id=11111&p=geoLOehOY39IYvDRbUwZOMTd68C7w0gdj

2.6 Klimafaktoren Temperatur und Luftfeuchtigkeit

Parameter wie Sonne und Regen, minimale und maximale Temperaturen, und Luftfeuchtigkeit wurden teilweise vom deutschen Online-Wetterdienst DWD (Deutscher Wetterdienst, 2018) für die untersuchten Standorte ermittelt. Zusätzlich wurden die durchschnittliche Temperatur und relative Luftfeuchtigkeit verschiedener positiver Standorte im Sommer 2017 mit einem digitalen Datenlogger (Klima-Logger testo 175 H1, Deutschland,

Langzeitüberwachung von Temperatur und Luftfeuchtigkeit) über jeweils 24 h aufgezeichnet (Abb. 15). Darüber hinaus wurden Klimakarten über die Jahresmitteltemperatur in Deutschland für die Jahre 2016 und 2017 von der deutschen meteorologischen Wetterzentrale in Offenbach (Deutscher Wetterdienst, 2018) hinzugezogen. Mit diesen Klimakarten wurden mögliche klimatische Veränderungen und bevorzugte Standorte für Sandmücken in Süddeutschland bewertet. Im Jahr 2018 wurden Datenlogger für die Messung und Aufzeichnung von Temperatur und Luftfeuchtigkeit in beiden Untersuchungsregionen (BW und RLP) mit Hobo Pro v2-Datenloggern (U23-001A) an insgesamt 12 verschiedenen Standorten von Juni bis Ende September ausgebracht. In jedem Bundesland wurden 6 Standorte ausgewählt (siehe *Kennzeichnung Tab. 8.3.1).

2.6.1 Statistische Auswertung der Klimadaten

Die Klimadaten wurden mit dem Programm R Environment für Mac analysiert (R Core Team, 2020). Durchschnittliche, minimale und maximale Tageswerte (06:45–18:45) sowie Nachtwerte (18:45–06:45) wurden aus 2-Stunden-Werten errechnet, und mit einem Temperatur-Feuchte-Datenlogger Hobo Pro v2-Datenloggern (U23-001A) (Datenlogger-Store, Eichstetten, Deutschland) aufgezeichnet. Ein Shapiro-Wilk-Test wurde angewandt, um Daten auf eine Normalverteilung zu überprüfen. Korrelationen zwischen Klimadaten wurden basierend auf dem Pearson-Korrelationskoeffizienten erhoben und mit dem Paket „corrplot“ dargestellt. Für die Analyse der Klimadaten wurde ein nicht-parametrischer Kruskal-Wallis-Test angewendet. Generell wurde ein zweiseitiger P-Wert von <0.05 als statistisch signifikant erachtet.



Abb. 15: Hobo Pro v2-Datenlogger fixiert innerhalb der Scheune eines Standortes.

2.7 Die Charakterisierung von Erdbodenproben

Ergebnisse von Studien geben Hinweise, dass die Abundanz von Sandmücken bis zu einem gewissen Grad von chemischen und physikalischen Faktoren ihrer Brutplätze im Boden abhängt. In dieser Arbeit wurde an vier selektiv ausgesuchten potenziellen Brutplätzen mit regelmäßigem Sandmückenvorkommen Bodenmaterial entnommen, um nach Sandmücken Larven zu suchen. Sandmücken sind in allen Entwicklungsstadien strikt terrestrisch, daher ist dies eine Möglichkeit, um nach Larven und Puppen, als auch geschlüpften adulten Sandmücken zu suchen. Von jedem Ort wurden an vermuteten Brutstätten nach Möglichkeit drei Bodenproben entnommen. Die Probenahme erfolgte innerhalb der Scheunen in Wandnähe. Die harte Kruste des Oberbodens wurde mit einer Gartenschaufel entfernt und verworfen, die darunterliegenden 5–10 cm wurden entnommen, sowie Fremdkörper und größere Steine entfernt. Jede Bodenprobe (etwa 200–300 g) wurde in einem Plastikbeutel gesammelt und ins Labor transportiert. Im Labor wurde jede Bodenprobe in einen Plastikbehälter überführt und dort mit einem feinen dünnen Stofftuch abgedeckt aufbewahrt, um das Entweichen von Feuchtigkeit aus den Proben zu vermeiden. Ein Behälter hatte einen Durchmesser von 7,0 cm und eine Tiefe von 6,0 cm und enthielt ungefähr 150 g Erde. Die Bodenproben wurden auf Bodenart, pH-Wert, organischen Anteil und chemische Zusammensetzung analysiert (siehe Tab. 10). Die Behälter wurden für einen Zeitraum zwischen 45 und 56 Tagen bei Raumtemperatur ($25\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$) inkubiert und alle 3 Tage kontrolliert, ob sich die Bewegung von Sandmücken Larven zeigt. Des Weiteren wurde durch die Inkubation abgewartet, ob erwachsene Sandmücken schlüpfen. Die adulten Sandmücken schlüpfen etwa 7–11 Tage nach der Verpuppung. Die chemische Analyse der Bodenproben wurde im Sommer 2018 mit der freundlichen Unterstützung der Firma Terrachem GmbH, Mannheim, in Zusammenarbeit mit Herrn Martin Karl durchgeführt (Tab. 8.3.3).

Bestimmung der Bodenart

Die Bodenart wurde manuell, visuell und anhand der Analysen und der jeweiligen Anteile untersucht und eingeschätzt. Sie ergibt sich aus Merkmalen wie der Körnung, der Korngröße, der Bindigkeit und Formbarkeit.

Bestimmung des pH-Wertes

Der pH-Wert wurde mit Hilfe eines pH-Universalindikatorpapiers (Merck, pH-Bereich 0,0–10,0) bei der terrachem GmbH in Mannheim bestimmt. Ein Teil der Bodenproben wurde mit einem Steinstößel zerkleinert und durch ein Drahtsieb (710 µm Maschenweite) gefiltert. Zur Messung wurden etwa 10 g Boden im Verhältnis 1:1 aufgelöst mit destilliertem Wasser (10 g in 10 ml dH₂O) und danach wurde die Lösung jeweils etwa 1 h ruhen gelassen, damit sich noch gebundene, den pH-Wert beeinflussende Stoffe lösen können. Das pH-Indikatorpapier wurde zur Messung für etwa 2 min in der Lösung gehalten.

Bestimmung des organischen Anteils

Die Bestimmung und Analyse der organischen Anteile wurde mit freundlicher Unterstützung von Herrn Martin Karl bei der terrachem GmbH in Mannheim durchgeführt.

Die Bodenproben wurden dazu jeweils gesiebt. Dadurch wurden vorhandene größere Steine und Ästchen entfernt. Es erfolgte eine Trocknung der jeweiligen Probe über Nacht (105/12–18 h). Anschließend wurden 8–9 g Menge eingewogen (Satorius Handy H120) und zwei Stunden bei 500 geglüht. Zur Bestimmung des Kalkanteils im Boden wurden die Proben 2 h bei 1050 geglüht und erneut abgewogen. Dabei verbrennen die organischen Anteile an H₂O und CO₂. Mit einer erneuten Wägung wurde der Gewichtsverlust bestimmt und damit der prozentuale Anteil der leicht flüchtigen Anteile (organischer Anteil) an der Gesamtprobe berechnet.

3 Ergebnisse

3.1 Untersuchungszeitraum und Fanggebiete in Deutschland

Die Untersuchungen fanden im Zeitraum der Jahre 2015-2018 statt. Es konnten von insgesamt 176 beprobten Standorten, an 37 Standorten (21 %) in insgesamt 79 Untersuchungs Nächten, 149 (92 weibliche und 57 männliche) Sandmücken der Gattung *Ph. mascittii* gesammelt werden (Tab. 8). In den Jahren 2015, 2017 und 2018 wurden in beiden Bundesländern 17 Standorte kontinuierlich beprobt. Die Feldstandorte befanden sich in einer Höhe zwischen 100 und 650 m ü. d. M. Die mittlere Temperatur der Monate Juli und August lag in den Jahren 2015, 2016, 2017 und 2018 zwischen 22,9 °C, 21,4 °C, 21,3 °C bzw. 23,1 °C und am Abend gegen 19:00 Uhr zwischen 27,7 °C und 30,8 °C bei einer relativen Luftfeuchtigkeit zwischen 35,8–48,3 %. Die früheste Fallennacht war am 30. Juni und die letzte am 21. September. Der früheste positive Fang während des gesamten Untersuchungszeitraums fand im Jahr 2018 bereits am 3. Juli und der späteste im Jahr 2017 sogar noch am 31. August statt (Tab. 8.3.1). Ein Teil der Sandmücken wurde morphologisch bestimmt. Durch Barcodierung des *cox1*-Genfragments wurden alle Sandmücken als *Ph. mascittii* molekularbiologisch identifiziert.

Tab. 8: Prävalenz von Sandmücken in Südwestdeutschland im Zeitraum der Jahre 2015–2018.

Jahr	Untersuchungs- zeitraum	Stand- orte	Fang- nächte	Fallen- nächte	Sandmücken (weiblich/männlich)	Sandmücken- Fangfaktor
2015	11.8–21.8.	6	8	108	16 (9w/7m)	0,15
2016	22.7.–29.8.	36	9	74	0	0
2017	18.7.–31.8.	100	31	415	52 (30w/22m)	0,13
2018	29.6.–21.9	34	31	272	81 (53w/28m)	0,3
total		176	79	869	149 (92w/57m)	0,17

Es handelt sich vorrangig um innerdörfliche Standorte. Es wurden auch Höhlen innerdörflich und in sylvatischen Gebieten beprobt. Bisher gelang es nur einen sylvatischen Standort „Isteiner Klotz“ in BW als positiv nachzuweisen. Insgesamt wurden in BW 45 Standorte untersucht, von denen zehn positiv waren. In RLP wurden insgesamt 85 Standorte beprobt, von denen elf positiv bewertet werden konnten. Im Jahr 2015 wurden 16 Exemplare (7 männliche und 9 weibliche) von *Ph. mascittii* an fünf (83,3 %) von sechs Probenahmestellen in BW gefangen. Im Sommer 2016 wurden an 36 neuen, bisher nicht untersuchten Sammelstellen keine Sandmücken Individuen erfasst. Im Jahr 2017 wurden 52 *Ph. mascittii* (22 männliche und 30 weibliche) gefangen. Von 100 untersuchten Standorten waren 17 (17

%) positiv für Sandmücken. Im Jahr 2018 wurden 81 *Ph. mascittii* (28 männliche und 53 weibliche) gefangen. Von 34 Standorten wurden 18 (53 %) positiv bestätigt. Der Fangfaktor über den gesamten Fangzeitraum zeigt, dass im Durchschnitt 0,17 Sandmücken pro Falle gefangen wurden. Die Fangdaten mit zugehörigem Standort sowie die Anzahl der gefangenen Sandmücken sind tabellarisch im Anhang aufgeführt (Tab. 8.3.1).

3.1.1 Übersicht aller untersuchten Standorte

Folgende Abbildung (Abb. 16) zeigt die während der Projektdauer untersuchten Gebiete im Bundesland BW und RLP. Sie zeigt anhand von positiven (rot) und negativen (blau) Standorten die derzeitige Verbreitung des erfassten Sandmücken Vorkommen in Südwestdeutschland als Gesamtübersicht.

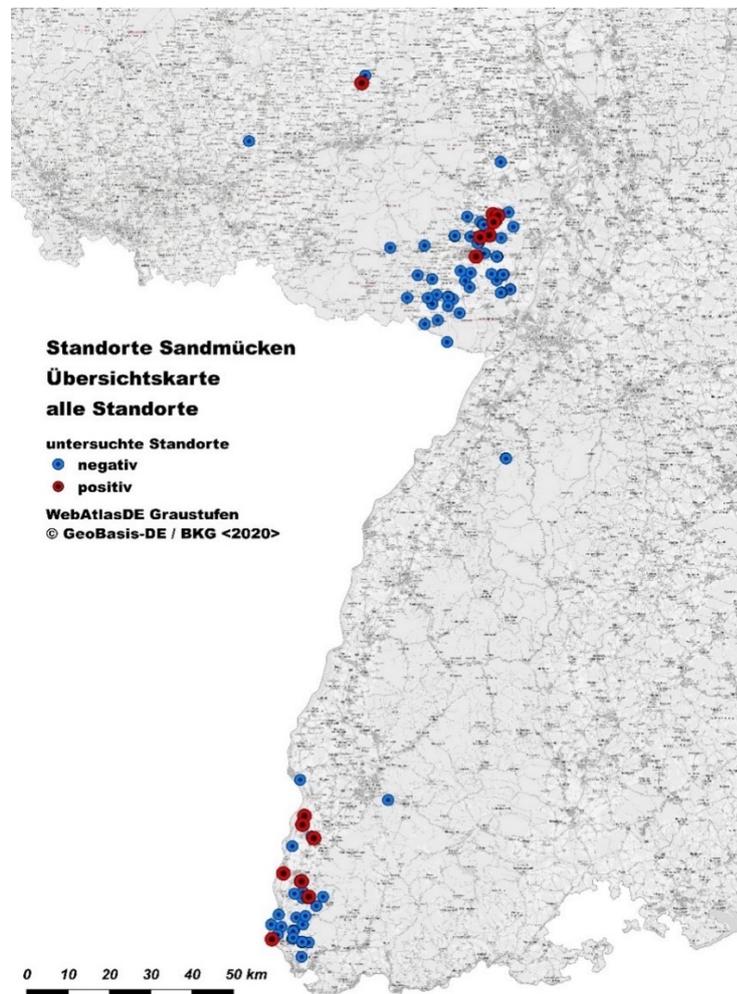
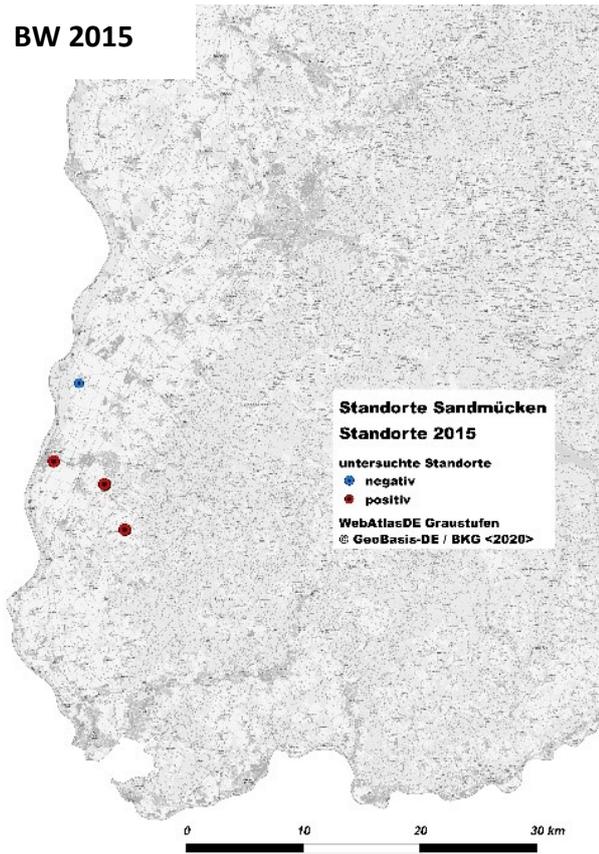


Abb. 16: Übersichtskarte der gesamten Standorte in Südwestdeutschland (untersuchte Bundesländer BW, RLP) im Zeitraum der Jahre 2015 bis 2018. Positive Standorte (rot); Negative Standorte (blau).

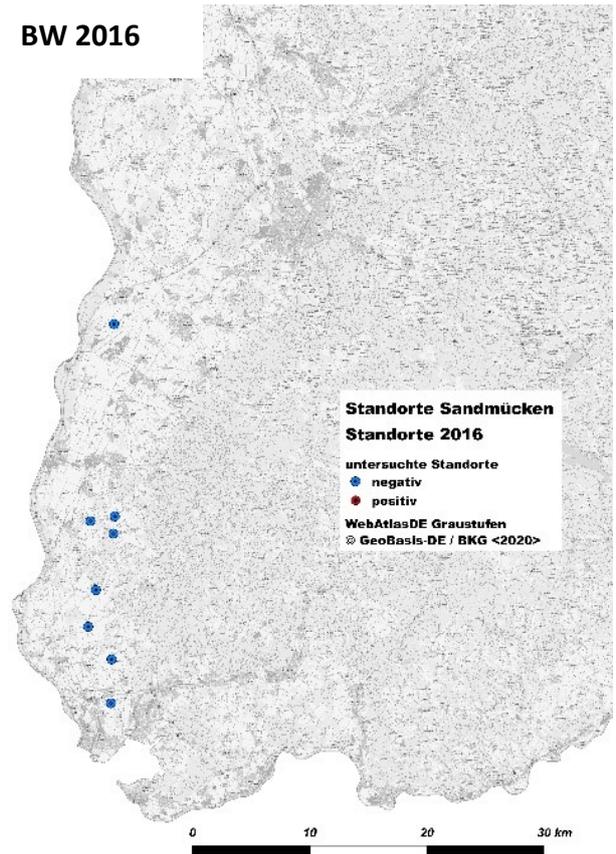
In Abbildung 17 werden die Ergebnisse untersuchter Bundesländer einzeln und nach Untersuchungsjahr dargestellt. Zur Unterscheidung wurden die Standorte in „rot“ für positiv und in „blau“ für negativ dargestellt. Die Verbreitung von *Ph. mascittii* in Deutschland konzentriert sich bisher auf Regionen innerhalb des südlichen Teils von Baden-Württemberg. Der nördlichste Standort von *Ph. mascittii* wurde in dieser Arbeit im Landkreis Südliche Weinstraße in Rheinland-Pfalz in den Ortsgemeinden Altdorf und Böbingen nachgewiesen. Im Jahr 2015 wurde die Feldarbeit wieder aufgenommen. Es wurden nur sechs Standorte in BW untersucht. Es konnten fünf von sechs Standorten als positiv nachgewiesen werden. Von diesen sechs Standorten konnten zwei Standorte als neu gekennzeichnet werden.

Im Sommer 2016 wurden an insgesamt 36 Standorten, jeweils 17 in BW und 19 in RLP, bisher nicht beprobte Orte untersucht. In diesem Jahr konnte kein Individuum von Sandmücken nachgewiesen werden, obwohl die Anzahl der Fallenstandorte erweitert worden war. Als Gründe werden ungünstige Wetterbedingungen im Juni (Regenperioden) und unerwartet niedrige Temperaturen im August vermutet. Zusätzlich kann die Anwendung der Fallenapplikation eine beeinflussende Rolle spielen. Im Jahr 2017 wurden erneut beide Bundesländer BW und RLP untersucht. In diesem Jahr wurde der Fokus von Standorten in RLP erweitert und insgesamt eine große Anzahl von gegebenen Orten beprobt. Insgesamt gibt es in beiden Bundesländern 100 Standorte, darunter 34 in BW und 66 in RLP. 17 Standorte konnten insgesamt positiv beurteilt werden. Darunter wurden in BW insgesamt zwei neue Standorte ermittelt und fünf bisher bekannte positive Standorte konnten erneut bestätigt werden; in RLP wurden zehn neue Standorte positiv identifiziert. Im Jahr 2018 wurden erneut beide Bundesländer untersucht. In diesem Jahr wurde der Fokus auf positive Standorte gelegt mit einer Erhöhung der Fangfrequenz. Insgesamt wurden 34 Standorte untersucht, darunter elf in BW und 23 in RLP. Achtzehn Standorte konnten als positiv identifiziert werden, darunter acht in BW und zehn in RLP. Ein neuer Standort in RLP war positiv. Innerhalb der Studiendauer konnten insgesamt 15 neue Standorte mit Vorkommen für *Ph. mascittii* ausfindig gemacht werden (Abb. 18). Die Mehrzahl der produktiven Standorte befand sich in veralteten Scheunen mit Lehmböden innerhalb der Dörfer in der Nähe von menschlichen Behausungen.

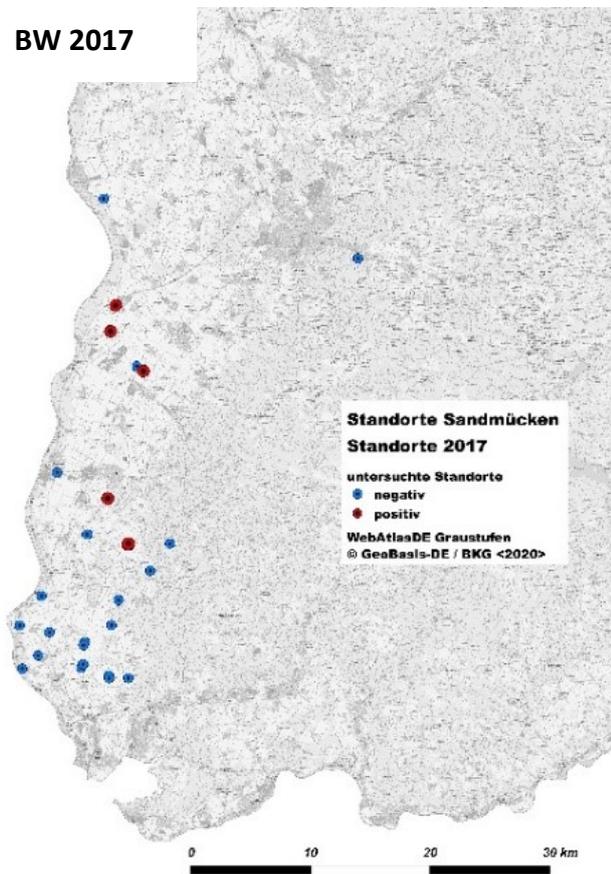
BW 2015



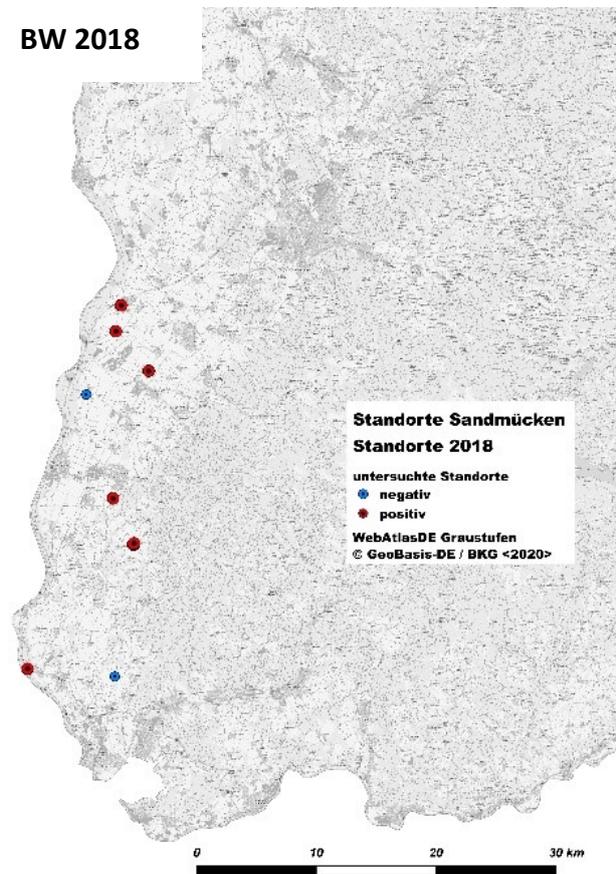
BW 2016

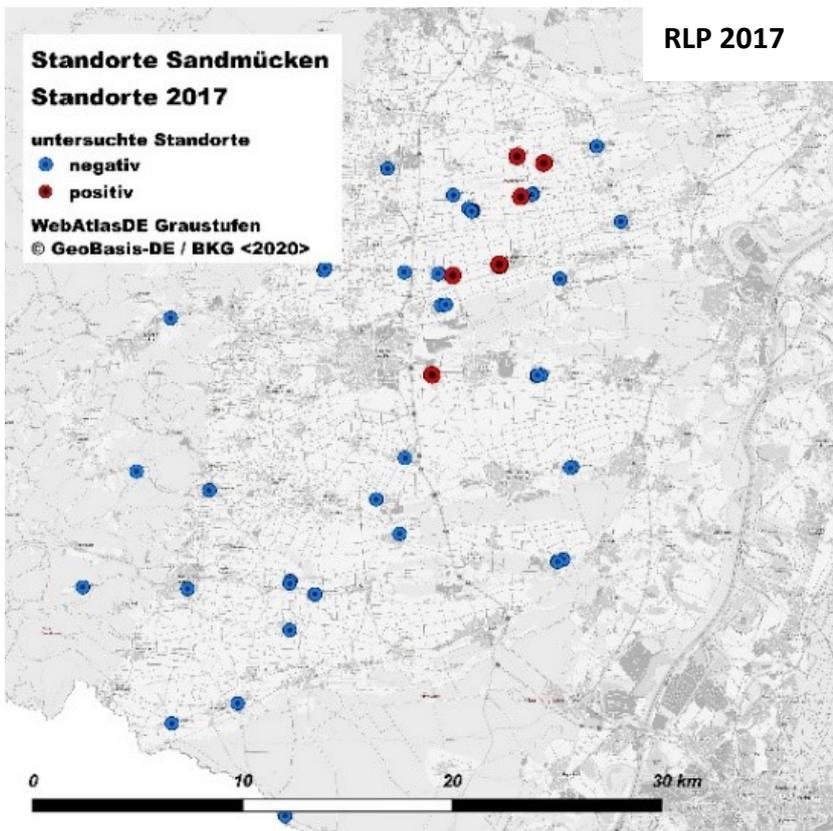
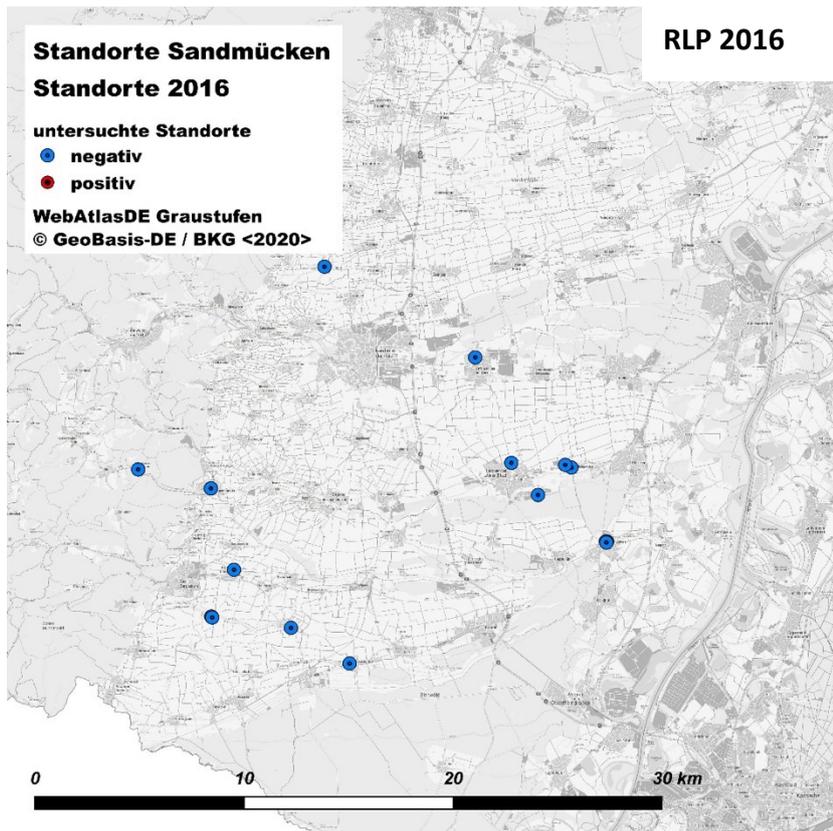


BW 2017



BW 2018





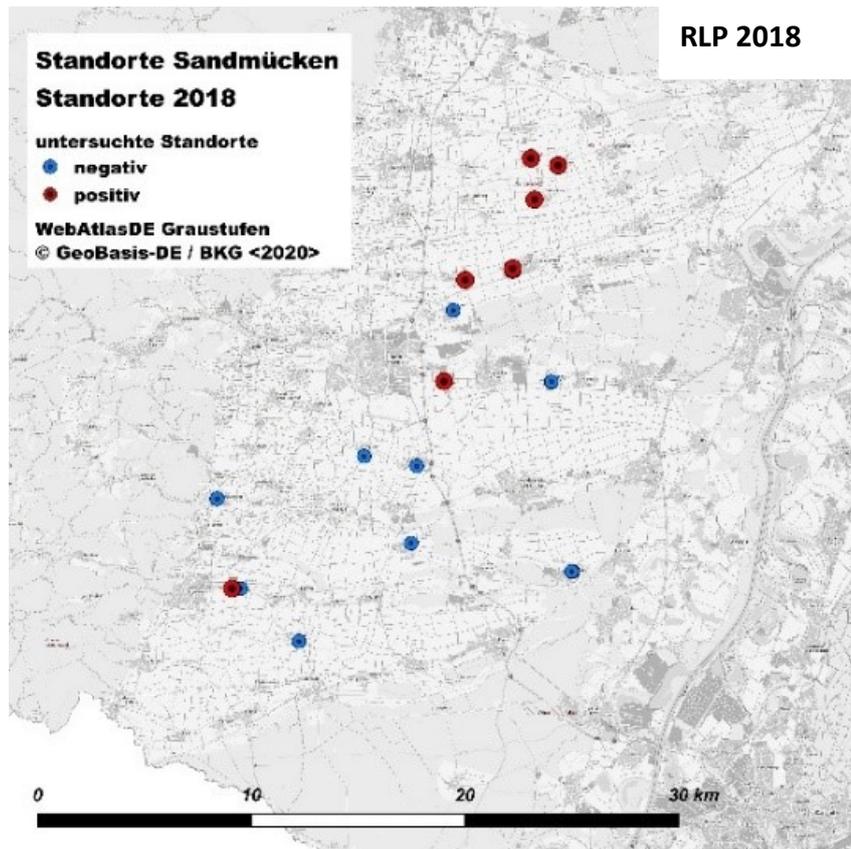


Abb. 17: Einzelne Darstellung der Untersuchungsergebnisse von BW und RLP nach Untersuchungsjahr mit Kennzeichnung aller positiven (rot) und negativen (blau) Standorten. QGIS, Geographic Information System. QGIS-Version 3.16.12-Hannover. WebAtlas-DE / Bundesanstalt für Kartographie und Geodäsie.

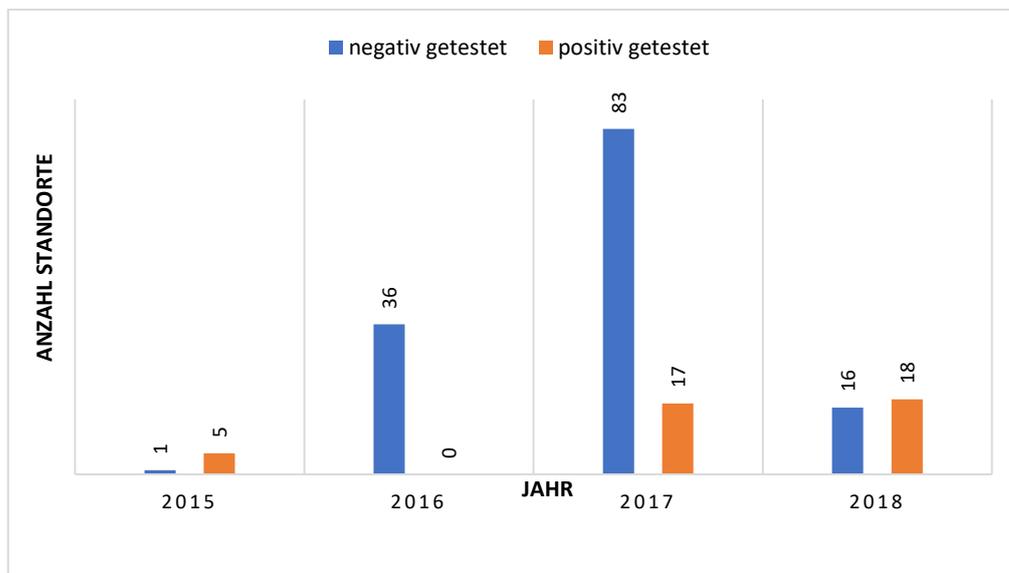


Abb. 18: Übersicht der untersuchten Standorte in Deutschland (Zeitraum der Jahre 2015 bis 2018); positiv getestet (orange), negativ getestet (blau).

3.1.2 Anwendung verschiedener Fangmethoden

3.1.2.1 Fänge mit der Lichtfalle

Die CDC-Lichtfallen erwiesen sich als das effektivste Fallensystem. Sie ließen sich leicht transportieren und sehr leicht bedienen. Das Laden der Akkus stellte nur selten ein Problem dar und konnte in regelmäßigen Abständen durchgeführt werden. Der Einsatz der Akkus konnte meistens bis zu zwei Untersuchungs Nächten angewendet werden. Durch die Verwendung der gelb-orangen Lichtquelle wurden die Sandmücken angelockt. Im Allgemeinen ließen sich mehr weibliche als männliche Sandmücken anziehen (Merdan et al., 1992). Die Anwendung der Lichtfallen war unkompliziert und stellte sich erneut als eine sehr effektive Methode dar.

3.1.2.2 Fänge mit Klebepapierfallen

Der Einsatz der Klebepapierfallen war unkompliziert. Die ausgelegten Klebefallen waren am Folgetag mit Sand und Schmutzpartikeln verklebt. Dadurch wurde das Auffinden von Sandmücken auf dem Papier erschwert. Da der Transport der Klebefallen sich eher als ungünstig erweist, wurden die Sandmücken, wenn vorhanden, umgehend und entsprechend vom Papier entfernt und gelagert. Mit dieser Methode konnten nur an wenigen Standorten wie Bremgarten, Obereggenen und Hochstadt zusätzliche Sandmücken gefangen werden, jedoch meistens nur ein Individuum pro Blatt (Abb. 19).



Abb. 19: Anklebende Sandmücke auf Klebefalle. Bild freundlicherweise zur Verfügung gestellt von Francis Schaffner.

3.1.2.3 Einsatz von Lockstoffen

Bei allen Standorten konnte kein signifikanter Unterschied der Fangergebnisse durch Anwendung verschiedener Lockmittel festgestellt werden. Alle eingesetzten Lockstoffe (Octenol, CO₂-Quelle, vergorene Aprikosen) waren im Einsatz einfach zu handhaben. Im Vergleich der Jahre 2017 und 2018 kann bei allen Standorten eine eher höhere Anzahl von Sandmücken im Jahr 2018 als zum Vorjahr 2017 erkannt werden. Des Weiteren ist die Anzahl der Weibchen bei allen Standorten im Jahr 2018 ebenfalls höher als im Vorjahr 2017. Dies

könnte beeinflusst worden sein durch die höheren Temperaturen und die höhere Anzahl der heißen Tage (Abb. 26), sowie die höhere Frequenz an Fangnächten im Jahr 2018.

3.1.3 Beschreibung der positiven Standorte in Baden-Württemberg

Für die Untersuchung wurden in BW bereits bekannte Standorte als der Ursprungspunkt für die Suche nach weiteren Orten in der Nähe und deren Umgebung bestimmt. Im Untersuchungszeitraum wurden insgesamt 45 Standorte in Baden-Württemberg beprobt, zehn Standorte positiv auf das Sandmückenvorkommen nachgewiesen, bei denen die Sandmücken Art *Ph. mascittii* aktiv ist. Innerhalb dieser Studie wurden vier bisher nicht bekannte Standorte neu entdeckt. Alle Standorte sind bis auf den Isteiner Klotz innerdörflich. Die meisten Standorte sind naturbelassene Scheunen mit festgetretenem Lehm Boden. Die genauen Fangdaten zum jeweiligen Standort können im Anhang eingesehen werden (Tab. 8.3.1). Aufgrund der Vielzahl beprobter Standorte werden hier nur vier negative Standorte ausführlicher beschrieben.

3.1.3.1 Standorte im Markgräflerland

Obereggenen, Bürgerstraße 5, Koordinaten: 47,756278°N, 7,646250°E

Dieser Standort ist bereits ein seit dem Jahr 2003 bekannter und meist positiver Standort. Es handelt sich hier um einen alten Bauernhof mit früherem Wein- und Obstanbau. Der Zustand der Scheune und deren Gegebenheiten hat sich seit den letzten Untersuchungen im Jahr 2008 kaum verändert. Zu dem Hof gehören ein Wohnhaus, ein leerstehender Stall und eine zweigeteilte Scheune. Der Kuhstall ist unbenutzt, hat einen betonierten Boden und dient nur noch als Langzeitlagerung für Behälter und Geräte, Transportmittel wie Traktor und Anhänger für den Obst und Weinbau. Vom linken Teil der Scheune erreicht man über eine Treppe den Dachboden, auf dem nur im Jahre 2015 und 2017 Fallen platziert wurden. Der Boden der Scheune ist am Eingang teilweise gepflastert und nach hinten besteht er aus festgetretenem Sand bzw. Lehm, der hauptsächlich für die positiven Funde von Sandmücken sorgte. Im rechten Teil der Scheune, vorwiegend offen, befindet sich der feste Abstellplatz für den hofeigenen Traktor. Die Hauptscheune mit den meisten positiven Funden war vor allem im hinteren Teil mit den unterschiedlichsten Gegenständen zugestellt und schwieriger zugänglich. Die meisten Funde waren direkt unter einem Futtersilo, nahe einem kleinen kaputten Fenster. Hinter diesem Teil der Scheune werden freilaufende Hühner gehalten, und

dort verläuft ein kleines Bächlein. Auf dem Dachboden konnten während dieser Untersuchung keine Sandmücken gefangen werden. 2015 wurden hier neun (6 Weibchen, 3 Männchen) Sandmücken gefangen, davon sechs Sandmücken hinter der Treppe in der Nähe des Futtersilos und drei Sandmücken im rechten Teil der Scheune an der Wand in der Nähe der Leitern (Abb. 20). Im Jahr 2017 wurden insgesamt 12 (6 Weibchen, 6 Männchen) Sandmücken gefangen, hinter der Treppe sieben Sandmücken und an der rechten Wand der Scheune fünf Sandmücken. 2018 wurden insgesamt 12 Sandmücken (9 Weibchen, 3 Männchen), hinter der Treppe sieben Sandmücken, an der rechten Wand fünf Sandmücken gefangen. Im Jahr 2017 wurden in zwei Fangnächten jeweils zwei Klebefallen ausgelegt. In einer Nacht konnte mit einer Klebefalle eine Sandmücke gefangen werden. Insgesamt ergab der Fang mit 21 weiblichen und 12 männlichen Sandmücken ein Geschlechterverhältnis von 64 (w):36 (m). An diesem Standort kommen Katzen, Fledermäuse und Hühner als potenzielle Wirte vor. Diese Scheune bewies sich erneut als ein schon seit Jahren bekannter erfolgreicher Standort. Eine leichte Abnahme der Fangrate konnte ab Mitte August beobachtet werden.



Abb. 20: Hofansicht und Innenansicht der Scheune in Obereggenen.

Obereggenen, In der Laiern 2, Koordinaten: 47,75690°N, 7,64497°E

Ein weiterer sehr naheliegender Ort zum Standort in Abbildung 20. Hier handelt es sich um ein Gelände bestehend aus einem Wohngebäude mit Hof und einer großen Scheune. Die Scheune ist zweigeteilt und der linke Teil ist abgetrennt und wird seit 2017 zu einer Werkstatt umgebaut. Die Scheune war in Fachwerkbauweise gebaut mit Stützbalken und mit Lehm

verputzten Wänden. Die dazugehörigen Tore waren aus Holz. Der gestampfte Boden war teils sehr locker und feinsandig, was zum hinteren Teil der Scheune mehr wurde. Der vordere Teil der Hauptscheune befindet sich direkt nach dem Eingang rechts, besteht aus einer Betonbodenplatte auf der sich Gerätschaften und Utensilien für die Feldarbeit sowie Werkstattmaterialien wie Farben und Öle befinden. Der hintere, eher ungenutzte Teil der Scheune wurde als Lager für alte Geräte benutzt. Aufgrund von Umbaumaßnahmen wurden im Jahr 2018 die Lichtfallen nur noch im vorderen Teil der Scheune aufgehängt. Das Jahr 2015 war positiv mit drei (2 Weibchen, 1 Männchen) Sandmücken. Auch die Jahre 2017 und 2018 ergaben positive Fänge. Alle Sandmücken konnten nur im vorderen rechten Teil gefangen werden. Insgesamt wurden zehn weibliche und zwei männliche Sandmücken gefangen, welche ein Geschlechterverhältnis von 83 (w):17 (m) ergibt, was eine hohe Dichte an weiblichen Sandmücken zeigt. An diesem Standort gab es potenzielle Wirte wie Katzen, Fledermäuse, Nagetiere und Eidechsen. Die Fänge ergaben pro Fangnacht meistens nur vereinzelt Sandmücken, ausgenommen das Jahr 2018, welches die höchste Anzahl von Fängen gegen Ende Juli und Mitte August hatte.

Bremgarten, Lindenstr. 12, Koordinaten: 47,91814°N, 7,62168°E

Dieser Standort zählt bereits seit dem Jahr 1999 zu einem der ersten und vorwiegend Sandmücken positiven Fundort. Während dem gesamten Untersuchungszeitraum konnten hier regelmäßig Sandmücken bestätigt werden. Das Dorf liegt in einer Gegend mit rötlicher Parabraunerde aus Niederterrassenschotter des Rheins mit einer mäßigen Feuchte. Der Zustand der Scheune und deren Gegebenheiten hat sich seit den letzten Untersuchungen im Jahr 2008 kaum verändert. Innerhalb der letzten Jahre wurden immer wieder Modernisierungsarbeiten durchgeführt. Es handelt sich hierbei um eine ehemalige Scheune mit Hühner- und ehemaligem Schweinestall. Der Hühnerstall, der sich hinter der Scheune befindet, ist immer noch in Betrieb. Der Boden besteht aus einem sehr harten festgestampften Lehm Boden. Im linken Teil des Stalles sind Reste eines gegossenen Betonbodens. Der Schweinestall ist völlig betoniert. Auffällig war dort der regelmäßige Fund von Sandmücken an einem alten Wasserrohr und an der rissigen verputzten Wand aus Kalksteinen (Abb. 21, Bild rechts). Bei diesen Untersuchungen beweist sich der Platz mit betonierter Umgebung für Sandmücken. Die Mauern des Stalls sind sehr rissig und nur teilweise verputzt. Das hintere Scheunentor war aus Holzlatten gezimmert mit größeren

Lücken dazwischen. Die Scheune sowie der ehemalige Schweinestall werden nur noch zur Lagerung von Möbel und Geräten genutzt. Im Jahr 2001 konnten in diesem Stall, unter anderem auf dem ehemals höhergelegenen Heuboden in ungefähr 5 m Höhe Sandmücken gefangen werden, was in dieser Untersuchung nicht gelungen ist. Die meisten Lichtfallen wurden jeweils in der Hauptscheune an der Wand sowie im Schweinestall am Wasserrohr platziert. Im Jahr 2017 konnten jeweils in zwei Fangnächten zusätzlich mit Klebefallen einzelne Sandmücken abgesammelt werden. Insgesamt wurden hier weitere 31 (23 w, 8 m) Sandmücken gefangen, welches ein Geschlechterverhältnis von 74 (w):26 (m) ergibt. Im Rahmen angestrebter Untersuchungen der Spezies sowie des Genoms wurden hier im Jahr 2019 und 2020 weitere erfolgreiche Fänge durchgeführt. In der Nacht vom 01.09.–02.09.2020 wurden für TV-Dreharbeiten erneut Lichtfallen angebracht.



Abb. 21: Hofansicht und Innenansicht der Scheune in Bremgarten.

Naturschutzgebiet „Isteiner Klotz“, Koordinaten: 47,66134°N, 7,53010°E

Der „Isteiner Klotz“ wurde im Jahr 1999 als erstes sylvatisches Habitat für Sandmücken nachgewiesen. Hierbei handelt es sich um eine von Tunneln und Höhlen durchzogene Felsformation mit einem ansässigen Waldgebiet in einer Höhe von 208 m über NN. Mit dem sogenannten „Isteiner Klotz“ wird ein größeres Gebiet bezeichnet, jedoch ist hier der Felsklotzen an sich relevant. In der Nähe verlaufen mehrere km breite Rheinauen und der Rhein. Im Jahr 2001 konnte hier die letzte Sandmücke gefangen werden. Im Rahmen dieser Arbeit wurde der Standort erneut untersucht. Im Jahre 2017 konnte keine Sandmücke in zwei Fangnächten nachgewiesen werden. Im Folgejahr 2018 konnten in zwei Fangnächten sechs Sandmücken der Art *Ph. mascittii* (4 Weibchen, 2 Männchen) nachgewiesen werden. Die Fallen wurden in unmittelbarer Umgebung, sowie am Eingangsbereich eines zugemauerten Tunnels befestigt. Der nächstgelegene Ort Istein befindet sich in ca. 2 km Entfernung (Abb. 22).



Abb. 22: Zugemauerter Tunnel am „Isteiner Klotz“ mit und ohne Lichtfalle.

Mit dieser langen Zeitspanne von 17 Jahren zwischen 2001 und 2018, ist der Isteiner Klotz neben seiner Sonderstellung, ein Indiz auf das Vorkommen, Überleben und die Etablierung von Lebensräumen für Sandmückennachweise in Deutschland. Er ist bisher das einzige in Deutschland nachgewiesene Höhlensystem für Sandmückenfunde, welche sich ausschließlich im windgeschützten Eingangsbereich fangen ließen (Abb. 22). Folgendes Geschlechterverhältnis ergibt sich daraus: 66 (w):33 (m). Als mögliche Blutwirte kommen Nagetiere und Eidechsen in Betracht. Im Rahmen von TV-Dreharbeiten am 02.09.2020 wurden in der Nacht vom 01.09. zum 02.09.2020 erneut Lichtfallen ausgehängt.

3.1.4 Beschreibung der negativen Standorte in Baden-Württemberg

Aufgrund der Vielzahl beprobter Standorte, die in dieser Untersuchung negativ waren, werden diese nur allgemein beschrieben. Insgesamt wurden 37 Standorte in den Jahren 2015, 2017 und 2018 beprobt, die negativ waren. Davon sind einige Standorte einmalig oder wiederholt untersucht worden (Tab. 8.3.2). Die meisten dieser Standorte, befanden sich ähnlich innerdörflich wie die positiven, oder sylvatisch. Die hügelige Umgebung besteht vorwiegend aus Feldern, Streuobstwiesen, Weidetierhaltung und Waldgebieten. Die meisten Scheunen lagen direkt oder in der Nähe des Wohnhauses und wurden größtenteils zur Lagerung von Geräten, Holz und Sonstigem genutzt. Die Umgebung war ruhig und windgeschützt. Bei den Wänden handelte es sich in der Regel aus gemauerten alten rissigen Steinwänden aus weißem und rotem Backstein. Die Böden bestanden teils aus lockerem oder festgestampftem Lehm, mit jeweiligen Anteilen von Beton. Die meisten Gebäude machten einen unbenutzten Eindruck. Zum Hof gehörten oftmals Katzen, und gelegentlich auch Hühner. In manchen Scheunen konnte ein sehr trockener und staubiger Boden beobachtet werden. Einige der Gebäude wurden während des Studienzeitraums abgerissen, renoviert oder modernisiert.

3.1.5 Beschreibung der positiven Standorte in Rheinland-Pfalz

Im Bundesland RLP gibt es bekannte Funde seit dem Jahr 2001. Dort wurden in Gehrweiler erstmalig vier Sandmücken der Art *Ph. perniciosus* nachgewiesen. Im Jahr 2008 konnten Individuen der Art *Ph. perniciosus* an zwei weiteren Standorten in dieser Region nachgewiesen werden (Nanzdietschweiler und Schmittweiler). Diese Standorte galten bis zum Beginn dieser Untersuchung seit dem Jahr 2015 als die einzigen positiven Standorte für

Sandmücken Nachweise in RLP. Daher wurde vermehrt der Fokus auf RLP gelegt, um das Gebiet genauer auf Sandmücken zu untersuchen. Beinhaltet wurden folgende Gebiete: Landkreis Südliche Weinstraße, Donnersbergkreis und Landkreis Kusel. Neben der Suche nach neuen Standorten wurden die bereits bekannten erneut aufgesucht, sowie auch in der unmittelbaren Umgebung. Im Untersuchungszeitraum wurden in Rheinland-Pfalz insgesamt 85 Standorte beprobt. Der bekannte Standort in Nanzdietschweiler konnte während dieser Untersuchungen auf die Art *Ph. mascittii* bestätigt werden. An elf bisher nicht bekannten Standorten konnten Sandmücken der Art *Ph. mascittii* nachgewiesen werden. Alle Standorte sind innerdörflich. Aufgrund der Anzahl werden nur drei Standorte näher beschrieben. Die genauen Fangdaten zu allen Standorten in RLP sind in Tabelle 8.3.1 aufgeführt.

3.1.5.1 Standorte im Landkreis Südliche Weinstraße

Hochstadt, Hauptstr. 70, Koordinaten: 49,23919°N, 8,20601°E

Dieser Standort wurde im Jahr 2017 aufgesucht. Es handelt sich hier um eine große Scheune, die direkt neben dem Naturfreundehaus mit Gästezimmern gelegen ist. Dem Naturfreundehaus gegenüber befindet sich noch ein Mehrfamilienhaus (Abb. 23).

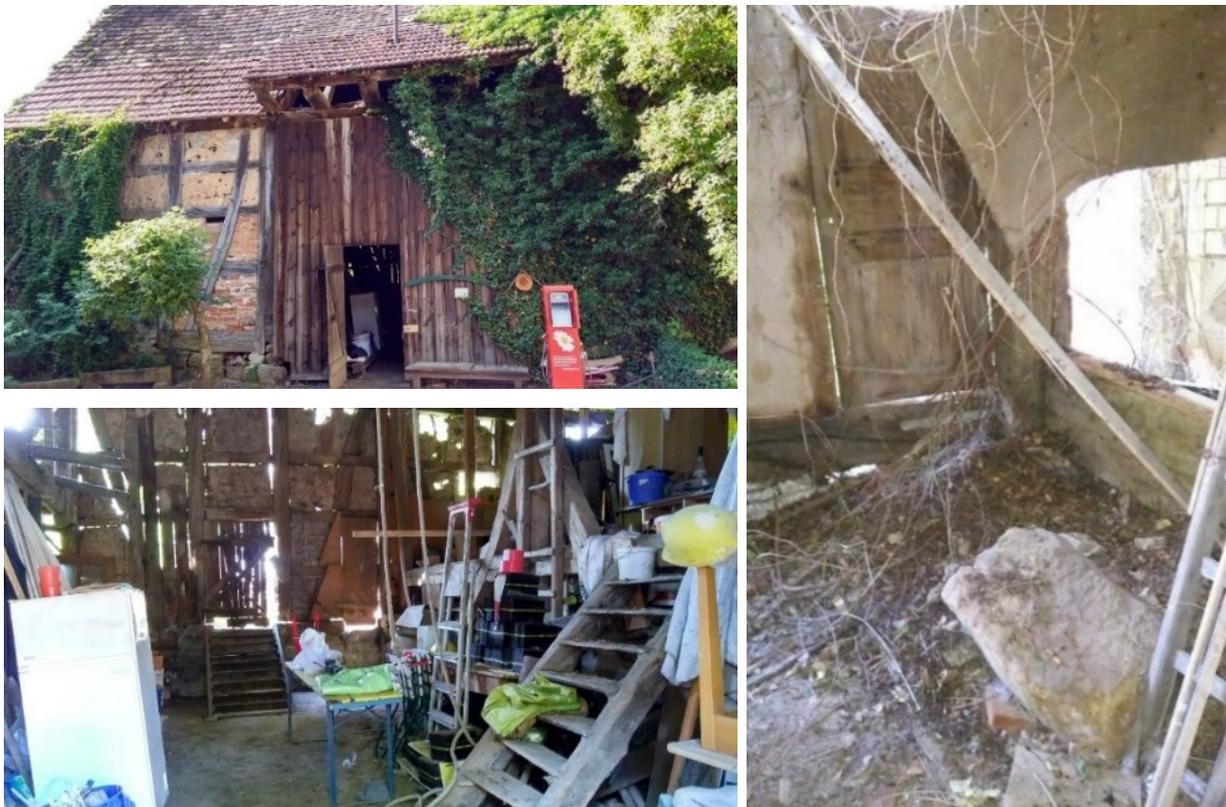


Abb. 23: Hof- und Innenansicht des Naturfreundehaus in Hochstadt.

Die Scheune ist aufgeteilt in vier Bereiche (Abb. 23). Im Eingangsbereich zur linken Seite befindet sich eine große Werkbank, und zur rechten Seite geht es über eine kleine Holzterrasse einen Stock höher in einen offenen, fast nur aus Holz bestehenden Bereich. Direkt darunter befindet sich ein tiefergelegener Bereich, der von außen durch ein Holztor erreichbar, jedoch schwer zugänglich ist. Die Scheune dient zur Lagerung von Dachziegeln, Fahrrädern und Geräten und wird zusätzlich als Werkstatt genutzt. Der Boden ist fest und lehmgestampft, in manchen Ecken sandig und teilweise mit Laub übersät. Der Kellerbereich konnte nur durch eine kleine Öffnung zwischen den Holzbalken eingesehen und erreicht werden. Dort besteht der Boden aus lockerem sandigen Naturboden.

Die Wände sind lehmverputzte Steinwände, durchzogen mit Holzbalken. Insgesamt macht die Scheune in manchen Bereichen einen unaufgeräumt schmutzigen Eindruck. In der Scheune wurden meistens bis zu vier Fallen verteilt aufgehängt, sowie eine Falle in den Kellerbereich abgelassen. Im Jahr 2017 wurden hier erstmals sieben Sandmücken (4 Weibchen, 3 Männchen) am 19. Juli, sowie 2 Männchen am 04. August gefangen. Die meisten Sandmücken konnten hier nur im linken Bereich in Wandnähe, sowie im unmittelbar tiefergelegenen Kellerbereich gefangen werden. In zwei Fangnächten im Jahr 2017 wurden zusätzlich zwei Klebefallen ausgelegt, welche auf Sandmücken negativ getestet wurden. Durch den Fang von 14 Sandmücken ergibt sich für diesen Standort ein Geschlechterverhältnis von 79 (w):27 (m), welches die höhere Anzahl an weiblichen Sandmücken verdeutlicht. Der Monat Juli zeigt das höchste positive Fangergebnis. Im Jahr 2018 wurde die Scheune renoviert.

Altdorf, Haupts. 43, Koordinaten: 49,28648°N, 8,21688°E

Dieser Standort wurde im Jahr 2017 neu aufgesucht. Die Scheune befindet sich auf einem großen Grundstück mit einem Wohnhaus, durch einen Hof miteinander verbunden. Die Scheune ist aufgeteilt in zwei große Teile, die durch eine Betonwand getrennt sind. Hinter dem linken Teil der Scheune geht es in einen großen Gemüsegarten. Beide Scheunen dienen als Lager von Sperrmüll, Geräten, Traktoranhängern, alten Spielsachen und Autoreifen. Insgesamt macht die Scheune einen unaufgeräumten, staubigen Eindruck. Der rechte Teil der Scheune ist immer geschlossen durch ein großes Holztor, der linke Teil hingegen steht am Eingangsbereich immer offen. Zum Teil war es schwierig, an die Wände für die Applikation der Lichtfallen zu gelangen. Der rechte Teil der Scheune wird kaum genutzt, weswegen dort

weniger Durchgang und Bewegung stattfinden. Auch ist es im linken Teil der Scheune, je nach Windrichtung, wesentlich zugiger als im rechten Teil, was sich durch das fehlende Scheunentor erklären lässt. Die Wände bestehen aus rotem Backstein. In beiden Teilen der Scheune ist der Boden im Eingangsbereich betoniert. Zu den Wänden hin besteht der Boden aus gestampftem Lehm, zum Teil auch mit staubigen Flächen. Zum Hof gehören Katzen und ein Hund als mögliche Wirte. Im Jahr 2017 konnte in der linken Scheune an der Wand eine männliche Sandmücke gefangen werden. Im Jahr 2018 zeigte sich der größte Anteil an Sandmücken eindeutig im rechten Teil der Scheune. Es wurden regelmäßig etwa drei Lichtfallen angebracht, und insgesamt ließen sich sieben Sandmücken (4 Weibchen, 3 Männchen), hauptsächlich von Ende Juli bis Anfang August, mit einem Geschlechterverhältnis von 57 (w):43 (m) fangen.

Freimersheim, Hauptstr. 9, Koordinaten: 49,26902°N, 8,21955°E

Dieser Standort wurde im Jahr 2017 neu aufgesucht. Das Wohnhaus liegt direkt am Dorfrand an einer Hauptstraße. Durch den großen Hof kommt man zu der eigentlichen Scheune, in welcher kontinuierlich Sandmücken gefangen werden konnten (Abb. 24).



Abb. 24: Hof- und Innenansicht der Scheune in Freimersheim.

Die Scheune kann von der Straße aus nicht gesehen werden. Direkt hinter der Scheune gelangt man in einen großen naturbelassenen Garten mit Pferdestellplätzen, freilaufenden Hühnern und angrenzenden bewirtschafteten Feldern und Wiesen. Die Scheune selbst dient als Unterstellplatz für Gartengeräte und Feuerholz, Dachziegeln, einen Anhänger für Traktoren, viele Besen, Heugabeln und Gartenmaterialien. Die Wände sind mit teils weißen und teils roten Mauersteinen gebaut. Der Boden besteht aus einem festgestampften Lehm Boden, der in Teilbereichen zur Wand sandiger wurde (Abb. 24).

In den Jahren 2017 und 2018 wurde die Scheune selten benutzt, da zu dieser Zeit nur noch eine ältere Dame dort lebte. Mittlerweile gehört die Scheune einem neuen Besitzer und es finden große Umbau- und Renovierungsarbeiten am Wohnhaus statt. Jetzt wird die Scheune wieder regelmäßig genutzt zur Lagerung von Baumaterialien und Kleinfahrzeugen. Auch findet mehrmals am Tag Bewegung statt, da sich im Garten Pferde und Hühner befinden. Zu beiden Seiten gibt es in der Scheune zwei Holztore, die aber meist geschlossen waren. Am Ausgang Richtung Garten und Pferdeplätzen waren am Boden des Holztors größere Ritzen, demzufolge es auf dieser Seite je nach Windrichtung wahrscheinlich wesentlich zugiger war als bei der gegenüberliegenden Seite. In den Untersuchungen wurden immer drei Lichtfallen aufgehängt. Die Sandmückenfunde konnten meistens an der rechten Wand nachgewiesen werden (Abb. 24, Bild rechts). Insgesamt konnten hier neun Sandmücken (5 Weibchen und 4 Männchen) gefangen werden. Im Rahmen von TV-Dreharbeiten am 02.09.2020, wurden in der Nacht vom 01.09. zum 02.09.2020 erneut Lichtfallen angebracht.

3.1.5.2 Standorte im Donnersbergkreis

Im Ort Gehrweiler konnten im Jahr 2001, vier Sandmücken der Gattung *Ph. perniciosus* einmalig nachgewiesen werden (Naucke und Schmitt, 2004). Darüber hinaus wurde in der gleichen Region im Jahr 1998 eine autochthon erworbene Erkrankung an Leishmaniose bei einem Hund gemeldet (Schmitt, 2002), was zur damaligen Untersuchung in der Region führte. In dieser Arbeit wurde der bekannte Standort erneut aufgesucht. Am damaligen Fundort konnten weder Sandmücken der Art *Ph. perniciosus*, noch der Art *Ph. mascittii* nachgewiesen werden. Durch Empfehlung einer Dorfbewohnerin konnten zwei weitere Standorte in Gehrweiler gefunden und positiv auf *Ph. mascittii* nachgewiesen werden.

Gehrweiler, Ortsstraße. 37, Koordinaten: 49,57545°N, 7,77388°E

Auch dieser Standort konnte durch den Hinweis einer Dorfbewohnerin im Jahr 2017 ausfindig gemacht werden. Er liegt in unmittelbarer Nachbarschaft zur genannten Hütte in der Ortsstraße 33. Es handelt sich um ein Wohnhaus mit einer direkt angrenzenden Scheune zur rechten Seite. Die Scheune dient zur Ablage von Dachziegeln, Geräten und Sperrmüll. Insgesamt teilweise schwer begehbar, da viele Holzlatten durchzogen mit Nägeln, als auch viele kleine Holzstücke und Laub den Boden bedeckten. Der Boden ist lehmgestampft, teils sandig und staubig. Ein kleines Fenster befindet sich an der linken Wand der Scheune, im Sommer immer leicht geöffnet. Die Wände sind aus groben großen Steinmauern. Die Hausbesitzerin hatte früher einen Hund. Sie berichtete, dass ihr Hund damals mit dem Hund in Kontakt stand, der den früheren Bewohnern des Standortes mit den *Ph. perniciosus*-Funden gehörte. In dieser Scheune wurden zwei Fangnächte durchgeführt. Es wurden jeweils zwei Fallen verteilt an der Wand angebracht. Während der Untersuchung konnten im Jahr 2017 und 2018 insgesamt vier Sandmücken (1 Weibchen, 3 Männchen) nachgewiesen werden. Dies ergibt ein Geschlechterverhältnis von 25 (w):75 (m).

3.1.5.3 Standorte im Landkreis Kusel

Nantzdietschweiler, Haupstr. 77, Koordinaten: 49,43933°N, 7,43451°E

Der Ort liegt in einer Gemeinde im Landkreis Kusel. An diesem bekannten Standort konnten im Jahr 2017 Sandmücken gefunden werden. Im Jahr 2008 konnten erstmals Sandmücken der Art *Ph. perniciosus* nachgewiesen werden, im Jahr 2017 ausschließlich *Ph. mascittii*. Das Anwesen ist sehr groß und besteht neben dem Wohnhaus aus mehreren Gebäuden. Neben einem alten Stall direkt neben dem Wohnhaus, liegt dem Wohnhaus gegenüber, getrennt von einer Verkehrsstraße, eine weitere große Scheune, in der die Individuen gefangen wurden. Beide Gebäude sind durch ein Holztor verschlossen und dienen zur Lagerung von Brennholz, Maschinen und Geräten. Der Boden besteht aus festgestampftem Lehm. Die Wände sind aus Stein. Die Lichtfallen wurden in einer Fangnacht in beiden Gebäuden verteilt, jedoch wurden Sandmücken nur in der alten Scheune gegenüber dem Wohnhaus gefunden. Es konnten jeweils eine weibliche und eine männliche *Ph. mascitti* nachgewiesen werden.

3.1.6 Beschreibung der negativen Standorte in Rheinland-Pfalz

Aufgrund der hohen Anzahl negativer Standorte, wird nicht ausführlicher darauf eingegangen. Insgesamt wurden 71 Standorte beprobt, die negativ waren. Davon sind einige Standorte während des Untersuchungszeitraum wiederholt oder nur einmalig untersucht worden (Tab. 8.3.2). Die meisten Standorte befanden sich im ländlichen und innerdörflichen Bereich, bestehend aus Wohnhäusern, Betriebe mit viel Obst- und Weinanbau, Vinotheken sowie Schnapsbrennereien. Zusätzlich wurden sylvatische Orte untersucht. Die Gegend besteht neben dem Weinanbau aus Landwirtschaft. In der Umgebung befinden sich Burgruinen und im westlichen Teil der Pfalz beginnt der Pfälzer Wald mit vielen Wanderwegen, Höhlen und Tunneln. Flora und Fauna erinnern besonders im Wald mit seinen vielen Kieferbäumen an eine teils mediterrane Umgebung. Die Scheunen wurden hauptsächlich zur Lagerung von Geräten, Holz und Sonstigem genutzt, jedoch teils auch als Werkbank. Die Umgebung war meist ruhig und windgeschützt. Bei den Wänden handelte es sich in der Regel aus gemauerten alten rissigen Steinwänden aus weißem oder rotem Backstein. Die Böden bestanden teils aus lockerem oder festgestampftem Lehm, mit kleinen Anteilen von Beton. Die meisten Gebäude machten einen ungenutzten und verlassenem Eindruck. Als potenzieller Wirt konnten oftmals Katzen, Hunde und gelegentlich auch Hühner gesichtet werden. In manchen Scheunen konnte manchmal ein sehr trockener und staubiger Boden beobachtet werden. Einige der Scheunen wurden während des Studienzeitraums umgebaut oder modernisiert

3.1.7 Stollen und Höhlensysteme

Im Rahmen dieser Untersuchung wurde auch in Stollen, Höhlen und alten Bunkern nach Sandmücken gesucht (Abb. 25). Ausgangspunkt war der im Naturschutzgebiet gelegene „Steiner Klotz“ in Baden-Württemberg. In den Höhlen und Einbuchtungen herrscht eine niedrigere bzw. relativ konstante Temperatur um die 15- 19, die sich



Abb. 25: Stollen in Queichhambach, RLP (49,21479°N 7,99108°E) (a); Knöringen Erdkeller, RLP (49,23587°N 8,14365°E) (b).

mit dem im mediterranen Höhlensystem vorkommenden Toumanoff-Tunnel in Korsika vergleichen lässt. Als Vergleich zum Isteiner Klotz wurden ausgewählte Höhlen und Stollen in RLP mit ähnlichen Bedingungen aufgesucht. Es gelang jedoch nicht, dort Sandmücken zu finden. Die Gründe dafür sind unbekannt, jedoch könnten Unterschiede der Temperatur und Luftfeuchtigkeit eine Rolle spielen, sowie auch die vorhandenen Bodenarten.

3.1.8 Fangrate von *Ph. mascittii* und Saisonalität

Der Fangfaktor für Sandmücken über den gesamten Zeitraum zeigt, dass im Durchschnitt 0,17 Sandmücken pro Falle gefangen wurden. Der höchste Fangfaktor war im Jahr 2018 mit 0,3 Sandmücken pro Falle. Im Jahr 2015 wurden 16 Exemplare (9 Weibchen, 7 Männchen) *Ph. mascittii* an fünf (83,3 %) von sechs Standorten in BW gefangen. Im Sommer 2016 zeigten sich 36 bisher nicht untersuchte Standorte negativ auf Sandmücken. Im Jahr 2017 wurden 52 *Ph. mascittii* (30 Weibchen, 22 Männchen) gefangen, welches 17 % der untersuchten Standorte entspricht. Im Jahr 2018 wurden 81 *Ph. mascittii* (53 Weibchen, 28 Männchen) gefangen. Von 34 untersuchten Standorten wurden 15 (44 %) als positiv bestätigt. Die mittlere Temperatur der Monate Juli und August im Jahr 2015, 2016, 2017 und 2018 betrug 22,9, 21,4, 21,3 bzw. 23,1. Im Juli 2018 gab es 18 heiße Tage mit Temperaturen über 30. Der Monat mit den wenigsten heißen Tagen war der August 2016 mit sieben heißen Tagen (Abb. 26). Ausgewertet wurden die im Jahr 2018 aufgezeichneten Temperaturen und die relative Luftfeuchtigkeit. In Bremgarten, einem Standort, an dem regelmäßig Sandmücken gefangen wurden, lagen die Temperaturen an den Fangtagen gegen 19:00 Uhr zwischen 27,7 °C und 30,8 °C bei einer relativen Luftfeuchtigkeit zwischen 35,8–48,3 %. Die negativen Standorte unterschieden sich nicht signifikant in Luftfeuchtigkeit und Temperatur von den positiven Standorten. In Tab. 9 sind alle positiven Standorte von 2015 bis 2018 mit der jährlichen Fangrate, dem Geschlechteranteil pro Jahr und Standort erfasst. Insgesamt lag der Anteil der Weibchen mit 62 % in allen Untersuchungsjahren höher als der Anteil der Männchen. Nur im Juli 2017 war der Anteil der Männchen mit 54,2 % höher. In den anderen Monaten lag der Anteil der Weibchen zwischen 56,2–67,9 % (Abb. 26). Oft kam es nur zum Fang einer Sandmücke pro Standort pro Saison. An Standorten wie Hochstadt1 konnten im Jahr 2017 mehr weibliche Sandmücken, und im Jahr 2018 nur weibliche Sandmücken gefangen werden. Am Standort Essingen konnten in beiden Jahren 2017, 2018 zwischen Ende Juli und Anfang August lediglich männliche Sandmücken gefangen werden.

Tab. 9: Jährliche Fangrate und Geschlechterverhältnis von *Ph. mascittii* im Zeitraum 2015–2018.

Fangort	Anzahl Jahr 2015	Weibchen	Männchen	Gesamtfang (w/m) Standort	Geschlechterverhältnis (w:m) Jahr 2015	%-Anteil
Neuenburg	1		1 (14 %)	1 m	0 %:100 %	6 %
Obereggenen1	9	6 (66 %)	3 (43 %)	17 w/12 m	66 %:33 %	56 %
Obereggenen2	3	2 (22 %)	1 (14 %)	10 w/2 m	66 %:33 %	19 %
Vögisheim1	1		1 (14 %)	1 w/2 m	0 %:100 %	6 %
Vögisheim2	2	1 (11 %)	1 (14 %)	1 w/1 m	50 %:50 %	13 %
	16	9	7		56 %:44 %	

Fangort	Anzahl Jahr 2017	Weibchen	Männchen	Gesamtfang (w/m) Standort	Geschlechterverhältnis (w:m) Jahr 2017	%-Anteil
Obereggenen1	12	6 (33 %)	6 (60 %)	17 w/12 m	50 %:50 %	42 %
Obereggenen2	1	1 (5 %)		10 w/2 m	100 %:0 %	4 %
Obereggenen3	1	1 (5 %)		4 w/3 m	100 %:0 %	4 %
Vögisheim1	1	1 (5 %)		1 w/2 m	100 %:0 %	4 %
Hartheim	1		1 (10 %)	1 w/1 m	0 %:100 %	4 %
Bremgarten	11	8 /44 %)	3 (30 %)	22 w/9 m	73 %:27 %	40 %
Eschbach	1	1 (5 %)		1 w/1 m	100 %:0 %	4 %
	28	18	10		64 %:36 %	
Hochstadt1	9	6 (50 %)	3 (25 %)	13 w/3 m	66 %:33 %	37 %
Hochstadt2	3	1 (8 %)	2 (17 %)	2 w/4 m	33 %:66 %	12 %
Essingen	1		1 (8 %)	3 m	0 %:100 %	4 %
Gehrweiler1	1	1 (8 %)		1 w	100 %:0 %	4 %
Gehrweiler2	3		3 (25 %)	1 w/3 m	0 %:100 %	12 %
Nanzdietschweiler	2	1 (8 %)	1 (8 %)	1 w/1 m	50 %:50 %	8 %
Bornheim	1		1 (8 %)	1 m	0 %:100 %	4 %
Altdorf	1		1 (8 %)	5 w/4 m	0 %:100 %	4 %
Böbingen	1	1 (8 %)		2 w	100 %:0 %	4 %
Freimersheim	2	2 (17 %)		5 w/4 m	100 %:0 %	8 %
	24	12	12		50 %:50 %	
	52	30	22		58 %:42 %	

Fangort	Anzahl Jahr 2018	Weibchen	Männchen	Gesamtfang (w/m) Standort	Geschlechterverhältnis (w:m) Jahr 2018	%-Anteil
Obereggenen1	8	5 (15 %)	3 (18 %)	17 w/12 m	63 %:37 %	16 %
Obereggenen2	8	7 (20 %)	1 (6 %)	10 w/2 m	88 %:12 %	16 %
Obereggenen3	6	3 (9 %)	3 (18 %)	4 w/3 m	50 %:50 %	12 %
Vögisheim1	1		1 (6 %)	1 w/2 m	0 %:100 %	2 %
Hartheim	1	1 (3 %)		1 w/1 m	100 %:0 %	2 %
Bremgarten	20	14 (41 %)	6 (35 %)	22 w/9 m	70 %:30 %	39 %
Eschbach	1		1 (6 %)	1 w/1 m	0 %:100 %	2 %
Isteiner Klotz	6	4 (12 %)	2 (12 %)	4 w/2 m	66 %:33 %	12 %
	51	34	17		66 %:33 %	
Hochstadt1	7	7 (37 %)		13 w/3 m	100 %:0 %	23 %
Hochstadt2	3	1 (5 %)	2 (18 %)	2 w/4 m	33 %:66 %	10 %
Essingen	2		2 (18 %)	3 m	0 %:100 %	7 %
Gehrweiler2	1	1 (5 %)		1 w/3 m	100 %:0 %	3 %
Altdorf	8	5 (26 %)	3 (27 %)	5 w/4 m	63 %:37 %	27 %
Böbingen	1	1 (5 %)		2 w	100 %:0 %	3 %
Freimersheim	7	3 (16 %)	4 (36 %)	5 w/4 m	43 %:57 %	23 %
Kapellen- Drusweiler	1	1 (5 %)		1 w	100 %:0 %	3 %
	30	19	11		63 %:37 %	
	81	53	28		65 %:35 %	

Der bekannte Standort in Bremgarten bleibt ein Premium Standort mit regelmäßig hoher Anzahl an Sandmücken und deutlich hohem Anteil an weiblichen Sandmücken. Im Jahr 2015 war der Anteil weiblicher Sandmücken bei 10 %, zum Gesamtfang aller weiblichen Sandmücken. Der männliche Anteil beträgt 12 % zum Gesamtfang aller männlichen Sandmücken aller Fangjahre. Im Jahr 2017 ist der Anteil weiblicher Sandmücken zu allen Jahren 33 %, der männliche Sandmückenanteil 38 %. Im Jahr 2018 liegt der Anteil weiblicher Sandmücken in allen Jahren bei 58 %, der männliche Anteil bei 49 %. Gesamtanzahl aller Jahre: 92 Weibchen (62 %), 57 Männchen (38 %) = 149 Sandmücken.

Die folgende Graphik zeigt die Anzahl der Sandmücken in Südwestdeutschland in den Jahren 2015–2018 und den Fangmonaten Juli und August, sowie die Anzahl der heißen Tage ($t_{\max} \geq 30 \text{ °C}$). Die Ergebnisse der aufgenommenen Temperaturen verdeutlichen, dass im Jahr 2018 die Jahresdurchschnittstemperatur und die Anzahl der heißen Tage mit Temperaturen $>30 \text{ °C}$ in den Vorjahren deutlich höher waren (Abb. 26).

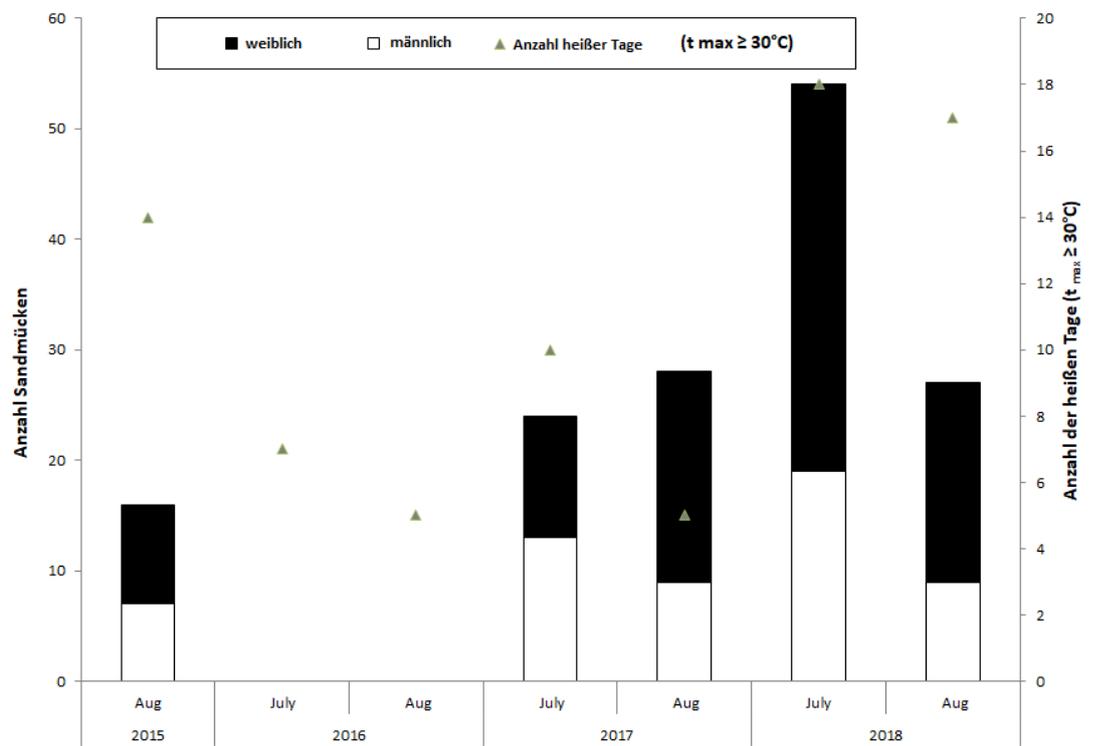
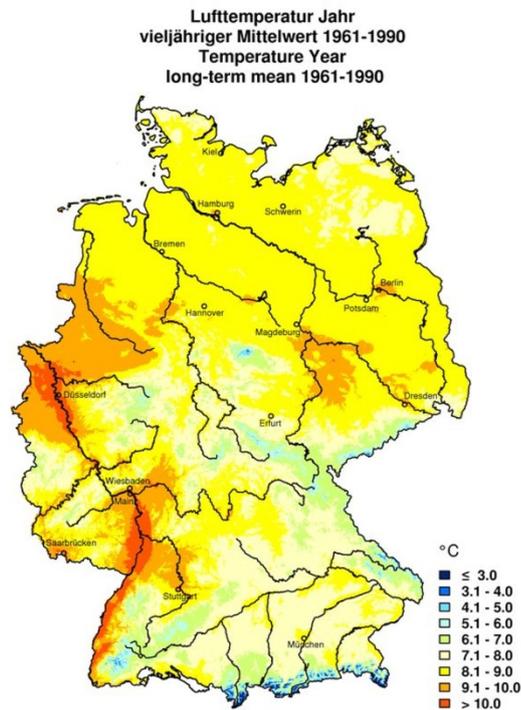


Abb. 26: Anzahl der Sandmücken in Südwestdeutschland und Anzahl der heißen Tage ($t_{\max} \geq 30 \text{ °C}$) im Zeitraum 2015–2018.

3.2 Einflussfaktor Temperatur und Luftfeuchtigkeit

Im Zeitraum der Jahre 2011 bis 2015 konnten anhand der Daten des DWD extreme Ereignisse mit sehr hohen Temperaturen basierend auf Auswertungen der einzelnen Bundesländer dargestellt werden. Bei Aussagen zum Jahresdurchschnittswert wird Bezug zum Mittelwert der Referenzperiode 1961–1990 mit Wetterdaten des DWD genommen. In Baden-Württemberg (Jahresdurchschnittswert 9,9 °C) und Rheinland-Pfalz (Jahresdurchschnittswert 10,2 °C) war das Jahr 2015 das zweitwärmste seit Beginn der Aufzeichnungen, mit den höchsten Mittelwerten der Jahrestemperatur in Deutschland seit 1881. Im Sommer herrschte in Süddeutschland eine extreme Hitzeperiode, vor allem in den Monaten Juli und August. Dies sind aktuell die zwei Monate im untersuchten Gebiet, welche Sandmücken Abundanz bestätigt. Eindeutig wärmer zeigt sich das Jahr 2018, auch in erweiterten Regionen Deutschlands Richtung Nordwesten und Nordosten. In nachfolgender Abbildung (Abb. 27) sind Klimakarten mit Jahresdurchschnittswerten des Zeitraumes 1961–1990 (links), sowie die Jahre 2015, 2016, 2017 und 2018 mit Daten vom Deutschen Wetterdienst als Gegenüberstellung und zum Vergleich dargestellt.



© Deutscher Wetterdienst 2018

Diese Karte wurde am 23.05.2018 mit den Daten aller Stationen aus den Messnetzen des DWD erstellt.
This chart was produced on May 23, 2018 using data of all stations of the networks of DWD.

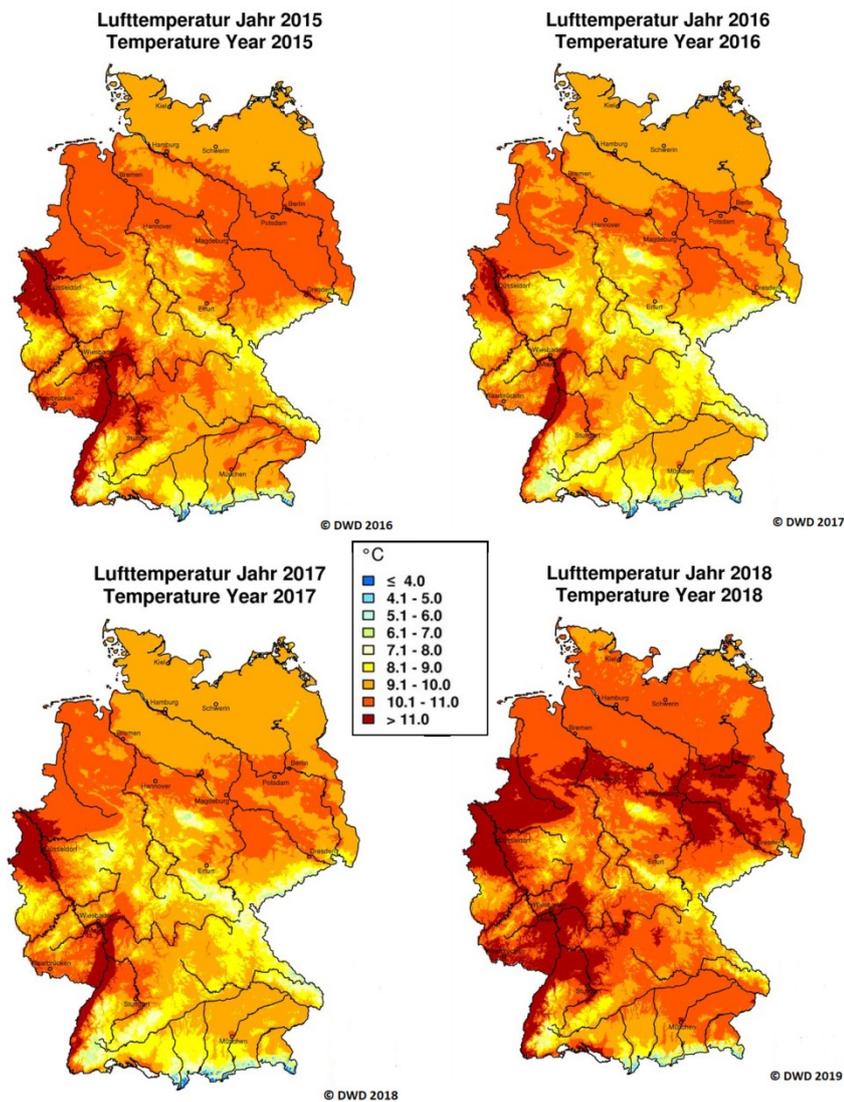


Abb. 27. Klimakarten mit Jahresdurchschnittstemperatur des Zeitraums 1961–1990 (links), und der Jahre 2015, 2016, 2017 und 2018 mit Daten vom Deutschen Wetterdienst (Deutscher Wetterdienst, 2021, KLIWA, 2016).

Die dargestellte Klimakarte links besteht aus den Temperaturjahresmittelwerten im Zeitraum von 1961 bis 1990 und wurde mit Daten des Deutschen Wetterdienstes erstellt. Erkennbar ist die Jahresmitteltemperatur von ca. 10 °C in den untersuchten Gebieten BW und RLP, welche sich zwischen Mainz und Bonn verändert. Des Weiteren sind die Jahresdurchschnittswerte des Untersuchungszeitraumes der Jahre 2015–2018 einzeln anhand von Klimakarten des DWD aufgeführt. Es lässt sich erkennen, dass die Untersuchungsgebiete in BW- und RLP-Temperaturen von >11 °C zeigen, unter anderem in mehr neuen Zonen als im Vergleichszeitraum 1961–1990. Ganz auffällig ist das Jahr 2018 mit durchschnittlich hohen Temperaturen. Diese Daten machen deutlich, dass es bereits mediterran ähnliche Klimabereiche in Deutschland gibt und die theoretisch nördliche Verbreitungsgrenze für

Sandmücken mit 10 °C deutlich erreicht wird. Mit der Erderwärmung verschiebt sich die angenommene Jahresisotherme weiter nach Norden (Naucke et al., 2014). Es wird angenommen, dass es sogar geeignete klimatische Bedingungen für die Entwicklung von Sandmücken ab etwa 2025 in England geben könnte (Fischer et al., 2011, Fischer et al., 2010a, Roeckner und Jacob, 2008). Des Weiteren zeigen die von den IPCC-Szenarien ausgehenden Klimamodelle, dass es immer wahrscheinlicher ist, dass die klimatischen Bedingungen in zukünftiger Dekade geeignete Lebensbedingungen für Sandmücken andeutet, und deren Ausbreitung in Mitteleuropa begünstigen könnten (Naucke, 2007). Die mittleren jährlichen Klimaverläufe von 2015 bis 2018 beider Untersuchungsgebiete lassen sich für die Studie wie folgt zusammenfassen: jährliche Mindesttemperatur von 13,9 °C, jährliche Höchsttemperatur von 35 °C, mittlere Sommertemperatur von 21,5 °C (Juni bis September), Sommerniederschläge von 200 bis 250 mm (Deutscher Wetterdienst, 2018).

3.2.1 Statistische Auswertung der Klimafaktoren

Da durchschnittliche, minimale und maximale Tageswerte stark signifikant mit Nachwerten korrelierten (Pearson-Korrelationskoeffizient $>0,6$), wurden ausschließlich nächtliche Werte für die statistische Auswertung herangezogen (Abb. 28). Signifikante Unterschiede wurden zwischen mittleren Nachttemperaturen (Kruskal-Wallis-Test, P-Wert $<0,001$), minimalen Nachttemperaturen (Kruskal-Wallis-Test, P-Wert $<0,001$), sowie maximalen Nachttemperaturen (Kruskal-Wallis-Test, P-Wert $<0,001$) festgestellt (Abb. 29A–C). Sandmückenaktivität wurde zwischen 19,6 °C und 26,8 °C durchschnittlicher Nachttemperatur, sowie zwischen 17,5 °C minimaler und 31,0 °C maximaler Nachttemperatur aufgezeichnet. Weiter wurden signifikante Unterschiede zwischen der durchschnittlichen nächtlichen Luftfeuchtigkeit (Kruskal-Wallis-Test, P-Wert=0,006), der minimalen nächtlichen Luftfeuchtigkeit (Kruskal-Wallis-Test, P-Wert=0,02) und der maximalen nächtlichen Luftfeuchtigkeit (Kruskal-Wallis-Test, P-Wert=0,02) festgestellt (Abb. 29D–F). Sandmückenaktivität wurde zwischen 48,6 % und 81,8 % mittlerer nächtlicher Luftfeuchtigkeit, sowie zwischen 34,5 % minimaler und 85,7 % maximaler nächtlicher Luftfeuchtigkeit aufgezeichnet.

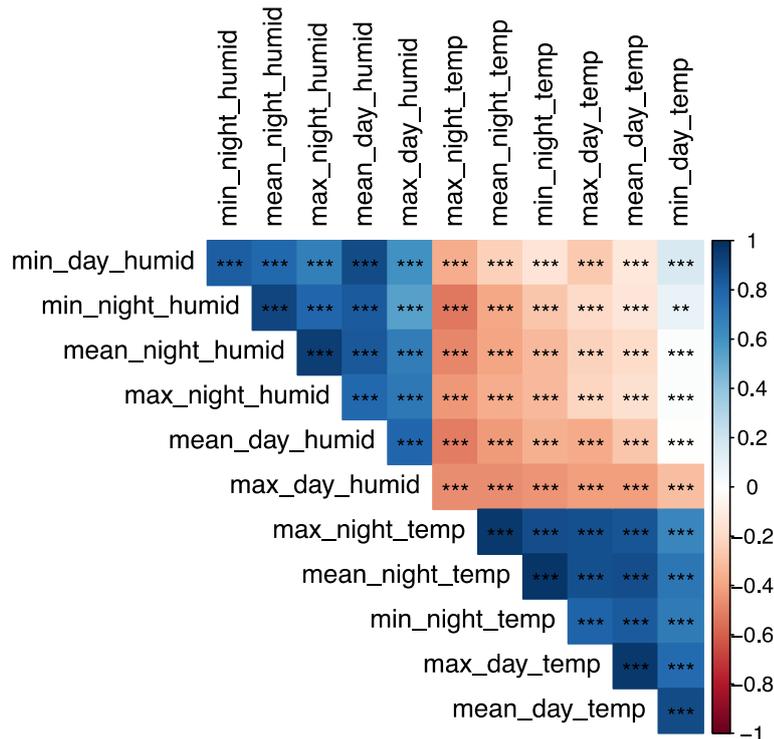


Abb. 28. Pearson-Korrelationen zwischen analysierten Klimaparametern (P-Wert: * $<0,05$, ** $<0,01$, *** $<0,001$). Starke Korrelation (blau), keine Korrelation (weiß), starke negative Korrelation (rot).

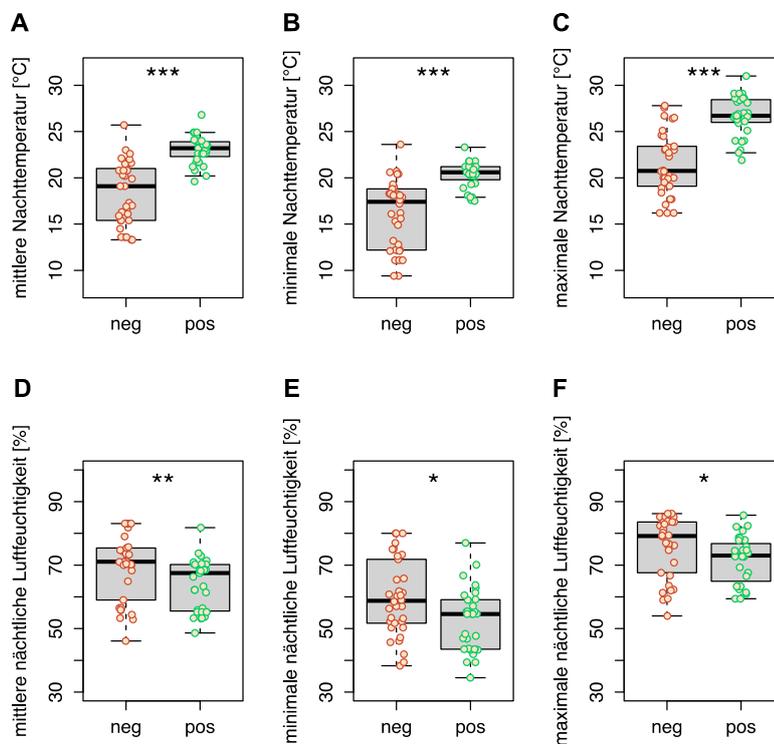


Abb. 29: Vergleich klimatischer Parameter in nicht erfolgreichen (neg) und erfolgreichen (pos) Fangnächten, analysiert mittels Kruskal-Wallis-Test. Farbige Punkte über den Boxplots zeigen Einzelwerte an. Statistische Unterschiede zwischen nicht erfolgreichen und erfolgreichen Fangnächten werden folgendermaßen dargestellt: P-Wert: * $<0,05$, ** $<0,01$, *** $<0,001$.

3.3 Morphologie von *Ph. mascittii*

Eine schematische Darstellung wichtiger Kriterien für die Bestimmung von *Ph. mascittii* ist in Abbildung 30 dargestellt. Die Aufnahmen wurden mit einem Lichtmikroskop mit 40-facher Vergrößerung (blau) und 1,6-fachen Auflösung erfasst. Genauere Erläuterungen der Eigenschaften befinden sich zur jeweiligen Abbildungsbeschreibung. Insgesamt zwölf Exemplare der gefangenen Sandmücken aus BW und RLP, darunter jeweils drei Weibchen und drei Männchen, wurden morphologisch als *Ph. mascittii* identifiziert. Morphologische Charaktere, sowohl der Männchen als auch der Weibchen, insbesondere die Spermatheke und männlichen Genitalien, waren typisch für *Ph. mascittii*. Im Folgenden erfolgt eine detaillierte Beschreibung der morphologischen Darstellung.

Foto A zeigt die typische Bezahnung des weiblichen Pharynx von *Ph. mascittii*. Sie befindet sich in der unteren Hälfte des Pharynx und ist von schuppenförmiger, ungeordneter Gestaltung. Anhand dieses Merkmals lässt sich *Ph. mascittii* sehr gut von Arten wie *Ph. perniciosus* und *S. minuta* unterscheiden. Foto B zeigt den Kopf einer weiblichen Sandmücke mit Antennen und Proboscis. Foto C zeigt die weiblichen Spermatheken von *Ph. mascittii*, die ein weiteres wichtiges Merkmal als morphologisches Kriterium zur taxonomischen Eingliederung darstellen. Die Spermatheken des Weibchens haben am vorderen Ende einen Kopf verbunden mit einem kurzen Hals, sind von verdickender Gestalt mit unregelmäßiger Streifung. Der Spermathekenhals ist im Vergleich zu anderen Arten kurz. Foto D zeigt das äußere Genital, einen männlichen Kopulationsapparat von *Ph. mascittii*. Der Stylus weist jeweils eine für *Phlebotomus*-Arten bezeichnender Anzahl von fünf Dornen auf: ein Paar distal, ein Paar median und ein einzelner Dorn proximal. Ein ebenfalls charakteristisches Merkmal ist die ventrale Anordnung eines Büschels borstenartiger Haare (Setae) auf dem Coxit. In Foto E wird der Aedeagus eines *Ph. mascittii* Männchen optisch größer dargestellt. Foto F zeigt die Gestaltung des Aedeagus, der an einem Ende gleichmäßig spitz zuläuft. Die Spermaröhre mit Genitalpumpe mündet in die charakteristisch abgerundete Spitze des Aedeagus.

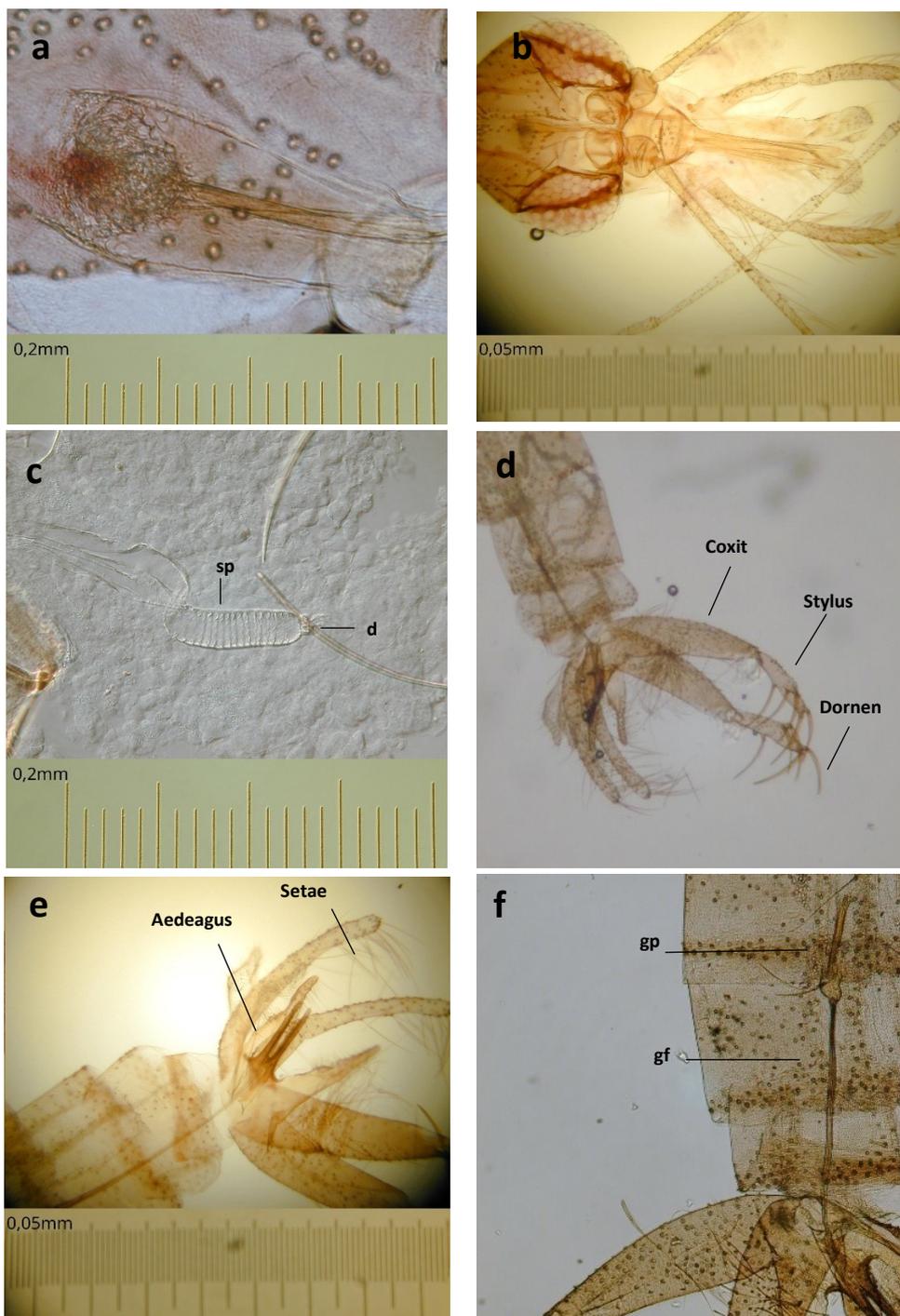


Abb. 30: Lichtmikroskopische Aufnahmen morphologischer Bestimmungsmerkmale von *Ph. mascittii* (40-fach Objektiv (blau) und 1,6-fachen Auflösung). Pharynx von *Ph. mascittii*-Weibchen (a), Weiblicher Kopf *Ph. mascittii* (b), Spermatheke von *Ph. mascittii*-Weibchen (c) (sp: Spermatheke, d: Drüsenzellen), äußere Genitalien von *Ph. mascittii*-Männchen (d), Aedeagus von *Ph. mascittii*-Männchen (e), Aedeagus mit Genitalpumpe von *Ph. mascittii*-Männchen (f) (gp: Genitalpumpe, gf: Spermaröhre).

3.4 Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchungen

3.4.1 Molekularbiologische Untersuchung auf Pathogene

Anhand der molekularen Untersuchungen konnten in den 149 Sandmücken *Ph. mascittii* keine Leishmanien, keine Flaviviren sowie Phleboviren nachgewiesen werden.

3.4.2 Molekularbiologische Wirtsbestimmung

Anhand der molekularen Untersuchungen der fünf blutgesogenen Sandmückenweibchen konnte keine Wirtsbestimmung durchgeführt werden.

3.4.3 Molekularbiologische Artenbestimmung

Von den 149 analysierten Sandmücken konnten 100 anhand ihrer Sequenz über BLAST als *Ph. mascittii* verifiziert werden. Das 5'-Fragment des mitochondrialen *COI*-Gens (bis ~700 bp) wurde für jede Probe (n = 149) amplifiziert und sequenziert. Die Identitäten der erhaltenen Sequenzen stimmten mit den Positionen des *COI*-Gens mit der eingesetzten Positivkontrolle (siehe Protokoll *COI*-PCR) überein, welche als Referenzgenom verwendet wurde.

3.4.4 DNA-Sequenzen durch *COI*-PCR

In Abbildung 31 ist die aufgeteilte DNA-Sequenz eines Individuums *Ph. mascittii* aus den Fängen des Standortes Hochstadt, RLP, Deutschland dargestellt. In Abbildung 32 ist die Aufstellung der Basenpaare eines Individuums *Ph. mascittii* aus Slowenien mit einer Endlänge von 639 bp dargestellt.

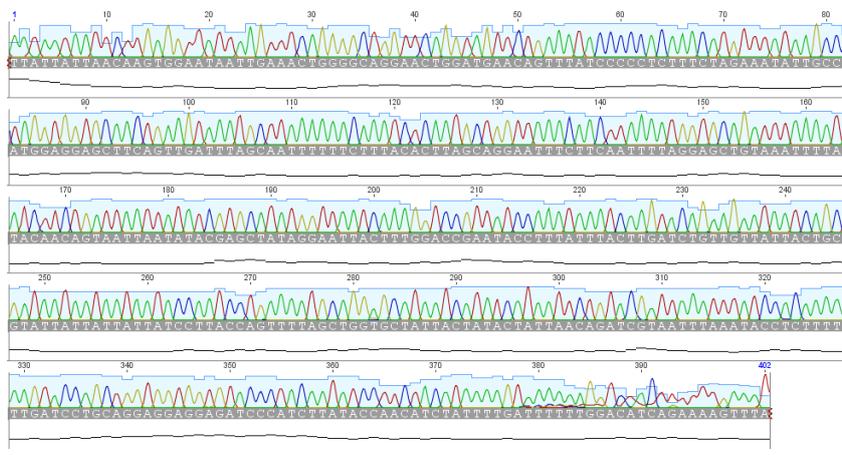


Abb. 31: DNA-Sequenz und Chromatogramm von *Ph. mascittii* RP1_1 aus Hochstadt.

Phlebotomus mascittii voucher SLV9 cytochrome oxidase subunit I (COI) gene, partial cds; mitochondrialSequence ID: [KX869078.1](#) Length: 639 Number of Matches: 1Range 1: 253 to 637 [GenBank](#) [Graphics](#)

▼ Next Match ▲ Previous Match

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
712 bits(385)	0.0	385/385(100%)	0/385(0%)	Plus/Plus
Query 1	TTATTATTAACAAGTGAATAATTGAAACTGGGGCAGGAAGCTGGATGAACAGTTTATCCC	60		
Sbjct 253	TTATTATTAACAAGTGAATAATTGAAACTGGGGCAGGAAGCTGGATGAACAGTTTATCCC	312		
Query 61	CCTCTTTCTAGAAATATTGCCCATGGAGGAGCTTCAGTTGATTTAGCAATTTTTCTTTA	120		
Sbjct 313	CCTCTTTCTAGAAATATTGCCCATGGAGGAGCTTCAGTTGATTTAGCAATTTTTCTTTA	372		
Query 121	CACCTAGCAGGAATTTCTCAATTTTAGGAGCTGTAAATTTTATTACAACAGTAATTAAT	180		
Sbjct 373	CACCTAGCAGGAATTTCTCAATTTTAGGAGCTGTAAATTTTATTACAACAGTAATTAAT	432		
Query 181	ATACGAGCTATAGGAATTACTTTGGACCGAATACCTTTATTTACTTGATCTGTTGTTATT	240		
Sbjct 433	ATACGAGCTATAGGAATTACTTTGGACCGAATACCTTTATTTACTTGATCTGTTGTTATT	492		
Query 241	ACTGCAGTATTATTATTATCCTTACCAGTTTTAGCTGGTGCTATTACTATACTATTA	300		
Sbjct 493	ACTGCAGTATTATTATTATCCTTACCAGTTTTAGCTGGTGCTATTACTATACTATTA	552		
Query 301	ACAGATCGTAATTTAAATACCTCtttttttGATCCTGCAGGAGGAGAGATCCCATCTTA	360		
Sbjct 553	ACAGATCGTAATTTAAATACCTCtttttttGATCCTGCAGGAGGAGAGATCCCATCTTA	612		
Query 361	TACCAACATCTATTTTGATTTTTTG 385			
Sbjct 613	TACCAACATCTATTTTGATTTTTTG 637			

Abb. 32: Alignment von *Ph. mascittii* RP1_1 in NCBI-Blast mit KX869078.1 (*Ph. mascittii* aus Slowenien).

Die Ergebnisse einer *COI*-PCR Untersuchung wurden zur Sequenzierung an das LGC-Labor versandt. Die Ergebnisse der DNA-Sequenzierung werden in digitalem Datenformat erhalten. Anhand eines speziellen Programmss (BLAST) kann man jede einzelne DNA-Sequenz einer Spezies auswerten. Insgesamt wurden alle 149 *COI*-Sequenzen mit einer Endlänge von etwa 402 bp in die vergleichbaren Analysen miteinbezogen. Die erhaltenen DNA-Sequenzen können somit anhand einer Referenz-DNA verglichen werden, um final die Auswertung der gefangenen Sandmücken Spezies zu analysieren.

3.5 Ergebnisse der Bodenuntersuchung

3.5.1 Übersicht der Standorte untersuchter Bodenproben

Die Bodenproben der vier ausgewählten Standorte variierten von stark bis mäßig lehmiger Struktur, durchmischt mit Feinsand mittlerer bis feiner Textur. Sie ähneln sich sehr in der Beschaffenheit der groben Bodenart Einteilung. Die Farbe war hell bis dunkelbraun, teilweise mit einem leicht rötlichen Ton. Die Bodenproben waren zum Zeitpunkt der Entnahme leicht feucht und zeigten sich humushaltig. Die Bodenanalyse auf chemische Eigenschaften zeigte

einen hohen Gehalt an Siliciumdioxid (SiO_2). Das Kaliumoxid (K_2O) war an allen Orten gleich, außer dem Standort Obereggenen, wo der Wert deutlich höher lag. Calciumoxid (CaO) zeigte sich ebenso gleich an allen Orten, jedoch konnte ein erhöhter Wert am Standort Bremgarten gemessen werden. Der CaO -Anteil liegt vermutlich als Kalkanteil (CaCO_3) im Boden vor. Dies kann darauf zurückgeführt werden über die Bestimmung des Glühverlustes bei 1050. Das Eisenoxid (Fe_2O_3) zeigte sich niedriger bei allen Standorten in BW als in RLP, wo es bei allen Standorten höher gemessen wurde. Der Kalkanteil (CaCO_3) liegt in den Proben Obereggenen, Böchingen und den drei Hochstadt-Proben zwischen 5 und 10 %, in der Probe von Bremgarten zwischen 13 und 25 %. Der Kalkanteil mit dem Wert von 13.5 liegt somit in Bremgarten deutlich höher als bei allen anderen untersuchten Proben. Der pH-Wert aller Proben konnte vorwiegend im fast neutralen Bereich von 6,4 – 7,6 gemessen werden (Tab. 10). Alle Bodenproben wurden negativ auf Sandmückenlarven und -puppen sowie auf das Schlüpfen von adulten Sandmücken getestet. Die Auswertung der Bodenanalysen mit der chemischen Zusammensetzung befindet sich unter Tabelle 8.3.3.

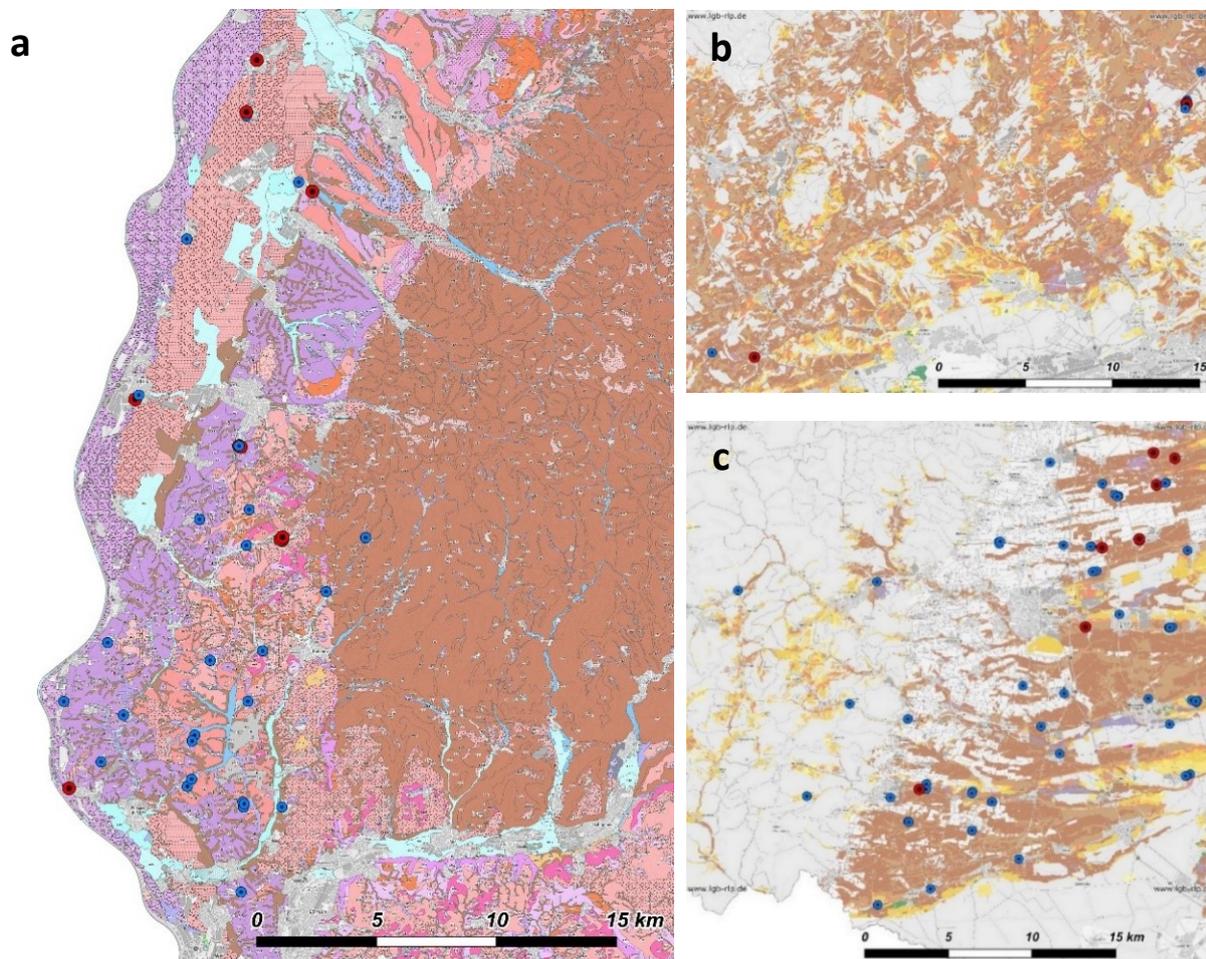
Tab. 10: Standorte der Bodenuntersuchungen.

Lokalisation der Bodenprobe	Zeitraum (Jahr 2018)	Anzahl Bodenproben	Bodenproben positiv	pH der Bodenprobe
Obereggenen, BW	Juli	3	0	7,6
Bremgarten, BW	Juli	3	0	7,4
Böchingen, RLP	Juli	3	0	7,6
Hochstadt1-Mitte, RLP	Juli	3	0	6,4
Hochstadt1-WT, RLP	Juli	3	0	6,7
Hochstadt 2, RLP	Juli	3	0	7,6

3.5.2 Übersicht der Bodenarten der Untersuchungsgebiete

Im Folgenden wurden die Untersuchungsgebiete anhand dargestellter Bodenkarten visualisiert (Abb. 33). Hiermit sollen primär die gegebenen Verhältnisse der Bodentypen aller Standorte dargestellt werden. Die Bodenverhältnisse in RLP wurden anhand eines Kartenviewers mit Bodenflächendaten im Maßstab 1:50.000 (BFD50) dargestellt, und vom Landesamt für Geologie und Bergbau Rheinland-Pfalz (LGB RLP) zur Verfügung gestellt. Die Bodenkarten für BW wurden vom Kartenviewer des Landesamtes für Geologie, Rohstoffe und Bergbau im Maßstab 1:50.000 (GeoLa BK50) zur Verfügung gestellt. Eine detailliertere Darstellung ist aktuell nicht vorhanden. Die Bodenflächenkarten bieten einen Überblick über Bodenarten und bodenfunktionsbezogene Auswertungen. Sie beinhalten boden- und

substratspezifische Parameter, wie auch Angaben zu bodenchemischen und -physikalischen Daten (Landesamt für Geologie, 2021, Landesamt für Geologie und Bergbau Rheinland-Pfalz, 2021).



Bodenart

	S - Sand
	SI - anlehmiger Sand
	IS - lehmiger Sand
	SL - stark lehmiger Sand
	sL - sandiger Lehm
	L - Lehm
	LT - schwerer Lehm
	T - Ton
	Mo - Moor
	ohne Angabe
	Grunddaten fehlerhaft/fehlend

Abb. 33: Bodendatenkarte des Untersuchungsgebietes in BW (a) (Landesamt für Geologie, 2021). Bodendatenkarte des Untersuchungsgebietes in RLP (Bereich Donnersbergkreis und Landkreis Kusel (b), Bereich Südliche Weinstraße (c)) (Landesamt für Geologie und Bergbau Rheinland-Pfalz, 2021)

Hauptsächlich zeigt das Gebiet in BW in der Umgebung der untersuchten Standorte Bodentypen von Parabraunerde-Pararendzina aus stellenweise feuchtem frischem Löss, lehmiger Fließerde und braunem Auenlehm. In RLP variieren die Bodenarten zwischen kolluvialen Sedimenten, Kolluviallöss (Holozän) und tiefem Löss (Pleistozän), bis zu Parabraunerde bestehend aus Löss und Sandlöss (Pleistozän), erodiert aus Lehm, sandigem

Lehm, stark lehmigem Sand der Bodengruppe Lösslehm. Die Bodenarten und Bodenbeschaffenheiten der untersuchten Bodenproben beider Bundesländer weisen ähnliche Bodentypen auf. Zwischen positiven und negativen Standorten konnte in den analysierten Bodenproben kein signifikanter Unterschied detektiert werden. Die Auswertungen der Bodenanalyse der chemischen Zusammensetzung zeigen ähnliche Ergebnisse wie die aus den Vorstudien (Feliciangeli, 2004). Die Analyse des Substratbodens auf Textur, pH-Wert, CaCO_3 , organische Substanzen und Wassergehalt zeigen keine Korrelation mit der Anzahl und dem Vorkommen von Sandmücken, die an den Stellen auftraten, an denen Bodenproben genommen wurden. Um mögliche Unterschiede nachweisen zu können, bedarf dies genauerer Untersuchungen, mit einem größeren Anteil an Bodenprobenmenge und einer größeren Anzahl von Standorten. Die Allgemeinheiten der Böden sind bei positiven und negativen Standorten gleich bis sehr ähnlich. Es konnten keine großen Unterschiede festgestellt werden, außer lediglich eine etwas trockenere Substanz des Bodenmaterials bei negativen Gegebenheiten.

4 Diskussion

4.1 Zusammenfassende Diskussion

Der Hauptbestandteil dieser Arbeit bestand darin, bereits bekannte Standorte nach einer Pause von mehr als fünf Jahren auf das Vorkommen von Sandmücken zu überprüfen. Der Fokus lag primär auf dem Bundesland RLP, da es in den Jahren 2001 und 2008 die bisher einzigen Nachweise von Sandmücken der Art *Ph. perniciosus* im Donnersbergkreis und im Landkreis Kusel gab. Zusätzlich wurden Ortsgemeinden im Landkreis Südliche Weinstraße als neues Gebiet in RLP erfasst. Individuen der Art *Ph. mascittii* konnten in dieser Untersuchung jeweils in allen genannten Landkreisen nachgewiesen werden.

In dieser Studie konnten an 37 Standorten *Ph. mascittii*-Populationen, jedoch keine Individuen der Sandmückenart *Ph. perniciosus* nachgewiesen werden. Der Fangzeitraum mit der größten Fangzahl von *Ph. mascittii* zeigt sich signifikant von Mitte Juli bis etwa Mitte August. Die Anzahl der gefangenen Sandmücken war oftmals sehr gering. Häufig konnten nur ein bis zwei Exemplare pro Fangnacht gefangen werden. Während einiger Fangnächte konnten auch an bereits bekannten positiven Standorten keine Individuen gefangen werden, was nicht unbedingt eine Aussage über das Fehlen von Sandmücken ist. Es lässt sich feststellen, dass an einigen Standorten eine hohe Anzahl von weiblichen Sandmücken gefangen wurde. Dies könnte ein Indiz dafür sein, dass sich die Brutstätte in unmittelbarer Nähe befand, da Sandmücken nachgewiesen nur kleine Flugdistanzen zurücklegen (Killick-Kendrick et al., 1984). Männchen haben im Vergleich zu Weibchen eine geringere Flugaktivität und benötigen mehr Ruhephasen. Dieses Phänomen könnte ein Grund dafür sein, dass weniger männliche Sandmücken in die Falle gehen. Nach dem Schlüpfen aus der Puppenhülle verstreuen sich die adulten Sandmücken, wobei die Männchen vor den Weibchen ausschwärmen (Orkin LLC, 2022). Die statistische Auswertung der beeinflussenden Faktoren bei Sandmücken ergibt signifikante Korrelationen. Aufgenommene Wetterdaten zeigten Unterschiede zwischen den Temperaturen und der Luftfeuchtigkeit in Nächten, in denen keine Sandmücken gefangen werden konnten, zu Nächten mit positiven Funden. Die mittleren, minimalen und maximalen Nachttemperaturen lagen signifikant höher in erfolgreichen Nächten als im Vergleich zu nicht erfolgreichen Nächten. Das bedeutet, dass Sandmücken höchstwahrscheinlich wärmere Nächte im Gegensatz zu kühleren Nächten bevorzugen. Ein Ergebnis zeigt sich auch bei der Luftfeuchte. In erfolgreichen Fangnächten

war die Luftfeuchtigkeit signifikant niedriger als in nicht erfolgreichen Fangnächten. Das heißt, Sandmücken bevorzugten eher eine mäßige Luftfeuchtigkeit. Das Auffinden von geeigneten Standorten sowie das Erhalten von Informationen und die Erlaubnis der jeweiligen Besitzer zeigte sich herausfordernd, konnte jedoch meistens bewältigt werden. Dieser Teil der Arbeit war sehr zeitaufwendig. Das Einsetzen von Informationsblättern hatte sich dazu als wenig effektiv gezeigt. Bei der Suche nach geeigneten Standorten kamen zu Beginn über diesen Weg nur wenige Rückmeldungen. Sie kamen eher von interessierten Hundebesitzern, die von ihren erkrankten Tieren berichteten und durch Zeitungsbeiträge und von Tierarztpraxen informiert waren. Insgesamt haben in den untersuchten Regionen nur wenige Menschen von VBDs gehört. Jedoch scheint die Thematik als immer größer werdendes Zukunftsthema von Interesse zu sein. Viele Fragen wurden gestellt bezüglich des Lebensraums und der Biologie von Sandmücken als mögliche Krankheitsüberträger, der Krankheit Leishmaniose und mögliche Schutz- und Präventionsmaßnahmen. Auch die Visualisierung des Themas dieser Arbeit im Fernsehen und die Veröffentlichung von Artikeln in der Regionalpresse zeigten eine überraschend positive und hohe Interessensresonanz. Die Methodik des Fangens von Sandmücken mit CDC-Lichtfallen bewies sich wie bei Vorstudien weiterhin als effektiv, die Klebefallen jedoch als weniger effektive Methode. Aufgrund der geringen Anzahl gefangener Exemplare und der begrenzten Anzahl von Fangnächten konnte keine detailliertere Auswertung über den Fangerfolg gemacht werden. Wegen der geringeren Anzahl von Sandmücken und der Tatsache, dass nicht alle Fangmethoden an allen Standorten durchgängig angewandt wurden, war eine statistische Analyse des Fangerfolgs nach Fallentyp nicht möglich. Auch der Einsatz von Lockstoffen wie CO₂ oder das Anbieten von Früchten als Kohlenhydratquelle sollte systematischer untersucht werden, um signifikante Aussagen treffen zu können. Bei diesen Fangergebnissen konnte kein direkter Unterschied durch den Einsatz von Lockstoffen erkannt werden. Ein weiterer Aufschluss darüber könnte jedoch zur Optimierung der Fangmethoden beitragen (Elnaiem et al., 2020). Untersuchungen zur Bodenbeschaffenheit und der organischen Anteile brachten keine neuen Erkenntnisse. Es konnten analytisch keine signifikanten Unterschiede zwischen positiven und negativen Standorten festgestellt werden. Lediglich, dass bei negativen Standorten die Eigenschaft des Bodens eine oftmals trockene und lockere Konsistenz und Struktur aufwies. Auch hier müsste die Vorgehensweise optimiert werden, um tatsächlich Merkmale erkennen zu können. Des Weiteren wäre interessant, die nächtliche Flugaktivität von *Ph. mascittii* in Populationen in

Deutschland genauer zu untersuchen. Die Ergebnisse beziehen sich auf den Zeitraum der Jahre 2015 bis 2018. Dabei ist zu beachten, dass die Datensammlung im Jahr 2015 nur einen kurzen Zeitraum im August beinhaltet und das Jahr 2016 keinerlei Daten lieferte. Die Analyse der Klimadaten wurde erst im Jahr 2017 vermehrt in die Arbeit einbezogen und dann im Jahr 2018 detailliert anhand von Wetteraufnahmegeräten aufgezeichnet. Zusätzlich wurden in die Wetter-Auswertungen Daten vom DWD miteinbezogen, worauf sich möglicherweise kleine Schwankungen und Verzerrungen ergeben können. Die allgemeinen Temperaturveränderungen weisen in jeglicher Form einen Anstieg der Jahresdurchschnittstemperatur in Süddeutschland auf. So zeigt der Trend im Untersuchungszeitraum der Jahre 2015 bis 2018 einen Anstieg von heißen Tagen und eine Erhöhung der Luftfeuchtigkeit. Im Hinblick auf das Vorkommen von *Ph. mascittii* kann dies zur Folge haben, dass deren jahreszeitlicher Entwicklungszyklus eine Verschiebung der aktiven Monate und auch eine Veränderung der Anzahl der Generationen begünstigt. *Ph. masciitti* zählt bisher als die am nördlichsten verbreitete Sandmückenart und lässt vermuten, dass sie eine kälteadaptierte Art ist.

Die bislang nicht nachgewiesene Vektorkompetenz von *Ph. mascittii* für Leishmanien bedarf weiterhin einer Klärung. Bei den in dieser Arbeit untersuchten Sandmücken konnten weder Leishmanien noch Viren nachgewiesen werden. Die geringe Anzahl der getesteten Sandmücken schließt jedoch eine Zirkulation von Viren in Südwestdeutschland nicht aus (Koehler et al., 2002). Da es bereits im Jahr 2010 vereinzelt zu autochthonen Verdachtsfällen von Toskana-Virus-Infektionen kam, ist anzunehmen, dass das TOSV in Südwestdeutschland kursiert (Kimmig et al., 2010a). Des Weiteren zeigt eine im Jahr 2021 veröffentlichte deutsche Studie, humane Fälle von neuroinvasiven Erkrankungen mit Meningoenzephalitis, mit dem Verdacht auf autochthone TOSV-Infektionen (Dersch et al., 2021). Es scheint von großer Bedeutung, weitere Untersuchungen durchzuführen, um zukünftig mehr Nachweise von autochthonen oder importierten Fällen zu erhalten und um beurteilen zu können, ob diese Erreger tatsächlich in den Sandmückenpopulationen in Deutschland zirkulieren. Im Hinblick auf die Auswertungen aktueller Ergebnisse dienen diese Nachweise als aktualisierte Grundlage und sorgen für mehr Klärungsbedarf. Für die Zukunft wäre es sinnvoll, neue Gebiete zu untersuchen und sich auf eine kleinere Anzahl von ausgewählten Standorten mit einer engmaschigen Beprobung zu konzentrieren. Dies könnte weitere Erkenntnisse für das Vorkommen, die Populationsentwicklung von *Ph. mascittii*, oder mögliche weitere

Sandmückenarten bringen. Schlussendlich könnten sich die Verbreitungsgebiete von Sandmücken erweitern und ihre Lebensgewohnheiten den vorherrschenden Bedingungen anpassen (Ayhan et al., 2020). Es wäre zusätzlich von Vorteil, entsprechende Zelllinien zu etablieren, um diese im Vergleich zu natürlichen Lebensbedingungen näher zu untersuchen.

4.2 Beschreibung der untersuchten Gebiete

Die untersuchten Bundesländer BW und RLP im Südwesten Deutschlands zeigten regelmäßiges Vorkommen von *Ph. mascittii*. Auch herrscht mittlerweile im Sommer in beiden Bundesländern ein mediterran-ähnliches Klima. Nach Daten des Deutschen Wetterdienstes wird für die meisten Regionen Deutschlands und speziell für den Osten weitere Wettererwärmung vorausgesagt (Deutscher Wetterdienst, 2021). Damit sind die bevorzugten klimatischen Bedingungen für Sandmücken in Deutschland vorhanden. Ein genauere Blick auf die untersuchten Bundesländer zeigt einen Anstieg der Jahresmitteltemperatur in Rheinland-Pfalz, der über dem Bundesdurchschnitt liegt seit Beginn der Messungen im Jahr 1881. Die Niederschlagsmenge ist in ganz Rheinland-Pfalz deutlich größer geworden, wobei die Sommermonate eine leichtfallende Tendenz zeigen. Somit ist der Sommer insgesamt trockener, während die Anzahl der Sommertage und auch der heißen Tage stark ansteigt. Eine Temperaturverschiebung in den Jahreszeiten lässt sich mäßig beobachten. Das Frühjahr und der Sommer in Rheinland-Pfalz beginnen früher, dauern aber bisher kaum länger an. In BW lassen sich weniger eindeutige Daten zum Niederschlag verzeichnen und sind gleichbleibend. Allerdings wird es laut Umweltbundesamt künftig im Sommer tendenziell weniger regnen und im Winter dagegen mehr (Umweltbundesamt, 2021). Mit steigenden Temperaturen steigt auch die Bodentemperatur, welche chemische und biologische Prozesse im Boden und deren Parameter beeinflussen könnten (Umweltbundesamt, 2021). Die im Rahmen dieser Studie untersuchten Bodenproben wurden mit vorhandenen Daten aus Voruntersuchungen verglichen und brachten keine neuen Erkenntnisse. Die Proben wurden an vier selektiv ausgewählten Standorten in unmittelbarer Nähe von Sandmückenvorkommen und an einem negativen Standort entnommen, um einen möglichen Vergleich zu haben. Am Standort Hochstadt, indem erstmalig Sandmücken gefunden werden konnte, wurden an verschiedenen Stellen Bodenproben entnommen, die ein Indiz für einen potenziellen Brutplatz für Larven und -puppen sein könnten. In dieser Arbeit konnte die Inkubation der Bodenproben nicht positiv auf Sandmückenlarven und -puppen und das

Schlüpfen von adulten Sandmücken identifiziert werden. Die Analyse des Substratbodens auf die Textur, den pH-Wert, den CaCO_3 -Gehalt, die organische Substanz und den Wassergehalt zeigte keine Korrelation zwischen den Stellen, an denen Sandmücken gefangen werden konnten bzw. an denen sie absent waren. Die Analyse der Bodenproben ergab vorwiegend einen fast neutralen pH-Bereich von 6,4 - 7,6. Die untersuchten Bodenproben in dieser Studie waren leicht bis stark lehmhaltig und reich an relativ hohem Anteil an Kalk und Silikaten. Die Bodenart war bei fast allen Standorten in RLP und BW wenig sandig und gehört zur Bodengruppe Löss Lehm. Alle Standorte in RLP und BW wurden anhand verfügbarer großmaßstäbiger Karten zu Bodeneigenschaften und -funktionen im Zielmaßstab 1:5.000 für RLP und 1:50.000 für BW bezüglich der Bodenbeschaffenheiten berücksichtigt (Landesamt für Geologie und Bergbau Rheinland-Pfalz, 2021, Landesamt für Geologie, 2021). Die Ergebnisse lassen vermuten, dass zu sandiger, staubiger und trockener Boden nicht das geeignete Bodenmaterial für Sandmücken ist. Womöglich hat zu sandiger Naturboden ein geringer Anteil an nötigem organischem Material und zu wenig Feuchtigkeit, um als Nahrung und für die Eiablage der Sandmücken geeignet zu sein. Insgesamt war die Ausbeute der Bodenproben vermutlich zu gering, um nach Brutplätzen zu suchen. Unterschiedliche Bodenbeschaffenheiten können jedoch ein Indiz für positive und negative Sandmückenfänge sein (Quate, 1964, Hanson, 1968, Singh et al., 2008).

4.2.1 Positive und negative Fundorte

Die meisten Standorte, sowohl negativ als auch positiv, hatten sehr viel Ähnlichkeit mit den Fundorten in Deutschland während der letzten aktiven Studien. Primär wurden neue Standorte nach beschriebenen und gut erwiesenen Faktoren und Gemeinsamkeiten von Vorstudien ausgesucht. Die Suche nach geeigneten Habitaten erfolgte durch das Abfahren von Dörfern sowie die Befragung der dort ansässigen Bevölkerung. Alle untersuchten Standorte, bei denen Sandmücken gefangen werden konnten, befanden sich innerdörflich in der Nähe menschlicher Behausungen mit Ausnahme des Standortes „Isteiner Klotz“ in BW. Sie erfolgten meistens in ungenutzten Scheunen mit ruhiger Atmosphäre mit Schutz vor Wind, direkter Sonneneinstrahlung und Regen. Je nach Standort waren einige Teile der Böden auch betonierte. Im Jahr 2015 konnten in einer Woche bereits bekannte Standorte erneut positiv getestet und in der Umgebung zwei weitere neue gefunden werden. Im Sommer 2016 konnten keine positiven Fundorte entdeckt werden, was vermutlich mit einer

außergewöhnlich hohen Niederschlagsmenge assoziiert war. In den Jahren 2017 und 2018 zeigten bekannte Standorte in BW erneut positive Fangergebnisse. An Standorten wie Bremgarten und Obereggenen gibt es bereits seit Jahren stabile und kontinuierliche Sandmückenpopulationen. Der Standort in Bremgarten zeigt sich im Durchschnitt als ein Ort mit einer hohen Abundanz und einem hohen Anteil an weiblichen Sandmücken. Im Jahr 2017 wurde der Fokus auf die Suche nach neuen Standorten auf RLP gelegt. In diesem Jahr gelang es in Hochstadt, RLP in einer alten Scheune neben einem Naturfreundehaus in der ersten Fangnacht erstmals, seit den Fängen in Gehrweiler im Jahr 2001, sieben Sandmücken Individuen *Ph. mascittii* beider Geschlechter nachzuweisen. Innerhalb der Scheune gab es eine Öffnung zu einem tiefgelegenen offenen Kellerbereich, der sehr schwer zugänglich war. Obwohl der Boden dort eher von sandiger und lockerer Beschaffenheit war, gelang es, Sandmücken zu fangen. Im Jahr 2018 konnten am gleichen Ort nur noch weibliche Sandmücken gefunden werden, was darauf hindeutet, dass die Brutstätte in unmittelbarer Nähe sein muss. Ein weiterer Standort in RLP war in Freimersheim. Dieser Standort ähnelt den Bedingungen wie der Scheune in Hochstadt, außer dass es zu dem Zeitpunkt noch eine kleine Hühnerhaltung gab. Dort konnten in beiden Jahren 2017 und 2018 kontinuierlich Sandmücken gefangen werden. An einigen Standorten kam es nur zum Fang einer Sandmücke pro Standort pro Saison, was zeigt, dass *Ph. mascittii* bevorzugt in geringer Dichte vorkommt (Grimm et al., 1993). Die Standorte mit der höchsten Fangrate von *Ph. mascittii* in RLP waren in Hochstadt und Freimersheim. An beiden Orten erfolgten in den letzten Jahren Bau- und Umbaumaßnahmen, welche auch ein negativ beeinflussender Faktor für die Dichte des Sandmückenvorkommens sein könnten. Für alle positiven Standorte, ausgenommen dem „Isteiner Klotz“, lässt sich erkennen, dass es sich um selten genutzte Orte und Bereiche mit ähnlichen Bodenbeschaffenheiten handelt. An den meisten Standorten ließen sich Haustiere, und an einigen Standorten die aktive Haltung von Hühnern beobachten. Bei einigen negativen Standorten könnte ein negativ beeinflussender Faktor die Bodenbeschaffenheit sein. Weitere signifikante Unterschiede konnten nicht eruiert werden. Es bedarf weiterer Studien zur Klärung, warum *Ph. mascittii* oft nur in sehr niedriger Anzahl gefangen wird bzw. an einigen Standorten überhaupt nicht. Es ist sinnvoll, ein Standort mindestens dreimal zu testen, um zu überprüfen, ob dieser sich als positiv erweist. Dies könnte zu einem weiteren Aspekt führen, dass bei Standorten, die primär negativ waren, eine zu geringe Anzahl an Fangnächten erfüllt wurde. Des Weiteren lässt sich die jeweilige Lichtwellenlänge der

benutzten Glühbirnen der Lichtfallen diskutieren. Es ist zu überdenken, ob die benutzten Glühbirnen zum Fang von *Ph. mascittii* geeignet sind oder diese optimiert werden können.

4.2.2 Sylvatische Gebiete

Dieser als erstmals sylvatisches Habitat für Sandmücken in Deutschland nachgewiesener Standort stellt als einziger einen außergewöhnlichen Standort gegenüber allen anderen bisher nachgewiesenen Standorten in Deutschland dar. Es handelt sich um eine Felslandschaft, umgeben von einem Eichenwald innerhalb eines Naturschutzgebietes. Dieser Standort steht in keinem Vergleich zu den beprobten Scheunen (Landesanstalt für Umwelt Baden-Württemberg, 1986). Durch seine Flora & Fauna bietet der Isteiner Klotz der Sandmücke vermutlich günstige Lebensbedingungen, was die positiven Fänge dort auch nach den vielen Jahren erklären könnte. Wegen der ausgesetzten Witterungsverhältnisse lässt sich verglichen mit den gängigen Scheunen auch erklären, warum nur bei wenigen Fangversuchen tatsächlich Sandmücken gefangen werden konnten. Feldversuche in den Jahren 2008 und 2017 zeigten keinen Nachweis. Erst 17 Jahre später, im Jahr 2018, wurden dort sechs Individuen der Art *Ph. mascittii* gefangen. Die positiven Fänge nach einem langen, nicht untersuchten Zeitraum legen nahe, dass ein sylvatischer Ort einen weiteren geeigneten Lebensraum für Sandmücken darstellt. Im Rahmen dieser Arbeit wurden im Jahr 2017 sieben weitere sylvatisch gelegene Standorte nach Sandmücken untersucht. Teilweise lagen die genannten Orte am Rand von Dörfern oder innerdörflich und zum Teil komplett in einem Waldgebiet oder in Waldnähe. Bisher gelang es nicht, neben dem Isteiner Klotz an weiteren sylvatischen Standorten das Vorkommen von Sandmücken nachzuweisen. Dennoch ist davon auszugehen, dass sich aufgrund der Klimaveränderung und der zunehmenden Modernisierung von alten Gebäuden und Scheunen die Lebensbedingungen von Sandmücken in Deutschland anderen sylvatischen Gebieten anpassen könnten und aufgrund fehlender Untersuchungen unentdeckt bleiben. Weitere Versuche und Aktivitäten zur Klärung von Sandmückenvorkommen wären daher auch in anderen sylvatischen Gebieten in Deutschland empfehlenswert.

4.3 Vorkommen und Verhalten von *Ph. mascittii*

Das Vorkommen von Sandmücken wird in Südwestdeutschland aktuell etwa ab Mitte Juni erreicht. Während dieser Studie konnten Sandmücken von Mitte Juli bis Ende August, mit

einem maximalen Auftreten im Monat Juli erfasst werden. Die Ergebnisse zeigen bezüglich der Entwicklung und Saisonalität von Sandmücken ähnliche Erkenntnisse wie in Österreich (Kniha et al., 2021) und Frankreich (Prudhomme et al., 2015). Sie sind assoziiert mit einer stabilen Temperatur zwischen 20 und 27 und einer mäßigen Luftfeuchtigkeit. Während des Untersuchungszeitraums zeigte sich *Ph. mascittii* aktiv in den Monatsmitteltemperaturen zwischen 21,3 und 22,9. Mit dem Einsetzen der heißen Sommertage stieg die Anzahl von Sandmücken auf einen Höchstwert an und fiel im August schnell ab. Es konnte häufig registriert werden, dass sich nach mehrfachen Fangnächten an Standorten mit hoher Abundanz die Anzahl der Sandmücken verringerte, das heißt, dass *Ph. mascittii* in Deutschland bis jetzt nur eine Generation pro Jahr generiert, wie es sich bisher auch in den Nachbarländern zeigt (Kniha et al., 2021, Grimm et al., 1993, Naucke et al., 2008). Des Weiteren weisen die Ergebnisse auf ähnliches Brutverhalten und stark witterungsabhängiges Auftreten von *Ph. mascittii* hin (Maßberg, 2008). Es lässt vermuten, dass *Ph. mascittii* mit wärmeren, jedoch mäßigen Temperaturperioden auch in Deutschland zukünftig mehrere Generationen pro Jahr entfalten könnte. Der Anteil der gefangenen Weibchen war für den gesamten Studienzeitraum deutlich höher als die Anzahl der Männchen, ausgenommen im Juli 2017, der einen höheren Anteil der Männchen zeigte. In Fangnächten ab Mitte August ging die Anzahl der Sandmücken zurück. Im Monat September gelang es innerhalb des Studienzeitraums nicht, Sandmücken zu finden. Daraufhin wurde die Frequenz der Beprobungen im September stark minimiert, was ebenso Einfluss auf die Fangergebnisse haben könnte. Im Rahmen sporadischer Fänge im Jahr 2020 gelang es jedoch im Untersuchungsgebiet RLP bereits im September eine Sandmücke zu fangen (Oerther, 2020). Auch gab es bereits den Nachweis einer Sandmücke im Juni 2021 in Niederkassel, Bonn (Naucke, 2021). In Deutschland und den Nachbarländern gibt es bisher keine veröffentlichten Daten über die Tagesaktivität von *Ph. mascittii*, welche im Toumanoff-Tunnel in Korsika gemessen werden konnte (Maßberg, 2008). Die hauptsächliche Nachtaktivität von Sandmücken in Deutschland ist daher vermutlich assoziiert mit einer mäßig steigenden Luftfeuchtigkeit und sinkender Temperatur. Die Nachtaktivität wurde im Rahmen dieser Untersuchungen nicht engmaschig gemessen. Die Ergebnisse dieser Arbeit lassen allerdings erkennen, dass bei einer hohen Tagestemperatur von über 30 keine bis sehr wenige Sandmücken aktiv sind. Dies bedeutet, dass sich die Bewegungsaktivität von *Ph. mascittii* bei zu hohen Temperaturen verringert. Die negativen Fangergebnisse im Jahr 2016 lassen sich

womöglich durch die damaligen Wetterverhältnisse erklären. Im Sommer 2016 gab es im Vergleich zu den anderen Jahren deutlich weniger heiße Tage ($t_{\max} \geq 30$), dafür aber mehr Perioden mit viel Niederschlag. Regen führt bekanntlich deutlich zu einem eingeschränkten Fangenerfolg und zeigt großen Einfluss auf das Aktivitätsmuster von Sandmücken (Simsek et al., 2007). Die abweichenden Wetterbedingungen in diesem Jahr könnten somit das ausbleibende Ergebnis erklären. Die Auswirkungen der Wetterverhältnisse auf die Ausbeute der Fänge zeigte sich ebenso in den Vorstudien (Maßberg, 2008). Selbst durchgängig positive Standorte, an denen in den Vorjahren regelmäßig Sandmücken gefangen wurden, waren im Sommer 2016 negativ. Über mögliche beeinflussende Faktoren wie zum Beispiel der Sferics (Tichy und Kallina, 2010) gibt es kaum Untersuchungen, um dies aktuell genauer beurteilen und einfließen lassen zu können. *Phlebotomus mascittii* scheint eine sich dem Klima in Deutschland angepasste Art zu sein. Dies erklärt womöglich das bisher hauptsächliche Auffinden in Scheunen im Gegensatz zu anderen Standorten in anderen Ländern (menschliche Behausung, Tierställe, Mauerritzen, sylvatische Orte). Der Isteiner Klotz könnte bereits ein Anzeichen einer Anpassung an das Klima im Süden Deutschlands sein. Die Klimaanpassung sowie die Fähigkeit zur Autogenie könnten Ursachen sein, warum man *Ph. mascittii* meist nur in geringer Anzahl oder gar nicht fängt (Khoury et al., 1992, Ready, 1981, Veronesi et al., 2007). Im Vergleich zu Studien des mediterranen Raumes mit anderen Sandmückenarten wird *Ph. mascittii* vorrangig nur in geringen Mengen gefangen. Dies fordert auf, weitere Untersuchungen zur Biologie und zur Fangmethodik von *Ph. mascittii* durchzuführen.

4.4 Vektorkompetenz von *Ph. mascittii*

Einige Krankheitserreger, die von Sandmücken übertragen werden, sind in Deutschland bereits vorhanden (Koehler et al., 2002, Meyer-König et al., 2010, Naucke, 2008). *Leishmania infantum* konnte zwar in *Ph. mascittii* nachgewiesen, die Übertragung bisher jedoch nicht bestätigt werden (Obwaller et al., 2016). Das Subgenus *Transphlebotomus* ist genetisch eng verwandt mit den Subgenera *Adlerius* und *Larrousius* (Naucke, 2008). In Belgien, Frankreich und Deutschland gefundene Sandmücken der Art *Ph. mascittii* zeigen 100 % Übereinstimmung der Sequenzen der Markergene, Cytochrom c Oxidase Untereinheit 1 (*COI*) und Cytochrom B (*cytb*) (Kniha et al., 2020b). Eine Vektorkompetenz der Untergattung *TransPhlebotomus*, welches *Ph. mascittii* miteinschließt lässt sich nicht ausschließen

(Depaquit et al., 2005) und die Abklärung der Vektorkompetenz dieser Art steht noch aus (Naucke, 2008). Mehrere Kriterien dafür sind erfüllt, wie z. B. das anthropophile Verhalten. Auch das autogene Verhalten der Sandmücken ist wichtig für die Bestimmung der Vektorkapazität, da die erfolgreiche Übertragung von Leishmanien gewöhnlich ein Minimum von zwei Blutmahlzeiten erfordert (Mukhopadhyay und Ghosh, 1999). In Betracht sollte gezogen werden, dass Touristen regelmäßig in endemische Gebiete reisen und dabei meist unwissend Hunde mit Infektionserregern aus solchen Gebieten einführen (Naucke, 2008). Auch wird der Hundeimport aus Gebieten des Mittelmeerraums von mehreren Tierschutzorganisationen unterstützt und ist daher kritisch anzusehen (Naucke et al., 2008). In Deutschland lebt zurzeit bereits eine Vielzahl von Leishmanien-infizierten Hunden (Naucke, 2016) mit steigender Zahl, was zum Risiko autochthoner Übertragungen und einem Anstieg von caninen Leishmaniose Fällen führen kann (Zanet et al., 2014, Calzolari et al., 2018). Zusätzlich kam es in nicht endemischen Regionen während der Corona Pandemie zu einem deutlichen Anstieg an Leishmaniose Import Hunden und der Ausbreitung der Leishmaniose (TheSkinVet, 2022). *Leishmania infantum*-DNA wurde in einer weiblichen *Ph. mascittii* in Österreich, nahe der Grenze zur Slowakei nachgewiesen (Obwaller et al., 2016). Auf der Insel Montecristo in Italien konnten *Leishmania*-Parasiten in Ratten in Assoziation mit *Ph. mascittii* nachgewiesen werden (Zanet et al., 2014). Dies legt nahe, dass *Ph. mascittii* in der Leishmaniose Epidemiologie durchaus relevant sein könnte und nicht vollständig außer Acht geraten sollte. Ein weiteres Indiz sind Vorfälle von in Deutschland und Frankreich auftretenden autochthonen Leishmaniose Fällen in Reichweite von positiven Sandmücken Standorten (Bogdan et al., 2001, Koehler et al., 2002). Ein lang zurückliegender Fall eines an Leishmaniose erkrankten Jungen aus Aachen in Deutschland zeigte die Relevanz einer möglichen zu klärenden Vektorkompetenz (Naucke, 2002, Bogdan et al., 2001). In Mitteleuropa, insbesondere in Süddeutschland, wurden autochthone Fälle verzeichnet, unter anderem bei Pferden (Sinning et al., 2014) und mehreren Hunden (Mencke, 2011), welche auf autochthone Infektionen innerhalb Deutschlands hindeuten. Dies bedeutet, dass infizierte Sandmücken zumindest periodisch vorhanden sein müssen. Auch während dieser Studie wurden diverse Meldungen von an Leishmaniose erkrankten Hunden von deren Besitzern sowie von Veterinärmediziner gemeldet. Die meisten Tiere waren bereits verstorben, hatten sich jedoch laut deren Besitzer zuvor nicht im Ausland aufgehalten. Das Infektionsrisiko für Leishmaniose bei Menschen ist aktuell in Deutschland nach derzeitigem

Kenntnisstand als sehr gering einzustufen (Koch et al., 2017). Die vorhandenen Informationen aus Nachbarländern, was die Eignung als parasitärer Vektor angeht, sind teilweise widersprüchlich. Die Nachweise von detektierten Leishmanien benötigen weitere Diskussion (Obwaller et al., 2016, Zanet et al., 2014, Aspöck et al., 2008a). Neben Hunden können Rotfüchse und mehrere wilde Nagetierarten als potenzielle Reservoirwirte dienen. Diese sind in Europa weit verbreitet und finden nicht nur dieselben klimatischen Bedingungen vor wie Sandmücken, sondern überleben auch ihre inaktive Zeit. Daher können Nagetiere in Zukunft eine wichtige Rolle bei der Übertragung der Leishmaniose in Europa spielen (Navea-Pérez et al., 2015, Piantedosi et al., 2016).

Bedenklich zeigt *Ph. mascittii* ein immer größer werdendes Potenzial bei der Übertragung von Viren. Diesbezüglich muss mit einer erhöhten viralen Vektorkompetenz aufgrund einer möglichen Anpassung von Sandmücken in Deutschland gerechnet werden. Im Fokus dieser Arbeit stehen die Phleboviren. Die medizinische und veterinärmedizinische Bedeutung von Phleboviren erfordert deutlich mehr Untersuchungen, da ihr natürlicher Zyklus bisher nur unzureichend erforscht ist (Jancarova et al., 2019). Fallberichte seroepidemiologischer Studien zeigten, dass die geografische Verbreitung des TOSV viel größer ist als bisher angenommen und trotz seiner Bedeutung als humaner Erreger als vernachlässigt scheint (Ayhan et al., 2020). Vor allem der Stamm der Toskana-Viren weist eine starke Affinität zum Zentralnervensystem auf. Das besondere Verhalten von *Ph. mascittii* gibt Hinweise auf die virale Vektorkompetenz auf den Transfer von Viren auf die nächste Generation. Der Grund sind das autogene Verhalten von *Ph. mascittii* und ihre Fähigkeit Eier auch ohne ein Blutmahl zu produzieren (Ready, 1981, Ready et al., 1986). Bislang gibt es keine eindeutigen Hinweise darauf, dass eine Wirbeltierart ein natürliches Reservoir für Phleboviren ist. Jedoch wird die Fledermaus als Primärreservoir für TOSV infrage gestellt. So verbleibt *Ph. mascittii* als ein spekulativer Vektor für das TOSV, da eine Zirkulation von humanen TOSV bereits im Jahr 2010 im Süden BW mit dem Verdacht autochthoner Übertragungen nachgewiesen werden konnte (Alkan et al., 2013, Kimmig et al., 2010a, Naucke, 2020). G. Dobler zufolge gab es bezogen auf diese Fälle ein Manuskript, das 2012 nach mehrfach versuchter Einreichung nicht zu einer Veröffentlichung angenommen wurde (Dobler, 2020). Der Grund dafür ist unbekannt. Es ist davon auszugehen, dass die vorhandenen Daten sowie die Methodik nicht aussagekräftig genug waren. Die Fälle traten in der Region um den Kaiserstuhl in Deutschland auf, sodass man zur festen Überzeugung kam, dass es sich um autochthone Fälle handelt

haben muss. Der Plan, dort aktiv nach Sandmücken und in Hundeseren aus der dortigen Region nach Antikörpern zu suchen, konnte aufgrund mangelnder Finanzierung des Projektes leider nicht verwirklicht werden (Dobler, 2020). Bedenklich zeigen Daten einer aktuellen Studie in Südwestdeutschland humane Fälle von mit TOSV assoziierten Erkrankungen sowie den Verdacht auf autochthonen Ursprung. Bisher konnten keine Rückschlüsse auf den Vektor Sandmücke gezogen werden. Es sollte jedoch bedacht werden, dass sie durchaus als potenzielle Überträger des TOSV in Gebieten Deutschlands zirkulieren (Dersch et al., 2021).

An mehreren positiv beprobten Standorten von *Ph. mascittii* in BW sind Fledermäuse heimisch, die hauptsächlich von Ende Juni bis August dort ansässig sind (Hurst, 2021). Diese Zeit korreliert mit dem aktuellen Zeitraum der vorkommenden Generationen von Sandmücken in Deutschland. Die Vermutung, dass Fledermäuse als Reservoir oder Wirt dienen könnten, besagt die Studie vom Tomanoff Tunnel in Korsika. Entsprechend den Gegebenheiten des Habitats vorhandener Wirte und der Ergebnisse werden in diesem Tunnel nur die dort lebenden Fledermäuse als mögliche Wirte für eine Blutmahlzeit von *Ph. mascittii* herangezogen (Schmitt, 2002). Diese Hypothese kann auch für Deutschland geltend gemacht werden, inwieweit Sandmücken bei den Blutmahlzeiten in Relation zur Fledermaus in Verbindung gebracht werden können. Die Relevanz von Fledermäusen als denkbare Blutwirte konnte bereits bei anderen Sandmückenarten bestätigt werden (Lampo et al., 2000). Des Weiteren sollte berücksichtigt werden, dass die Verfügbarkeit des Wirts für das Fütterungsverhalten von Sandmücken als ein wichtiger Indikator scheint (Bongiorno et al., 2003). Es bedarf weiterer Klärung der Fragestellung, ob *Ph. mascittii* neben dem Hund und anderen Wirten bevorzugt den Menschen als Wirt aufsucht.

Es ist davon auszugehen, dass entsprechende Krankheitserreger in Deutschland vorhanden sind, jedoch oftmals nicht detektiert und daher unveröffentlicht bleiben. Um aussagekräftigere Prognosen machen zu können, bedarf es zielgerichteterer Studien, die zoonotische Übertragungswege vorwiegend von Viren untersuchen sollten.

4.5 Schlussfolgerung

Die Ergebnisse dieser Arbeit unterstreichen die Notwendigkeit weiterer Studien über die Verbreitung von Sandmücken im Allgemeinen. Aufgrund begrenzter Kapazitäten konnten die Gebiete in dieser Arbeit nicht weitflächiger und frequenter beprobt werden. Regionale Erwärmung und ökologische Veränderungen könnten tendenziell zur Ausdehnung und

Verlagerung bekannter Lebensräume von Sandmücken in andere Örtlichkeiten und Gebiete führen. Die Einschleppung infizierter Sandmücken und günstige Umgebungsbedingungen sind möglich, jedoch über das Auto oder den Flugverkehr aufgrund der Temperatursensibilität eher unwahrscheinlich.

Immer mehr bedeutsam scheint die Klärung einer Vektorkompetenz von *Ph. mascittii* als potenzieller Überträger vor allem von Phleboviren. In Südfrankreich zeigten humane Fälle des Toskana-Virus Korrelationen mit der saisonalen Abundanz von Sandmücken. Sofern sich Sandmücken ähnlich verhalten oder anpassen könnten, wäre dies eine ungünstige Entwicklung für Deutschland. Im Jahr 2010 und 2021 wurden in Süddeutschland bereits Krankheitsfälle unbekannter Ätiologie mit dem humanen Toskana-Virus in Verbindung gebracht, unter anderem mit dem Verdacht auf autochthone Infektionen.

Empfehlenswert ist die Durchführung von mehr Infektionsforschung mit Sandmückenkolonien. Die meisten durch Sandmücken übertragenen Krankheiten sind nicht meldepflichtig und werden daher vermutlich unterschätzt. Besonders der Hundeimport aus endemischen Gebieten sollte kritischer betrachtet werden. Derzeit werden Blutkonserven bisher noch wenig auf Pathogene wie Phleboviren und Leishmanien untersucht, was eine weitere versteckte Gefahr einer Ansteckung durch Spenderblut birgt. Im Allgemeinen sollte eine informelle öffentliche Aufklärung über zoonotische Infektionskrankheiten vertieft sowie auf Haushaltsebene angestrebt werden. Im Gespräch mit Anwohnern von untersuchten Gebieten wurde festgestellt, dass Sandmücken und die damit möglicherweise verbundenen Krankheitsübertragungen überwiegend unbekannt sind. Die ausgehändigte Informationsbroschüre wurde positiv und mit Interesse angenommen und könnte zur Aufklärung intensiviert werden. Es sollte bedacht werden, dass von Vektoren übertragene Krankheiten sowohl endemische als auch importierte Infektionen langfristig höhere Kosten im Gesundheitssystem verursachen könnten. Daher ist zu empfehlen, weitere Studien zur Prävalenz und Phylogenie der Sandmücken als Vektoren zur Prävalenz autochthoner Infektionen als wesentlichen Baustein des One Health Prinzips in Deutschland anzustreben. Zusätzlich sollte die Förderung entsprechender Weiterbildung über die Thematik überdacht werden und der Zoonosenforschung sowie interdisziplinären Kooperationen mehr Bedeutung zugeordnet werden.

5 Zusammenfassung

Bisher wurden weltweit über 850 Sandmückenarten (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) beschrieben, von denen ungefähr 70 Arten von human- und veterinärmedizinischer Bedeutsamkeit für die Übertragung von Protozoen *Leishmania* spp., der Bakterien *Bartonella bacilliformis* und einer Reihe von Arthropoden übertragene Viren (Arboviren) sind. In Europa sind etwa 25 Sandmückenarten nachgewiesen, von denen neun bekannte Vektoren für Leishmanien oder bzw. und Arboviren sind.

In dieser Arbeit wurden weitere Sandmücken-Standorte erfasst sowie gefangene Exemplare auf vorhandene Krankheitserreger molekular untersucht. Darüber hinaus wurden mit dem Vorkommen assoziierte Klimafaktoren erhoben. Die Studienergebnisse dieser Arbeit zeigen, dass Sandmücken in Gebieten Deutschlands vorkommen, in denen sie bisher nicht nachgewiesen werden konnten. Zwischen den Jahren 2015 bis 2018 konnten insgesamt 149 Sandmücken der Art *Ph. mascittii* an 37 von 176 untersuchten Standorten gefangen werden. Von allen untersuchten Orten wurden in den Jahren 2015, 2017 und 2018 in beiden Bundesländern 17 Standorte kontinuierlich beprobt. Dabei wurden 15 neue Standorte im Südwesten Deutschlands als positiv registriert. Die häufigsten Biotope sind alte, naturbelassene Scheunen in näherer Umgebung zu Menschen und Tieren. Bemerkenswert sind die Ergebnisse von vor Jahren positiv beprobter Standorte. Dort gab es nach langjähriger Pause von aktiver Feldarbeit erneut Nachweise, was auf eine relative Kontinuität von stabilen Sandmückenpopulationen hindeutet und die dafür notwendigen Lebensbedingungen vorhanden sind. Auch im benachbarten Österreich wurde bereits über den Erstnachweis einer weiteren Sandmückenart, *Ph. simici*, berichtet, was darauf schließen lässt, dass sich Sandmücken in unseren Regionen dauerhaft etablieren könnten.

Eine Vektorkompetenz für *Ph. mascittii* Leishmaniose-Erreger zu übertragen, wurde bisher nicht nachgewiesen. Sie steht jedoch im Verdacht, Phleboviren zu übertragen. Die in dieser Studie untersuchten Sandmücken ergaben keinen Nachweis auf die Detektion von Leishmanien oder Phleboviren. Für eine genauere Bewertung der Abundanz von Sandmücken und Pathogenen in Deutschland ist die Datenlage bisher unzureichend, schließt jedoch eine sporadische Zirkulation in Südwestdeutschland nicht vollständig aus. Es gibt Nachweise über die vertikale Übertragung der caninen Leishmaniose bei einer infizierten Mutterhündin auf ihre ungeborenen Welpen über die Plazenta (intrauterine Infektion). Darüber hinaus können diaplazentare Infektionen und eine Übertragung der Erreger über den Deckakt nicht

ausgeschlossen werden. Dies sind weitere Herausforderungen bei der Kontrolle des Übertragungsweges.

Zunehmend zeigt sich die Verbreitung von Viren durch Nachweise der Identifikation des TOSV mit Verdacht auf autochthones Infektionsgeschehen. Eine Vielzahl von Studien zeigt, dass das TOSV bereits in Deutschland und vielen Ländern der EU vorhanden ist. Daher rückt *Ph. mascittii* als potenziellen Vektor für Viren immer mehr in den Vordergrund.

Die Fundorte von *Ph. mascittii* liegen in Baden-Württemberg in der Umgebung Istein und Schliengen im Markgräflerland. In Rheinland-Pfalz wurden elf neue Standorte im Kreis Südliche Weinstraße bestimmt. Die Sandmücken wurden hauptsächlich innerdörflich in alten Ställen und Scheunen nachgewiesen, in denen potenzielle Wirte registriert wurden. An zwei Standorten in Rheinland-Pfalz, bei denen bereits Exemplare der Art *Ph. perniciosus* gefangen wurden, konnten Individuen von *Ph. mascittii* festgestellt werden. Somit sind diese zwei Standorte die bisher einzigen in Südwestdeutschland, an denen die zwei Arten belegt werden konnten. *Phlebotomus perniciosus* wurde während dieser Studie nicht mehr gefunden.

Phlebotomus mascittii kommt bisher nur in geringer Anzahl vor, zeigt jedoch konstante Ergebnisse im Vorkommen. Die Abundanz zeigt Schwankungen und eine Abnahme der Populationen nach mehreren Beprobungsnächten. Die bisher angenommene Generation pro Jahr und Jahreszeit scheint weiterhin bestätigt, welche sich jedoch in Deutschland langfristig weiterentwickeln könnte. Das Fangen mit einer CDC-Lichtfalle zeigte sich im Gegensatz zu den Klebepapierfallen durchaus effektiv. Es ist jedoch zu überdenken, die Fangmethoden weiter zu optimieren, z. B. das Verwenden anderer Lichtquellen, um möglicherweise mehr potenziell vorhandene Sandmücken zu erfassen. Zusätzlich wäre über ein Monitoring zu prüfen, ob es weitere Sandmückenarten in Deutschland gibt oder ob es sich aktuell tatsächlich nur um *Ph. mascittii* handelt.

Die Auswertung von beeinflussenden Klimafaktoren zeigt eine signifikante Korrelation auf erhöhte Sandmückenaktivität bei wärmeren Nächten als auch bei einer höheren, aber mäßigen Luftfeuchtigkeit. Die Aufklärung der Verbreitung und die Klärung der Vektorkapazität involvierter Sandmückenarten spielt eine wichtige Rolle, um die human- und veterinärmedizinische Relevanz der Sandmücken als Vektoren in Mitteleuropa richtig einschätzen zu können. Weiterführend sollten generell mehr Untersuchungen von Arboviren sowie deren Wirtsspektren initiiert werden, um einer möglichen regionalen Zirkulation von Sandmücken bedingter Infektionserreger besser entgegenwirken zu können.

6 Literaturverzeichnis

- ABONNENC, E. & PASTRE, J. 1972. **Phlebotomines collected in Republic of South Africa, with a description of *P. macintoshi* n. sp.**(Diptera, Psychodidae). Bulletin de la Société de Pathologie Exotique, 65, 721-5.
- AKHOUNDI, M., KUHLS, K., CANNET, A., VOTÝPKA, J., MARTY, P., DELAUNAY, P. & SERENO, D. 2016. **A Historical Overview of the Classification, Evolution, and Dispersion of *Leishmania* Parasites and Sandflies.** PLOS Neglected Tropical Diseases, 10, e0004349.
- ALEMAYEHU, B. & ALEMAYEHU, M. 2017. **Leishmaniasis: a review on parasite, vector und reservoir host.** Health Science Journal, 11, 1.
- ALEXANDER, B. 2000. **Sampling methods for phlebotomine sandflies.** Medical und Veterinary Entomology, 14, 109-122.
- ALEXANDER, B. & USMA, M. 1994. **Potential sources of sugar for the phlebotomine sandfly *Lutzomyia youngi* (Diptera: Psychodidae) in a Colombian coffee plantation.** Annals of Tropical Medicine & Parasitology, 88, 543-549.
- ALIROL, E., GETAZ, L., STOLL, B., CHAPPUIS, F. & LOUTAN, L. 2011. **Urbanisation und infectious diseases in a globalised world.** The Lancet infectious diseases, 11, 131-141.
- ALKAN, C., BICHAUD, L., DE LAMBALLERIE, X., ALTEN, B., GOULD, E. A. & CHARREL, R. N. 2013. **Sandfly-borne phleboviruses of Eurasia und Africa: epidemiology, genetic diversity, geographic range, control measures.** Antiviral research, 100, 54-74.
- ALVAR, J., VÉLEZ, I. D., BERN, C., HERRERO, M., DESJEUX, P., CANO, J., JANNIN, J., BOER, M. D. & THE, W. H. O. L. C. T. 2012. **Leishmaniasis Worldwide und Global Estimates of Its Incidence.** PLOS ONE, 7, e35671.
- AMARO, F., ZÉ-ZÉ, L., ALVES, M. J., BÖRSTLER, J., CLOS, J., LORENZEN, S., BECKER, S. C., SCHMIDT-CHANASIT, J. & CADAR, D. 2015. **Co-circulation of a novel phlebovirus und Massilia virus in sandflies, Portugal.** Virology journal, 12, 174.
- ARTEMIEV, M. 1980. **A revision of sandflies of the subgenus *Adlerius* (Diptera, Phlebotominae, *Phlebotomus*).** Zoologicheskii Zhurnal, 59, 1177-1192.
- ASHFORD, R. 2010. **Technical report series 949.** Ginebra, WHO Expert Committee on the Control of Leishmaniasis.
- ASHFORD, R. W. 2000. **The leishmaniases as emerging und reemerging zoonoses.** Int J Parasitol, 30, 1269-81.
- ASPÖCK, H., GERERSDORFER, T., FORMAYER, H. & WALOCHNIK, J. 2008a. **Risikoprofil für das autochtone Auftreten von Leishmaniosen in Österreich.** Klimaforschungsinitiative AustroClim
- ASPÖCK, H., GERERSDORFER, T., FORMAYER, H. & WALOCHNIK, J. 2008b. **Sandflies und sandfly-borne infections of humans in Central Europe in the light of climate change.** Wiener Klinische Wochenschrift, 120, 24-29.
- AYHAN, N., PRUDHOMME, J., LAROCHE, L., BAÑULS, A.-L. & CHARREL, R. N. 2020. **Broader Geographical Distribution of Toscana Virus in the Mediterranean Region Suggests the Existence of Larger Varieties of Sand Fly Vectors.** Microorganisms, 8, 114.
- AZAR, D. & NEL, A. 2003. **Fossil Psychodoid flies und their relation to parasitic diseases.** Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 98, 35-37.
- BALLART, C., BARÓN, S., ALCOVER, M., PORTÚS, M. & GÁLLEGO, M. 2012. **Distribution of phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) in Andorra: first finding of *P. perniciosus* und wide distribution of *P. ariasi*.** Acta tropica, 122, 155-159.
- BARTELS, S., DE BONI, L., KRETZSCHMAR, H. A. & HECKMANN, J. G. 2012. **Lethal encephalitis caused by the Toscana virus in an elderly patient.** Journal of neurology, 259, 175-177.

- BECKER, N., LANGENTEPE-KONG, S. M., TOKATLIAN RODRIGUEZ, A., OO, T. T., REICHLER, D., LÜHKEN, R., SCHMIDT-CHANASIT, J., LÜTHY, P., PUGGIOLI, A. & BELLINI, R. 2022. **Integrated control of *Aedes albopictus* in Southwest Germany supported by the Sterile Insect Technique.** Parasites & vectors, 15, 1-19.
- BECKER, N., SCHÖN, S., KLEIN, A.-M., FERSTL, I., KIZGIN, A., TANNICH, E., KUHN, C., PLUSKOTA, B. & JÖST, A. 2017. **First mass development of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae)—its surveillance und control in Germany.** Parasitology research, 116, 847-858.
- BECKER, N. P. D. 2008. **Influence of climate change on mosquito development und mosquito-borne diseases in Europe.** Parasitology Research, 103, 19-28.
- BERAN, B. 2010. **Epidemiologie der Leishmaniose in Süddeutschland mit Fokus auf die Familie der Psychodidae, primär Phlebotominae** Dissertation in Veterinärbiologie, Aus dem Lehrstuhl für Vergleichende Tropenmedizin und Parasitologie der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig Maximilians-Universität München.
- BETTINI, S. & GRADONI, L. 1986. **Canine leishmaniasis in the Mediterranean area und its implications for human leishmaniasis.** International Journal of Tropical Insect Science, 7, 241-245.
- BIFELD, E., NEVADO, P. T., BARTSCH, J., EICK, J. & CLOS, J. 2016. **A versatile qPCR assay to quantify trypanosomatidic infections of host cells und tissues.** Medical microbiology und immunology, 205, 449-458.
- BISHOP, D., CALISHER, C., CASALS, J., CHUMAKOV, M., GAIDAMOVICH, S. Y., HANNOUN, C., LVOV, D., MARSHALL, I., OKER-BLOM, N. & PETERSSON, R. 1980. **Bunyaviridae.** Intervirology [Online], 14. [Accessed 14.12.2021].
- BOELAERT, M. & SUNDAR, S. 2014. **Manson's Tropical Infectious Diseases.**
- BOGDAN, C., SCHÖNIAN, G., BANULS, A.-L., HIDE, M., PRATLONG, F., LORENZ, E., RÖLLINGHOFF, M. & MERTENS, R. 2001. **Visceral leishmaniasis in a German child who had never entered a known endemic area: case report und review of the literature.** Clinical Infectious Diseases, 32, 302-306.
- BOGITSH, B. J., CARTER, C. E. & OELTMANN, T. N. 2019. **Human parasitology,** Academic Press.
- BONGIORNO, G., HABLUTZEL, A., KHOURY, C. & MAROLI, M. 2003. **Host preferences of phlebotomine sand flies at a hypoendemic focus of canine leishmaniasis in central Italy.** Acta tropica, 88, 109-116.
- BOWLES, D., BRITCH, S., LINTHICUM, K., JOHNSON, R., LINTON, Y. & WHITE, G. 2015. **Sand Flies: Significance, Surveillance, und Control in Contingency Operations.** Silver Spring: United States Department of Defense Armed Forces Pest Management Board, 1-65.
- BUNDESVERBAND FÜR TIERGESUNDHEIT E.V. 2013. **Importhunde - die Leishmaniose reist mit** [Online]. Bonn, Germany. Available: <https://www.bft-online.de/kleintiergesundheit/2013/leishmaniose/> [Accessed 30.04.2020].
- BURKETT-CADENA, N. D., GRAHAM, S. P., HASSAN, H. K., GUYER, C., EUBANKS, M. D., KATHOLI, C. R. & UNNASCH, T. R. 2008. **Blood feeding patterns of potential arbovirus vectors of the genus *Culex* targeting ectothermic hosts.** The American journal of tropical medicine und hygiene, 79, 809-815.
- CACERES, A. 1993. **Geographic distribution of *Lutzomyia verrucarum* (Townsend, 1913)(Diptera, Psychodidae, Phlebotominae), vector of human bartonellosis in Peru.** Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, 35, 485.
- CALISHER, C. H., WEINBERG, A. N., MUTH, D. J. & LAZUICK, J. S. 1987. **Toscana virus infection in United States citizen returning from Italy.** Lancet, 1, 165-6.
- CALLOT, J. 1950. **Présence de *Phlebotomus larrouseï* en Alsace.** Ann. Parasitol. Hum. Comp., 25, 112.
- CALZOLARI, M., CHIAPPONI, C., BELLINI, R., BONILAUDI, P., LELLI, D., MORENO, A., BARBIERI, I., PONGOLINI, S., LAVAZZA, A. & DOTTORI, M. 2018. **Isolation of three novel reassortant**

- phleboviruses, Ponticelli I, II, III, and of Toscana virus from field-collected sand flies in Italy.** Parasites & vectors, 11, 84.
- CARDOSO, L., SCHALLIG, H., PERSICHETTI, M. F. & PENNISI, M. G. 2021. **New Epidemiological Aspects of Animal Leishmaniosis in Europe: The Role of Vertebrate Hosts Other Than Dogs.** Pathogens, 10, 307.
- CAZAN, C. D., PĂSTRAV, I. R., IONICĂ, A. M., OGUZ, G., ERISOZ KASAP, O., DVORAK, V., HALADA, P., DUMITRACHE, M. O., VOLF, P., ALTEN, B. & MIHALCA, A. D. 2019. **Updates on the distribution and diversity of sand flies (Diptera: Psychodidae) in Romania.** Parasites & Vectors, 12, 247.
- CENTERS FOR DISEASE und CONTROL AND PREVENTION. 2019. **AMD: Identifying Vector-borne Diseases** [Online]. Available: <https://www.cdc.gov/amd/what-we-do/vectorborne.html> [Accessed 30.06.2020].
- CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. 2020a. **Lebenszyklus der Leishmanien** [Online]. Available: <https://www.cdc.gov/parasites/leishmaniasis/biology.html>, https://www.cdc.gov/parasites/images/leishmaniasis/Leishmania_LifeCycle.gif [Accessed 20.09.2020].
- CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. 2020b. **Parasites - Leishmaniasis** [Online]. Available: <https://www.cdc.gov/parasites/leishmaniasis/biology.html> [Accessed 13.09.2020].
- ÇETIN, H. & ÖZBEL, Y. 2017. **Sand Flies and Their Control Methods.** Turkiye Parazitoloj Derg, 41, 102-113.
- CHAO, D. Y., DAVIS, B. S. & CHANG, G. J. 2007. **Development of multiplex real-time reverse transcriptase PCR assays for detecting eight medically important flaviviruses in mosquitoes.** Journal of Clinical Microbiology, 45, 584-589.
- CHARREL, R. N., BICHAUD, L. & DE LAMBALLERIE, X. 2012. **Emergence of Toscana virus in the mediterranean area.** World journal of virology, 1, 135-141.
- CHARREL, R. N., GALLIAN, P., NAVARRO-MARÍ, J.-M., NICOLETTI, L., PAPA, A., SÁNCHEZ-SECO, M. P., TENORIO, A. & DE LAMBALLERIE, X. 2005. **Emergence of Toscana virus in Europe.** Emerging infectious diseases, 11, 1657.
- CHARREL, R. N., MOUREAU, G., TEMMAM, S., IZRI, A., MARTY, P., PAROLA, P., DA ROSA, A. T., TESH, R. B. & DE LAMBALLERIE, X. 2009. **Massilia virus, a novel Phlebovirus (Bunyaviridae) isolated from sandflies in the Mediterranean.** Vector-Borne und Zoonotic Diseases, 9, 519-530.
- COMANION VECTORBORNE DISEASES (CVBD), B. 2020. **Sand Fly-Borne Diseases** [Online]. Bayer. Available: <https://cvbd.bayer.com/diseases/sand-fly-borne-diseases> [Accessed].
- COOK, G. C. & ZUMLA, A. 2009. **Manson's Tropical Diseases**, 22nd Edi. Saunders Elsevier, 1431-1459.
- CROSS, E. R. & HYAMS, K. C. 1996. **The potential effect of global warming on the geographic and seasonal distribution of *Phlebotomus papatasi* in southwest Asia.** Environmental health perspectives, 104, 724-727.
- CUSI, M. G., SAVELLINI, G. G. & ZANELLI, G. 2010. **Toscana virus epidemiology: from Italy to beyond.** The open virology journal, 4, 22.
- DANTAS-TORRES, F., LATROFA, M. S. & OTRANTO, D. 2010. **Occurrence und genetic variability of *Phlebotomus papatasi* in an urban area of southern Italy.** Parasites & Vectors, 3, 77.
- DANTAS-TORRES, F., TARALLO, V. D. & OTRANTO, D. 2014. **Morphological keys for the identification of Italian phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae).** Parasites & Vectors, 7, 479.
- DAS BAYERISCHE LANDESAMT FÜR GESUNDHEIT UND LEBENSMITTELSICHERHEIT. 2017. **Aedes albopictus - die Asiatische Tigermücke** [Online]. LGL. Available: https://www.lgl.bayern.de/gesundheitschutz/infektionsschutz/infektionswege/asiatische_tigermuecke.htm [Accessed 2020].

- DAUBLÄNDER, M. & KÄMMERER, W. 2020. **Diagnostik und Therapie der kutanen und mukokutanen Leishmaniasis in Deutschland.** Leitlinie der Deutschen Gesellschaft für Tropenmedizin. Poliklinik für Zahnärztliche Chirurgie, Mainz; Klinik und Poliklinik für Mund-, Kiefer- und Plastische Gesichtschirurgie der Universität Rostock, Rostock.
- DAVIS, W. J. 2017. **The relationship between atmospheric carbon dioxide concentration and global temperature for the last 425 million years.** *Climate*, 5, 76.
- DEPAQUIT, J., GRANDADAM, M., FOUQUE, F., ANDRY, P. & PEYREFITTE, C. 2010. **Arthropod-borne viruses transmitted by Phlebotomine sandflies in Europe: a review.** *Euro Surveill*, 15, 19507.
- DEPAQUIT, J., NAUCKE, T. J., SCHMITT, C., FERTÉ, H. & LÉGER, N. 2005. **A molecular analysis of the subgenus *Transphlebotomus* Artemiev, 1984 (*Phlebotomus*, Diptera, Phlebotomidae) inferred from ND4 mtDNA with new northern records of *Phlebotomus mascittii* Grassi, 1908.** *Parasitology research*, 95, 113-116.
- DEPLAZES, P., STAEBLER, S. & GOTTSTEIN, B. 2006. **Reisemedizin parasitärer Erkrankungen des Hundes.** *SAT Schweizer Archiv für Tierheilkunde*, 148, 447-461.
- DEREURE, J., VANWAMBEKE, S. O., MALÉ, P., MARTINEZ, S., PRATLONG, F., BALARD, Y. & DEDET, J. P. 2009. **The potential effects of global warming on changes in canine leishmaniasis in a focus outside the classical area of the disease in southern France.** *Vector Borne and Zoonotic Diseases*, 9, 687-94.
- DERSCH, R., SOPHOCLEOUS, A., CADAR, D., EMMERICH, P., SCHMIDT-CHANASIT, J. & RAUER, S. 2021. **Toscana virus encephalitis in Southwest Germany: a retrospective study.** *BMC Neurol*, 21, 495.
- DESJEUX, P. 2001. **The increase in risk factors for leishmaniasis worldwide.**
- DESJEUX, P. 2004. **Leishmaniasis: current situation und new perspectives.** *Comparative immunology, microbiology und infectious diseases*, 27, 305-318.
- DESJEUX, P. & ALVAR, J. 2003. **Leishmania/HIV co-infections: epidemiology in Europe.** *Annals of Tropical Medicine & Parasitology*, 97, 3-15.
- DEUTSCHE GESELLSCHAFT FÜR TROPENMEDIZIN UND INTERNATIONALE GESUNDHEIT & PAUL-EHRLICH-GESELLSCHAFT FÜR CHEMOTHERAPIE UND ER DEUTSCHEN DERMATOLOGISCHEN GESELLSCHAFT. 2010. **Diagnostik und Therapie der kutane und mukokutane Leishmaniasis in Deutschland.** 042/007 [Online]. [Accessed 20.09.2021].
- DEUTSCHE GESELLSCHAFT FÜR TROPENMEDIZIN UND INTERNATIONALE GESUNDHEIT & PAUL-EHRLICH-GESELLSCHAFT FÜR CHEMOTHERAPIE UND ER DEUTSCHEN DERMATOLOGISCHEN GESELLSCHAFT. 2016. **Diagnostik und Therapie der viszerale Leishmaniasis.** S1-Leitlinie 042/004. [Accessed 21.09.2021].
- DEUTSCHER WETTERDIENST 2018. **Klimaüberwachung.**
- DEUTSCHER WETTERDIENST. 2020. **Aus extrem wurde normal: Sommer in Deutschland, der Schweiz und Österreich immer heißer.** Available: https://www.dwd.de/DE/presse/pressemitteilungen/DE/2020/20200702_dach_news.html [Accessed 16.05.2022].
- DEUTSCHER WETTERDIENST. 2021. **Klimakarten Deutschland** [Online]. Available: <https://www.dwd.de/DE/leistungen/klimakartendeutschland/klimakartendeutschland.html?nn=480164> [Accessed 11.05.2021].
- DIAZ - ESPINEIRA, M. & SLAPPENDEL, R. 1997. **A case of autochthonous canine leishmaniasis in the Netherlands.** *Veterinary Quarterly*, 19, 69-71.
- DOBLER, G. 16.06.2020 2020. RE: **Verdacht auf autochthone Übertragungen des Toskana-Virus in Baden-Württemberg und unveröffentlichte Befunde des Jahres 2012.** Type to OERTHER, S.
- DOBLER, G. & ASPÖCK, H. 2010. **Durch Sandmücken und durch Gnitzen übertragene Arboviren als Erreger von Infektionen des Menschen,** na.

- DOSTÁLOVÁ, A. & VOLF, P. 2012. **Leishmania** development in sand flies: parasite-vector interactions overview. *Parasit Vectors*, 5, 276.
- DOUGHERTY, M., GUERIN, P. M. & WARD, R. 1995. Identification of oviposition attractants for the sandfly *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) in volatiles of faeces from vertebrates. *Physiological Entomology*, 20, 23-32.
- DVORAK, V., HLAVACKOVA, K., KOČIŠOVÁ, A. & VOLF, P. 2016. First record of *Phlebotomus (Transphlebotomus) mascittii* in Slovakia. *Parasite*, 23, 48.
- EBERT, B. & FLEISCHER, B. 2005. Globale Erwärmung und Ausbreitung von Infektionskrankheiten. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforsch. Gesundheitsschutz*, 48, 55-62.
- EJOV, M. & DAGNE, D. 2014. Strategic framework for leishmaniasis control in the WHO European Region 2014–2020. apps.who.int [Online].
- ELLIOTT, R. M. & BRENNAN, B. 2014. Emerging phleboviruses. *Current opinion in virology*, 5, 50-57.
- ELNAIEM, D.-E., KHOGALI, A., ALSHARIF, B., DAKEIN, O., JIBREEL, T., HASSAN, M., EDRIES, H. H., ELHADI, H., ELNUR, B., OSMAN, O. F., BOER, M. D., ALVAR, J. & KHALID, N. M. 2020. Understanding sand fly sampling methods: sticky traps are attraction-based and not interceptive sampling tools of *Phlebotomus orientalis*. *Parasites & Vectors*, 13, 389.
- EREMEEVA, M. E., GERNS, H. L., LYDY, S. L., GOO, J. S., RYAN, E. T., MATHEW, S. S., FERRARO, M. J., HOLDEN, J. M., NICHOLSON, W. L. & DASCH, G. A. 2007. Bacteremia, fever, and splenomegaly caused by a newly recognized *Bartonella* species. *New England Journal of Medicine*, 356, 2381-2387.
- ESTEVEES, S., COSTA, I., AMORIM, C. G., SANTARÉM, N. & CORDEIRO-DA-SILVA, A. **Biomarkers in Leishmaniasis: From Basic Research to Clinical Application**. 2018.
- EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION und CONTROL. 2018. **Phlebotomine sand flies - Factsheet for experts** [Online]. Available: <https://ecdc.europa.eu/en/disease-vectors/facts/phlebotomine-sand-flies> [Accessed 03.06.2018].
- EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION und CONTROL. 2020. **Autochthonous transmission of dengue virus in EU/EEA, 2010-present** [Online]. Available: <https://www.ecdc.europa.eu/en/all-topics-z/dengue/surveillance-and-disease-data/autochthonous-transmission-dengue-virus-eueea> [Accessed 05.01.2022].
- EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION und CONTROL. 2022a. **Verbreitung von *Phlebotomus (Larroussius) perniciosus* in Europa** [Online]. Stockholm, Sweden. Available: <https://ecdc.europa.eu/en/disease-vectors/surveillance-and-disease-data/phlebotomine-maps> [Accessed].
- EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION und CONTROL. 2022b. **Verbreitung von *Phlebotomus mascittii* in Europa** [Online]. Stockholm, Sweden. [Accessed 11.05.2022].
- FANG, X., WILLIS, R. C., BURRELL, A., EVANS, K., HOANG, Q., XU, W. & BOUNPHENG, M. 2007. Automation of nucleic acid isolation on KingFisher magnetic particle processors. *JALA: Journal of the Association for Laboratory Automation*, 12, 195-201.
- FELICIANGELI, M. D. 2004. Natural breeding places of phlebotomine sandflies. *Medical and Veterinary Entomology*, 18, 71-80.
- FENECH, F. F. 1997. Leishmaniasis in Malta and the Mediterranean Basin. *Annals of Tropical Medicine & Parasitology*, 91, 747-753.
- FERRER, D., CASTELLÀ, J., GUTIÉRREZ, J. F., LAVÍN, S. & MARCO, I. 1998. Seroprevalence of *Babesia ovis* in Spanish ibex (*Capra pyrenaica*) in Catalonia, northeastern Spain. *Veterinary parasitology*, 75, 93-98.
- FICH, C. 1994. Isolierung und Kultivierung von *Leishmania* spp. aus Mensch, Hund und Sandmücke in Nordgriechenland (Thessaloniki). Diplom Diplomarbeit, University Bonn, Germany. .

- FISCHER, D., MOELLER, P., THOMAS, S. M., NAUCKE, T. J. & BEIERKUHNEIN, C. 2011. **Combining climatic projections und dispersal ability: a method for estimating the responses of sandfly vector species to climate change.** PLoS neglected tropical diseases, 5.
- FISCHER, D., THOMAS, S. & BEIERKUHNEIN, C. 2010a. **Climate change effects on vectorborne diseases in Europe.** Nova Acta Leopoldina, 384, 99-107.
- FISCHER, D., THOMAS, S. M. & BEIERKUHNEIN, C. 2010b. **Temperature-derived potential for the establishment of phlebotomine sandflies und visceral leishmaniasis in Germany.** Geospatial Health, 5, 56-69.
- FOLEY, H. 1923. **Présence de *Phlebotomus perniciosus* Newstead dans le department de la Haute-Marne.** Bulletin de la Société de Pathologie Exotique, 16, 664.
- FONTENILLE, D., TRAORE-LAMIZANA, M., TROUILLET, J., LECLERC, A., MONDO, M., BA, Y., DIGOUTTE, J. P. & ZELLER, H. G. 1994. **First isolations of arboviruses from phlebotomine sand flies in West Africa.** The American journal of tropical medicine und hygiene, 50, 570-574.
- FORCHHAMMER, S. 2017. **"Kala Azar"** Universitätsklinikum Tübingen, Hautklinik Tübingen.
- FRANK, C., FABER, M., HELLENBRAND, W., WILKING, H. & STARK, K. 2014. **Wichtige, durch Vektoren übertragene Infektionskrankheiten beim Menschen in Deutschland.** Robert Koch-Institut (RKI), Infektionsepidemiologie.
- FRANKA C. 1918. **Note sur les espèces portugaises du genre *Phlebotomus*.** Bull_ Soc.pathol. exot., XI, 730.
- GALLAGHER, M., WYSOCKI, C. J., LEYDEN, J. J., SPIELMAN, A., SUN, X. & PRETI, G. 2008. **Analyses of volatile organic compounds from human skin.** British Journal of Dermatology, 159, 780-791.
- GÁLVEZ, R., DESCALZO, M. A., GUERRERO, I., MIRÓ, G. & MOLINA, R. 2011. **Mapping the current distribution und predicted spread of the leishmaniosis sand fly vector in the Madrid region (Spain) based on environmental variables und expected climate change.** Vector-borne und zoonotic diseases, 11, 799-806.
- GARCIA-QUINTANILLA, M., DICHTER, A. A., GUERRA, H. & KEMPF, V. A. 2019. **Carrion's disease: more than a neglected disease.** Parasites & vectors, 12, 1-12.
- GAZZONIS, A. L., BERTERO, F., MORETTA, I., MORGANTI, G., MORTARINO, M., VILLA, L., ZANZANI, S. A., MORANDI, B., RINNOVATI, R., VITALE, F., MANFREDI, M. T., CARDOSO, L. & VERONESI, F. 2020. **Detecting antibodies to *Leishmania infantum* in horses from areas with different epizooticity levels of canine leishmaniosis und a retrospective revision of Italian data.** Parasites & Vectors, 13, 530.
- GOTHE, R. 1991. **Leishmaniosen des Hundes in Deutschland: Erregerfauna und-biologie, Epidemiologie, Klinik, Pathogenese, Diagnose.** Therapie und Prophylaxe. Kleintierpraxis.
- GRATZ, N. G. 2004. **Critical review of the vector status of *Aedes albopictus*.** Medical and Veterinary Entomology, 18, 215-27.
- GRIMM, F., GESSLER, M. & JENNI, L. 1993. **Aspects of sandfly biology in southern Switzerland.** Medical und veterinary entomology, 7, 170-176.
- GUBLER, D. J. 2001. **Human arbovirus infections worldwide.** Annals of the New York Academy of Sciences, 951, 13-24.
- GUILHON, J. 1965. **The Spread of Canine Leishmaniasis in France und the Possible Danger to Children.** Bulletin de l'Academie nationale de medecine, 149, 638-42.
- HANSON, W. J. 1968. **The immature stages of the family Phlebotominae in Panama (Diptera: Psychodidae).** University of Kansas, U.S.A.; .
- HARMS-ZWINGENBERGER, G. & BIENZLE, U. 2007. **Nach Deutschland importierte Leishmaniosen.** Deutsches Ärzteblatt International, 104, 3108-.
- HARMS, G. & BIENZLE, U. 2000. **Leishmaniosen-importierte Krankheiten.** Deutsches Ärzteblatt, 31, 1589-92.

- HEILAND, V. S., ROBERT, K., SANDRA, H. & SCHLIEP, R. 2016. **Ökosystemleistungen in der kommunalen Landschaftsplanung.**
- HEIMFARTH, J. 2018. **Auswirkungen des Klimawandels auf durch Stechmücken übertragene Infektionskrankheiten –Eine Risikobewertung für Hamburg.**
- HUKIĆ, M., AVDIHODŽIĆ, H., KUROLT, I.-C., MARKOTIĆ, A., HANJALIĆ, J., KAPUR-POJSKIĆ, L., MAHMULJIN, I., AVDIĆ, M., SALIMOVIĆ-BESIĆ, I. & SMAJLOVIĆ-SKENDERAGIĆ, L. 2020. **A novel flavivirus strain detected in phlebotomine sandflies in Bosnia und Herzegovina.** Medicinski glasnik (Zenica), 17, 301-307.
- HURST, F. 04.05.2021 2021. **RE: Saisonalität von ansässigen Fledermäusen in Vögisheim, Baden-Württemberg.** Type to OERTHER, S.
- INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE. 2007. **Climate change 2007: impacts, adaptation and vulnerability.** Working Group II, IPCC 4th Assessment Report, <http://www.ipcc.ch> [Online]. [Accessed 15.10.2021].
- IRUNGU, L. W., MUTINGA, M. J. & KOKWARO, E. D. 1986. **Chorionic sculpturing of eggs of some Kenyan phlebotomine sandflies.** International Journal of Tropical Insect Science, 7, 45-48.
- IVOVIĆ, V., KALAN, K., ZUPAN, S. & BUŽAN, E. 2015. **Illegal waste sites as a potential micro foci of Mediterranean Leishmaniasis: First records of phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) from Slovenia.** Acta Veterinaria Brno, 65, 348-357.
- JAIJAKUL, S., ARIAS, C. A., HOSSAIN, M., ARDUINO, R. C., WOOTTON, S. H. & HASBUN, R. 2012. **Toscana meningoencephalitis: a comparison to other viral central nervous system infections.** Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology, 55, 204-208.
- JANCAROVA, M., BICHAUD, L., HLAVACOVA, J., PRIET, S., AYHAN, N., SPITZOVA, T., VOLF, P. & CHARREL, R. N. 2019. **Experimental Infection of Sand Flies by Massilia Virus und Viral Transmission by Co-Feeding on Sugar Meal.** Viruses, 11, 332.
- KAHLE, C. 2021. **Leishmaniose.** 2020. Available: <https://www.meine-gesundheit.de/krankheit/krankheiten/leishmaniose>.
- KALLIO-KOKKO, H., UZCATEGUI, N., VAPALAHTI, O. & VAHERI, A. 2005. **Viral zoonoses in Europe.** FEMS microbiology reviews, 29, 1051-1077.
- KASPAR, K., FRIEDRICH, F. & IMBERY, F. 2020. **2019 global zweitwärmstes Jahr: Temperaturentwicklung in Deutschland im globalen Kontext.** DWD- Deutscher Wetterdienst.
- KENT, R. J. 2009. **Molecular methods for arthropod bloodmeal identification und applications to ecological und vector - borne disease studies.** Molecular ecology resources, 9, 4-18.
- KETTLE, D. S. 1984. Medical und veterinary entomology. , Croom Helm Ltd.
- KHOURY, C., CAVALLINI, C., MICELI, N. & MAROLI, M. 1992. **Distribution und relative density of phlebotomine sandflies (Diptera: Psychodidae) in Rome, Italy.** Annales de parasitologie humaine et comparée, 67, 151-154.
- KIEHL, W. 2015. **Infektionsschutz und Infektionsepidemiologie.**
- KILLICK-KENDRICK, R. 1987. **Breeding places of *Phlebotomus ariasi* in the Cévennes focus of leishmaniasis in the south of France.** Parassitologia, 29, 181.
- KILLICK-KENDRICK, R. 1990. **Phlebotomine vectors of the leishmaniasis: a review.** Medical und veterinary entomology, 4, 1-24.
- KILLICK-KENDRICK, R. 1999. **The biology und control of phlebotomine sand flies.** Clinics in dermatology, 17, 279-289.
- KILLICK-KENDRICK, R., RIOUX, J.-A., RATIFY, M., GUY, M., WILKES, T., GUY, F., DAVIDSON, I., KNECHTLI, R., WARD, R. & GUILVARD, E. 1984. **Ecology of leishmaniasis in the south of France-20. Dispersal of *Phlebotomus ariasi* Tonnoir, 1921 as a factor in the spread of visceral leishmaniasis in the Cévennes.** Annales de parasitologie humaine et comparee, 59, 555-572.

- KIMMIG, P., MACKENSTEDT, U., NAUCKE, T. J., OEHME, R. & PLUTA, S. 2009. **Einschleppung von Krankheitserregern aus dem mediterranen Raum.**
- KIMMIG, P., PLUTA, S., HARTELT, K., NAUCKE, T., OEHME, R. & MACKENSTEDT, U. 2010a. **Klimawandel und die Ausbreitung von vektorübertragenen Infektionskrankheiten.**
- KIMMIG, P., PLUTA, S. & NAUCKE, T. 2010b. **Globale Erwärmung: Infektionsgefahr aus dem Süden.** Biol Unserer Zeit, 40, 21-28.
- KISHORE, K., KUMAR, V., KESARI, S., DINESH, D., KUMAR, A., DAS, P. & BHATTACHARYA, S. 2006. **Vector control in leishmaniasis.** Indian Journal of Medical Research, 123, 467.
- KITANO, T., UMETSU, K., TIAN, W. & OSAWA, M. 2007. **Two universal primer sets for species identification among vertebrates.** International journal of legal medicine, 121, 423-427.
- KLIWA, A. 2016. **Klimawandel in Süddeutschland, Veränderungen von meteorologischen und hydrologischen Kenngrößen – Klimamonitoring im Rahmen des Kooperationsvorhabens KLIWA.** KLIWA 2016: Monitoringbericht 2016, 60.
- KNECHTLI, R. & JENNI, L. 1989. **Distribution und relative density of three sandfly (Diptera: Phlebotominae) species in southern Switzerland.** Annales de parasitologie humaine et comparée, 64, 53-63.
- KNIHA, E. 2021. **Phylogeography of Austrian sand fly populations - where do they come from and where will they go?** Doctor of Medical Science Dissertation, Medical University of Vienna.
- KNIHA, E., ASPÖCK, H., OBWALLER, A. G., POEPPL, W. & WALOCHNIK, J. 2020a. **Die Verbreitung von Sandmücken (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) und deren Relevanz als Überträger von Krankheitserregern des Menschen in Mitteleuropa.** Entomologica Austriaca, 27, 65-89.
- KNIHA, E., DVOŘÁK, V., HALADA, P., MILCHRAM, M., OBWALLER, A. G., KUHL, K., SCHLEGEL, S., KÖHLER, M., POEPPL, W., BAKRAN-LEBL, K., FUEHRER, H.-P., VOLFOVÁ, V., MOOSEDER, G., IVOVIC, V., VOLF, P. & WALOCHNIK, J. 2020b. **Integrative Approach to *Phlebotomus mascittii* Grassi, 1908: First Record in Vienna with New Morphological and Molecular Insights.** Pathogens (Basel, Switzerland), 9, 1032.
- KNIHA, E., MILCHRAM, M., DVOŘÁK, V., HALADA, P., OBWALLER, A. G., POEPPL, W., MOOSEDER, G., VOLF, P. & WALOCHNIK, J. 2021. **Ecology, seasonality and host preferences of Austrian *Phlebotomus (Transphlebotomus) mascittii* Grassi, 1908, populations.** Parasites & Vectors, 14, 291.
- KNIHA, E., OBWALLER, A. G., DOBLER, G., POEPPL, W., MOOSEDER, G. & WALOCHNIK, J. 2019. **Phlebovirus seroprevalence in Austrian Army personnel returning from missions abroad.** Parasites & vectors, 12, 416.
- KOCH, L. K., KOCHMANN, J., KLIMPEL, S. & CUNZE, S. 2017. **Modeling the climatic suitability of leishmaniasis vector species in Europe.** Scientific Reports, 7, 13325.
- KOCHER, T. D., THOMAS, W. K., MEYER, A., EDWARDS, S. V., PÄÄBO, S., VILLABLANCA, F. X. & WILSON, A. C. 1989. **Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals: amplification and sequencing with conserved primers.** Proceedings of the National Academy of Sciences, 86, 6196-6200.
- KOEHLER, K., STECHELE, M., HETZEL, U., DOMINGO, M., SCHÖNIAN, G., ZAHNER, H. & BURKHARDT, E. 2002. **Cutaneous leishmaniasis in a horse in southern Germany caused by *Leishmania infantum*.** Veterinary parasitology, 109, 9-17.
- KOVATS, R. S. E. A. 2014. **Climate Change 2014: Impacts, Adaptation, and Vulnerability. Part B: Regional Aspects.** Contribution of Working Group II to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [Online]. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom und New York, NY, USA, pp. 1267-1326. Available: http://www.ipcc.ch/pdf/assessment-report/ar5/wg2/WGIIAR5-Chap23_FINAL.pdf [Accessed 2021].

- KRENN, H. W. & ASPÖCK, H. 2012. **Form, function und evolution of the mouthparts of blood-feeding Arthropoda**. *Arthropod structure & development*, 41, 101-118.
- KROMP-KOLB, H. & FORMAYER, H. 2005. **Schwarzbuch Klimawandel**.
- LAMBERT, A. J. & LANCIOTTI, R. S. 2009. **Consensus amplification und novel multiplex sequencing method for S segment species identification of 47 viruses of the Orthobunyavirus, Phlebovirus, und Nairovirus genera of the family Bunyaviridae**. *J Clin Microbiol*, 47, 2398-2404.
- LAMPO, M., FELICIANGELI, M. D., MÁRQUEZ, L. M., BASTIDAS, C. & LAU, P. 2000. **A possible role of bats as a blood source for the Leishmania vector *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae)**. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 62, 718-9.
- LANDESAMT FÜR GEOLOGIE, R. U. B. B.-W. 2021. **Bodenkarte von Baden-Württemberg 1 : 50 000 (GeoLa), Web Map Service** [Online]. Landesamt für Geologie, Rohstoffe und Bergbau Baden-Württemberg (LGRB-BW). Available: https://produkte.lgrb-bw.de/catalog/list/?wm_group_id=11111&p=geoLOehOY39IYvDRbUwZOMTd68C7w0gdj [Accessed 2021].
- LANDESAMT FÜR GEOLOGIE UND BERGBAU RHEINLAND-PFALZ. 2021. **Online-Bodenkarten RLP** [Online]. LGB-RLP. Available: <https://www.lgb-rlp.de/karten-und-produkte/online-karten/online-bodenkarten.html> [Accessed 2021].
- LANDESANSTALT FÜR UMWELT BADEN-WÜRTTEMBERG. 1986. **Isteiner Klotz**. Available: http://www2.lubw.baden-wuerttemberg.de/public/abt2/dokablage/oac_12/wuerdigung/3/3160.htm.
- LANE, R. 1993. **Sandflies (Phlebotominae)**. *Medical insects und arachnids*. Springer.
- LANE, R. P. & CROSSKEY, R. W. 2012. **Medical insects und arachnids**, Springer Science & Business Media.
- LAWYER, P., KILLICK-KENDRICK, M., ROWLAND, T., ROWTON, E. & VOLF, P. 2017. **Laboratory colonization und mass rearing of phlebotomine sand flies (Diptera, Psychodidae)**. *Parasite*, 24.
- LAWYER, P. & PERKINS, P. 2004. **Leishmaniosis und trypanosomiasis**. In: *Medical Entomology. Medical Entomology, Revised Edition*, by B. F. Eldridge und J. D. Edman (eds.), Kluwer Academic Publishers, Great Britain, 231-298.
- LAWYER, P. & YOUNG, D. 1991. **Diapause und quiescence in *Lutzomyia diabolica* (Diptera: Psychodidae)**. *Parassitologia*, 33, 353-360.
- LAZZARINI, L., BARZON, L., FOGLIA, F., MANFRIN, V., PACENTI, M., PAVAN, G., RASSU, M., CAPELLI, G., MONTARSI, F. & MARTINI, S. 2020. **First autochthonous dengue outbreak in Italy, August 2020**. *Eurosurveillance*, 25, 2001606.
- LEISHMANIOSE-FORUM E.V. 2018. **Leishmaniose beim Hund**. Available: <https://www.leishmaniose-forum-verein.com/>.
- LEISHVET. 2018. **Leishmaniose bei Hunden und Katzen**. 4. Edition. Available: <https://www.leishvet.org/wp-content/uploads/2018/09/DE-Guidelines.pdf> [Accessed 2021].
- LENG, Y. J. 1987. **A preliminary survey of phlebotomine sandflies in limestone caves of Sichuan und Guizhou Provinces, south-west China, und description und discussion of a primitive new genus *Chinius***. *Annals of Tropical Medicine & Parasitology*, 81, 311-317.
- LEWIS, D., YOUNG, D., FAIRCHILD, G. & MINTER, D. 1977. **Proposals for a stable classification of the phlebotomine sandflies (Diptera: Psychodidae)**. *Systematic Entomology*, 2, 319-332.
- LUTERBACHER, J., WERNER, J. P., SMERDON, J. E., FERNÁNDEZ-DONADO, L., GONZÁLEZ-ROUCO, F. J., BARRIOPEDRO, D., LJUNGQVIST, F. C., BÜNTGEN, U., ZORITA, E. & WAGNER, S. 2016. **European summer temperatures since Roman times**. *Environmental research letters*, 11, 024001.

- MAGALHÃES-JUNIOR, J. T., BARROUIN-MELO, S. M., CORRÊA, A. G., DA ROCHA SILVA, F. B., MACHADO, V. E., GOVONE, J. S. & PINTO, M. C. 2014. **A laboratory evaluation of alcohols as attractants for the sandfly *Lutzomyia longipalpis* (Diptera:Psychodidae).** Parasites & vectors, 7, 60-60.
- MAGILL, A. J., RYAN, E. T., HILL, D. R. & SOLOMON, T. 2012. **Hunter's Tropical Medicine und Emerging Infectious Disease: Expert Consult-Online und Print,** Elsevier Health Sciences.
- MAGUIÑA VARGAS, C., UGARTE-GIL, C., BREÑA CHÁVEZ, P., ORDAYA ESPINOZA, E., VENTOSILLA LÓPEZ, P., HUARCAYA CASTILLA, E. & HENRIQUEZ CAMACHO, C. 2008. **Actualización de la enfermedad de Carrión.** Revista médica herediana, 19, 36-41.
- MAIER, W. E. A. 2003. **Mögliche Auswirkungen von Klimaveränderungen auf die Ausbreitung von primär humanmedizinisch relevanten Krankheitserregern über tierische Vektoren sowie auf die wichtigen Humanparasiten in Deutschland.** Climate Change | 05/2003 [Online].
- MARAYATI, B. F., SCHAL, C., PONNUSAMY, L., APPERSON, C. S., ROWLAND, T. E. & WASSERBERG, G. 2015. **Attraction and oviposition preferences of *Phlebotomus papatasi* (Diptera: Psychodidae), vector of Old-World cutaneous leishmaniasis, to larval rearing media.** Parasites & vectors, 8, 663-663.
- MARKLEWITZ, M., DUTARI, L. C., PARASKEVOPOULOU, S., PAGE, R. A., LOAIZA, J. R. & JUNGLIN, S. 2019. **Diverse novel phleboviruses in sandflies from the Panama Canal area, Central Panama.** Journal of General Virology, 100, 938-949.
- MAROLI, M., FELICIANGELI, M. D., BICHAUD, L., CHARREL, R. N. & GRADONI, L. 2013. **Phlebotomine sandflies and the spreading of leishmaniasis and other diseases of public health concern.** Medical and Veterinary Entomology, 27, 123-47.
- MAROLI, M., GRAMICCIA, M., GRADONI, L., TROIANI, M. & ASCIONE, R. 1994. **Natural infection of *Phlebotomus perniciosus* with MON 72 zymodeme of *Leishmania infantum* in the Campania region of Italy.** Acta Tropica, 57, 333-335.
- MARTÍN-SÁNCHEZ, J., MORALES-YUSTE, M., ACEDO-SÁNCHEZ, C., BARÓN, S., DÍAZ, V. & MORILLAS-MÁRQUEZ, F. 2009. **Canine leishmaniasis in southeastern Spain.** Emerging infectious diseases, 15, 795.
- MAßBERG, D. 2008. **Untersuchungen zur Verbreitung, zum Brut- und Flugverhalten sowie zur Fütterung von Sandmücken.** Diplomarbeit, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf.
- MCKENZIE, B. A., WILSON, A. E. & ZOHDY, S. 2019. ***Aedes albopictus* is a competent vector of Zika virus: A meta-analysis.** PloS one, 14, e0216794-e0216794.
- MEDLOCK, J., HANSFORD, K., VAN BORTEL, W., ZELLER, H. & ALTEN, B. 2014. **A Summary of the Evidence for the Change in European Distribution of Phlebotomine Sand Flies (Diptera: Psychodidae) of Public Health Importance.**
- MEINECKE, C. K. E. A. 1999. **"Congenital transmission of visceral leishmaniasis (Kala Azar) from an asymptomatic mother to her child."** Pediatrics, 104.5, 1-5.
- MENCKE, N. 2011. **The importance of canine leishmaniosis in non-endemic areas, with special emphasis on the situation in Germany.** Berl Munch Tierarztl Wochenschr, 124, 434-442.
- MERDAN, A. I., MORSY, T., SHOUKRY, A. & WAHBA, M. 1992. **Two successive years studies on *Phlebotomus papatasi* in North Sinai Governorate, Egypt.** Journal of the Egyptian Society of Parasitology, 22, 91-100.
- MEYER-KÖNIG, U., SCHNEIDER, S., ÖZDEMIR, S., HUTMACHER, K., WEIDMANN, M., KAISER, R., RAUER, S., DOBLER, G. & HUFERT, F. **Toscana virus-associated encephalitis is emerging north of the Alps.** National Symposium on Zoonoses Research, 2010.
- MINNICK, M. F., ANDERSON, B. E., LIMA, A., BATTISTI, J. M., LAWYER, P. G. & BIRTLES, R. J. 2014. **Oroya fever und verruga peruana: bartonelloses unique to South America.** PLoS neglected tropical diseases, 8, e2919.

- MORICONI, M., RUGNA, G., CALZOLARI, M., BELLINI, R., ALBIERI, A., ANGELINI, P., CAGARELLI, R., LANDINI, M. P., CHARREL, R. N. & VARANI, S. 2017. **Phlebotomine sand fly–borne pathogens in the Mediterranean Basin: Human leishmaniasis und phlebovirus infections.** PLoS neglected tropical diseases, 11, e0005660.
- MOSQUITOMAGNET. 2017. **Attractants 101 [Online].** Available: <https://www.mosquitomagnet.com/advice/keys-to-success/attractants-101> [Accessed 2017].
- MOUREAU, G., NINOVE, L., IZRI, A., COOK, S., LAMBALLERIE, X. D. & CHARREL, R. N. 2010. **Flavivirus RNA in phlebotomine sandflies.** Vector-Borne und Zoonotic Diseases, 10, 195-197.
- MUKHOPADHYAY, J. & GHOSH, K. 1999. **Vector potential of *Phlebotomus duboscqi* und *P. papatasi*: a comparison of feeding behaviour, reproductive capacity und experimental infection with *Leishmania major*.** Annals of Tropical Medicine & Parasitology, 93, 309-318.
- MULLEN, G. R. & DURDEN, L. A. 2009. **Medical und veterinary entomology,** Academic press.
- MUNSTERMANN, L. E. 2019. **Phlebotomine sand flies und moth flies (Psychodidae). Medical und veterinary entomology.** Elsevier.
- NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE 2021. **PubChem, Compound Summary for CID 5364475, 3-Octen-1-OL.** In: INFORMATION, N. C. F. B. (ed.) PubChem Compound Summary for CID 5364475, 3-Octen-1-OL. .
- NAUCKE, T., GARMS, R. & LOZÁN, J. 2014. **Die Leishmaniose-eine potenzielle Gefahr in Mitteleuropa. Warnsignal Klima: Gefahren für Pflanzen, Tiere und Menschen, 2. Edition**
- NAUCKE T. J. 2021. **Nachweis einer Sandmücke im Juni 2021 in Niederkassel Bonn**
- NAUCKE, T. J. 1998. **Untersuchungen zur Vektorkontrolle von Sandmücken (Diptera; Psychodidae) in Nordostgriechenland,** Roderer.
- NAUCKE, T. J. 2002. **Leishmaniose, eine Tropenkrankheit und deren Vektoren (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) in Mitteleuropa.**
- NAUCKE, T. J. 2007. **Leishmaniose–Einzug in Deutschland.** Tierärztl Umsch, 62, 495-500.
- NAUCKE, T. J. 2008. **„Reisende“ Parasiten und parasitäre Erkrankungen in Europa.** Team Spiegel – Medizin und Pflege 1.
- NAUCKE, T. J. 2016. **Leishmaniose-Infektionen in Deutschland - Gefahr geht nicht nur von Sandmücken aus.**
- NAUCKE, T. J. 03.06.2020 2020. RE: **Verdacht auf autochthone Übertragungen des Toskana-Virus in Baden-Württemberg.** Type to OERTHER, S.
- NAUCKE, T. J. 2021. **Sandmücken [Online].** parasitosen.de und Parasitus Ex e.V. Available: https://www.parasitosen.de/index.php?option=com_content&view=article&id=47&Itemid=181 [Accessed 2020].
- NAUCKE, T. J., LORENTZ, S., RAUCHENWALD, F. & ASPÖCK, H. 2011. ***Phlebotomus (Transphlebotomus) mascittii* Grassi, 1908, in Carinthia: first record of the occurrence of sandflies in Austria (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae).** Parasitology research, 109, 1161.
- NAUCKE, T. J., MENN, B., MASSBERG, D. & LORENTZ, S. 2008. **Sandflies und leishmaniasis in Germany.** Parasitology research, 103, 65-68.
- NAUCKE, T. J. & PESSON, B. 2000. **Presence of *Phlebotomus (Transphlebotomus) mascittii* Grassi, 1908 (Diptera: Psychodidae) in Germany.** Parasitology research, 86, 335-336.
- NAUCKE, T. J. & SCHMITT, C. 2004. **Is leishmaniasis becoming endemic in Germany?** International Journal of Medical Microbiology, 293 Suppl 37, 179-81.
- NAVEA-PÉREZ, H. M., DÍAZ-SÁEZ, V., CORPAS-LÓPEZ, V., MERINO-ESPINOSA, G., MORILLAS-MÁRQUEZ, F. & MARTÍN-SÁNCHEZ, J. 2015. ***Leishmania infantum* in wild rodents: reservoirs or just irrelevant incidental hosts?** Parasitology Research, 114, 2363-70.

- NEWSTEAD, R. 1911. **The papataci flies (*Phlebotomus*) of the Maltese Islands.** Annals of Tropical Medicine & Parasitology, 5, 139-186.
- NICOLETTI, L. & CIUFOLINI, M. 2008. **Rift Valley Fever und Other Phleboviruses.**
- NICOLETTI, L., CIUFOLINI, M. & VERANI, P. 1996. **Sandfly fever viruses in Italy. Imported Virus Infections.** Springer.
- OBWALLER, A. G., KARAKUS, M., POEPPL, W., TÖZ, S., ÖZBEL, Y., ASPÖCK, H. & WALOCHNIK, J. 2016. **Could *Phlebotomus mascittii* play a role as a natural vector for *Leishmania infantum*? New data.** Parasites & vectors, 9, 458.
- OERTHER, S. 2020. **Sandmücken Fang im Jahr 2020 in RLP.**
- ORKIN LLC. 2022. **Sandflies** [Online]. Available: <https://www.orkin.com/flies/sand-flies> [Accessed 2021].
- ÖZGÜR, K., M.D. PH.D., PROFESSOR. 2020. **Leishmaniasis in Turkey: Summary of the current situation.**
- PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION & WORLD HEALTH ORGANISATION. 2017. **Leishmaniasis-Neglected Infectious Diseases.** Available: <https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2017/2017-cha-leishmaniasis-factsheet-work.pdf>, www.paho.org/leishmaniasis [Accessed 2020].
- PANTCHEV, N. & HIRSCH, M. 2018. **Vektorübertragene Infektionendes Hundes („CVBD“) in Europa. Verbreitung, Nachweismöglichkeiten, Prophylaxe und Therapie.** 3.Auflage.
- PAUPY, C., DELATTE, H., BAGNY, L., CORBEL, V. & FONTENILLE, D. 2009. ***Aedes albopictus*, an arbovirus vector: from the darkness to the light.** Microbes and Infection, 11, 1177-85.
- PEARSON, R. D., MD, UNIVERSITY OF VIRGINIA SCHOOL OF MEDICINE. 2019. **Leishmaniose** [Online]. Available: <https://www.msmanuals.com/de/de/profi/infektionskrankheiten/extraintestinale-protozoen/leishmaniose> [Accessed].
- PIANTEDOSI, D., VENEZIANO, V., DI MUCCIO, T., MANZILLO, V. F., FIORENTINO, E., SCALONE, A., NEOLA, B., DI PRISCO, F., D'ALESSIO, N., GRADONI, L., OLIVA, G. & GRAMICCIA, M. 2016. **Epidemiological survey on *Leishmania* infection in red foxes (*Vulpes vulpes*) und hunting dogs sharing the same rural area in Southern Italy.** Acta Parasitologica, 61, 769-775.
- PIERANTONI, U. 1925. **Italian Sandflies.** Boll. Mus. Zool. & Anat. Univ. Torino, 39.
- POEPPL, W., OBWALLER, A. G., WEILER, M., BURGMANN, H., MOOSEDER, G., LORENTZ, S., RAUCHENWALD, F., ASPÖCK, H., WALOCHNIK, J. & NAUCKE, T. J. 2013. **Emergence of sandflies (*Phlebotominae*) in Austria, a Central European country.** Parasitology research, 112, 4231-4237.
- POLSEELA, R., JATURAS, N., THANWISAI, A., SING, K.-W. & WILSON, J.-J. 2016. **Towards monitoring the sandflies (Diptera: Psychodidae) of Thailand: DNA barcoding the sandflies of Wihan Cave, Uttaradit.** Mitochondrial DNA Part A, 27, 3795-3801.
- POZIO, E., GRADONI, L., BETTINI, S. & GRAMICCIA, M. 1981. **Leishmaniasis in Tuscany (Italy): VI. Canine leishmaniasis in the focus of Monte Argentario (Grosseto).** Acta Tropica, 38, 383-393.
- PRADA, P. A., CURRAN, A. M. & FURTON, K. G. 2010. **Comparison of extraction methods for the removal of volatile organic compounds (VOCs) present in sorbents used for human scent evidence collection.** Analytical Methods, 2, 470-478.
- PRAPROTNIK, E., ZUPAN, S. & IVOVIĆ, V. 2019. **Morphological und molecular identification of *Phlebotomus mascittii* Grassi, 1908 populations from Slovenia.** Journal of Medical Entomology, 56, 565-568.
- PRUDHOMME, J., RAHOLA, N., TOTY, C., CASSAN, C., ROIZ, D., VERGNES, B., THIERRY, M., RIOUX, J.-A., ALTEN, B. & SERENO, D. 2015. **Ecology und spatiotemporal dynamics of sandflies in the Mediterranean Languedoc region (Roquedur area, Gard, France).** Parasites & vectors, 8, 642.

- PUNDA-POLIĆ, V., JERONČIĆ, A., MOHAR, B. & KRALJEVIĆ, K. Š. 2012. **Prevalence of Toscana virus antibodies in residents of Croatia.** *Clinical Microbiology und Infection*, 18, E200-E203.
- QUATE, L. W. 1964. **Phlebotomus Sandflies of the Paloich Area in the Sudan (Diptera, Psychodidae).** 1. *Journal of Medical Entomology*, 1, 213-268.
- R CORE TEAM 2020. **R: A language and environment for statistical computing.** R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. .
- RAGHAVENDRA, K., GHOSH, S., EAPEN, A., TIWARI, S., SATYANARAYAN, T., RAVINDRAN, J., SREEHARI, U. & DASH, A. 2011. **Field evaluation of lambda-cyhalothrin (ICON 10 CS) indoor residual spraying against *Anopheles culicifacies* in India.** *Journal of vector borne diseases*, 48, 18.
- READY, P. 1981. **Prevalence of *Phlebotomus* spp. in Southern France: Sampling Bias due to different Man-Biting Habits und Autgeny.**
- READY, P. 2010. **Leishmaniasis emergence in Europe.** *Eurosurveillance*, 15, 19505.
- READY, P., LAINSON, R., SHAW, J. & WARD, R. 1986. **The ecology of *Lutzomyia umbratilis* Ward & Fraiha (Diptera: Psychodidae), the major vector to man of *Leishmania braziliensis* guyanensis in north-eastern Amazonian Brazil.** *Bulletin of Entomological Research*, 76, 21-40.
- READY, P. D. 2013. **Biology of phlebotomine sand flies as vectors of disease agents.** *Annual review of entomology*, 58, 227-250.
- REMADI, L., JIMÉNEZ, M., CHARGUI, N., HAOUAS, N., BABBA, H. & MOLINA, R. 2018. **The vector competence of *Phlebotomus perniciosus* for *Leishmania infantum* zymodemes of Tunisia.** *Parasitology research*, 117, 2499-2506.
- REMOLI, M. E., JIMÉNEZ, M., FORTUNA, C., BENEDETTI, E., MARCHI, A., GENOVESE, D., GRAMICCIA, M., MOLINA, R. & CIUFOLINI, M. G. 2016. **Phleboviruses detection in *Phlebotomus perniciosus* from a human leishmaniasis focus in South-West Madrid region, Spain.** *Parasites & vectors*, 9, 205.
- RIOUX, J. A., ALBARET, J. L., HOUIN, R., DEDET, J. P. & LANOTTE, G. 1968. **Ecologie des Leishmanioses dans le sud de la France. 2.-Les réservoirs selvatiques-Infestation spontanée du Renard (*Vulpes vulpes* L.).** *Annales de Parasitologie humaine et comparée*, 43, 421-428.
- RISPAIL, P. 1990. **The phenetic und cladistic view of the genus *Phlebotomus* Rondani , Berte, 1840 (Diptera: Psychodidae).** *Role of morphological characters of the imagos.* 2 vol., , 239.
- RISUEÑO, J., MUÑOZ, C., PÉREZ-CUTILLAS, P., GOYENA, E., GONZÁLVEZ, M., ORTUÑO, M., BERNAL, L. J., ORTIZ, J., ALTEN, B. & BERRIATUA, E. 2017. **Understanding *Phlebotomus perniciosus* abundance in south-east Spain: assessing the role of environmental und anthropic factors.** *Parasites & vectors*, 10, 1-12.
- ROBERT KOCH INSTITUT. 2010. **Aus Kroatien importierte Denguevirus-Infektion.** *Epidemiologisches Bulletin* Nr. 40 | 2010; 11. Oktober 2010 [Online].
- ROECKNER, E. & JACOB, D. 2008. **Der Klimawandel ist voll im Gange: ein Überblick. Warnsignal Klima: Gesundheitsrisiken-Gefahren für Pflanzen, Tiere und Menschen.** *Wissenschaftliche Auswertungen.*
- ROSSI, E., BONGIORNO, G., CIOLLI, E., DI MUCCIO, T., SCALONE, A., GRAMICCIA, M., GRADONI, L. & MAROLI, M. 2008. **Seasonal phenology, host-blood feeding preferences und natural *Leishmania* infection of *Phlebotomus perniciosus* (Diptera, Psychodidae) in a high-endemic focus of canine leishmaniasis in Rome province, Italy.** *Acta tropica*, 105, 158-165.
- SALMAN, S. M. E. A. 1999. **Clinics in Dermatology,** Elsevier Science Inc.
- SANGER, F., NICKLEN, S. & COULSON, A. R. 1977. **DNA sequencing with chain-terminating inhibitors.** *Proceedings of the national academy of sciences*, 74, 5463-5467.
- SCHMITT, C. 2002. **Untersuchungen zur Biologie und Verbreitung von *Phlebotomus (Transphlebotomus) mascittii*, Grassi 1908 (Diptera: Psychodidae) in Deutschland.** *Diplomarbeit, Universität Bonn.*

- SCHWARZ, T. E. A. 1996. **"Immunoblot detection of antibodies to Toscana virus."** Journal of medical virology, 49.2, 83-86.
- SEAMAN, J., A. J. MERCER, und E. SONDRORP 1996. **The epidemic of visceral leishmaniasis in western Upper Nile, southern Sudan: course und impact from 1984 to 1994.** International journal of epidemiology 25.4 862-871.
- SECCOMBE, A. K., READY, P. D., HUDDLESTON, L. M. & BRITISH, M. 1993. **A catalogue of Old World phlebotomine sandflies (Diptera: psychodidae, phlebotominae), Andover, Hampshire;** [London], Intercept ; Natural History Museum.
- SEMENZA, J. C. & MENNE, B. 2009. **Climate change und infectious diseases in Europe.** The Lancet Infectious Diseases, 9, 365-375.
- SEMENZA, J. C. & SUK, J. E. 2018. **Vector-borne diseases und climate change: a European perspective.** FEMS microbiology letters, 365, fnx244.
- SERENO, D. E. A. 2017. **Leishmania - General Information.**
- SERGEANT, E., LOMBARD, J. & QUILICHINI, M. 1912. **La leishmaniose à Alger. Infection simultanée d'un enfant, d'un chien et d'un chat dans la même maison.** Bulletin de la Société de Pathologie Exotique, 5, 93-98.
- SHARMA, U. & SINGH, S. 2008. **Insect vectors of Leishmania: distribution, physiology und their control.** J Vector Borne Dis, 45, 255-72.
- SHIMABUKURO, P. H. F., DE ANDRADE, A. J. & GALATI, E. A. B. 2017. **Checklist of American sand flies (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae): genera, species, und their distribution.** ZooKeys, 660, 67-106.
- SILVA-CASO, W., AGUILAR-LUIS, M. A., LIU, Q., VALLE-MENDOZA, D., LI, D., LESCANO, A. G., CORREA-NUÑEZ, G., SONG, X., ROJAS-JAIMES, J. & VÁSQUEZ-ACHAYA, F. 2018. **Molecular identification of Bartonella bacilliformis in ticks collected from two species of wild mammals in Madre de Dios: Peru.**
- SIMMONDS, P., BECHER, P., BUKH, J., GOULD, E., MEYERS, G., MONATH, T., MUERHOFF, S., PLETNEV, A., RICO-HESE, R. & SMITH, D. 2017. Ictv Report C. 2017. **ICTV virus taxonomy profile: Flaviviridae.** Journal of Genetic Virology, 98, 2-3.
- SIMSEK, F. M., ALTEN, B., CAGLAR, S. S., OZBEL, Y., AYTEKIN, A. M., KAYNAS, S., BELEN, A., KASAP, O. E., YAMAN, M. & RASTGELDI, S. 2007. **Distribution und altitudinal structuring of phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) in southern Anatolia, Turkey: their relation to human cutaneous leishmaniasis.** Journal of Vector Ecology, 32, 269-279.
- SINGH, R., LAL, S. & SAXENA, V. K. 2008. **Breeding ecology of visceral leishmaniasis vector sandfly in Bihar state of India.** Acta Trop, 107, 117-20.
- SINNING, D. E. A., KÖHLER, K., LITZKE, L.-F., SCHÖNIAN, G., FROHME, M. & KUHL, K. 2014. **Leishmania siamensis als Erreger von autochtoner kutaner Leishmaniose bei Pferden in Deutschland - Eine neue Infektionskrankheit in Mitteleuropa? :** Technische Hochschule Wildau [FH].
- SOLDAN, S. & GONZÁLEZ-SCARANO, F. 2014. **Neurovirology,** Handbook of Clinical Neurology.
- STARK, K., NIEDRIG, M., BIEDERBICK, W., MERKERT, H. & HACKER, J. 2009. **Die Auswirkungen des Klimawandels.** Bundesgesundheitsblatt-Gesundheitsforschung-Gesundheitsschutz, 52, 699-714.
- STEINHAUSEN, I. 2005. **Untersuchung zur Verbreitung von Sandmücken (Phlebotomen) in Deutschland mit Hilfe geographischer Informationssysteme (GIS).** Diplombiologin Diplomarbeit, Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn.
- SWANEPOEL, R., STRUTHERS, J., ERASMUS, M., SHEPHERD, S., MCGILLIVRAY, G., SHEPHERD, A., HUMMITZSCH, D., ERASMUS, B. & BARNARD, B. 1986. **Comparative pathogenicity und**

- antigenic cross-reactivity of Rift Valley fever und other African phleboviruses in sheep.** *Epidemiology & Infection*, 97, 331-346.
- TARIVERDIAN, N. 2021. **Leishmaniose - Eine unterschätzte Tropenkrankheit. Klinik für Allgemeine Pädiatrie, Neonatologie und Kinder-kardiologie, Universitätsklinikum Düsseldorf 40225 Düsseldorf, 41, 46-49.**
- TAVARES, D. D. S., SALGADO, V. R., MIRANDA, J. C., MESQUITA, P. R. R., RODRIGUES, F. D. M., BARRAL-NETTO, M., DE ANDRADE, J. B. & BARRAL, A. 2018. **Attraction of phlebotomine sandflies to volatiles from skin odors of individuals residing in an endemic area of tegumentary leishmaniasis.** *PloS one*, 13, e0203989-e0203989.
- THE LANCET INFECTIOUS DISEASES 2017. **Climate change: the role of the infectious disease community.**
- THEODOR, O. 1948. **Classification of the Old World species of the subfamily Phlebotominae (Diptera, Psychodidae).** *Bulletin of Entomological Research*, 39, 85-115.
- THEODOR, O. 1958. **Psychodidea-Phlebotominae.** In: E. Lindner, *Die Fliegen der palaearktischen Region.*, Stuttgart E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung (Nägele und Obermiller).
- THESKINVET. 2022. **Leishmaniosis Fact Sheet.** Available: <http://www.theskinvet.net/veterinary-surgeons/canine-leishmaniosis/> [Accessed 16.05.2022].
- TICHY, H. & KALLINA, W. 2010. **Insect hygrometric responses to continuous changes in humidity und air pressure.** *Journal of neurophysiology*, 103, 3274-3286.
- TORRES-GUERRERO, E., QUINTANILLA-CEDILLO, M. R., RUIZ-ESMENJAUD, J. & ARENAS, R. 2017. **Leishmaniasis: a review.** 6, 750-750.
- TRÁJER, A. J. & SEBESTYÉN, V. 2019. **The changing distribution of *Leishmania infantum* Nicolle, 1908 und its Mediterranean sandfly vectors in the last 140 kys.** *Scientific Reports*, 9, 11820.
- UMWELTAGENTUR, E. 2016. **Klimawandel in Europa ist offensichtlich und bestätigt dringende Notwendigkeit zur Anpassung.** Available: <https://www.eea.europa.eu/de/pressroom/newsreleases/der-klimawandel-in-europa-ist/download.pdf> [Accessed 2021].
- UMWELTBUNDESAMT. 2021. **Trends der Lufttemperatur.** Available: <https://www.umweltbundesamt.de/daten/klima/trends-der-lufttemperatur#mildere-herbste-und-winter>.
- VALESKY, E. M., THAÇI, D., MEISSNER, M., BEIER, C., WOLTER, M., SCHÖFER, H. & KAUFMANN, R. 2007. **Kutane Leishmaniose: Zwei Fallberichte mit aktueller Literaturübersicht.** *JDDG: Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft*, 5, no-no.
- VENTURI, G., MADEDDU, G., REZZA, G., CICCOCCHI, M., PETTINATO, M., CILLIANO, M., FIORENTINI, C., MURA, M. & CIUFOLINI, M. 2007. **Detection of Toscana virus central nervous system infections in Sardinia Island, Italy.** *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology*, 40, 90-1.
- VERANI, P., CIUFOLINI, M. G., CACIOLLI, S., RENZI, A., NICOLETTI, L., SABATINELLI, G., BARTOLOZZI, D., VOLPI, G., AMADUCCI, L. & COLUZZI, M. 1988. **Ecology of viruses isolated from sand flies in Italy und characterization of a new Phlebovirus (Arbia virus).** *The American journal of tropical medicine und hygiene*, 38, 433-439.
- VERONESI, E., PILANI, R., CARRIERI, M. & BELLINI, R. 2007. **Trapping sand flies (Diptera: Psychodidae) in the Emilia-Romagna region of northern Italy.** *Journal of Vector Ecology*, 32, 313-318.
- WALENTINY, C. 2012. **Klinik und Immundiagnostik importierter Denguefieber-Erkrankungen und der Einfluss von Flavivirusimpfungen.** *Imu*.
- WALLER, R. F. & MCCONVILLE, M. J. 2002. **Developmental changes in lysosome morphology und function *Leishmania* parasites.** *International journal for parasitology*, 32, 1435-1445.

- WALOCHNIK, J. & ASPÖCK, H. 2010. **Sandmücken, Leishmanien und Leishmaniosen–neue Dimensionen alter Krankheiten**, na.
- WARD, R. 1985. **Vector biology und control. Leishmaniasis.**(Human Parasitic Diseases Vol. 1.), 199-212.
- WEISE, M. 2004. **Reisetiermedizinisch und epidemiologisch wichtige Arten der kaninen Parasitenfauna in europäischen Anrainerstaaten des Mittelmeeres und in Portugal für Hunde in Deutschland.** Dissertation, Ludwig-Maximilians-Universität München
- WEITZEL, T., MÜHLBERGER, N., JELINEK, T., SCHUNK, M., EHRHARDT, S., BOGDAN, C., ARASTEH, K., SCHNEIDER, T., KERN, W. V., FÄTKENHEUER, G., BOECKEN, G., ZOLLER, T., PROBST, M., PETERS, M., WEINKE, T., GFRÖRER, S., KLINKER, H. & HOLTHOFF-STICH, M. L. 2005. **Imported leishmaniasis in Germany 2001-2004: data of the SIMPID surveillance network.** Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 24, 471-476.
- WELTKARTE. 2021. **Topographische Landkarte Deutschland** [Online]. Available: <http://www.weltkarte.com/europa/landkarten-und-stadtplaene-von-deutschland/landkarte-deutschland-topographische-karte.htm>, [Accessed 13Apr2021].
- WIEMER, D. 2019. **Harara- Makulopapulöses Exanthem.** Wehrmedizinische Monatsschrift 2019. Bonn: Beta Verlag & Marketinggesellschaft mbH.
- WILHELM, T. 2019. **Viszerale Leishmaniose.** Der Chirurg, 90, 833-837.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. 1990. **Control of Leishmaniasis.** Tech Rep Ser [Online], 793.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. 1998. **Leishmania und HIV in gridlock.** Available: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/64104> [Accessed 1998].
- WORLD HEALTH ORGANIZATION 2000. **WHO report on global surveillance of epidemic-prone infectious diseases.** Geneva: World Health Organization.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. 2007. **Leishmaniasis und HIV coinfection.** Available: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/331850/WHO-CDS-NTD-IDM-2007.5-eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y> [Accessed 12.05.2022].
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. 2010a. **Global tuberculosis control: WHO report 2010.** Available: <http://www.who.int/iris/handle/10665/44425> [Accessed 14.06.2020].
- WORLD HEALTH ORGANIZATION 2010b. **Report of a meeting of the WHO Expert Committee on the Control of Leishmaniasis, Geneva, Switzerland.** WHO Technical Report Series, 202.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION 2014. **Vector-borne diseases.** WHO Regional Office for South-East Asia.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION 2017a. **Integrating neglected tropical diseases into global health und development: fourth WHO report on neglected tropical diseases,** World Health Organization.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. 2017b. **Vernachlässigte Tropenkrankheiten: Rasch gemeinsam bekämpfen.** Available: <https://www.euro.who.int/de/health-topics/communicable-diseases/vector-borne-and-parasitic-diseases/news/news/2017/04/neglected-tropical-diseases-collaborate-accelerate-eliminate>.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. 2020. **Leishmaniasis.** Available: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis>.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. 2022. **Leishmaniasis in the European Region.** Available: https://www.euro.who.int/_data/assets/pdf_file/0007/246166/Fact-sheet-Leishmaniasis-Eng.pdf?ua=1 [Accessed 03.03.2022].
- YOUNG, D. G. & DURAN, M. A. 1994. **Guide to the identification und geographic distribution of Lutzomyia sand flies in Mexico, the West Indies, Central und South America (Diptera: Psychodidae).** Walter reed army inst of research washington DC.

- YOUNG, D. G. & PERKINS, P. V. 1984. **Phlebotomine sand flies of North America (Diptera: Psychodidae)**. Mosquito News, 44, 263-304.
- ZAHNÄRZTLICHE MITTEILUNGEN. 2015. **Leishmaniasis in Deutschland-Sandmücken im Anflug [Online]**. zm online-Zahnärztliche Mitteilungen. Available: <https://www.zm-online.de/archiv/2015/13/medizin/sandmuecken-im-anflug/seite/2/> [Accessed 07.04.2021].
- ZANET, S., SPOSIMO, P., TRISCIUOGLIO, A., GIANNINI, F., STRUMIA, F. & FERROGLIO, E. 2014. **Epidemiology of *Leishmania infantum*, *Toxoplasma gondii*, und *Neospora caninum* in *Rattus rattus* in absence of domestic reservoir und definitive hosts**. Veterinary parasitology, 199, 247-249.
- ZARROUK, A., KAHIME, K., BOUSSAA, S. & BELQAT, B. 2016. **Ecological und epidemiological status of species of the *Phlebotomus perniciosus* complex (Diptera: Psychodidae, Phlebotominae) in Morocco**. Parasitology Research, 115, 1045-1051.

7 Eigenanteil an Datenerhebung und -Auswertung und eigene Veröffentlichungen

Diese Arbeit wurde im Rahmen des von der Klaus Tschira Stiftung gGmbH geförderten Projektes „Untersuchungen zur Abundanz, Phänologie und Verbreitung von Sandmücken (Phlebotominae) als potenzielle Vektoren für humanpathogene Krankheitserreger in Südwestdeutschland“ am Institut für Global Health der Medizinischen Fakultät der Universität Heidelberg, mit Kooperation des Bernhard-Nocht-Instituts in Hamburg und des Instituts für Dipterologie in Speyer unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. med. M. Marx durchgeführt.

Die Arbeit wurde teilweise im Labor unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. J. Schmidt-Chanasit und Herrn Dr. R. Lühken (Abteilung Arbovirus-Ökologie) am Bernhard-Nocht-Institut für Tropenmedizin Hamburg, sowie der Leitung von Herrn PD Dr. N. Becker im Labor des Instituts für Dipterologie in Speyer durchgeführt. Die Ideen für das Thema und die Entwicklung des Konzeptes wurden durch Herrn Prof. Dr. J. Schmidt-Chanasit, und meiner Teilnahme an einer Exkursion im Jahre 2015 im Markgräflerland unter der Leitung von Herrn Dr. T. J. Naucke ins Leben gerufen. Die Literaturrecherche, sowie die Durchführung der Methodik und des Versuchsdesigns habe ich eigenständig erbracht unter Rücksprache mit den Kollegen des BNITM Hamburg, Herrn Dr. T. J. Naucke, Herrn Dr. N. Becker und Frau Dr. H. Jöst.

Die Datenerhebung, bezogen auf die Sandmücken Fänge in Baden-Württemberg und Rheinland-Pfalz in den Jahren 2015–2018, sowie die Nachbereitung der Proben während dieser Arbeit habe ich durchwegs eigenständig durchgeführt. Anzumerken ist, dass ich für kleine Teile der untersuchten Standorte in Baden-Württemberg und Rheinland-Pfalz (sylvatische Gebiete) eigenständig Unterstützung entsprechender Ansprechpartner organisiert habe. Dank Herrn E. Knust (†), Gründungsmitglied und Vorsitzender der Höhlenforschergruppe Karlsruhe, war es mir möglich im Jahr 2017 eine eigene Exkursion zu planen, um sylvatische Gebiete für die Untersuchungen in der Region Pfalz ausfindig zu machen. Des Weiteren wurde ich bei der Beprobung dieser Gebiete durch Herrn J. Pelzel unterstützt. In Baden-Württemberg habe ich in den Jahren 2017 und 2018, Unterstützung durch Herrn U. Sanio im Auffinden von sylvatischen Gebieten und deren Beprobungen hinzugezogen. Des Weiteren habe ich Erkundungen und Informationen, sowie

Genehmigungen bei kommunalen Ämtern, Forstämtern, Landesverband für Höhlen- und Karstforschung, Landratsämtern, Bundestierärztekammern und eingeholt.

Die Laboruntersuchungen hinsichtlich der Morphologie wurden nach einer Einführung durch Herrn Dr. A. Krüger im Bernhard-Nocht-Institut vollständig von mir durchgeführt. Des Weiteren konnten morphologische Betrachtungen zusammen mit Herrn Dr. T. J. Naucke eruiert werden.

Die molekularbiologischen Untersuchungen fanden in Kooperation mit dem Bernhard-Nocht-Institut, der Abteilung für Arbovirologie und Entomologie statt. Nach einer Einführung habe ich sämtliche Laboruntersuchungen eigenständig durchgeführt. Die Auswertung der Bodenproben erfolgte in freundlicher Kooperation und Unterstützung von Herrn M. Karl des Analysenlabor Terrachem GmbH. Die Darstellung der geografischen Datenerhebung und Datenauswertung erfolgte mit freundlicher Kooperation von Herrn Dr. R. Lühken und Herrn K. Hoffmann. Die Auswertung der Daten bezüglich der molekularen Identifizierung sowie der Untersuchungen auf Pathogene erfolgte durch mich mit beratender Unterstützung durch Herrn R. Lühken und ist ein zentrales Ergebnis dieser Dissertation.

Eine ethische Genehmigung war für dieses Projekt nicht erforderlich.

Andere Mitwirkende sind in dem jeweiligen Originalartikel, die dieser Arbeit beigelegt sind, als Koautoren genannt. Die für die Promotion relevante (ISI-) Veröffentlichungen wurden von mir sowie in Kollaboration angefertigt und in der Fachzeitschrift *Parasites & Vectors* veröffentlicht.

Im Rahmen dieser Dissertation ist folgende Publikation hervorgegangen:

1. Oerther, S., Jöst, H., Heitmann, A., Lühken, R., Krüger, A., Steinhausen, I., Brinker, C., Lorentz, S., Marx, M., Schmidt-Chanasit, J., Naucke, T.J., & Becker, N. (2020). **Phlebotomine sand flies in Southwest Germany: an update with records in new locations.** *Parasites & Vectors*, 13:173. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13071-020-04058-6>

Publikation 1 basiert auf den Ergebnissen aus allen Dissertationskapiteln. Mein Eigenanteil an der Publikation erstreckt sich auf die Erhebung der vollständigen Daten. Die Auswertung der Datenanalyse (gemeinsam mit Kooperation Herrn Dr. Renke Lühken und Frau Dr. Hanna Jöst) und das Schreiben des Manuskriptentwurfs, insbesondere der Einleitung, des Material- und Methodenteils und des Ergebnisteils, der meine Daten beschreibt, sowie die Diskussion der Ergebnisse erstreckt sich maßgeblich auf meine Beteiligung.

8 Anhang

8.1 Glossar

anthropophil	hämatophage Insekten, die menschliches Blut bevorzugen über tierischem Blut (zoophil)
Art	(auch Spezies) grundlegende Einheit der zoologischen Klassifizierung, von der alle Einteilungsstufen des Systems abgeleitet sind, potenzielle Fortpflanzungsgesellschaft
Arthropode	zählen Spinnentiere, Krebstiere, Tausendfüßler sowie die Insekten, deren größte Gruppe die Käfer sind
autochthon	(altgriechisch für „einheimisch, eingeboren, hier entstanden“) bezieht sich auf: autochthone Art
autogen	Überlebensmechanismus, der es Populationen von Mücken ermöglicht, ohne Blutmahlzeit Eier zu entwickeln
Ektoparasit	Parasit, der zeitweise oder dauernd außen an seinem Wirt lebt
endemisch	örtlich und nicht zeitlich begrenzt
endophil	bezeichnet bei Mücken die Eigenschaft, die in oder an Gebäuden ihre (bevorzugt dunkle) Ruheplätze aufsuchen
Epidemie	massenhaftes gleichzeitiges Auftreten von Infektionsfällen in einer Region
exophag	bezeichnet Mücken, die überwiegend im Freien stechen
exophil	bezeichnet bei Mücken die Eigenschaft, welche ihre Ruheplätze vor und nach der Blutmahlzeit außerhalb von Gebäuden aufsuchen
Humus	organische Bestandteile des Bodens, hier: Boden mit sehr hohem organischem Anteil
hämatophag	Aufnahme von Blut
Inkubationszeit	Zeitspanne zwischen Infektion und Ausbruch einer Krankheit
Läsion	Verletzung oder Störung der Funktion eines Organs oder Körperglieds
Leishmanien	Gattung von geißeltragenden Protozoen, die sich im Blut in Makrophagen vermehren, obligat als intrazelluläre einzellige

	Parasiten lebend mit einem Wirtswechsel zwischen Insekten und Wirbeltieren
Makrophagen	Fresszellen, große Zellen des Immunsystems höherer Organismen, die aktiv Erreger in sich aufnehmen, vorkommend in Milz, Leber, Lymphknoten und Blut
mediterran	am Mittelmeer gelegen
Mikroklima	spezielles Klima in einem Ökosystem atmosphärischer Bedingungen und unterscheidend von umliegenden Gebieten
Morphologie	die Lehre von der äußeren Gestalt und der Struktur von Organismen
Parasit	Organismus, der sich zeitweise oder dauernd von anderen Lebewesen (Wirt) ernährt oder diese zu Fortpflanzungszwecken befällt, schadet dabei oft dem Wirt
pathogen	Krankheiten verursachend, erregend
Pathogene	Mikroorganismen, Viren, Gifte und ionisierende Strahlung, die eine Erkrankung hervorrufen können. Es handelt sich dann um pathogene (Adjektiv) Erreger bzw.
Photophil	lichtliebende Mücken, sich an Stellen mit Licht aufhaltend
Protozoen	einzelliger, eukaryotischer Organismus mit meist heterotropher Ernährung
Reservoir	(auch Reservoir-Wirt) neben dem Hauptwirt als weiterer möglich dienender Wirt lebender Organismus, in dem sich Erreger halten, die von dort durch Ektoparasiten immer wieder auf den Hauptwirt übertragen werden
Serotyp	der durch Antigene bestimmbare Typ einer Art von Krankheitserregern
Sferics	atmosferics, atmosphärische Störung im Langwellenbereich (5 kHz – 10 kHz); kurze elektromagnetische Impulse deren Auslöser in meteorologischen Prozessen liegt; unklare biotrope Auswirkung (Biotropie) von elektromagnetischen Wellen auf einen Organismus
Vektor	Ektoparasit, der Erreger auf andere Organismen überträgt, die sich in ihm weiterentwickeln, ohne selbst zu erkranken
zoophil	diejenigen Mücken, die vornehmlich Tiere stechen

8.2 Informationsblatt

Kopie des im Jahr 2001 erstellten Informationsblatts, zur Information und Bereitstellung der Grundstückseigentümer, Gesundheitsämtern, Gemeindeverwaltungen, Arzt- und Tierarztpraxen, lokale Gesundheitsbehörden und Kommunen, sowie für die Anzeigen in lokalen Zeitungen (@Oerther Sandra, 2016).



Herausgeber:
Kommunale Aktionsgemeinschaft
zur Bekämpfung der Stechmückenplage e.V.
(KABS)
www.kabsev.de

Institut für Dipterologie (IfD)

Autoren & Layout:
Sandra Oerther

Fotos:
www.parasitosen.de
Dr. rer.nat. Torsten Naucke

**Sandmücken –
nur Lästlinge oder schon
Krankheitsüberträger?**

 UNIVERSITÄT
HEIDELBERG
ZUKUNFT
SEIT 1386



 Parasitus Ex e.V.

 IfD

 BNITM
Bernhard-Noch-Institut für Tropenmedizin

Sandmücken (Phlebotominae) in Deutschland

Allgemeines zu Sandmücken

Sandmücken werden ein zunehmendes Problem in Deutschland. Aufgrund der sich verändernden Klimaverhältnisse haben sich die Lebensbedingungen der Sandmücken in den letzten Jahren entwickelt und verbessert.

Bisher kommen sie eher im mediterranen Raum vor, wo sie Viren sowie auch Hautkrankheiten (insbesondere Leishmaniose) übertragen können. Häufig sind Hunde betroffen und nicht selten werden infizierte Hunde nach Deutschland eingeführt. Zur Krankheitsübertragung kann es kommen, wenn Erreger in Form von infizierten Hunden und Überträger (Vektoren = Sandmücken) in einem Gebiet auftreten. Seit Jahren kann man Sandmücken in Südwestdeutschland nachweisen.

In einer Doktorarbeit soll die Verbreitung (Vorkommen) der Sandmücken und mögliche Krankheitsübertragungen in Südwestdeutschland untersucht werden.

Ihre Mithilfe ist gefragt!

Wir bitten Sie um ihre Mithilfe und Unterstützung bei der Suche von noch unbekanntem Brutstätten. In Deutschland wurden bisher zwei Arten nachgewiesen: *Phlebotomus mascittii* und *Phlebotomus perniciosus*.

Die erstgenannte brütet bevorzugt in lehmgestampften Scheunen und Ställen, die windgeschützt sind, mit hoher Luftfeuchte und organischem Material.

Die zweite kommt weitflächiger vor und kann besonders über Krankheitsfälle infizierter Hunde (Leishmaniose bei Hunden, die nicht im Ausland waren) bestimmt werden.

Wir bitten Sie daher uns entweder Lokalitäten und Informationen naturbelassener Scheunen oder Vorkommen von mit Leishmaniose infizierten Hunden zu melden!

So können Sie mit uns in Kontakt treten:

Fr. cand. sc. hum. Sandra Oerther
Sandra.Oerther@gmail.com
Telefon +49 6343 3089002

PD Dr. habil. Norbert Becker
Institut für Dipterologie, (IfD) Speyer
NorbertFBecker@web.de

Die Daten werden ausschließlich für wissenschaftliche Zwecke verwendet und werden stets vertraulich behandelt. Wir freuen uns über jeden Helfer!

Vielen Dank für Ihre Mithilfe!

8.3 Tabellen

Tab. 8.3.1: Übersicht der Sandmückenfänge in Deutschland

Übersicht in der gefangenen *Ph. mascittii* (Weibchen (w), Männchen (m)) im Zeitraum der Jahre 2015–2018; *Standorte mit Datenlogger im Jahr 2018.

Nr.	Fundort	Datum	Anzahl Fallen	Koordinaten	<i>Ph. mascittii</i> (w/m)	Potenzieller Wirt	Beschreibung des Standorts
1	Neuenburg	12.08.2015	2	47,8088333° N 7,5625°E	1m	Hunde Katzen, Nagetiere	<ul style="list-style-type: none"> • Innerstädtische Scheune eines Bauernhofs mit Lehm Boden in der Nähe der menschlichen Behausung
2	Obereggenen1	12.08.2015 13.08.2015 14.08.2015 15.08.2015 16.08.2015 17.08.2015 19.08.2015 20.08.2015	3 3 3 3 3 3 3 3	47,75671°N 7,64579°E	1w 1m 2w 1w 2m 1w 1w 0 0	Katzen Nagetiere Eidechsen Fledermäuse	<ul style="list-style-type: none"> • Ungenutzte Scheune eines alten Bauernhofs in zwei Teilen, ehemaliger Kuhstall mit Lehm Boden und Lehmwänden, in der Nähe der menschlichen Behausung
3	Obereggenen2	12.08.2015 13.08.2015 14.08.2015 15.08.2015 16.08.2015 17.08.2015 19.08.2015 20.08.2015	2 2 2 2 2 2 2 2	47,75690°N 7,64497°E	2w 0 0 0 0 0 1m 0	Katzen Nagetiere Eidechsen	<ul style="list-style-type: none"> • Zweigeteilte Scheune mit teils gestampftem Boden und teils mit sehr lockerer und feinsandiger Struktur. Der vordere Teil der Hauptscheune direkt am Eingang besteht aus einer Betonbodenplatte. Ein Teil wurde umgebaut zur Arbeitswerkstatt
4	Vögisheim1	13.08.2015 14.08.2015 15.08.2015 16.08.2015 17.08.2015 19.08.2015 20.08.2015	2 3 2 2 2 2 2	47,79152°N 7,62189°E	0 0 1m 0 0 0 0	Katzen Nagetiere Eidechsen	<ul style="list-style-type: none"> • Scheune eines ehemaligen Bauernhofs die zur Lagerung von Maschinen und landwirtschaftlichen Geräten. Der Boden ist teils betoniert, teils naturbelassen mit Lehmanteilen
5	Vögisheim2	13.08.2015 14.08.2015 15.08.2015 16.08.2015 17.08.2015 19.08.2015 20.08.2015	2 2 2 2 3 3 3	47,79190°N 7,62096°E	0 0 0 0 0 1w 1m 0	Katzen Nagetiere Eidechsen Fledermäuse	<ul style="list-style-type: none"> • Sehr ordentliche Scheune eines ehemaligen Bauernhofs die zur Lagerung von Holz und zur Nutzung als Werkstatt dient • Der Boden ist festgestampft und teils lehmiger und betonierter Beschaffenheit
6	Hochstadt1	19.07.2017 04.08.2017 17.08.2017 31.08.2017	5 4 4 4	49,23919°N 8,20601°E	4w 3m 2w 0 0	Katzen Nagetiere Eidechsen	<ul style="list-style-type: none"> • Holzscheune mit Lehm Boden und teilweise Ziegel- und Lehmwänden • Lagerung von Maschinen und Arbeitsbank
7	Hochstadt2	17.08.2017 31.08.2017	2 2	49,23975°N 8,20592°E	1w 1m 1m	Hunde Katzen Nagetiere	<ul style="list-style-type: none"> • Scheune in der Nähe des Wohnhauses welches zur Lagerung von Holz, Geräten, Fahrrädern, altem Möbel und Sonstigem dient • Insgesamt war die Scheune sehr vollgestellt und schwer begehbar • Der Boden war im Eingangsbereich bis etwa zur Mitte betoniert. Am hinteren Teil der Scheune Richtung Wand festgestampfter Lehm, mit sandigen Anteilen und teilweise übersät mit Laub • Rissige Ziegelwände
8	Essingen	03.08.2017 17.08.2017	2 1	49,23466°N 8,17549°E	1m 0	Hunde Katzen	<ul style="list-style-type: none"> • Holzscheune eines Winzerbetriebs mit

						Nagetiere Hühner	Lehmboden in der Nähe freilaufender Hühner. Ungenutzte Scheune zur Lagerung von Maschinen
9	Gehrweiler1	01.08.2017	2	49,57579°N 7,77327°E	1w	Katzen Nagetiere Hühner	<ul style="list-style-type: none"> • Ungenutzte geschlossene Scheune mit Lehmboden in der Nähe des Wohnhauses zur Lagerung von Geräten. • Gemauerte Steinwände und Holzdurchgezogene Decken • Hinter der Scheune liegt ein Obst- und Gemüsegarten, auf der sich eine kleine Hütte befindet. Diese dient ebenso Lagerung von Landschaftsmaschinen. Der Boden größtenteils aus sandiger lockerer Beschaffenheit
10	Gehrweiler2	01.08.2017	2	49,57545°N 7,77388°E	3m	Katzen Nagetiere	<ul style="list-style-type: none"> • Ungenutzte Scheune mit Lehmboden und Steinmauern. Lagerung von Maschinen.
11	Nantsdietschweiler	02.08.2017	5	49,43933°N 7,43451°E	1w 1m	Katzen Nagetiere	<ul style="list-style-type: none"> • Zweiteilige Scheune mit Lehmboden in der Nähe von Wohnhäusern, größtenteils ungenutzt und Lager für ungenutzte Gegenstände
12	Bornheim	18.08.2017	1	49,19159°N 8,16263°E	1m	Katzen Nagetiere	<ul style="list-style-type: none"> • Zur Zeit des Auffindens der Scheune war sehr viel Unruhe in der Umgebung mit Umbaumaßnahmen • Lagerung von Holz, Sperrmüll und einer Werkbank • Der Boden der Hauptscheune war fester Lehmboden, im Kellerbereich der Scheune ausschließlich lockerer sandiger Naturboden. Die Wände waren gemauert aus Stein
13	Altdorf	25.08.2017	2	49,28648°N 8,21688°E	1m	Hund Katzen Nagetiere	<ul style="list-style-type: none"> • Große zweigeteilte Scheune verbunden zum Wohnhaus durch Hof. Teile davon ungenutzt und Lagerung von Maschinen und Geräten • Boden teils Lehm- und Beton
14	Böbingen	25.08.2017	2	49,28364°N 8,23447°E	1w	Hunde Katzen Nagetiere Pferde	<ul style="list-style-type: none"> • Die Scheune liegt in der Nähe eines Wohnhauses mit großem Hof. Hinter der Scheune ist ein Garten mit integriertem Pferdestall. • Lagerung von alten Gegenständen, Möbeln und Brennholz • Die Wände sind steingemauert und teilweise mit Holzbalken durchzogen. In der Scheune führt eine Holzleiter zur linken Seite in eine obere Etage, welche ebenso der Lagerung von diversen Gegenständen dient • Boden teils Lehm- und Beton
15	Freimersheim	18.08.2017 25.08.2017	3 3	49,26902°N 8,21955°E	1w 1w	Katzen Nagetiere Hühner Pferde Hunde	<ul style="list-style-type: none"> • Ungenutzte Scheune mit Lehmboden und Ziegelwänden in der Nähe menschlicher Behausung • Lagerung von alten Maschinen und Geräten
16	Hartheim	09.08.2017 15.08.2017	2 2	47,93787°N 7,62700°E	1m 0	Katzen Nagetiere	<ul style="list-style-type: none"> • Scheune mit festgestampftem Lehm und Wänden aus roten

							Backsteinen mit viel Löchern und Rissen. <ul style="list-style-type: none"> Lagerung von Maschinen und Anhängern.
17	Bremgarten	22.07.2017 09.08.2017 15.08.2017	4 3	47,91814°N 7,62168°E	1w 1m 5w 2m 2w	Katzen Nagetiere Hühner	<ul style="list-style-type: none"> Scheune zweigeteilt. Eine Seite mit Teilen von Lehm Boden, der zweite Teil betoniert. Steinwände. Scheune in der Nähe des Wohnhauses. Lagerung von Geräten und Diversem.
18	Eschbach1	09.08.2017	2	47,88854°N 7,65922°E	1w	Katzen Nagetiere	<ul style="list-style-type: none"> Innerdörflicher alter Holzschuppen, der nur noch zur Gerätelagerung dient. Der Boden besteht aus festem Lehm.
19	Obereggenen1	20.07.2017 21.07.2017 13.08.2017 15.08.2017	4 3 3 3	47,75671°N 7,64579°E	3w 3m 1w 2m 2w 1m	Katzen Nagetiere Eidechsen	
20	Obereggenen2	20.07.2017 21.07.2017 13.08.2017	2 2 2	47,75690°N 7,64497°E	0 1w 0	Katzen Nagetiere Eidechsen	
21	Obereggenen3	15.08.2017	2	47,75772°N 7,64606°E	1w	Nagetiere Katzen Fledermäuse	<ul style="list-style-type: none"> Geschlossene Scheune mit sehr verlassenen Eindruck direkt gegenüber dem Wohnhaus und aufgeteilt in zwei Teile Lagerung von Landschaftsgeräten und Heu Die Hauptscheune hat festgestampften Lehm Boden, die Wände sind grob gemauert mit vielen Rissen. Der zweite ist ein ehemaliger Stall mit betoniertem Boden
22	Vögisheim1	20.07.2017 13.08.2017	1 1	47,79152°N 7,62189°E	1w 0	Katzen Nagetiere Eidechsen Fledermäuse	
23	Hochstadt1*	30.06.2018 19.07.2018 20.07.2018 28.07.2018 17.08.2018 08.09.2018 01.09.201 25.08.2018 21.09.2018	2 2 2 2 2 2 2 2 2	49,23919°N 8,20601°E	0 2w 6w 1m 0 1m 0 0 0 0	Katzen Nagetiere Eidechsen	
24	Hochstadt2	19.07.18 20.07.18 28.07.2018 17.08.2018 08.09.2018 01.09.2018 25.08.2018 20.09.2018 21.09.2018	2 2 2 2 2 2 2 2 2	49,23975°N 8,20592°E	0 1m 0 1m 0 0 0 0 0	Hunde Katzen Nagetiere	
25	Essingen*	15.07.18 24.07.2018 05.08.2018 01.09.2018	2 2 1 1	49,23466°N 8,17549°E	0 1m 1m 0	Hunde Katzen Nagetiere Hühner	
26	Gehrweiler2*	16.08.2018	2	49,57545°N 7,77388°E	1f	Hunde Katzen Nagetiere Hühner	
27	Altdorf*	15.07.2018 24.07.2018 03.08.2018 17.08.2018 08.09.2018	3 2 3 2 2	49,28648°N 8,21688°E	0 2w 1m 2w 1m 1w 1m 0	Katzen, Nagetiere	

		01.09.2018	2		0		
		20.09.2018	2		0		
28	Böbingen*	15.07.2018	2	49,28364°N 8,23447°E	0	Hunde Katzen Nagetiere Pferde	
		24.07.2018	2		1w		
		03.08.2018	2		0		
		08.09.2018	2		0		
		01.09.2018	2		0		
		20.09.2018	2		0		
29	Freimersheim*	15.07.2018	3	49,26902°N 8,21955°E	1w 2m	Hunde Katzen Nagetiere Pferde	
		24.07.2018	3		1w		
		28.07.2018	3		2m		
		05.08.2018	3		1w		
		17.08.2018	3		0		
		08.09.2018	2		0		
		01.09.2018	2		0		
		20.09.2018	2		0		
		21.09.2018	2		0		
		30	Kapellen- Drusweiler		14.07.2018		
31.07.2018	3			0			
31	Eschbach1	10.08.2018	2	47,88854°N 7,65922°E	1 m	Katzen Nagetiere Hunde Hühner	
32	Hartheim *	03.07.2018	2	47,93787°N 7,62700°E	0	Katzen, Nagetiere	
		28.07.2018	1		1w		
		10.08.2018	1		0		
33	Bremgarten*	03.07.2018	4	47,91814°N 7,62168°E	7w 6m	Katzen, Nagetiere	
		28.07.2018	3		5w		
		10.08.2018	3		2w		
34	Obereggenen1*	03.07.2018	3	47,75671°N 7,64579°E	0	Hühner Katzen Nagetiere Eidechsen	
		27.07.2018	3		2w 2m		
		08.08.2018	2		2w 1m		
		12.08.2018	2		1w		
		13.09.2018	2		0		
35	Obereggenen2*	03.07.2018	2	47,75690°N 7,64497°E	1m	Katzen Nagetiere Eidechsen	
		27.07.2018	2		3w		
		08.08.2018	1		2w		
		12.08.2018	1		2w		
		13.09.2018	1		0		
36	Obereggenen3	27.07.2018	2	47,75772°N 7,64606°E	2w 1m	Nagetiere Katzen Igel Feldmäuse Fledermäuse	
		08.08.2018	2		1w 1m		
		09.08.2018	2		1m		
		12.08.2018	2		0		
37	Isteiner Klotz	28.07.2018	3	47,66134°N 7,53010°	3w 1m	Katzen Nagetiere Eidechsen	<ul style="list-style-type: none"> kleiner offener Höhlenabschnitt mit Nischen in einem Felsvorsprung in einem Waldgebiet; nationales Kalkstein-Geotop
		12.08.2018	3		1w 1m		
	gesamt				149 (92w 57m)		

Tab. 8.3.2: Übersicht der negativen Standorte

Nr.	Ort	Jahr	Koordinaten	Bodenarten im Studiengebiet
1	Rheinzabern	2016	49,11941°N 8,27792°E	Bodenart: lehmiger Sand
2	Rheinzabern	2016	49,11947°N 8,27719°E	
3	Rheinzabern	2016	49,11902°N 8,27753°E	
4	Herxheimweyer	2016	49,15136°N 8,25411°E	
5	Herxheimweyer	2016	49,15250°N 8,25001°E	
6	Kapellen-Drusweiler	2016	49,10541°N 8,03373°E	
7	Münchweiler	2016, 2017	49,14836°N 7,97006°E	Bodenart: lehmiger Sand, Umgebung Wald
8	Klingenmünster	2016	49,14054°N 8,01788°E	
9	Böchingen	2016	49,23726°N 8,09058°E	
10	Herxheim	2016	49,13930°N 8,23238°E	
11	Herxheim	2016	49,15312°N 8,21471°E	Boderart: Lehm, sandiger Lehm
12	Deutschhof	2016	49,08501°N 8,01927°E	
13	Kaplaneihof	2016	49,08461°N 8,01985°E	
14	Dierbach	2016, 2017, 2018	49,08052°N 8,07155°E	Boderart: Lehm, sandiger Lehm
15	Freckenfeld	2016	49,06538°N 8,11017°E	
16	Offenbach	2016	49,19869°N 8,19027°E	
17	Ötlingen	2016	47,62333°N 7,62653°E	
18	Mauchen	2016	47,76396°N 7,59969°E	
19	Gennenbach	2016	47,76794°N 7,62726°E	
20	Tannenkirch	2016	47,71065°N 7,60704°E	Parabraunerde-Pararendzina aus stellenweisem umgelagertem Löss, Feuchte frisch
21	Niedereggenen	2016	47,75444°N 7,62599°E	
22	Bremgarten	2016	46,97759°N 7,43808°E	
23	Schallbach	2016	47,65742°N 7,62657°E	
24	Mappach	2016	47,68226°N 7,59916°E	
25	Hochstadt	2017	49,23949°N 8,20592°E	
26	Hatzenbühl	2017, 2018	49,11142°N 8,24660°E	Bodenart: lehmiger Sand
27	Hatzenbühl	2017	49,11129°N 8,24608°E	
28	Hatzenbühl	2017, 2018	49,11140°N 8,24578°E	
29	Hatzenbühl	2017	49,11238°N 8,24972°E	
30	Hatzenbühl	2017	49,11129°N 8,24604°E	
31	Bienwaldmühle	2017	49,00012°N 8,07008°E	Bodenart: stark lehmiger Sand
32	Schweighofen	2017	49,03955°N 7,99536°E	
33	Edenkoben	2017	49,28063°N 8,13195°E	Bodenart: Lehm, sandiger Lehm Bodengruppe: Löß, Lößlehm, Kalkstein
34	Böllenborn	2017	49,09796°N 7,93604°E	Bodenart: lehmiger Sand, drumherum Waldgebiet
35	Böllenborn	2017	49,09796°N 7,93604°E	
36	Meckenheim	2017	49,40324°N 8,24092°E	Bodenart: sandiger Lehm
37	Klingenmünster	2017, 2018	49,14054°N 8,01788°E	
38	Hergersweiler	2017	49,09613°N 8,08755°E	
39	Hergersweiler	2017	49,09614°N 8,08780°E	Bodenart: stark lehmiger Sand
40	Böchingen	2017	49,23615°N 8,09107°E	Bodenart: sandiger Lehm. Bodengruppe: Lößlehm
41	Böchingen	2017	49,23742°N 8,09182°E	

42	Herxheimweyer	2017	49,15243°N 8,25491°E	Bodenart: Lehm, sandiger Lehm
43	Herxheimweyer	2017	49,15199°N 8,25374°E	
44	Essingen	2017	49,23549°N 8,16666°E	
45	Essingen	2017	49,23538°N 8,16597°E	
46	Steinweiler	2017, 2018	49,12275°N 8,14263°E	Bodenart: Lehm
47	Barbelroth	2017	49,10186°N 8,07166°E	
48	Rohrbach	2017	49,13748°N 8,12714°E	
49	Gehrweiler	2017, 2018	49,57300°N 7,77256°E	
50	Gehrweiler	2017	49,57756°N 7,77376°E	
51	Gehrweiler	2017	49,57706°N 7,77416°E	
52	Elschbacher Hof	2017	49,44121°N 7,40085°E	
53	Gundersweiler	2017	49,59242°N 7,78472°E	
54	Knöringen Erdkeller	2017	49,23587°N 8,14365°E	Bodenart: Lehm. Bodengruppe: Lösslehm
55	Queichhambach Stollen	2017	49,21479°N 7,99108°E	Bodenart: Ton, Lehm
56	Bad Bergzabern	2017	49,09780°N 8,00447°E	
57	Steinfeld	2017	49,04860°N 8,03819°E	Bodenart: Lehm
58	Wilgartswiesen	2017	49,20899°N 7,87714°E	
59	Großfischlingen	2017	49,26941°N 8,17527°E	
60	Bornheim	2017, 2018	49,22166°N 8,16799°E	Bodenart: Lehm. Bodengruppe: Lösslehm
61	Bornheim	2017	49,22206°N 8,17114°E	
62	Ottersheim	2017, 2018	49,19167°N 8,23152°E	Bodenart: lehm
63	Ottersheim	2017	49,19207°N 8,23392°E	
64	Ottersheim	2017	49,19173°N 8,23104°E	
65	Ottersheim	2017, 2018	49,19183°N 8,23149°E	
66	Ottersheim	2017, 2018	49,19186°N 8,23166°E	
67	Weingarten	2017	49,25868°N 8,28540°E	
68	Heuchelheim	2017	49,10069°N 8,07113°E	
69	Gommersheim	2017	49,29120°N 8,26901°E	
70	Kleinfischlingen	2017	49,26374°N 8,18542°E	Bodenart: Lehm. Bodengruppe: Lösslehm
71	Kleinfischlingen	2017	49,26283°N 8,18874°E	
72	Kleinfischlingen	2017	49,26276°N 8,18795°E	
73	Kleinfischlingen	2017	49,26246°N 8,18744°E	
74	Freimersheim	2017	49,27031°N 8,22748°E	
75	Freimersheim	2017	49,27000°N 8,22669°E	
76	Insheim	2017, 2018	49,15543°N 8,14566°E	
77	Zeiskam	2017	49,233732°N 8,245726°E	Bodenart: sandiger Lehm
78	Baden-Baden	2017	48,74221°N 8,26803°E	
79	Baden-Baden	2017	48,74150°N 8,26889°E	
80	Baden-Baden	2017	48,74150°N 8,26889°E	
81	Isteiner Klotz	2017	47,66134°N 7,53010°E	
82	Rheinweiler	2017	47,69410°N 7,52629°E	
83	Bamlach	2017	47,71667°N 7,55000°E	
84	Mappach	2017	47,68226°N 7,59916°E	Braunerde aus Löss
85	Mappach	2017	47,68226°N 7,59916°E	
86	Mappach	2017	47,68005°N 7,59786°E	

87	Hochstetten	2017	48,01842°N 7,61139°E	
88	Eschbach	2017	47,89204°N 7,65161°E	
89	Schallbach	2017	47,65742°N 7,62657°E	Parabraunerde-Pararendzina aus stellenweisem umgelagertem Löss, Feuchte frisch
90	Schallbach	2017	47,65541°N 7,62697°E	
91	Wittlingen	2017	47,65570°N 7,64833°E	
92	Sitzenkirch	2017	47,73744°N 7,67074°E	
93	Welmingen	2017	47,68939°N 7,55949°E	
94	Huttingen	2017	47,67159°N 7,54758°E	Parabraunerde-Pararendzina aus stellenweisem umgelagertem Löss, mäßig frisch bis frisch
95	Littenweiler	2017	47,97616°N 7,89746°E	
96	Obereggenen	2017	47,75775°N 7,64552°E	
97	Obereggenen	2017	47,75810°N 7,69218°E	
98	Vögisheim	2017, 2018	47,79190°N 7,62096°E	
99	Mauchen	2017	47,76396°N 7,59969°E	stellenweise umgelagertem Löss, Kalkhaltiger Auengley-Brauner Auenboden aus Auenlehm, Feuchte frisch
100	Holzen	2017	47,69546°N 7,62840°E	
101	Riedlingen	2017	47,71460°N 7,63613°E	
102	Neuenburg	2017	47,81044°N 7,56467°E	Auensediment über holozänen Rheinschottern, Feuchte mäßig trocken bis mäßig frisch
103	Egringen	2017	47,66290°N 7,59563°E	
104	Egringen	2017	47,66565°N 7,59795°E	
105	Kapellen-Drusweiler	2018	49,10261°N 8,03369°E	Bodenart: Lehm
106	Impflingen	2018	49,15937°N 8,11184°E	Bodengruppe: Böden aus Löß (Pleistozän), Kolluvien aus äolischen Sedimenten des Pleistozäns
107	Schallbach	2018	47,65668°N 7,62736°E	
108	Grißheim, Rheinstr. 67/71	2016, 2018	47,86981°N 7,58976°E	

Tab. 8.3.3: Ergebnisse der Bodenprobenanalyse

	Lämmlin		Bremgarten		Böchingen		Hochstadt - Mitte		Hochstadt 2		Hochstadt T/W	
	Formel	Konzentration %	Formel	Konzentration %	Formel	Konzentration %	Formel	Konzentration %	Formel	Konzentration %	Formel	Konzentration %
Na2O		1.16	Na2O	0.95	Na2O	0.86	Na2O	0.83	Na2O	0.79	Na2O	0.83
MgO		1.83	MgO	1.35	MgO	1.49	MgO	1.62	MgO	1.10	MgO	1.34
Al2O3		12.21	Al2O3	6.48	Al2O3	10.20	Al2O3	10.20	Al2O3	7.66	Al2O3	9.14
SiO2		49.34	SiO2	48.64	SiO2	60.71	SiO2	57.00	SiO2	67.06	SiO2	63.63
P2O5		0.83	P2O5	1.59	P2O5	0.56	P2O5	1.01	P2O5	0.45	P2O5	0.48
SO3		1.16	SO3	1.45	SO3	0.35	SO3	1.43	SO3	0.44	SO3	0.98
Cl		0.64	Cl	0.72	Cl	0.20	Cl	0.76	Cl	0.07	Cl	0.04
K2O		5.47	K2O	2.69	K2O	2.38	K2O	2.61	K2O	2.30	K2O	2.40
CaO		6.93	CaO	13.05	CaO	6.02	CaO	6.07	CaO	5.69	CaO	5.67
TiO2		0.41	TiO2	0.31	TiO2	0.58	TiO2	0.60	TiO2	0.35	TiO2	0.48
V2O5		0.01					V2O5	0.02			V2O5	0.01
Cr2O3		0.00	Cr2O3	0.01	Cr2O3	0.01	Cr2O3	0.01	Cr2O3	0.01	Cr2O3	0.01
MnO		0.07	MnO	0.06	MnO	0.11	MnO	0.11	MnO	0.06	MnO	0.08
Fe2O3		2.81	Fe2O3	2.99	Fe2O3	4.11	Fe2O3	4.53	Fe2O3	3.51	Fe2O3	3.47
NiO		0.01	NiO	0.01	NiO	0.01	NiO	0.01	NiO	0.01	NiO	0.01
CuO		0.01	CuO	0.01	CuO	0.01	CuO	0.01	CuO	0.01	CuO	0.01
ZnO		0.03	ZnO	0.05	ZnO	0.03	ZnO	0.02	ZnO	0.05	ZnO	0.02
Br		0.00	Br	0.00			Br	0.00			Br	0.00
Rb2O		0.03	Rb2O	0.01	Rb2O	0.01	Rb2O	0.01	Rb2O	0.01	Rb2O	0.01
SrO		0.02	SrO	0.03	SrO	0.02	SrO	0.02	SrO	0.02	SrO	0.02
ZrO2		0.03	ZrO2	0.03	ZrO2	0.05	ZrO2	0.05	ZrO2	0.04	ZrO2	0.04
BaO		0.29	BaO	0.04	BaO	0.05	BaO	0.06	BaO	0.06	BaO	0.05
PbO		0.01			PbO	0.01	PbO	0.05	PbO	0.01	PbO	0.01
Summe		83.29	Summe	80.48	Summe	87.76	Summe	87.03	Summe	89.68	Summe	88.72

Proben Nr.:	Lämmlin		Bremgarten		Böchingen		Hochstadt Mitte		Hochstadt 2		Hochstadt T/W	
Tiegel Nr.:	7	7	I	I	VI	VI	T	T	14	14	II	II
Gewicht T:	21326	21326	21107	21107	21302	21302	21243	21243	21110	21110	21306	21306
Gew. T+Pr (1)	28953	28953	29341	29341	30383	30383	29380	29380	30261	30261	30328	30328
Gew. T+Pr (2)	27762	27547	27811	27324	29642	29344	28365	28126	29758	29466	29690	29411
DIFFERENZ 1	7627	7627	8234	8234	9081	9081	8137	8137	9151	9151	9022	9022
T/Zeit Min	500°/2h	1050°/1h	500°/2h	1050°/1h	500°/2h	1050°/1h	500°/2h	1050°/1h	500°/2h	1050°/1h	500°/2h	1050°/1h
DIFFERENZ 2	1191	1406	1530	2017	741	1039	1015	1254	503	795	638	917
GV (Glühverlust) %	15.62	18.43	18.58	24.50	8.16	11.44	12.47	15.41	5.50	8.69	7.07	10.16

Der Kalkanteil (CaCO₃) liegt im den Proben Lämmlin, Böchingen und den drei Hochstadt-Proben zwischen 5 und 10 %, in der Probe von Bremgarten zwischen 13 und 25 %

CO ₂ aus CaCO ₃ über GV 1050°	2.82	5.91	3.28	2.94	3.19	3.09
CaCO ₃ aus GV	6.4	13.5	7.5	6.7	7.3	7.0
CaO aus RFA	6.93	13.05	6.02	6.07	5.69	5.67
CaCO ₃ aus gesamt CaO	12.4	23.3	10.7	10.8	10.2	10.1

*GV bei 500 °: Leicht flüchtiger Anteil, z.B organisches Material, Hydroxide, Wasser; GV bei 1050 °: Karbonat wird zerstört, GV (Differenz zu 500°) ist CO₂ aus CaCO₃.

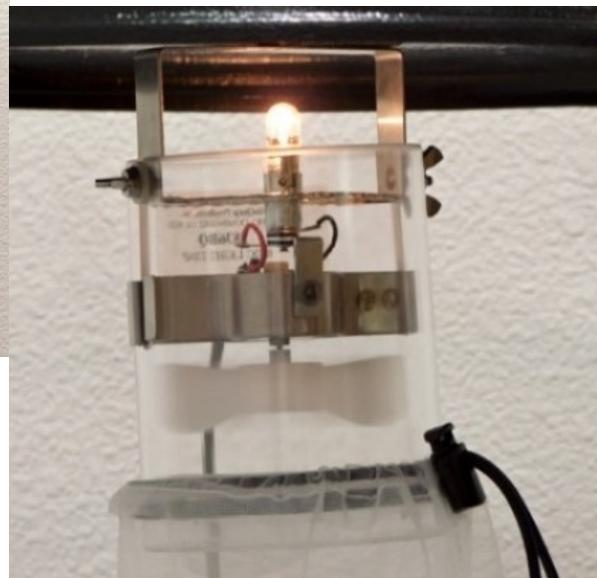
8.4 Abbildung einer CDC-Miniatur-Lichtfalle



Katalog #2836BQ: CDC-Light-Trap komplett; © www.bioquip.com



Katalog #2836BQ: CDC-Lichtfalle mit Glühlampen-Komponenten; © www.bioquip.com



Katalog #2836BQ: CDC-Light-Trap © www.bioquip.com



Katalog #2836L: 4W6V 2836 Ersatzbirne; © www.bioquip.com

8.5 Protokoll zur MagMAX CORE Nukleinsäure-Aufreinigung

MagMAX CORE Nucleic Acid Purification

Switch on MagMAX CORE and navigate with the arrows right (→) to “MagMAX_Pathogen_high volume”. Navigate down (↓) to “RNA” and confirm with “OK”. Select “Core No Heat” and start procedure with “Start”. Prepare and insert all necessary plates into the instrument’s slides as it is shown on the display (press “Start” to go through the slides):

Equipping the MagMAX CORE

(1) Prepare the tip comb plate

Place an MME-96 Deep Well Tip Comb in one MME-96 Standard Plate

(2) Elution Plate

Prepare the elution plate, by adding 90 µL of Elution Buffer to one MME-96 Standard Plate (not the tip comb plate).

(3) Wash Plate 2

Prepare the Wash Solution 2 plate, by adding 500 µL of prepared Wash Solution 1 into one MME-96 Deep Well Plate.

(4) Wash Plate 1

Prepare the Wash Solution 1 plate, by adding 500 µL of prepared Wash Solution 1 into one MME-96 Deep Well Plate.

(5) Sample Plate

- i. Prepare one MME-96 Deep Well Plate with Proteinase K and beads in a ratio of 1:2 (total volume 30 µL). **Vortex the magnetic beads carefully before usage!**

Note: Prepare a reaction tube with the required volume of both, Proteinase K and magnetic beads and take volume loss into account (appx. 10%):

$$(96 \text{ wells} \times 10 \mu\text{L Proteinase K} + 10\%) + (96 \text{ wells} \times 20 \mu\text{L magnetic beads} + 10\%) \\ = 1056 \mu\text{L Proteinase K} + 2112 \mu\text{L magnetic beads.}$$

Subsequently pipette 30 µL of the solution in each well of the MME-96 Deep Well Plate.

- ii. Add 200 µL of prepared sample to the MME-96 Deep Well Plate.

Note: Consider no template controls while pipetting the samples!

- iii. Prepare the Lysis-Binding-Solution, by adding 700 µL Lysis-Solution and 700 µL Binding Solution to the MME-96 Deep Well Plate

**The steps i. – iii. do not respect a strict order*

Start the RNA extraction by pressing “Start”. As soon as the process is completed, seal the Elution Plate with a plastic foil. Freeze the Elution Plate at -20°C until usage.

MagMAX CORE Nukleinsäure-Aufreinigung

Schalten Sie MagMAX CORE ein und navigieren Sie mit den Pfeilen rechts (→) zu "MagMAX_Pathogen_high Volumen". Navigieren Sie nach unten (↓) zu "RNA" und bestätigen Sie mit "OK". Wählen Sie "Core No Heat" und starten Vorgang mit "Start". Bereiten Sie alle erforderlichen Platten vor und setzen Sie sie so in die Objektträger des Geräts ein, wie es (Drücken Sie "Start", um die Objektträger zu durchlaufen):

Bestückung des MagMAX CORE

(1) Bereiten Sie die Spitzenkammplatte vor

Setzen Sie einen MME-96 Deep Well Tip Comb in eine MME-96 Standardplatte ein.

(2) Elutionsplatte

Bereiten Sie die Elutionsplatte vor, indem Sie 90 µl Elutionspuffer in eine MME-96 Standardplatte (nicht die Spitzenkammplatte).

(3) Waschplatte 2

Bereiten Sie die Platte für Waschlösung 2 vor, indem Sie 500 µl der vorbereiteten Waschlösung 1 in eine MME-96 Deep Well Platte.

(4) Waschplatte 1

Bereiten Sie die Platte mit der Waschlösung 1 vor, indem Sie 500 µl der vorbereiteten Waschlösung 1 in eine MME-96 Deep-Well-Platte.

(5) Probenteller

i. Eine MME-96 Deep-Well-Platte mit Proteinase K und Beads im Verhältnis 1:2 vorbereiten (Gesamt-Volumen 30 µL). **Vortexen Sie die Magnetbeads vor der Verwendung sorgfältig!**

Hinweis: Bereiten Sie ein Reaktionsgefäß mit dem erforderlichen Volumen von Proteinase K und magnetischen Beads vor und berücksichtigen Sie den Volumenverlust (ca. 10 %):

$(96 \text{ Vertiefungen} \times 10 \mu\text{L Proteinase K} + 10 \%) + (96 \text{ Vertiefungen} \times 20 \mu\text{L magnetische Beads} + 10 \%)$

$= 1056 \mu\text{L Proteinase K} + 2112 \mu\text{L magnetische Beads.}$

Anschließend 30 µL der Lösung in jede Vertiefung der MME-96 Deep Well Plate pipettieren.

ii. 200 µL der vorbereiteten Probe in die MME-96 Deep-Well-Platte geben.

Hinweis: Beim Pipettieren der Proben keine Template-Kontrollen berücksichtigen!

iii. Bereiten Sie die Lysis-Binding-Solution vor, indem Sie 700 µL Lysis-Solution und 700 µL Bindungslösung in die MME-96 Deep Well Plate geben.

*Die Schritte i. - iii. müssen nicht in einer strikten Reihenfolge durchgeführt werden.

Starten Sie die RNA-Extraktion durch Drücken von "Start". Sobald der Vorgang abgeschlossen ist, versiegeln Sie die Elutionsplatte mit einer Plastikfolie. Frieren Sie die Elutionsplatte bis zur Verwendung bei -20 ein.

Übersetzung des Original Protokoll MagMAX CORE Nucleic Acid Purification mit www.DeepL.com/Translator, Sandra Oerther, 16.08.2021

9 Lebenslauf

PERSONALIEN

Name und Vorname: Sandra Isabell Oerther
 Geburtsdatum: 31. 01. 1977
 Geburtsort: Landau i. d. Pfalz
 Staatsangehörigkeit: Deutsch

SCHULISCHER WERDEGANG

2000–2002 Fachhochschulreife Berufsbildende Schule,
 Landau i. d. Pfalz, Abendschule Teilzeit
 01/1995–12/1997 Ausbildung zur examinierten Krankenschwester,
 Städt. Klinikum, Karlsruhe

UNIVERSITÄRER WERDEGANG

WS 2015–2022 Kandidat Dr. sc. hum., Universität Heidelberg
 WS 2013–WS 2014 Master of Science (MSc) International Health,
 Universität Heidelberg
 SS 2001–SS 2005 Diplom Ingenieurin (MSc) Biotechnologie,
 Hochschule Mannheim

STIPENDIEN

2017–2021 Förderung durch die Klaus-Tschira Stiftung, Heidelberg

BERUFLICHER WERDEGANG

09/2015–aktuell Wissenschaftlicher Mitarbeiter, Gesellschaft zur
 Förderung der Stechmückenbekämpfung e. V. – Institut für
 Dipterologie (GFS-IfD), Speyer
 04/2015–08/2016 Senior Clinical Research Associate, Linical Europe GmbH,
 Deutschland
 09/2013–01/2020 Individualpflegeassistenz, AWO Weinheim und
 Familienentlastender Dienst (FED), Caritas-Förderzentrum
 St. Laurentius und Paulus, Landau
 03/2007–08/2012 Senior Clinical Research Associate, ICON Clinical Research
 GmbH, Langen
 01/1996–08/2001 Krankenschwester im Fachbereich Onkologie/Hämatologie,
 Städt. Klinikum, Karlsruhe

10 Danksagung

Ich möchte mich bei allen recht herzlich bedanken, die mit ihrer Unterstützung zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben. Insbesondere möchte ich Herrn Prof. Dr. Jonas Schmidt-Chanasit für die Bereitstellung und Idee des interessanten Themas, und für die anfängliche Unterstützung für die Erarbeitung dieser Studie danken. Herzlicher Dank geht an Herrn Prof. Dr. med. Michael Marx, für die Übernahme des Erstgutachtens und die Möglichkeit, das vorliegende Thema im Institut für Global Health anfertigen zu können. Herrn PD Dr. Norbert Becker, dem wissenschaftlichen Direktor des Instituts für Dipterologie, möchte ich vor allem Danken für seine Impulse und Motivation, welches mein Interesse für die Mückenwelt geweckt hat. Weiter danke ich Ihm für sein stetiges Engagement, mich als mein Zweitbetreuer in dieser Arbeit mit vielen praktischen Ratschlägen, seinen Anregungen und Hilfestellungen zu jeder Zeit zu unterstützen. Herrn Dr. Torsten J. Naucke für die praktische Einführung dieses Themas, die Durchführung einiger morphologischer Bestimmungen, die unersättliche Unterstützung mit fachlichen Hilfestellungen und Einblicken, insbesondere der großen Korrekturbereitschaft. Daneben danke ich meinem weiteren Prüfer, Herrn Prof. Dr. Olaf Horstick, mich bei dieser Arbeit zu unterstützen.

Allen beteiligten Kollegen und Team Mitarbeitern unseres Kooperationspartners Bernhard-Nocht-Institut, vor allem der Arbeitsgruppen für Arbovirologie und Entomologie und Leishmania-Molekulargenetik, insbesondere Herrn Dr. Renke Lühken, Frau Dr. Anna Heitmann, Frau Dr. Stephanie Jansen, Frau Dr. Christine Brinker für die außerordentliche Unterstützung und Zusammenarbeit im Rahmen der molekularen Untersuchungen im Labor und die Möglichkeit diese dort ausführen zu können. Besonders bedanken möchte ich mich bei Frau Alexandra Bialonski und Frau Heike Baum für die gute Einführung in die Labortätigkeiten und Unterstützung während der Arbeit. Mein Dank geht auch speziell an Herrn Dr. Andreas Krüger, der mir fachlich mit seinen fachlichen und morphologischen Kenntnissen zur Seite stand, sowie mit mir die Einführung mit großer Geduld durchgeführt hat.

Insbesondere danke ich Frau Dr. Hanna Jöst für die stets freundliche Begleitung dieser Arbeit all diese Jahre, für ihr großartiges Engagement und außerordentliche Hilfsbereitschaft in vielen fachlichen Fragen, für all die aktive Unterstützung in der Durchsicht der Arbeit, sowie

für wertvolle Tipps im naturwissenschaftlichen Schreiben, auch in schwierigeren Zeiten und vor allem für die Unterstützung in beruflicher Weiterentwicklung und Zusammenarbeit.

Herrn Dr. Edwin Kniha für seine stetige Hilfsbereitschaft und Engagement und für die liebevolle und geduldige Unterstützung in vielen fachlichen Fragen.

Für die finanzielle Unterstützung der Arbeit möchte ich folgenden Einrichtungen danken:

der Klaus-Tschira Stiftung, für die großartige Möglichkeit durch das Stipendium all diese Jahre den wesentlichen Teil dieser Arbeit durchzuführen. Des Weiteren der GFS e. V. für die anfängliche Unterstützung.

Meinen herzlichen Dank möchte ich an die MitarbeiterInnen der KABS e.V. in Speyer richten, darunter Herrn Artur Jöst, Herrn Klaus Hoffmann (GIS), Herrn Dr. Daniel Wohlgemuth, Frau Dr. Christina Czaika. Ich danke Ihnen für ihre Hilfsbereitschaft und Unterstützung bei jeglichen Fragen.

Auch den Kollegen der ICYBAC GmbH möchte ich für die Unterstützung danken. Vielen Dank an Herrn Jochen Gubener und Herrn Claus Boschert für die technische Hilfsbereitschaft und Unterstützung, sowie der Bereitstellung und Möglichkeit für die Lagerung und Reparatur von benötigtem Material.

Weiterhin möchte ich mich bei Frau Irmgard Steinhausen, allen Helfern und interessierten Bekannten für die Fallenfänge in diesen Jahren, sowie für die Bereitstellung der Standorte und für die stetige Unterstützung jeglicher Art und den Rückhalt bedanken.

Veröffentlichungen im Rahmen der Arbeit

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde folgender Aufsatz veröffentlicht:

Oerther S. et. al. Phlebotomine sand flies in Southwest Germany: an update with records in new locations. *Parasites & Vectors*. 2020 April 21; 173(13): 1-8.

Abstracts für Poster und Vorträge

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden folgende Abstracts für Poster und Vorträge veröffentlicht:

Oerther S (2018) Spatial distribution of phlebotomine sand flies in Southwest Germany, 7th Kongress, SOVE in Mallorca, Spanien, 2017.

Oerther S (2018) Sand flies in Southwest Germany, 21st Euro SOVE Konferenz Palermo, Italien.

11 Eidesstattliche Versicherung

1. Bei der eingereichten Dissertation zu dem Thema `Untersuchungen zur Abundanz, Phänologie und Verbreitung von Sandmücken (Phlebotominae) als potenzielle Vektoren für humanpathogene Krankheitserreger in Südwestdeutschland´ handelt es sich um meine eigenständig erbrachte Leistung.

2. Ich habe nur die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt und mich keiner unzulässigen Hilfe Dritter bedient. Insbesondere habe ich wörtlich oder sinngemäß aus anderen Werken übernommene Inhalte als solche kenntlich gemacht. Alle beinhalteten Bilder, die nicht mit Quellenangaben versehen sind, sind eigene Aufnahmen.

3. Die Arbeit oder Teile davon habe ich bislang nicht an einer Hochschule des In- oder Auslands als Bestandteil einer Prüfungs- oder Qualifikationsleistung vorgelegt.

4. Die Richtigkeit der vorstehenden Erklärungen bestätige ich.

5. Die Bedeutung der eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unrichtigen oder unvollständigen eidesstattlichen Versicherung sind mir bekannt.

Ich versichere an Eides statt, dass ich nach bestem Wissen die reine Wahrheit erkläre und nichts verschwiegen habe.

Karlsruhe, den 31. Oktober 2022

Sandra Isabell Oerther