

Aus dem Department für Pathobiologie  
der Veterinärmedizinischen Universität Wien

Institut für Parasitologie

(Leiterin: Univ.-Prof. Dr.med.vet. Anja Joachim, Dipl.EVPC)

**Potenziell invasive Stechmücken in Hernals - Eine Analyse nach dem Auffinden  
von Tigermücken im Jahr 2021**

Diplomarbeit

Veterinärmedizinische Universität Wien

vorgelegt von

Amelie Bittler

Wien, im April 2023

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

Institut für Parasitologie

Department für Pathobiologie

Veterinärmedizinische Universität Wien

Begutachter: Dr. Peter Paulsen

Institut für Lebensmittelsicherheit, Lebensmitteltechnologie und öffentliches

Gesundheitswesen in der Veterinärmedizin

Department für Hygiene und Technologie von Lebensmitteln

Veterinärmedizinische Universität Wien

# Inhaltsverzeichnis

|       |  |    |
|-------|--|----|
| 1     | Einleitung und Fragestellung .....                             | 4  |
| 2     | Literaturübersicht .....                                       | 5  |
| 2.1   | Culicidae im Überblick.....                                    | 5  |
| 2.1.1 | Morphologie .....  | 7  |
| 2.1.2 | Biologie und Lebensweise .....                                 | 10 |
| 2.2   | Neobiotische Arten der Gattung <i>Aedes</i> in Österreich..... | 22 |
| 2.2.1 | Die Asiatische Tigermücke ( <i>Aedes albopictus</i> ) .....    | 23 |
| 2.2.2 | Die Asiatische Buschmücke ( <i>Aedes japonicus</i> ) .....     | 33 |
| 2.2.3 | Die Koreanische Buschmücke ( <i>Aedes koreicus</i> ) .....     | 34 |
| 2.2.4 | Die Baumlochmücke ( <i>Aedes geniculatus</i> ).....            | 35 |
| 3     | Material und Methoden .....                                    | 35 |
| 3.1   | Planung der Besammlung .....                                   | 35 |
| 3.2   | Vorgehen bei der Besammlung.....                               | 42 |
| 3.3   | Auswertung der Proben im Labor.....                            | 43 |
| 4     | Ergebnisse.....  | 45 |
| 5     | Diskussion .....   | 53 |
| 6     | Zusammenfassung .....  | 58 |
| 7     | Summary .....  | 59 |
| 8     | Literaturverzeichnis.....                                      | 60 |
| 9     | Abbildungs- und Tabellenverzeichnis .....                      | 67 |
| 10    | Anhang .....   | 70 |

## 1 Einleitung und Fragestellung

Die fortschreitende Globalisierung und der damit einhergehende Ausbau neuer Transport- und Handelswege sind in unserer modernen Welt nicht mehr wegzudenken. Dies hat sich ebenso die Asiatische Tigermücke zu Nutze gemacht. Ob durch passiven Transport in Autoreifen- und Glücksbambus-Lieferungen auf Überseeschiffen oder im Reiseverkehr aus süd(öst)lichen Gebieten, die in Südostasien beheimatete Asiatische Tigermücke etabliert sich zunehmend in der westlichen Welt (Madon et al. 2002, Reiter und Sprenger 1987). Dies ist ebenso auf Grund ihrer außerordentlichen Anpassungsfähigkeit und Resistenz auf ungünstige Umweltbedingungen möglich (Paupy et al. 2009). Sie zählt zu den Container-brütenden Stechmückenarten und findet sowohl in Baumhöhlen als auch in künstlichen Gefäßen wie regenüberschwemmten Blumentöpfen einen Brutplatz für ihre Eier (Villena et al. 2017). Bei längeren Kälteperioden sind die Eier ebenfalls in der Lage zu überwintern und erst bei Temperaturanstieg im Frühjahr schlüpfen die Larven, um eine neue Fortpflanzungsperiode einzuleiten (Paupy et al. 2009).

Seit wenigen Jahren werden zunehmend Funde von *Aedes albopictus* in Österreich verzeichnet. Der erste Nachweis in Österreich erfolgte im Jahr 2012 in Tirol (Seidel et al. 2012). In den folgenden Jahren tauchte die Asiatische Tigermücke immer häufiger in verschiedenen Regionen Österreichs auf, wobei sie 2020 erstmals in Wien detektiert wurde. Sie ist eine potenziell invasive Stechmückenart, die aufgrund ihrer hohen Vektorkompetenz von gesteigertem nationalem und internationalem Interesse ist. Auch wenn sie bis 2022 in Österreich, im Gegensatz zu manchen benachbarten Ländern, noch nicht als etablierte Art zu verstehen war, würde eine fortschreitende Etablierung das Gesundheitssystem vor eine große Herausforderung stellen (Bakran-Lebl et al. 2021, Bakran-Lebl und Reichl 2022). *Aedes albopictus* stellt ein Erregerreservoir für über 20 verschiedene Arboviren, aber auch für Dirofilarien dar. Einige dieser Pathogene bergen eine gesundheitliche Bedrohung sowohl für den Menschen als auch für Tiere, weshalb die Asiatische Tigermücke von veterinär- sowie humanmedizinischer Relevanz ist (Paupy et al. 2009, Cancrini et al. 2003).

Nachdem die Asiatische Tigermücke in Wien erstmals im Jahr 2020 gemeldet wurde, konnte man sie dort auch im Folgejahr 2021 nachweisen. Dies geschah an drei unterschiedlichen Standorten, wobei einer dieser Standorte im 17. Stadtbezirk Hernals, nahe einem Busbahnhof für Fernbusse aus südosteuropäischen Regionen, liegt (Bakran-Lebl 2022). Da sich in

unmittelbarer Nähe hierzu ein Krankenhaus, sowie ein Seniorenheim befindet, würde eine zukünftige Etablierung der Asiatischen Tigermücke in dieser Gegend eine große medizinische Herausforderung darstellen, da alte und kranke Menschen ein erhöhtes Risiko aufweisen, nach einer Infektion durch einen potenziellen Vektor einen schweren Krankheitsverlauf zu entwickeln. Um auch im Jahr 2022 die Ausbreitung der Asiatischen Tigermücke in dieser Fundgegend überwachen zu können und so Rückschlüsse auf eine zukünftige Entwicklung zu ermöglichen, wurde in dieser Diplomarbeit das Vorhandensein von *Ae. albopictus* untersucht. Dies geschah durch das Besammeln von Stechmückeneiern auf Holzstäbchen in wassergefüllten Ovitrap-Fallen, welche in einem einwöchigen Rhythmus ausgetauscht werden. Es stellt sich also die Frage, ob die Asiatische Tigermücke auch im Jahr 2022 wiederholt in 17. Stadtbezirk Hernals aufzufinden war, welche Rückschlüsse dies erlaubt und welche Konsequenzen dies hat.

## **2 Literaturübersicht**

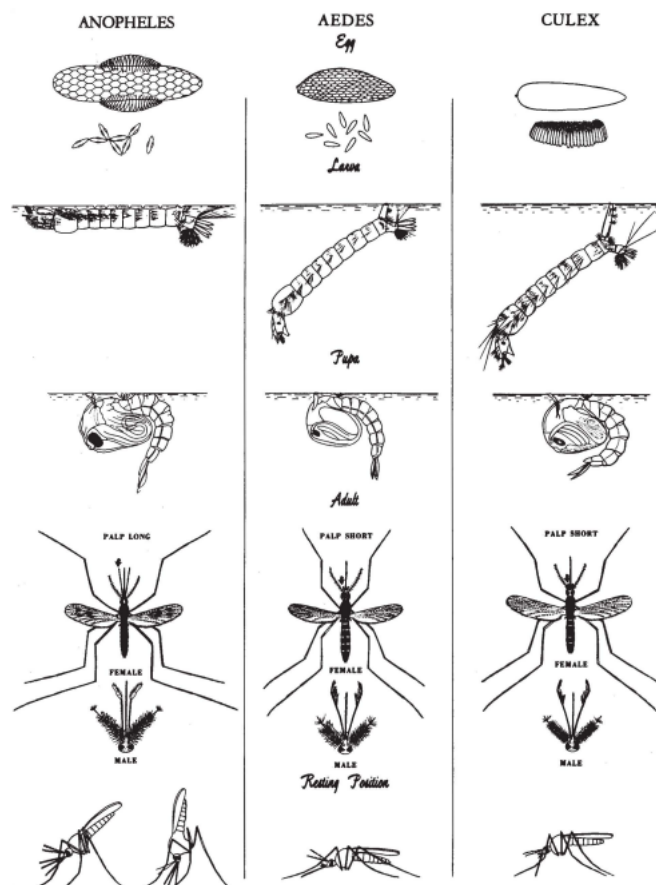
### **2.1 Culicidae im Überblick**

Als ein Urgestein der Evolutionsgeschichte kann die Stechmücke heute auf einen langen Werdegang zurückblicken. Schon vor etwa 79 Millionen Jahren, in der Periode der Kreidezeit, waren die ersten Stechmücken (Culicidae) auf unserer Erde angesiedelt (Poinar et al. 2000). Bis heute hat sich weltweit eine Populationsdiversität von rund 3.500 verschiedenen Arten eingestellt, wobei davon etwa 10% von human- sowie veterinärmedizinischer Relevanz sind (Diniz et al. 2017). Der Begriff „medizinische Relevanz“ umschreibt hierbei die Rolle der Gelse als Vektor zur Übertragung von Krankheitserregern auf Menschen und Tiere zu fungieren. Wirft man einen Blick nach Österreich lässt sich nach Zittra et al. (2017a) im Land ein Stechmückeninventar von 49 Arten ausmachen, wobei sich jene Arten acht unterschiedlichen Gattungen zuordnen lassen. Neben der Gattung *Aedes* zählt man auch die Gattungen *Anopheles*, *Culex*, *Coquillettidia*, *Culiseta*, *Ochlerotatus*, *Orthopodomyia* sowie *Uranotaenia*.

Um die bisher beschriebene Taxonomie in einen Zusammenhang einzuordnen, lässt sich festhalten, dass die Familie der Stechmücken (Culicidae) zur Unterordnung der Mücken (Nematocera), der Ordnung der Zweiflügler (Diptera) und folglich zur übergeordneten Klasse der Insekten (Insecta) zählt. Die Familie Culicidae setzt sich aus zwei Unterfamilien

zusammen, den Anophelinae und den Culicinae, wobei letztere den Großteil mit über 3.000 Arten innerhalb ihrer elf Stämme ausmacht. Unter jenen ist neben dem Stamm Culicini mit der bekannten Gattung *Culex*, auch der Stamm Aedini zu finden. Er ist nicht nur der größte, sondern auch von hohem medizinischem Interesse, denn er vertritt die Gattung *Aedes*, zu welcher die Art *Ae. albopictus*, auch als Asiatische Tigermücke bekannt, zuzuordnen ist (Mehlhorn 2012, Wilkerson et al. 2015).

Jene kann als Vektor für die Übertragung von Krankheitserregern wie dem Dengue-, Chikungunya- und Zikavirus sowie verschiedenen *Dirofilaria*-Arten fungieren (Bakran-Lebl et al. 2022). Auch unter den Anophelinae finden wir potenzielle Vektoren von Pathogenen wie einige *Anopheles*-Arten, die durch eine *Plasmodium*-Übertragung zur humanen Malaria führen können (Rossati et al. 2016).



**Abb. 1:** Überblick der verschiedenen Entwicklungsstadien und der morphologischen Differenzierung der Gattungen *Anopheles*, *Aedes* und *Culex*, Autoren: Kent S. Littig und Cester J. Stojanovich, [https://www.cdc.gov/nceh/ehs/docs/pictorial\\_keys/mosquitoes.pdf](https://www.cdc.gov/nceh/ehs/docs/pictorial_keys/mosquitoes.pdf), via cdc.gov

### **2.1.1 Morphologie**

In ihrer holometabolen Entwicklung durchläuft die Stechmücke drei verschiedene Stadien, die sich morphologisch nicht ähneln, weshalb man hier von einer Metamorphose spricht. Das erste Entwicklungsstadium der Larve schlüpft aus dem abgelegten Ei, bevor es sich über weitere Larvenstadien zur Puppe und schließlich zur adulten Stechmücke (Imago) entwickeln kann (Mehlhorn 2012).

#### **Adulte**

Ihr dreigliedriger Körper setzt sich aus den Segmenten Caput (Kopf), Thorax (Brust) und Abdomen (Rumpf) zusammen. Man kann männliche und weibliche Adulte weitreichend durch ihren Geschlechtsdimorphismus unterscheiden (z.B. Länge/Ausprägung Antennen oder Maxillarpalpen) aber auch durch ihre Größe, da die Männchen durch ihre verkürzte Larvalphase durchschnittlich kleiner als die artgleichen Weibchen sind (Becker et al. 2010, Mehlhorn 2012). Als eine Besonderheit ihrer Ordnung ist ihr Körper großflächig mit Schuppen verschiedenster Farbe und Oberflächenbeschaffenheit besetzt (Becker et al. 2010). Natürlich unterscheidet sich ihre Morphologie ebenso je nach Gattung und Art, wobei die makroskopische Differenzierung nicht immer eindeutig ist und für eine fehlerfreie Identifizierung auf molekularbiologische Verfahren oder die geometrische Morphometrie gesetzt wird (Chaiphongpachara et al. 2022).

#### Caput (Kopf)

Das Caput ist von einer sklerotisierten Kopfkapsel umgeben und Ansatzpunkt der Kopfanhänge sowie der Facettenaugen. Zu den Kopfanhängen gehören neben den paarigen Antennen auch paarige Maxillarpalpen sowie der Stechrüssel (Becker et al. 2010).

In den Antennen sitzt das Johnstonsche Organ, ein höchstkomplexes mechanosensitives Sinnesorgan, welches durch das Erfassen von Vibrationen Schall, Bewegungen sowie Druckänderungen in der Umwelt wahrnehmen kann (Lapshin und Woronzow 2017). Je nach Gattung sind die Antennen unterschiedlich lang ausgeprägt. Ebenso wird durch sie der Geschlechtsdimorphismus deutlich, denn die meisten Männchen zeigen deutlich dichter behaarte Antennen als die Weibchen (Becker et al. 2010). An der paarigen Maxillenbasis setzt jeweils ein mehrgliedriger Maxillarpalpus an. Dieser ist, je nach Gattung und Geschlecht,

häufig ähnlich lang wie der Stechrüssel (Krenn und Aspöck 2010). Der Stechrüssel setzt sich aus verschiedenen Elementen zusammen und ist das wichtigste Werkzeug der Stechmücke, denn er garantiert die nährreiche Pflanzensaftaufnahme. Die Weibchen nutzen ihren spezialisierten Rüssel zusätzlich für die Blutmahlzeit auf ihren Wirten (Wahid et al. 2003). Der Stechrüssel der meisten Weibchen besteht aus Stechborsten, die in Ruhestellung vom Labium umhüllt werden. Bei den Männchen sind diese Stechorgane nur reduziert ausgeprägt (Krenn und Aspöck 2010).

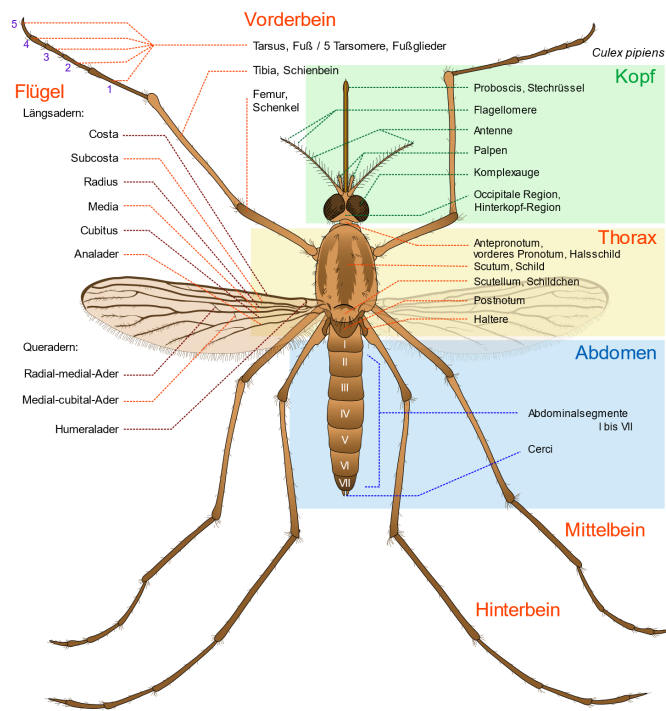
### Thorax (Brust)

Der Thorax untergliedert sich in drei Segmente, die als Pro-, Meso- und Metathorax bezeichnet werden. An jedem der drei Segmente entspringt ventral ein gegliedertes Beinpaar, was die Stechmücke zum Hexapoda (Sechsfüßer) macht. Am Meso- sowie Metathorax setzt je ein Flügelpaar an, wobei sich diese stark voneinander unterscheiden. Das Flügelpaar am Mesothorax ist prominent ausgebildet, von mehreren Blutgefäßen versorgt und dient primär zur Fortbewegung in der Luft. Im Gegensatz dazu findet man die Flügel des Metathorax nur stark reduziert vor (vgl. Abb. 2). Sie werden als Halteren bezeichnet. Durch ihr Mitschwingen dienen sie neben der Lagebestimmung im Raum auch der Gleichgewichtskontrolle im Flug und tragen so einen wichtigen Teil zur aerodynamischen Fortbewegung bei (Becker et al. 2010, Mehlhorn 2012).

### Abdomen (Rumpf)

Im segmentierten Hinterleib sind die Fortpflanzungsorgane der Stechmücke zu finden. Bei männlichen Stechmücken sind sieben Segmente deutlich entwickelt, bei Weiblichen sechs. Männchen haben ihr neuntes Abdominalsegment (IX) zum Hypophygium, einem gut ausgebildeten Fortpflanzungsapparat, ausgebildet. Bei den Weibchen ist das achte Segment (VIII) für ihre Reproduktion differenziert, dem sich bei beiden Geschlechtern das Analsegment (Proctiger) für Ausscheidungen anschließt. Nach erfolgreicher Paarung kann das Weibchen sein caudal angelagertes Cercus zur Eiablage nutzen (siehe Abb. 2) (Becker et al. 2010).





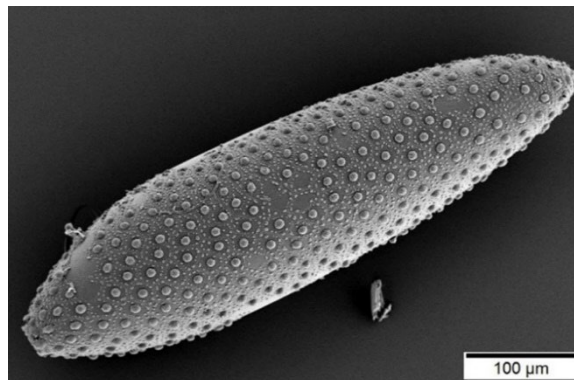
**Abb. 2:** Farbige Zeichnung einer erwachsenen, weiblichen Mücke (*Culex pipiens* s.l.) mit anatomischen Bezeichnungen der Körperteile, Autorin: LadyofHats, Public domain via Wikimedia Commons

## Eier

Genau wie bei der adulten Stechmücke kann auch bei den Eiern die Morphologie zur Unterscheidung zwischen einzelnen Gattungen und Arten herangezogen werden. Man muss jedoch unter anderem sehr erfahren sein, um durch Beurteilung unter dem Mikroskop eindeutige Aussagen zur Differenzierung treffen zu können und zieht aus diesem Grund oftmals die molekularbiologische Analyse zur sicheren und fehlerfreien Identifizierung heran.

Die Unterscheidungsmerkmale der Eier sind variabel. Für die mikroskopische Analyse eignet sich unter anderem das Rasterelektronenmikroskop (REM) womit man die Länge, die Breite, den Eierindex (Verhältnis der Länge zur Breite), die Symmetrie und den Durchmesser beurteilen kann. Ebenso wird die Farbe der Eier betrachtet, wobei diese je nach Entwicklungsstadium noch variieren kann. Beispielsweise können die Eier von *Ae. aegypti* zum Zeitpunkt der Eiablage noch weißlich erscheinen und kurz darauf erst eine schwarze Farbe annehmen. Unter dem Elektronenmikroskop lässt sich auch die Oberflächenbeschaffenheit beurteilen (z.B. Glanz und Struktur), welche ebenfalls als Differenzierungsmerkmal dient (Mundim-Pombo et al. 2021).

Neben der Beurteilung des Einzeleis wird ebenso auf die Anordnung ihrer Gesamtheit nach erfolgter Ablage geachtet. Hier lassen sich gattungsspezifische Eigenheiten ausmachen. Viele Arten der Gattung *Culex* sind dafür bekannt, ihre Eier im Verbund, als sogenannte schwimmende Eierflöße, vertikal auf die Wasseroberfläche von stehenden Gewässern zu platzieren. Dahingegen werden Eier der Gattung *Anopheles* und *Aedes* in der Regel einzeln abgelegt (vgl. Abb. 1 „Egg“ und Abb. 7). *Anopheles*-Weibchen präferieren die Eiablage über der offenen Wasseroberfläche, wobei einzelne Arten auch die Ablage am Wasserrand wählen. *Aedes*-Weibchen haben sich oftmals hinreichend an den urbanen Raum adaptiert, dass sie auch künstliche Wasserstellen in z.B. Blumenvasen, Untertöpfen, Autoreifen oder Regentonnen wählen (Wachira et al. 2010, Becker et al. 2010, Bentley und Day 1989, Kampen und Werner 2014).



**Abb. 3:** REM-Aufnahme eines mittels Lufttrocknung und Hexamethyldisilazan<sup>1</sup> präpariertem Mückenei, Autoren: Das Murtey und Ramasamy, CC BY-SA 3.0 <https://creativecommons.org/licenses/by-sa/3.0/>, via Wikimedia Commons

### 2.1.2 Biologie und Lebensweise

Die Stechmücke ist ein Meister in der Anpassung an sich verändernde Lebensräume. Beispielsweise sind die Eier vieler Stechmücken in der Lage, während kalten Temperaturen zu überwintern und so erst im Frühjahr zu geeigneteren Umweltbedingungen zu schlüpfen. Um einen detaillierteren Überblick über ihre Lebensweise zu erhalten, werden im Folgenden die Bereiche Entwicklungszyklus, Paarung, Ernährung und Wirtssuche, Eiablage sowie Diapause genauer beschrieben.

---

<sup>1</sup> Methode zur Haltbarmachung von Form und Struktur des Gewebes sowie zur Kontrasterhöhung unter dem Mikroskop, welche durch eine Silizium- und Stickstoffbeschichtung des Gewebes erreicht wird

## Entwicklungszyklus

Die Metamorphose der Stechmücke lässt sich in vier Phasen gliedern: Aus dem Ei schlüpft die Larve, welche sich zur Puppe verpuppt und als Imago schließlich schlüpft.

### Eier

Die Eier werden von dem befruchteten Weibchen zwei bis vier Tage nach dessen Blutmahlzeit in Wassernähe oder auf die unmittelbare Wasseroberfläche abgelegt (siehe Abb. 4) und verweilen dort in der Regel zwischen 12 Stunden und 2 Tagen bis zum Schlupf der Larven (Hiepe et al. 2006). Der Schlupf der Larven aus den Eiern wird durch Überflutung der Eier durch einen ansteigenden Wasserspiegel initiiert. Dies ist in dem Zusammenhang zu verstehen, dass die Larve und Puppe obligat aquatisch sind. Wenn die Umweltbedingungen (z.B. Temperatur, Photoperiode, Wasserstand, Luftfeuchtigkeit) für den Schlupf und den Beginn weiterer Entwicklungsstadien noch nicht geeignet sind, können einige Eier auch noch länger ruhen (Becker et al. 2010).

### Larve

Es lassen sich in der 10 – 14tägigen Entwicklung der Larve vier Stadien voneinander unterscheiden (L1-L4). Nach Schlupf aus dem Ei tritt die Larve in das L1 Stadium ein. Aus dem Ei, welches oftmals oberhalb des Wasserspiegels liegt, schlüpft sie ins Wasser ab. Dort wird ihr die Luftzufuhr über ein Atemrohr, welches vom caudalen Abdomen ausgehend den Kontakt zur Wasseroberfläche herstellt, ermöglicht. Je nach Stechmückengattung unterscheidet sich die Lage der Larve unter der Wasseroberfläche. Bei der Gattung *Anopheles* liegt die Larve recht horizontal unter der Wasseroberfläche, wobei sie bei den Gattungen *Aedes* und *Culex* eher quer in einem 45° Winkel liegt (vgl. Abb.2). Durch ihre anhaftenden Borsten sind sie im Wasser beweglich und können so bei Verdacht auf einen Fressfeind oder anderen Störungen für mehrere Minuten abtauchen. Die im Tracheensystem eingeschlossene Luft reicht hierfür problemlos aus (Valzania et al. 2019).

Vom L1-Stadium treten sie nach wenigen Tagen in das L2-Stadium über. Der Stadienübertritt ist immer mit einer Häutung verbunden, da die Larve über die Entwicklungsdauer an Größe zunimmt. Die Größenzunahme ist jedoch auch vom Nahrungsangebot abhängig, welches die finale Größe als adulte Stechmücke definieren kann. Neben dem Nahrungsangebot sind ebenso die Wassertemperatur oder die Populationsdichte Faktoren, welche Einfluss auf die

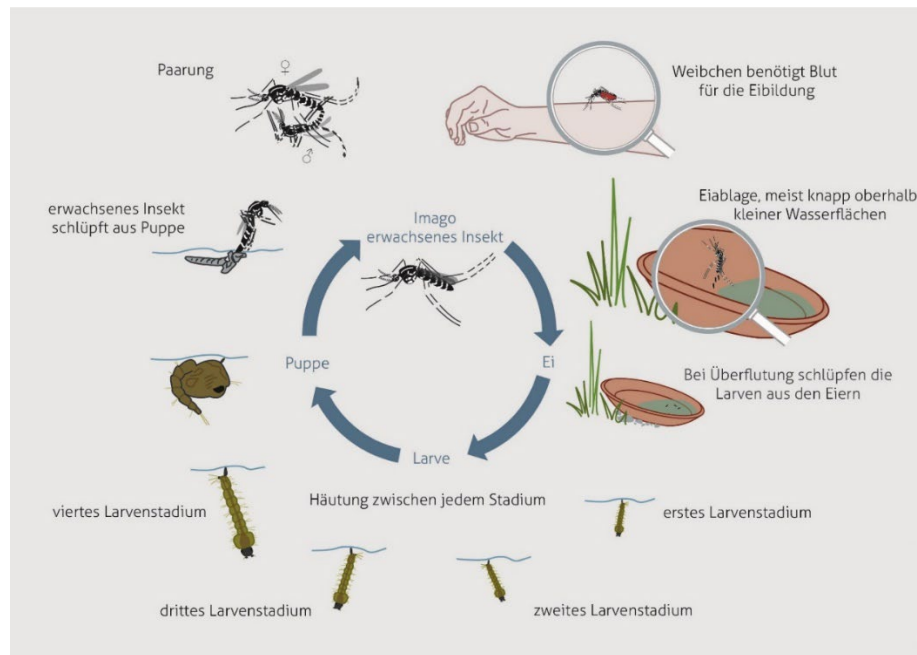
Entwicklungsdauer nehmen können. Bei manchen Arten (z.B. *Culiseta*) können die Larven auch auf Grund von mangelhaften Umweltbedingungen in die Diapause gehen. Bei ausreichendem Nahrungsangebot ernähren sich die Larven jedoch von frei im Wasser befindlichen Pflanzenpartikeln und Organismen, die sie entweder filtern oder mit ihrem Mundwerkzeug zu sich befördern (Becker et al. 2010, Hiepe et al. 2006).

### Puppe

Wenn die Larve das L4-Stadium erreicht hat, verpuppt sie sich. Dies findet immer noch unterhalb der Wasseroberfläche statt, wobei auch die Puppe noch über das Atemrohr zum Gasaustausch an der Wasseroberfläche verfügt. Das Puppenstadium dauert in der Regel zwei bis drei Tage, wobei hierbei keine Nahrung mehr aufgenommen wird (Hiepe et al. 2006).

### Adulte

Mit dem Schlupf der adulten Stechmücke ist die Metamorphose vollendet. Durch einen Schlitz an der Puppenhaut schlüpft die Imago nun vorsichtig aus der Hülle an die Wasseroberfläche (vgl. Abb. 4). Mit Anstieg des hämolympathischen Drucks entfalten sich die Flügel und Extremitäten und schon wenige Minuten später kann die Stechmücke losfliegen. Sie begibt sich bei ihrem ersten Flug in die nahegelegene Umgebung, wo sie weitere ein bis zwei Tage benötigt, bis ihr Stoffwechsel und ihre Flugfähigkeit voll ausgebildet sind. Für gewöhnlich schlüpfen Männchen einen Tag früher als Weibchen, da sie beim Schlupf noch nicht fortpflanzungsfähig sind und einen Tag benötigen um ihren Fortpflanzungsapparat (Hypophygium) richtig zu positionieren. So sind also zum Zeitpunkt des Schlupfs der Weibchen beide Geschlechter fertil (Becker et al. 2010). Jedoch unterscheidet sich die Lebenserwartung der beiden Geschlechter stark voneinander. Während die Männchen unter guten Bedingungen im Durchschnitt 10-14 Tage alt werden, können die Weibchen mehrere Wochen überleben (im Durchschnitt etwa 2 Monate lang). Die Weibchen mancher Arten können ebenfalls als Imago überwintern, während die Männchen den Herbst nicht überleben (Hiepe et al. 2006).



**Abb. 4:** Lebenszyklus der Asiatischen Tigermücke (*Aedes albopictus*), Autorin: Ingeborg Schleip, Biogents AG, CC BY-SA 3.0 <https://creativecommons.org/licenses/by-sa/3.0/deed.en>, via Wikimedia Commons

## Paarung

Nur kurze Zeit nach dem Schlupf sind beide Geschlechter paarungsbereit. Die Paarung findet bei den meisten Arten in der Morgen- oder Abenddämmerung statt, bei welcher wenige bis hin zu mehreren tausend Männchen einen Flugschwarm bilden (Becker et al. 2010). Durch das auf- und ab- sowie links- und rechtsfliegen des Verbunds wird ein artspezifischer Frequenzton erzeugt, welcher die artigen Weibchen anlocken soll. Neben den akustischen Reizen vermutet man ebenso ein Mitwirken von Pheromon-Signalen im Kontext des Paarungsverhaltens (Gibson und Russel 2006). Sobald das Weibchen den Schwarm betritt, widmet sich ihr ein Männchen, welches sich horizontal um 180° gedreht zur Kopulation an das Weibchen haftet (vgl. Abb. 4). Sie bewegen sich oftmals hierfür aus dem Schwarm heraus. Eine Besonderheit im Paarungsverhalten stellt die Gelbfiebermücke (*Ae. aegypti*) dar, denn hier fliegen beide Geschlechter einen Wirt an auf dem sie sich paaren und das Weibchen im Anschluss ihre Blutmahlzeit zu sich nehmen kann (Hiepe et al. 2006).

Dies wird für die Weibchen zumeist zeitlebens die letzte Kopulation bleiben, da die übertragene Spermienmenge für mehrere Eiablagen genügt und das Männchen zusätzlich Sekrete (Matrone) an das Weibchen überträgt, welche weitere Kopulationen mechanisch

verhindern. Im Gegensatz zum Weibchen, wird sich das Männchen in seinem Leben vermutlich mehrmals fortpflanzen (Becker et al. 2010). Das Stechmückenweibchen sucht sich nach der Paarung einen geeigneten Wirbeltierwirt für ihre daraufhin benötigte Blutmahlzeit, da die Proteine aus dem Blut Bedingung für die beginnende Oogenese sind. Die eigentliche Befruchtung der Eier erfolgt jedoch erst bei der finalen Eiablage des Weibchens (Valzania et al. 2019). Je nach klimatischen Bedingungen pflanzt sich die Stechmücke ganzjährig (tropische Gebiete) oder saisonal in den Sommermonaten (gemäßigte Breiten) fort, wobei sie ihren Fortbestand durch Überwinterungsstrategien zu sichern weiß.

### **Ernährung und Wirtssuche**

Als Nährstoffquelle dienen der Stechmücke primär die Kohlenhydrate aus unterschiedlichen Pflanzensäften. Diese werden von Männchen, als auch von Weibchen aufgenommen, wobei jene die Kohlenhydrate, nicht wie die Männchen nur zur Glykogensynthese, sondern zusätzlich zur Lipidsynthese heranziehen (Hiepe et al. 2006). Die gebildeten Lipide benötigen die Weibchen im Folgenden für die Heranreifung des Dotters in der späteren Eireifungsphase. Neben den Lipiden sind ebenso Proteine für die Oogenese der Weibchen notwendig (Valzania et al. 2019). Diese gewinnen sie aus Blutmahlzeiten auf Wirbeltierwirten. Ihr Stechrüssel ist ideal für den Einstich in die Haut und den folgenden Saugakt entwickelt. Mit spezialisierten Stechborsten wird die Haut für das Eindringen der Stechorgane angeritzt. Durch das eingedrungene Speichelrohr gibt die Stechmücke nun gerinnungshemmende, blutgefäßerweiternde und schmerzstillende Substanzen mit ihrem Speichel in das Wirtsgefäß ab, um durch ein Unterdrucksystem über ihr Nahrungsrohr das proteinreiche Kapillarblut zu saugen (vgl. Abb. 5). Hierbei kommt der Wirt mit dem potenziell kontagiösen Speichel in Kontakt, welcher im Falle einer erregerinfizierten Stechmücke als Infektionsmedium fungiert (Krenn und Aspöck 2010, Hiepe et al. 2006, Lehane 2005). Bei den Männchen hingegen finden wir nur reduzierte Stechwerkzeuge, da sich diese ausschließlich von Pflanzensäften ernähren. Aus diesem Grund sind auch nur Weibchen für die Übertragung von Erregern auf Menschen und Tiere relevant.

Wenn sich das Weibchen auf die Wirtssuche begibt, macht es sich seine sensitiven Sinnesorgane zu Nutze. Das Aufspüren des Wirts erfolgt primär über von ihm ausgesandte Stoffwechselprodukte wie Kohlenstoffdioxid oder Milchsäure, die durch Antennenrezeptoren der Stechmücke detektiert werden. Neben olfaktorischen Reizen nimmt sie auch in direkter

Nähe visuelle und thermische Reize des Wirts wahr (Becker et al. 2010, Zhao et al. 2022). Das spezifische Wirtsuchverhalten unterscheidet sich im Detail zwischen den einzelnen Arten, ebenso wie dessen Tageszeit und die bevorzugten Wirtsspezies. Während Hausgelsen (z.B. *Culex pipiens* s.l.) und Fiebergelsen (Gattung *Anopheles*) präferiert in der Abenddämmerung oder Nacht auf Wirtssuche gehen, sind gebietsfremde Arten wie *Ae. albopictus* und *Ae. japonicus* tagsüber aktiv (Bakran-Lebl und Fuehrer 2020, Stough und Wallace 2016). Viele „Container-Brüter“ haben ihr Bruthabitat nahe dem Lebensraum ihrer Wirte etabliert, während artfremde Weibchen sich kilometerweit vom Wind zur Wirtssuche tragen lassen und teilweise dabei neue Brutgebiete für sich erschließen (z.B. manche Überschwemmungsmücken) (Becker et al. 2010). Grundsätzlich sind Wirbeltiere die Blutwirte der Weibchen, dennoch zeigen sich artspezifische Präferenzen für Menschen, Tiere oder Vögel. Um eine grobe Übersicht zu erhalten, lässt sich ein Großteil der Gattung *Aedes* und *Ochlerotatus* als mammalophil ansprechen während *Culex pipiens* f. *pipiens* oder *Cs. morsitans* ornithophile Präferenzen zeigen. Unter den mammalophilen Arten gibt es ebenso Vorlieben, z.B. wählen *Ae. aegypti* und *Ae. japonicus* lieber Menschen als Tiere zur Blutmahlzeit. Dies scheint mit ausgesandten olfaktorischen Signalen in Zusammenhang zu stehen (Bakran-Lebl und Fuehrer 2020, Becker et al. 2010, Zhao et al. 2022).



**Abb. 5:** Ein *Aedes albopictus*-Weibchen bei der Blutmahlzeit auf einem Menschen, Autor: James Gathany, Public domain via Wikimedia Commons

Hat das Weibchen genug Blut zu sich genommen, erhält es durch Dehnungsrezeptoren im Abdomen ein negatives Feedback und das Wirtsuchverhalten wird eingestellt, bis es erfolgreich seine produzierten Eier abgelegt hat (Klowden 1996). In der Regel reicht eine einmalige Blutmahlzeit bis zur Eiablage aus, in wenigen Fällen werden jedoch mehrere benötigt (Hiepe et al. 2006).

## Eiablage

Die Wahl eines geeigneten Brutorts ist für die erfolgreiche Entwicklung der Eier und die damit einhergehende Artensicherung von essenzieller Bedeutung. Die Eiablage erfolgt auf oder nahe bei bestehenden oder zukünftigen Gewässern, da spätere Entwicklungsstadien auf das Vorhandensein von Wasser angewiesen sind. Das Wasser sollte den gewünschten Salzgehalt, sowie die benötigten organischen Verbindungen aufweisen. Das Vorhandensein von bereits abgelegten Eiern oder Larven kann ebenso Auswirkungen auf die Standortwahl haben, sodass manche Arten dadurch wahrscheinlicher auch ihre eigenen Eier an diesem Standort ablegen würden (Becker et al. 2010, Shragai et al. 2019).

Im Durchschnitt legen die Weibchen dann zwei bis vier Tage nach erfolgter Blutmahlzeit ihre gebildeten Eier über das Cercum ab. Eine kühlere Klimazone kann hierbei für eine zeitlich verzögerte Eiablage sorgen sowie generell für eine Abnahme der Generationenanzahl pro Jahr. Nach Bakran-Lebl und Fuehrer (2020) legen Weibchen der Gattung *Culex* etwa 150-250 Eier pro Brut ab, für *Ae. aegypti* beschreiben Valzania et al. (2019) eine Gelegegröße von 80-120 Eiern. Diese Zahlen können also abhängig der jeweiligen Art und den herrschenden Umweltbedingungen in beide Richtungen variieren.

Je nach Gattung und Art unterscheiden sich die gewählten Eiablageorte und -bedingungen voneinander, sodass man nach Bakran-Lebl und Fuehrer (2020) die in Österreich vorkommenden Stechmücken grundsätzlich in sechs Lebensraumtypen mit eigenen Charakteristika unterteilen kann: Hausgelsen, Frühjahrsgelsen, Überschwemmungsgelsen, Fiebergelsen, Baumhöhlenbrüter und gebietsfremde Arten.

### (1) Hausgelsen

Zu den Hausstechmücken zählen vor allem verschiedene Arten der Gattung *Culex*, wobei *Culex pipiens* s.l. (Gemeine Stechmücke) im Österreich den häufigsten Vertreter dieser Gruppe darstellt. Sie legen kompakte Eischiffchen auf die Wasseroberfläche ab (siehe Abb. 6). Durch ihr Vorkommen in menschlichen Siedlungen oder deren Umgebung haben sie ihre Ablageorte auf dortig auffindbare Wasserstellen angepasst. So findet man oft Eischiffchen in Regentonnen, Sickerschächten, Gartenschalen, aber auch bei Uferbereichen von Teichen. Bei einer Monitoring-Studie in Pennsylvania, USA wurde die höchste Eiablageaktivität bis zu einer Stunde nach Sonnenuntergang beobachtet, wobei



dies in Zusammenhang mit ihrer präferierten Wirtssuchaktivität in der Dämmerung oder bei Nacht zu verstehen ist (Stough und Wallace 2016). Die Eiablage findet vom Frühjahr bis in den Spätherbst hinein statt, bevor sie im Winter die Möglichkeit der Überwinterung in einer Art Kältestarre bis zur nächsten Eiablage im Frühjahr nutzen (Arnold et al. 2005, Bakran-Lebl und Fuehrer 2020).



**Abb. 6:** Eiablage einer weiblichen *Culex*-Stechmücke auf der Wasseroberfläche, Autor Sean McCann, CC BY-NC-SA 2.0 <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.0/>, via flickr.com

## (2) Frühjahrsgelsen

Unter dem Begriff der Frühjahrsgelsen versteht man jene, die über die kalte Jahreszeit als Adulte oder Larven überwintern konnten und zum Beginn des Frühjahrs ihre Eier ablegen. Jedoch haben sie die Besonderheit, dass sie nicht wie andere Arten mit wiederholten Eiablagen auch mehrere Generationen hervorbringen können, sondern nach beendeter Winterruhe lediglich nur eine. Hierzu zählen bspw. die Arten *Ae. cantans* oder *Ae. communis* der Gattung *Aedes*, aber auch Vertreter der Gattung *Culiseta* (Bakran-Lebl und Fuehrer 2020).

## (3) Überschwemmungsgelsen

Die Überschwemmungsgelsen setzen für ihre Artensicherung auf die Gegebenheiten der Natur. Sie legen ihre Eier bei temporären Wasserstellen ab, die durch Überschwemmungen von nahegelegenen Gewässern auftreten. Diese Wasserstellen bilden sich jedoch nach einiger Zeit wieder zurück und das Gebiet der Eiablage liegt trocken. Auf diesen Zustand sind die Eier dieser Stechmücken jedoch gut vorbereitet, denn sie können mehrere Jahre lebensfähig ohne Wasser im Boden bestehen bleiben. Kommt

es in den Sommermonaten dann zum Wasseranstieg und der Überflutung der Brutgebiete, kann ein regelrechter Massenschlupf beobachtet werden. Es wird eine erhöhte Stechlust, sowie eine außergewöhnlich weite Entfernung der Weibchen von ihren Brutstätten beobachtet. Sie werden teilweise in kilometerweit entfernten Wohnsiedlungen detektiert, wo sie auf Wirtssuche gehen und vom Menschen als Lästlinge empfunden werden. Je nach Wetter- und Überschwemmungslage können pro Sommer auch in kurzen Intervallen mehrere Generationen aufeinander folgen und so für eine Massenplage sorgen. Anders als die *Culex*-Weibchen der Hausgelsen legen sie ihre Eier nicht in Verbänden, sondern einzeln ab. Trotz der hohen Widerstandsfähigkeit der Eier, können die Adulten nicht überwintern und sterben so spätestens zum Herbstende. Die Gruppe wird von verschiedenen Arten der Gattung *Aedes* vertreten, wie z.B. *Aedes vexans* oder *Aedes sticticus* (Arnold et al. 2005, Becker et al. 2010).

#### (4) Fiebergelsen

Die Gattung *Anopheles* stellt die Gruppe der Fiebergelsen dar und birgt grundsätzlich eine hohe potenzielle Infektionsgefahr. Unter ihr sind Vertreter zu finden, die als Zwischenwirt von Erregern von Tropenkrankheiten wie der humanen Malaria, verschiedenen Filariosen oder dem O'nyong-nyong-Fieber fungieren (Bamou et al. 2021). Nach Zित्रa et al. (2017b) wurden in Österreich derweil sieben verschiedene *Anopheles*-Arten detektiert, unter denen sich auch potenzielle Überträger von Erregern der humanen Malaria befinden. Das Bundesministerium für Soziales, Gesundheit, Pflege und Konsumentenschutz berichtete 2019, dass bisher Malariainfektionen nur bei österreichischen Reiserückkehrern aus Tropenregionen nachgewiesen wurden (BMSGPK 2019). Als Brutstätten wählen sie häufig Tümpel- oder Uferländer von grasigen Seen. Die adulten Stechmücken überwintern in geschützten Räumen und Stallungen (Bakran-Lebl und Fuehrer 2020).

#### (5) Baumhöhlenbrüter

Die Baumhöhlenbrüter wählen für ihre Eiablage geringe Wassermengenansammlungen aus. Dies kann am Rand von gesammeltem Regenwasser in Baumhöhlen oder im urbanen Raum in Regentonnen im Garten, sowie überschwemmten Untertöpfen sein. Diese Präferenz der Eiablage in wassergefüllte, geschützte Behältnisse statt auf größere offene Wasserflächen, findet sich bspw. bei Überschwemmungsmücken, diese werden auch als Container-Brüter bezeichnet. Somit bieten sich für jene Stechmücken vor allem in

Wohngebieten unzählige Optionen als mögliches Brutreservoir an. Hauptsächlich umfasst sie verschiedene Arten der Gattung *Aedes*, wie *Aedes geniculatus* aber auch *Anopheles plumbeus* (Bakran-Lebl und Fuehrer 2020, Becker et al. 2010).

#### (6) Gebietsfremde Arten

Unter der Gruppe der gebietsfremden Arten werden die Stechmücken zusammengefasst, die durch sich aufgetane Transportwege nach Österreich verschleppt wurden. Sie sind hier nicht heimisch oder etabliert, sondern stammen zumeist aus dem tropischen südostasiatischen Raum. Durch internationalen Warentransfer und globalisierte Transportwege wurden sie in fremde Länder verschleppt. Sie sind ebenso Container-Brüter, sodass ihre Eier z.B. in kleinen Wasseransammlungen am Boden von Altreifen, die über Handelswege in andere Länder transportiert werden, zu finden sein können (Bakran-Lebl et al. 2022). Als Container-Brüter suchen sie sich kleinste Wasseransammlungen in verschiedensten Gefäßen oder Gegenständen, weshalb sie nicht an bestimmte geografische Besonderheiten ihres Ursprungslandes gebunden sind und sich so flexibel an die vorhandenen Gegebenheiten adaptieren können (Kampen und Werner 2014). Sie präferieren die Eiablage auf feuchtem Substrat sowie kurz oberhalb des Wasserspiegels, was einen Vorteil für deren Monitoring durch Ovitrap-Fallen bringt. Ihre Eier werden einzeln oder nah beieinanderliegend platziert (siehe Abb. 7). Der Schlupfreiz der Larve aus dem Ei wird häufig durch einen steigenden Wasserspiegel ausgelöst, womit Ähnlichkeiten zur Überschwemmungsgelse herzustellen sind. In Österreich wurden bisher die Asiatische Buschmücke (*Ae. japonicus*), die Koreanische Buschmücke (*Ae. koreicus*) und die Asiatische Tigermücke (*Ae. albopictus*) als gebietsfremd gemeldet, wobei sich die Asiatische Buschmücke bereits in Österreich über die letzten Jahre etablieren konnte (Bakran-Lebl et al. 2022).



**Abb. 7:** *Aedes*-Eier aus Ovitrap-Falle in Hernals (Wien) von 2022

## Diapause

Die Fähigkeit der Stechmücke, über die für sie klimatisch ungeeigneten Episoden in die Diapause zu gehen, verschafft ihr enorme Vorteile in Hinblick auf ihre Artensicherung und eine mögliche Etablierung in einer Region durch Überwinterung. Es können neben befruchteten Weibchen auch deren Eier oder im nächsten Stadium deren Larven überwintern.

Jedoch muss man die Begriffe Ruhestadium und Diapause, welche oftmals in der Literatur synonym verwendet werden, voneinander unterscheiden. Das Ruhestadium beschreibt die pausierte Entwicklung oder die unterdrückte Stoffwechselaktivität des Individuums. Diese heterodynamische Entwicklung kann durch sich verändernde Umweltfaktoren wie Temperaturen oder Luftfeuchtigkeit aktiviert werden, aber auch in kurzer Zeit wieder reversibel aufgehoben werden (Martins et al. 2000, Danks 1987). Auch wenn das Ruhestadium sowie die Diapause den gleichen Effekt für die Stechmücke erzielen, unterscheiden sich deren auslösenden Mechanismen voneinander.

Tauber et al. (1986) beschreibt die Diapause als einen neurohormon-induzierten Zustand von niedriger Stoffwechselaktivität, blockierter Metamorphose und Reproduktion sowie gesteigerter Resistenz gegenüber herausfordernden Umweltbedingungen. Den Mechanismus der Diapause machen sich vor allem die Arten zu Nutze, welche großen Temperaturunterschieden ausgesetzt sind wie z.B. *Ae. japonicus*, bei welcher die Eier oder Larven bei Temperaturen von bis zu -20 °C überwintern können (Medlock et al. 2015).

Die Diapause steht auch in unmittelbarem Zusammenhang mit potenzieller Erregerübertragung der Weibchen auf den Menschen, da manche Stechmückenarten ausgewählte Viren vertikal an die nachfolgende Generation weitergeben können. So kann beispielsweise *Ae. aegypti* das Zika-Virus auf ihre Eier übertragen. Neben der vertikalen Übertragung steigert die allgemeine Artensicherung durch Überwinterung eines potenziellen Virusvektors ebenso das Risiko einer Infektion in der Region. Durch Überwinterung und den damit einhergehenden möglichen Fortbestand mancher Pathogene in darauffolgenden Generationen, ist es umso herausfordernder, Eindämmungsmaßnahmen in beginnenden Endemiegebieten umzusetzen (Kauffman und Kramer 2017).

Je nach Stechmückenart kann die Diapause durch verschiedene Reize oder Faktoren induziert werden. *Aedes albopictus* und *Cx. pipiens* s.l. nutzen z.B. die wechselnde Photoperiode sowie fallende Temperaturen als Signalzeichen (Eldridge 1968). Neben den unterschiedlichen

Signalfaktoren unterscheiden sich auch die Entwicklungsstadien, die in die Diapause gehen, voneinander. Manche *Aedes*- und *Ochlerotatus*-Arten können im Eistadium überwintern, wobei einige *Culiseta*-, *Coquillettidia*- oder *Anopheles*-Arten die Larvaldiapause für sich nutzen. Die Mortalität der Larven ist jedoch recht hoch, während die Eier oftmals eine gute Überlebenschance durch ihre Kälte- und Trockenheitsresistenz aufweisen. Als adulte Stechmücke überwintern nur weibliche Stechmücken mancher Arten (z.B. *Culex* oder *Anopheles*). Diese sind zum Eintritt des Winterschlafs befruchtet und haben zuvor noch keine Eier gelegt (Becker et al. 2010, Hiepe et al. 2006).

Als Überwinterungsort wählen sich viele Stechmücken (z.B. der Gattung *Culex*) frostfreie Orte wie Dachböden oder Keller im Haus oder Baumhöhlen sowie Erdlöcher in der Natur. Die Gattung *Anopheles* präferiert hingegen feuchte Räume sowie Tierställe (Bakran-Lebl und Fuehrer 2020).

## 2.2 Neobiotische Arten der Gattung *Aedes* in Österreich

Unter den neobiotischen Stechmücken in Europa ist die Gattung *Aedes* von besonderem Interesse. Sie ist ursprünglich in gemäßigten, tropischen bis subtropischen Gebieten (Süd)ostasiens beheimatet und wurde zunehmend durch Handels- und Reiseglobalisierung in die westliche Welt gebracht. Durch ansteigende Temperaturen und ihre Fähigkeit, sich unterschiedlichen klimatischen und geografischen Gegebenheiten anzupassen, konnten sich manche Arten schon durch Überwinterung etablieren. Dies rückt unter human- und veterinärmedizinischem Interesse immer weiter in den Fokus, da einige *Aedes*-Arten die Fähigkeit haben, als Vektor für eine Vielzahl von Arboviren und Filarien zu fungieren. Unter Berücksichtigung dieser Faktoren wird die Interaktion mit der Umwelt dieser Arten intensiv beobachtet, da sie potenziell invasive Charakteristika aufweisen.

Die Asiatische Tigermücke gilt als eine der fünf derzeit europaweit nachgewiesenen AIM-Arten (*Aedes*-Invasive Mücken). Neben *Ae. albopictus* listet das Europäische Zentrum für die Prävention und die Kontrolle von Krankheiten (ECDC) noch die Arten *Ae. japonicus* (Asiatische Buschmücke), *Ae. koreicus* (Koreanische Buschmücke), *Ae. aegypti* (Gelbfiebermücke) und *Ae. atropalpus* (Americian rock pool mosquito) als invasiv in Europa (ECDC 2022). In Österreich konnten im Jahr 2021 drei dieser fünf *Aedes*-Arten detektiert werden: *Ae. albopictus*, *Ae. japonicus* sowie *Ae. koreicus*. Bei der vierten in Österreich vorkommenden *Aedes*-Art handelt es sich mit *Ae. geniculatus* um eine heimische Stechmückenart, welche jedoch das Brutverhalten der anderen drei Arten teilt (Bakran-Lebl 2022).

Generell sollte vorsichtig mit dem Begriff der Invasivität umgegangen werden, da noch nicht bestätigt werden kann, ob jede dieser Arten nachweislich alle Charakteristika einer invasiven Spezies erfüllt (Bakran-Lebl et al. 2022). Ebenso ist auch nicht jede gebietsfremde Art gleich als potenziell invasiv anzusehen. Von den etwa 12.000 in der europäischen Umwelt dokumentierten gebietsfremden Arten verschiedenster Familien sind schätzungsweise nur 10-15 % als invasiv zu verstehen. Invasive gebietsfremde Arten bedrohen die Biodiversität und Umwelt nachteilig durch das Verdrängen heimischer Spezies aus ihrem Lebensraum oder das Einbringen und Übertragen gebietsfremder Pathogene auf andere Individuen oder den Menschen (Verordnung (EU) Nr. 1143/2014). Es wird also deutlich, dass eine Etablierung als invasive Art weittragende Auswirkungen auf das gesamte Ökosystem hat und ein organisiertes Monitoring solcher potenziell invasiven Arten essentiell ist.

Da das Hauptinteresse dieser Diplomarbeit die Frage des erneuten Auffindens der Asiatischen Tigermücke in Hernals ist, wird jene Stechmückenart im Folgenden detaillierter beschrieben. Zumal die drei weiteren in Österreich vorkommenden *Aedes*-Arten ebenso Container-Brüter sind und so folglich beim durchgeführten Monitoring auch als *Aedes*-Eier auf den Probenstäbchen zu finden sein könnten, werden sie ebenfalls übersichtlich, jedoch nicht im Detail, thematisiert.

### **2.2.1 Die Asiatische Tigermücke (*Aedes albopictus*)**

Vor etwa vierzig Jahren konnte die Asiatische Tigermücke erstmals in Europa nachgewiesen werden. Ihr erster Fund fand in Albanien statt, später wurde sie ebenso in Italien detektiert, worüber sie sich zunehmend per Handels- und Verkehrswege in Südeuropa und später ebenso nördlicheren Regionen verbreitete (Scholte und Schaffner 2007). Durch organisiertes Stechmückenmonitoring in disponierten Regionen Österreichs, konnte man *Ae. albopictus* erstmals im Jahr 2012 in Tirol und dem Burgenland (Seidel et al. 2012) und 2020 in Wien nachweisen (Bakran-Lebl et al. 2021). Die Proben konnten unter anderem durch ihre artspezifische Morphologie identifiziert werden. Diese stellt die Grundlage zur Selektion und Auswertung der in Monitoring-Programmen gesammelten Proben dar.

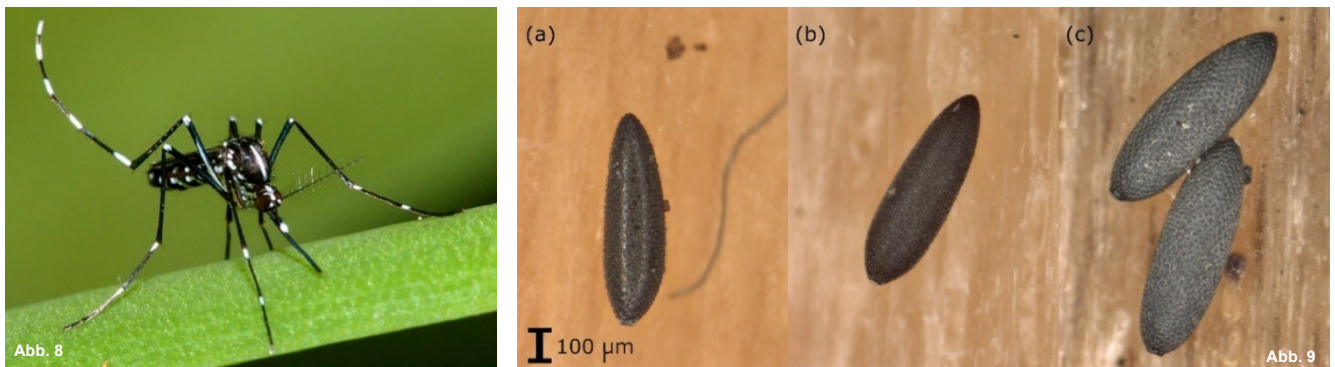
## **Morphologische Identifizierung**

### Adulte

Die Gesamtgröße der adulten Tigermücke beträgt durchschnittlich zwischen zwei und zehn Millimeter, wobei die Mehrheit im unteren Größenbereich zu verorten ist. Dies hat den Grund, dass die Gesamtgröße mit der Konkurrenz und dem Nahrungsangebot in früheren Entwicklungsstadien korreliert und die Umgebungsbedingungen oftmals nicht den Idealbedingungen entsprechen (Belkin 1962). Ihre auffällige Zeichnung erleichtert oftmals die Identifizierung: Vom Kopf ausgehend verläuft eine silbrig-weiße Linie mittig über das Rückenschild des Thorax, die Spitze der Palpen ist weißlich beschuppt und die Extremitäten weisen ebenso an der Basis der Segmente eine weißliche Schuppenreihe auf, was den Effekt der gestreiften Extremitäten bringt (vgl. Abb. 8). Aus ventraler Ansicht fällt noch die silbrige

Bänderung des Abdomens auf und der weiße Punkt an der Basis der Costalader der Flügel (Becker et al. 2010, Patsoula et al. 2006).

Wie für viele Stechmückenarten typisch, sind auch hier die Männchen tendenziell kleiner als die Weibchen und ihre Antennen buschiger (vgl. Abb. 1). Die Palpen sind, typisch für die Gattung *Aedes*, länger als der Stechrüssel und weisen weiße Ringe an den Basalsegmenten II-V auf. Ansonsten ähneln sich beide Geschlechter in den morphologischen Merkmalen der Körperzeichnung sehr (Becker et al. 2010).



**Abb. 8:** Asiatische Tigermücke in Ruhe (erwachsenes Weibchen), Maryland, USA, Autorin: Susan Ellis, CC BY 3.0 US <https://creativecommons.org/licenses/by/3.0/us/>, via Bugwood.org

**Abb. 9:** Eier von (a) *Ae. albopictus*, (b) *Ae. japonicus* und (c) *Ae. geniculatus* unter dem Mikroskop, Autor\*innen: Bakran-Lebl et al. 2022 (Abb.1), CC open access article, via Pubmed Central <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8949374/>

## Eier

Die Eier der Asiatischen Tigermücke sind mit freiem Auge morphologisch kaum und mikroskopisch ebenfalls nur bei detaillierter Betrachtung von weiteren *Aedes*-Eiern zu unterscheiden. Es werden die im Kapitel 2.1.1 (Morphologie Eier) beschriebenen Beurteilungskriterien zur Arten-Differenzierung unter dem REM verwendet. Die Eier von *Ae. albopictus* besitzen eine glänzende, schwarze Oberfläche und sind längsoval geformt. Mittig der Chorionzellen, welche die äußerste Schicht der Eihülle bilden, sitzen symmetrisch angeordnete, große und schmale Knollen (vgl. Abb. 3), die nur bei starker Vergrößerung im Elektronenmikroskop zu erkennen sind (Bakran-Lebl et al. 2022). Ihre Eier sind kleiner als die Eier von *Ae. geniculatus*, jedoch leicht mit denen von *Ae. japonicus* zu verwechseln (vgl. Abb. 9). Die eindeutige Artenbestimmung erfolgt dennoch erst auf molekulargenetischer Ebene über die PCR und Gelelektrophorese.



## **Besonderheiten in ihrer Biologie**

Als eine in den Tropen und Subtropen Asiens beheimatete Art konnte sich die Asiatische Tigermücke innerhalb der letzten Jahre weltweit verbreiten (Paupy et al. 2009). Dies benötigt eine besonders hohe Anpassungsfähigkeit an sich verändernde Temperaturen und Umweltbedingungen, welche *Ae. albopictus* durchaus besitzt.

In Klimazonen mit einer mittleren Jahrestemperatur von über 10°C konnte beobachtet werden, dass Populationen ganzjährig brüten (Kobayashi et al. 2002, Delatte et al. 2009), während Weibchen in gemäßigten Klimazonen, bei abfallenden Temperaturen und einer verkürzten Photoperiode, Diapause-Eier ablegen, welche den Winter über ruhen (Hanson und Craig 1994). Das Überwintern der Eier ist durch ihre Kälteresistenz möglich, die vermutlich in Zusammenhang mit der vermehrten Dotterlipidsynthese bei kalten Temperaturen steht. Auch die Adulten weisen für sich eine sehr gute Lipidsynthese bei geringen Temperaturen auf, was Rückschlüsse auf die erfolgreiche Etablierung in nördlicheren Gebieten zulässt (Paupy et al. 2009). Neben der Kälteresistenz ist ebenso eine Trockenheitsresistenz der Eier bekannt. Wenn es über längere Zeit nicht zur Überschwemmung der knapp über dem Wasserspiegel abgelegten Eier kommt, können diese trotz abgeschlossener Embryonalentwicklung monatelang innerhalb ihrer Eihülle in die Diapause gehen und der Schlupf der L1 erfolgt erst wieder zu geeigneten Bedingungen (Hiepe et al. 2006).

Die fortschreitende Globalisierung zeigte auch Auswirkungen auf das Wirtssuch- und Eiablageverhalten der Asiatischen Tigermücke. In den Wäldern Südostasiens nutzte sie damals vermutlich die dort lebenden Wildtiere für ihre Blutmahlzeit (Paupy et al. 2009). Durch den fortschreitenden Ausbau von Verkehrs- und Handelswegen wurde sie jedoch zunehmend in urbane Regionen verschleppt und musste so ihre Wirtssuche anpassen. Auch wenn sich das Weibchen von dem Blut vieler warm- sowie kaltblütiger Wirbeltiere, wozu auch Vögel, Amphibien oder Reptilien zählen, ernähren kann, wählt sie bevorzugt Säugetiere und unter den Säugetieren am liebsten den Menschen aus (Scholte und Schaffner 2007, Niebylski et al. 1994). Sie ist tagaktiv, exophag und nutzt je nach Region, Klimazone und Jahreszeit verschiedene Tagesstunden zur Haupt-Steckaktivität, bei welcher sie mit aggressivem Beißverhalten beschrieben wird. In einer Studie nach Unlu et al. (2021) dokumentierte man in einer gemäßigten, urbanen Klimazone die höchste Steckaktivität zum Sonnenmittag sowie zum Sonnenauf- und Sonnenuntergang. Die gleiche Studie wurde parallel in einer

subtropischen Klimazone durchgeführt, dennoch unterschieden sich die Hauptaktivitäten kaum voneinander.

Die hohe ökologische Plastizität von *Ae. albopictus* spiegelt sich ebenso in ihrer Wahl des Eiablageorts wider. Mit zunehmendem Einzug in den vorstädtischen und urbanen Raum hat sie ihre Brutplätze den vorliegenden Gegebenheiten angepasst. Als Container-Brüter wählt sie natürliche oder künstliche Behältnisse, in denen sich Wassermengen ansammeln können. In der Natur sind das z.B. Bambusstümpfe oder Baumhöhlen, im urbanen Raum bspw. Regentonnen, Blumentopfuntersetzer oder Autoreifen, welche schon mehrmals durch ihren Handel als ungewolltes Transportmittel zur Verschleppung der Tigermücke in neue Regionen fungierten (Villena et al. 2017). Ebenso konnte in Studien beobachtet werden, dass *Aedes*-Arten Gras-infundiertes Wasser in schwarzen Ovitrapns gerne zur Eiablage nutzen und *Ae. albopictus* ihre Eier auch häufig in Ovitrapns positioniert, in denen schon Eier einer anderen *Aedes*-Art vorhanden sind (Dixson et al. 2020). Dies ist ein interessanter Aspekt, welcher bei Überlegungen zu Prophylaxe-Maßnahmen zur Ausbreitungsdämpfung relevant wird.

### **Verbreitungswege und Situation in Österreich**

Seit Mitte des 20. Jahrhunderts kann zunehmend beobachtet werden, wie sich die Asiatische Tigermücke weltweit neue Regionen erschließt. Dies geschieht jedoch nicht aus einer Wanderlust der Stechmücke heraus, sondern passiv über Handels- und Transportwege zwischen verschiedenen Ländern und Kontinenten. Die Asiatische Tigermücke selbst verlässt ihr Habitat bei geeigneten Bedingungen kaum und legt nur selten mehr als 100 Meter Flugstrecke pro Tag zurück (Bonnet und Worcester 1946). Ihre weltweite Ausbreitung ist also größtenteils mit dem Menschen in Zusammenhang zu bringen.

Mit zunehmend florierender Globalisierung im 20. Jahrhundert, erschlossen sich auch neue interkontinentale Handelsrouten über den Land-, Luft- und Wasserweg. Vor allem der Handel mit Autoreifen und Pflanzen aus asiatischen Ländern scheint eine entscheidende Rolle in der passiven Verbreitung gespielt zu haben. So wurden im Zeitraum von 1978-1985 zahlreiche Gebrauchtreifenexporte aus Japan und Korea in die USA dokumentiert, von wo aus sie teilweise in weitere Länder verkauft wurden. Im Jahr 1985 wurden dann *Ae. albopictus*-Eier in einer Gebrauchtreifenlieferung nach Texas gefunden, womit ein entscheidender Einschleppungsweg identifiziert werden konnte (Reiter und Sprenger 1987). In den nächsten zehn Jahren nach diesem Fund vermeldeten zehn weitere US-Staaten und zwei europäische

Länder ähnliche Einschleppungsmeldungen (Reiter 1998). Neben den Funden in Gebrauchstreifen konnte *Ae. albopictus* auch im Jahr 2001 in einer großen Glücksbambus-Lieferung aus Südchina nach Südkalifornien detektiert werden, bei welcher der Bambus in stehendem Wasser transportiert wurde (Madon et al. 2002). Trotz der daraufhin angewiesenen Inspektionsverfahren in manchen Handelsländern, werden weitere Verschleppungen vermutlich unvermeidbar sein, da sich das Verbreitungsgeschehen multifaktoriell zusammensetzt (Reiter 1998). Es scheint ein Zusammenspiel aus passivem Transport, der hohen Anpassungsfähigkeit der Asiatischen Tigermücke an sich ändernde Umweltfaktoren, den Menschen als ihren Wirt sowie der globalen Erderwärmung und der damit einhergehenden Erschließung neuer Gebiete zu sein.

Das Wissen über die Verbreitungswege der Tigermücke kann jedoch für ein zielgerichtetes Monitoring verwendet werden. So wurden beim Monitoring gebietsfremder Stechmücken in Westösterreich im Jahr 2018 viele Ovitrap-Fallen an Autostraßen, Rastplätzen, aber auch einem Flughafen platziert- alles Orte, an denen sich Transport- und Handelswege aus unterschiedlichsten Regionen kreuzen und ein potenzielles Netz der passiven Verbreitung darstellen (Fuehrer et al. 2020).

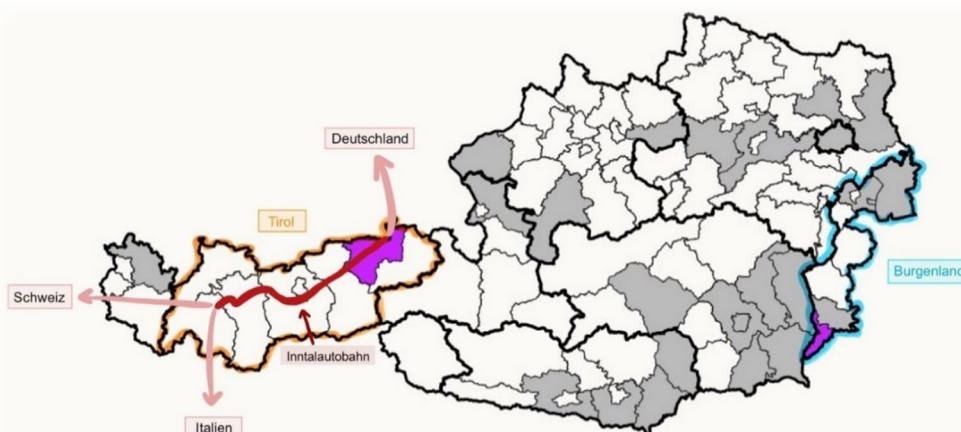
## Europa

Im Jahr 1979 wurden die ersten Funde von *Ae. albopictus* in einem europäischen Land gemeldet. Diese traten an mehreren, weit voneinander entfernten Orten in Albanien auf und lassen sich vermutlich auf einen Gebrauchstreifenimport aus China, wenige Jahre zuvor, zurückführen. Von dem Importhafen aus, scheinen sich die eingeschleppten Larven weiterentwickelt zu haben und in den nächsten Jahren über nationalen Transport im Land verbreitet worden zu sein (Adhami und Reiter 1998). Unabhängig davon dokumentierte man 1990 einen ähnlichen Fall in der italienischen Region Venezien. Eine Altreifenlieferung aus den USA sorgte für die lokale Einschleppung der Asiatischen Tigermücke und nur fünf Jahre später meldeten zehn der zwanzig italienischen Regionen erste Funde (Knudsen et al. 1996). Von Südeuropa ausgehend, verbreitete sich *Ae. albopictus* in den nächsten Jahren zunehmend passiv über Verkehrsmittel in Nachbarländer und nördlichere Regionen Europas. Dies ist mit den vermehrten Funden der Stechmücke an Autobahnrouten, die aus Südeuropa führen, zu veranschaulichen (Flacio et al. 2016, Fuehrer et al. 2020). Mittlerweile konnte sie in mehr als 25 europäischen Ländern detektiert werden und in 19 von ihnen etablierte Populationen aufbauen wie in Österreichs Nachbarländern Slowenien, Italien oder der

Schweiz (Medlock et al. 2015). In Österreich konnte bis 2022 noch von keiner etablierten, überwinternden Population gesprochen werden. Es wurde noch von jährlich neuen Einschleppungsereignissen ausgegangen (Bakran-Lebl und Fuehrer 2020).

### Österreich und Wien

In Österreich konnten im Jahr 2012 die ersten Tigermücken-Funde verzeichnet werden. Diese sind im Burgenland (Stadtgemeinde Jennersdorf) und in Tirol (Gemeinde Angath) zu verorten, wo man unreife Stadien und ein einzelnes adultes Weibchen finden konnte. Der Larven-Fund in Tirol fand nahe der Inntalautobahn statt, welche eine Verkehrsverbindung zwischen Österreich und Norditalien, der Schweiz sowie Süddeutschland darstellt (vgl. Abb. 10) (Seidel et al. 2012). Daraufhin konnten ab 2016 und in den Folgejahren weitere Funde von Eiern und Adulten entlang von österreichischen Autobahnstrecken und urbanen Regionen gemeldet werden (Bakran-Lebl et al. 2022, Fuehrer et al. 2020, Walder 2017).



**Abb. 10:** Funde von *Ae. albopictus* (lila Felder) in verschiedenen Regionen Österreichs im Jahr 2012, Autor: Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit GmbH (AGES), mod. von Amelie Bittler (Beschriftung, Umrandung + Autobahnzeichnung zugefügt), Behörde mit öffentlichem Quellenzugang, Verfügbar unter: <https://www.ages.at/mensch/krankheit/infos-zu-gelsen-krankheiten#c7894>

Im Jahr 2016 wurden in Österreich dann das erste Mal, seit dem Erstfund im Jahr 2012, wieder *Ae. albopictus*-Eier nachgewiesen. Dieser Fund wurde von einem einzelnen Standort in Tirol (Bezirk Innsbruck-Land) gemeldet, welcher nahe der Hauptautobahn nach Italien gelegen ist (Walder 2017). Im Folgejahr 2017 wurde dieser Standort zwar negativ beprobt, jedoch wurden an weiteren Standorten in Tirol Tigermücken-Eier in großer Anzahl nachgewiesen. Die positiv beprobten Standorte befanden sich im Unterinntal (nördliches Tirol), aber auch entfernter im Osten Tirols, wo zum ersten Mal ein positiver Fund verzeichnet wurde. Dieser Fund stützt die

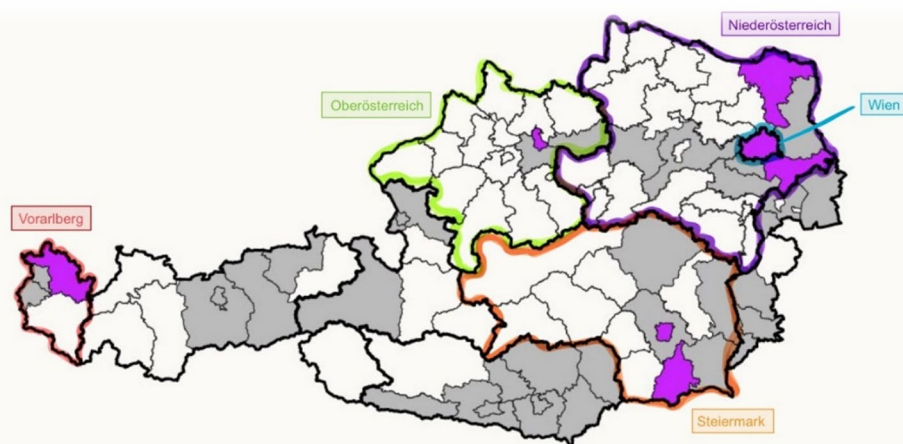
Annahme, dass *Ae. albopictus* zunehmend über die Verkehrswege von Italien (Südtirol und Trentino) in Autos oder Bussen nach Österreich gebracht wird und die adulten Weibchen die Fahrt unbeeinträchtigt überstehen, sodass sie später in neuer Umgebung ihre Eier ablegen können (Schoener et al. 2019).

Auch im Jahr 2018 wurden in Tirol als einziges österreichisches Bundesland Tigermücken gefunden. Sechs der insgesamt 67 beprobten Standorte waren positiv auf *Ae. albopictus*, wovon drei an Autobahnen gelegen waren, zwei im nördlicheren Tirol (Stadt Innsbruck und Kufstein) und einer im Osten Tirols (Stadt Lienz). Zwei dieser sechs positiven Standorte waren auch im Vorjahr 2017 positiv beprobt worden. Auch wenn sich die positiv beprobten Standorte im Folgejahr wiederholten, ist hier noch von keiner bewiesenen Etablierung der Art zu sprechen (Fuehrer et al. 2020). Die Daten geben jedoch wichtige Informationen und dienen zur gezielten Monitoring-Planung im Folgejahr.

Im Jahr 2019 wurden in den beprobten Regionen keine Funde vermerkt. Im Jahr 2020 wurde das erste bundesweite, standardisierte Monitoring-Programm zum Nachweis von potenziell invasiven Stechmücken in Österreich gestartet. Man beprobte von Mai-Oktober 2020 bundesweit 45 verschiedene Standorte auf Stechmückeneier durch Ovitrap. Positive Proben konnten im Rahmen dieses Programmes an einem Standort in Tirol, an welchem zuvor bereits Eier gefunden worden waren und erstmals im Bundesland Niederösterreich, an einer Autobahnraststätte, gemeldet werden (Bakran-Lebl et al. 2022).

Unabhängig von diesem Programm wurden Tigermücken im gleichen Jahr erstmals in der Steiermark, sowie in Wien nachgewiesen. Der Nachweis in Wien erfolgte an drei unterschiedlichen Standorten, die alle nahe zur Autobahn Südosttangente Wien A23 gelegen waren. Drei Proben wurden nach einer Bürgermeldung in der Kleingartensiedlung Wasserwiese (Prater) im Bezirk Leopoldstadt gesichert, die anderen beiden Standorte befanden sich nur wenige Kilometer weit von der Erstfundstelle entfernt und wurden nur kurze Zeit später detektiert. Im Labor konnten über mitochondriale *COI*-Barcode-Sequenzen drei unterschiedliche Haplotypen identifiziert werden, was gegen eine Verwandtschaft der Stechmücken an den unterschiedlichen Fundorten spricht. Ob diese unabhängig voneinander oder gemeinsam eingeschleppt wurden, ist jedoch nicht verfolgbar (Bakran-Lebl et al. 2021). Die Nähe der Funde zur Autobahn Südosttangente Wien A23 weist dennoch erneut auf die zentrale Relevanz der passiven Ausbreitung durch Transportmittel hin.

Neben dem wiederholten Fund in Wien wurden im Jahr 2021 auch Regionen in den Bundesländern Vorarlberg, Oberösterreich, Niederösterreich und der Steiermark positiv beprobt- so viele Bundesländer wie noch nie in den Vorjahren (vgl. Abb. 11) (Bakran-Lebl 2022). Jedoch müssen die Ergebnisse der Besammlung mit Vorsicht betrachtet werden. In den letzten Jahren fanden kaum standardisierte Monitoring-Programme statt und die Daten sind lückenhaft (Bakran-Lebl et al. 2022). Es wurde zwar primär dort beprobt, wo zuvor Funde gemeldet wurden oder diese zu erwarten wären (z.B. Autobahnen, Rastplätze), dennoch gibt das Monitoring keine Garantie auf Vollständigkeit, sondern eher einen groben Überblick.



**Abb. 11:** Funde von *Ae. albopictus* (lila Felder) in verschiedenen Regionen Österreichs im Jahr 2021, Autor: Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit GmbH (AGES), mod. von Amelie Bittler (Beschriftung + Umrandung zugefügt), Behörde mit öffentlichem Quellenzugang, Verfügbar unter: <https://www.ages.at/mensch/krankheit/infos-zu-gelsen-krankheiten#c7894>

Die Positivproben in Wien wurden an drei unterschiedlichen Standorten gemeldet, wobei einer der Standorte bereits 2020 positiv beprobt wurde (Kleingartensiedlung Wasserwiese). Bei den anderen beiden Standorten handelt es sich zum einen um die bewaldete Sandinsel „Gänsehäufel“ in der Alten Donau, die nahe der Kleingartensiedlung liegt und zum anderen um eine Bildhauerei, benachbart zum Busbahnhof am Leopold-Kunschak-Platz im 17. Wiener Stadtbezirk Hernals, wo regelmäßig Fernbusse aus südosteuropäischen Gegenden halten (Bakran-Lebl 2022). Um zu untersuchen, ob die Einschleppung im Folgejahr erneut in Hernals stattfindet oder eventuell Populationen überwintern konnten, wurde die Gegend rund um jenen Standort im Rahmen dieser Diplomarbeit detaillierter mit weiteren 17 Standorten beprobt.

## Medizinische Relevanz

Nicht nur die potenzielle Invasivität der Asiatischen Tigermücke und die damit einhergehende Bedrohung heimischer Arten oder die Belästigung des Menschen mit aggressivem, tagaktivem Stechverhalten gibt den Anlass für Überwachungs- und Bekämpfungsprogramme, auch ihr Potenzial als gefährlicher Überträger von Krankheitserregern für Menschen und Tiere zu fungieren, verleiht ihr eine enorme medizinische Relevanz.

Die Asiatische Tigermücke gilt als Überträger von mindestens 26 verschiedenen Arboviren, sodass sie neben der nahverwandten Gelbfiebermücke zu einem der relevantesten Überträger dieser Virusfamilie wird. Der Begriff der Arboviren leitet sich aus dem Englischen ab und steht für „arthropod-borne-viruses“. Es handelt sich also um über Arthropoden (Gliederfüßer wie Stechmücken) übertragene Viren, die sich nicht nur in diesen, sondern auch in ihren Wirten replizieren können (Reiter et al. 2006, Paupy et al. 2009). Einige der wichtigsten, auf den Mensch übertragbare Arboviren sind das Chikungunya-, Dengue-, West-Nil- und Zika-Virus (vgl. Abb. 12). Neben der Transmission verschiedenster Arboviren, dient die Tigermücke auch als Vektor für *Dirofilaria immitis* und *D. repens* auf Hunde und Katzen, was ihre medizinische Bedeutung auf die Veterinärmedizin ausweitet (Paupy et al. 2009, Cancrini et al. 2003).

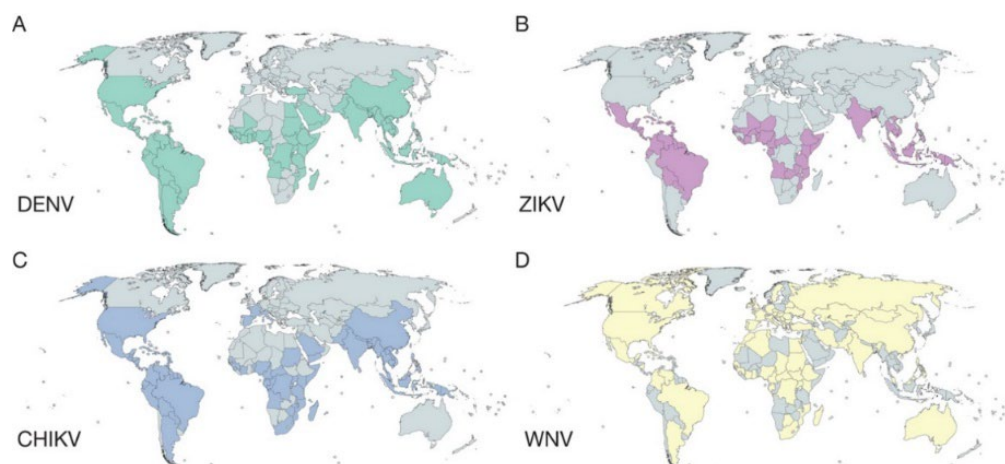
Die Übertragung der Viren erfolgt während der Blutmahlzeit über den Speichel der Stechmücke, welcher beim Saugakt in den Wirtorganismus gepumpt wird. Aus diesem Grund sind auch nur die Weibchen für die Erregerübertragung von Bedeutung (Krenn und Aspöck 2010). Das naive Weibchen infiziert sich bei einer Blutmahlzeit auf einem infizierten Wirt über dessen Blut mit dem Virus, solange der Wirbeltierwirt zu dem Zeitpunkt virämisch ist. Das Virus beginnt sich dann rasant im Gewebe der Stechmücke zu vermehren und wird nach ausreichender Proliferation bei ihrer nächsten Blutmahlzeit auf den noch naiven Wirbeltierwirt übertragen, sodass sich dieser auch infiziert (Wu et al. 2019). Neben der horizontalen Virusübertragung können Arboviren auch vertikal transovarial auf die nächste Generation des infizierten Weibchens übertragen werden. In Teilen können sie auch zusammen mit den Eiern überwintern (Becker et al. 2010). Während der Mensch oftmals mit schweren Symptomen wie Fieber, Arthritis, Enzephalitis oder Meningitis bei einer Virusinfektion zu kämpfen hat, schafft es die Stechmücke durch ausgeklügelte Immunstrategien die gravierenden Folgen einer Virusreplikation abzuwehren (Cheng et al. 2016, Wu et al. 2019).

Neben der Virulenz, tragen auch die Biologie der Tigermücke sowie die herrschenden Umweltgegebenheiten zur Verbreitung der Pathogene bei. Dadurch, dass *Ae. albopictus* ihre

Brutstätten mittlerweile häufig in vorstädtische Gebiete verlegt hat, besteht ein ständiger Kontakt zu der menschlichen Bevölkerung. Ihre Eigenschaften des tagaktivem und aggressivem Beißverhaltens sowie ihr breites Wirtsspektrum tragen zusätzlich dazu bei, dass das Übertragungspotenzial steigt (Paupy et al. 2009). Jedoch korrelieren das Übertragungspotenzial und der Vektordruck auch miteinander, sodass man bei geringen Stechmückenbeständen oder einzelnen, nicht etablierten Funden, von einem geringen Infektionsdruck ausgeht (Lebl et al. 2015). Zudem ist die Asiatische Tigermücke nicht als Primärüberträger für jede der oben genannte Viruserkrankungen zu sehen.

Für das Chikungunya-Virus (CHIKV) gilt *Ae. albopictus* jedoch schon als Primärvektor (Turell et al. 1992). Im Jahr 2006 kam es in mehreren Ländern des indischen Ozeans zu endemischen Ausbrüchen. Manche Touristen, die sich zu dieser Zeit in einem der Endemiegebiete aufhielten, kamen als infizierte Urlaubsrückkehrer in ihr Heimatland zurück. Das Risiko, aus dieser Situation heraus weitere Personen zu infizieren, ist vor allem dann gegeben, wenn in dem Heimatland ein stabiler Bestand potenzieller Vektoren gegeben ist, wie *Ae. albopictus* zu diesem Zeitpunkt in Italien. So ist anzunehmen, dass dies die Mechanismen waren, die 2007 zu dem CHIKV-Ausbruch in Italien führten (Beltrame et al. 2007).

Auch wenn in Österreich bislang nur einzelne importierte Infektionsfälle verzeichnen wurden, die oftmals in Verbindung mit einem Auslandsaufenthalt in Endemiegebieten zu bringen waren, steigt das Übertragungsrisiko mit zunehmendem Vektoraufkommen an. Aus diesem Grund ist die frühe Erkennung einer beginnenden Vektoretablierung entscheidend für die rechtzeitige Einleitung von Vorkehrungsmaßnahmen in dem öffentlichen Gesundheitswesen.



**Abb. 12:** Frühere und aktuelle globale Übertragung des Dengue-Virus (A), Zika-Virus (B), Chikungunya-Virus (C) und West-Nil-Virus (D), Stand 2019, Autoren: Wu et al. 2019, CC Cambridge University Press (für Verwendung in Universitätsarbeiten freigegeben), via [cambridge.org](https://www.cambridge.org)



### 2.2.2 Die Asiatische Buschmücke (*Aedes japonicus*)

Die ursprünglich in Ländern wie Japan, Korea oder Taiwan beheimatete Asiatische Buschmücke gilt in Österreich bereits seit mehreren Jahren als etablierte Stechmückenart. Schon im Jahr 2000 wurden erste Nachweise ihrer Art auf europäischem Boden (Nord-Frankreich) erhoben. Seit dem Erstfund in Frankreich dokumentierte man in den Folgejahren auch in Belgien, der Schweiz, in Deutschland und 2011 dann in Österreich ihr Vorkommen (Seidel et al. 2012). Heute kann sie in jedem Bundesland österreichweit nachgewiesen werden, wodurch ihr Fund zu keiner Seltenheit wird (Bakran-Lebl et al. 2022). Ihre Ersteinfuhr nach Europa wird, ähnlich wie bei *Ae. albopictus*, in direktem Zusammenhang mit dem interkontinentalen Gebrauchtreifenhandel vermutet (Medlock et al. 2012).

Im Gegensatz zum Großteil der heimischen Stechmückenarten ist auch *Ae. japonicus* primär tagaktiv in ihrem Stechverhalten und zeigt anthropophile Präferenzen, wodurch sie dem Menschen im Alltag lästig werden kann. Bei dem 2020 durchgeführten landesweiten Stechmückenmonitoring auf potenziell invasive Arten konnte dokumentiert werden, dass *Ae. japonicus* bundesweit, jedoch hauptsächlich im Süden Österreichs, zu detektieren war. Die aktive Legesaison kann nach Beobachtungen dieses Monitoring-Programms zwischen Ende Mai bis Mitte Oktober angenommen werden. Des Weiteren wurde eine vermehrte Eiablage in Regionen mit künstlichem Lebensraum, bei Anstieg der Umgebungstemperatur und bei Abnahme der Windgeschwindigkeit protokolliert, welches als eine arttypische Umweltpräferenz zu verstehen ist (Bakran-Lebl et al. 2022).

Auch wenn die Asiatische Buschmücke potenziell die Fähigkeit aufweist, verschiedene Viren über den Saugakt auf Menschen oder Tiere zu übertragen, wird sie dennoch im Vergleich zu *Ae. albopictus* als deutlich weniger kompetenter Vektor verstanden (Bakran-Lebl 2022). Es wird angenommen, dass *Ae. japonicus* an der Virusübertragung vom West-Nil-, dem Chikungunya- oder auch dem Usutu-Virus beteiligt ist (Turell et al. 2005, Martinet et al. 2019, Camp et al. 2019). Durch ihre als gering eingeschätzte Vektorkompetenz wird ihr folglich auch eine geringe medizinische Relevanz zugeschrieben, welches das organisierte Monitoring dieser *Aedes*-Art nicht notwendig werden lässt (Bakran-Lebl 2022).

### 2.2.3 Die Koreanische Buschmücke (*Aedes koreicus*)

Bei der Koreanischen Buschmücke lassen sich viele Parallelen zur Asiatischen Buschmücke herstellen. Auch sie findet ihren Ursprung in Ostasien, ist kompetent sich an die in Europa herrschenden Temperaturschwankungen zu adaptieren und produziert in diesem Zuge auch kälteresistente Eier (Capelli et al. 2011, Negri et al. 2021). Jedoch ist sie weitaus seltener als die Asiatische Buschmücke in Europa anzutreffen. Ihr Erstfund wurde im Jahr 2008 in Belgien dokumentiert, wenige Jahre später vermeldete man dann einzelne Nachweise in Italien (2011), der Schweiz (2013) und ebenso in Deutschland (2015) (Medlock et al. 2015, Suter et al. 2015, Werner et al. 2016).

Es konnte nicht beobachtet werden, dass sich *Ae. koreicus* mit einer rasanten Geschwindigkeit innerkontinental über Handels- und Verkehrswege ausbreitet. Denn obwohl Österreichs direkte Nachbarländer Italien und die Schweiz bereits im Jahr 2011 und 2013 erste Funde verzeichneten, meldete Österreich erstmals vor wenigen Jahren das Auffinden der Koreanischen Buschmücke. Dies geschah im Zuge eines Monitoring-Programms im Westen Österreichs im Jahr 2018, wobei man Eier von *Ae. koreicus* an einem einzelnen Standort in Osttirol detektierte. Es ist plausibel, dass dieser Fund in Zusammenhang mit der bereits in Venetien (italienische Grenzregion zu Osttirol) vorherrschenden etablierten *Ae. koreicus*-Population stehen kann. Jedoch konnte zu diesem Zeitpunkt nur vermutet werden, ob es sich um ein isoliertes Einschleppungs-Ereignis oder den Beginn einer potenziellen, regionalen Etablierung handelte (Fuehrer et al. 2020). In den nächsten Jahren zeigten sich weiterhin seltene, vereinzelte Funde in Österreich (Bakran-Lebl et al. 2022). In mehreren Regionen Norditaliens hingegen konnten sich in den letzten Jahren stabile Populationen etablieren (Mosca et al. 2022, Negri et al. 2021), deshalb ein konsequentes jährliches Monitoring der italienisch-österreichischen Grenze indiziert ist.

Ähnlich wie die Asiatische, birgt auch die Koreanische Buschmücke das Potential als Vektor zu fungieren. Es wurde nachgewiesen, dass *Ae. koreicus* fähig ist, neben dem Japan-B-Encephalitis-Virus (Erreger der Japanischen Encephalitis) und *Dirofilaria immitis* auch verschiedene weitere Arboviren, wie z.B. das Chikungunya-Virus, zu übertragen (Suter et al. 2015). Dennoch wird nach Medlock et al. (2012) oder Turell et al. (2005) auch *Ae. koreicus* keine gesteigerte Relevanz als Krankheitsüberträger zugeschrieben. Dies lässt sich anhand verschiedener Faktoren erklären, wobei das seltene Auffinden der Art in Österreich vermutlich einen ergänzenden Aspekt darstellt.

#### **2.2.4 Die Baumlochmücke (*Aedes geniculatus*)**

Die Baumlochmücke stellt die vierte in Österreich anzutreffende Container-brütende *Aedes*-Art dar. Sie unterscheidet sich jedoch auf Grund ihrer Herkunft von den anderen Arten, denn *Ae. geniculatus* ist eine in Europa heimische Stechmücke. Ihre Gemeinsamkeiten finden sich darin, dass auch sie anthropophil ist und ihre Brut, wie ihr deutscher Name schon verdeutlicht, bevorzugt in Baumlöcher oder auch künstliche Behältnisse ablegt (Prudhomme et al. 2019, Bakran-Lebl et al. 2022). Das Auffinden von *Ae. geniculatus* in Ovitrap-Fallen, die für den Nachweis von invasiven *Aedes*-Arten gedacht sind, konnte schon häufig beobachtet werden und ist auch in Zukunft zu erwarten. Es ist auffällig, dass Eier von *Ae. geniculatus* häufig neben Eier von *Ae. japonicus* platziert werden, wodurch ihre ähnlichen Brutplatzansprüche untermalt werden (Bakran-Lebl et al. 2022, Bakran-Lebl 2022).

Auch wenn es sich mit der Baumlochmücke um eine einheimische Art handelt, konnte auch für sie eine Viruskompetenz nachgewiesen werden. Dies geschah im Zuge von Studien unter Laborbedingungen. Man konnte feststellen, dass *Ae. geniculatus* sich unter Laborbedingung mit *Dirofilaria immitis*, *Dirofilaria repens*, aber auch dem Chikungunya-Virus infizieren ließ und so einen möglichen Vektor zur Übertragung dieser Pathogene darstellt (Prudhomme et al. 2019, Silaghi et al. 2017). Auch wenn diese Ergebnisse im Labor erzielt wurden und ihre Vektorkompetenz zur Krankheitsübertragung eine deutlich geringere als die der Asiatischen Tigermücke ist, sollten einheimische Stechmückenarten bei Fragen innerhalb des medizinischen Gesundheitssystems nicht gänzlich vernachlässigt werden.

### **3 Material und Methoden**

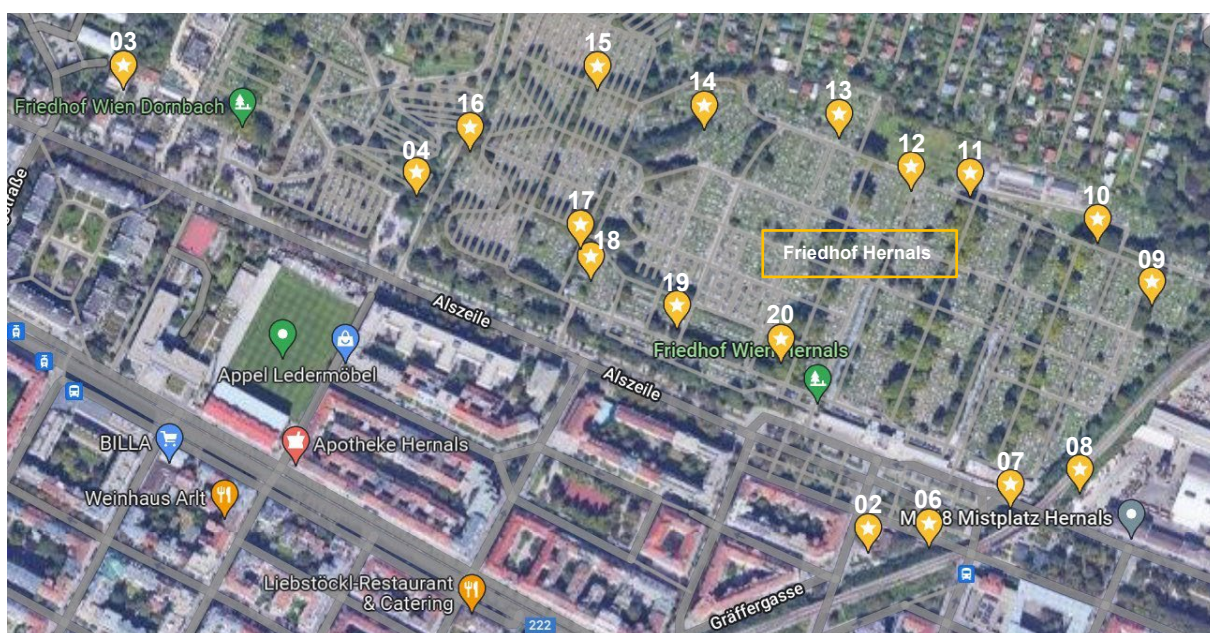
#### **3.1 Planung der Besammlung**

Der Fund von *Ae. albopictus*-Eiern im Jahr 2021 bei einem Bildhauereibetrieb nahe dem Busbahnhof am Leopold-Kunschak-Platz des 17. Wiener Stadtbezirks Hernals gab den Anlass dazu, auch im Folgejahr 2022 diesen Standort und erweiternd auch dessen umliegende Umgebung zu beproben. Es sollte untersucht werden, ob ein wiederholtes Auffinden an diesem oder umgebenden Standorten verzeichnet werden kann, was Rückschlüsse auf eine mögliche Überwinterung zulassen könnte.

Die Standortauswahl erfolgte auf Basis der Positivprobe nahe dem Busbahnhof für Reisebusse (Abb. 17), die auch Routen aus Südosteuropa befahren und so eine potenzielle Eintrittspforte für nicht-heimische Stechmücken durch passiven Transport darstellen. Zur Finalisierung der weiteren Standortwahl mussten mehrere Aspekte berücksichtigt werden. Es wurde beachtet, dass die Asiatische Tigermücke zu den Container-Brütern zählt und ihre Eier sowohl in natürlichen, aber auch künstlichen wassergefüllte Behältnissen ablegt. Des Weiteren Erfolg ihre Eiablage am Rand vom Wasserspiegel und zudem bevorzugt auf feuchten Substraten (Bakran-Lebl et al. 2022). Diese beiden Faktoren ließen die kostengünstigen und in der Handhabung unkomplizierten Ovitrap-Fallen zu geeigneten Stechmückenfallen werden. Diese wurden bereits nicht nur häufig bei Monitoring-Programmen auf invasive Stechmücken eingesetzt, sondern werden auch vom ECDC für die Besammlung invasiver Stechmücken empfohlen (Bakran-Lebl et al. 2022, Fuehrer et al. 2020, ECDC 2012).

Die Ovitrap-Fallen wurden an vorwiegend schattigen Orten im Freien platziert, wie z.B. unter Büschen oder hinter Mauern. So kann das Wasser in den Ovitrap-Fallen nicht so schnell durch direkte Sonneneinstrahlung verdampfen und der angeklemmte Holzspatel bleibt länger feucht, ebenso sind die abgelegten Eier so auch besser vor Sonnenaustrocknung geschützt. Die Fallen sollten auch in keinem zu großem Abstand zueinander aufgestellt werden (vgl. Abb. 16), da die Asiatische Tigermücke ihr Habitat bei gewünschten Umweltbedingungen nur selten verlässt und meist nicht weiter als 100 Meter pro Tag fliegt (Bonnet und Worcester 1946). Durch das Aufstellen der einzelnen Ovitrap-Fallen in regelmäßigen Abständen, die im Durchschnitt eine Luftlinie von 100 Metern messen, könnte man also die Wahrscheinlichkeit auf eine Eiablage in einer oder mehreren Ovitrap-Fallen steigern, da so ein größeres Brutplatzangebot im Flugradius der Stechmücke stattfindet. In einer Studie im US-Bundesstaat New Jersey wurde beobachtet, dass *Ae. albopictus* in gemäßigten Klimazonen eine Brutsaison innerhalb der wärmeren Monate, von Anfang Mai bis Ende Oktober, zeigt. Innerhalb dieser Saison schwankt ihre Brutaktivität jedoch, sodass innerhalb dieser Studie die höchste Brutaktivität von Ende Juli bis Ende Oktober beobachtet werden konnte (Unlu et al. 2021). Auch im Jahresbericht vom österreichweiten Ovitrap-Monitoring gebietsfremder Stechmücken 2021 zeigte *Ae. albopictus* die höchste Brutaktivität in den Monaten Juli, August und September (Bakran-Lebl 2022). Die genaue Wetterlage der einzelnen Wochen variiert ständig und zeigt auch jährlich eine tendenzielle Temperaturzunahme, die mit dem Klimawandel in Verbindung gebracht werden kann und vielen wärmeliebenden, gebietsfremden Stechmücken die Anpassung an die Umwelt erleichtert.

Unter Berücksichtigung dieser Aspekte wurden 18 Standorte für die Ovitrap-Fallen bestimmt, die an der Fundstelle des Jahres 2021, umliegenden Grünflächen, auf dem benachbarten Friedhof Hernals, der Müllsammelstelle MA 48 Hernals und zwei naheliegenden Betrieben (Gärtnerei und Steinmetz) platziert wurden (siehe Abb. 13 und Tab. 1). Friedhöfe dienen je nach örtlichen Gegebenheiten auch zu potenziellen Brutstätten, da sie oftmals begrünt sind und Wasserbecken, kleine Teiche oder Friedhofvasen, die sich mit stehendem Regenwasser füllen können, beherbergen.



**Abb. 13:** Satelliten-Aufsicht über Besammlungsgebiet in Hernals mit markierten Ovitrap-Koordinaten (gelber Marker mit weißem Stern) und deren Standort-IDs (02-20), Screenshot via Google Maps, Stand Februar 2023, mod. von Amelie Bittler (Markierungen und Zahlen beigefügt)

Die einzelnen Standorte wurden mit einer fortlaufenden Identifikationsnummer beschriftet, die sich aus der Abkürzung des Standortes Hernals (HER) und einer fortlaufenden Zahlenfolge, beginnend bei 01, zusammensetzt. Die Standorte HER01-HER05 wurden bereits im Vorjahr 2021 beprobt, weshalb deren Koordinaten und Beschriftung fixiert sind und so auch im Jahr 2022 übernommen wurden. Der Standort HER01 wurde auch 2022 vom Besammelnden des Vorjahres 2021 übernommen und der Standort HER05 liegt auf Privatgelände eines Betriebs, der dieses Jahr keine Erlaubnis zum Betreten gegeben hat. Aus diesem Grund sind diese beiden Standort-IDs nicht auf der Übersichtskarte zu finden. Die Standorte HER06-HER20 sind neu bestimmt und im Jahr 2022 erstmals beprobt worden.

**Tab. 1:** Übersicht von Standortkoordinaten der Ovitrap

| <b>Standort-ID</b> | <b>Beschreibung</b>                           | <b>Koordinaten</b><br>(in Breiten- und Längengraden) |
|--------------------|---|--|
| HER 02             | Garten Bildhauerei<br>„Arteum“ (Fundort 2021) | (48.224515, 16.318020)                               |
| HER 03             | Gärtnerei „Ziegler“                           | (48.2280415, 16.3095042)                             |
| HER 04             | Steinmetz „Kühner“                            | (48.227228, 16.312855)                               |
| HER 06             | Grünfläche bei Gehweg                         | (48.224554, 16.318716)                               |
| HER 07             | Grünfläche bei Gehweg                         | (48.224851, 16.319644)                               |
| HER 08             | MA48 Mistplatz Hernals                        | (48.224966, 16.320447)                               |
| HER 09             | Friedhof Hernals                              | (48.226397, 16.321271)                               |
| HER 10             | Friedhof Hernals                              | (48.226872, 16.320649)                               |
| HER 11             | Friedhof Hernals                              | (48.227225, 16.319191)                               |
| HER 12             | Friedhof Hernals                              | (48.227274, 16.318516)                               |
| HER 13             | Friedhof Hernals                              | (48.227669, 16.317684)                               |
| HER 14             | Friedhof Hernals                              | (48.227734, 16.316145)                               |
| HER 15             | Friedhof Hernals                              | (48.228039, 16.314926)                               |
| HER 16             | Friedhof Hernals                              | (48.227571, 16.313463)                               |
| HER 17             | Friedhof Hernals                              | (48.226827, 16.314735)                               |
| HER 18             | Friedhof Hernals                              | (48.226583, 16.314850)                               |
| HER 19             | Friedhof Hernals                              | (48.226218, 16.315837)                               |
| HER 20             | Friedhof Hernals                              | (48.225956, 16.317020)                               |

Bei der Standortauswahl wurden, wie oben beschrieben, gewisse speziesspezifische Faktoren sowie die Gegebenheiten des Standortes berücksichtigt. Des Weiteren wurden die Ovitrap-Fallen möglichst unauffällig platziert (Abb. 14 & 15), sodass das Entwenden durch neugierige Passanten möglichst vermieden wird.

Hier eine beispielhafte Übersicht der Ovitrap-Platzierung (Abb. 14, 15), der durchschnittlichen Entfernung zwischen den einzelnen Standorten (Abb. 16) sowie eine Übersicht der landschaftlichen Umgebung (Abb. 17- 23):



Abb. 16: Standort HER07 (Ovitrap am Baumast)



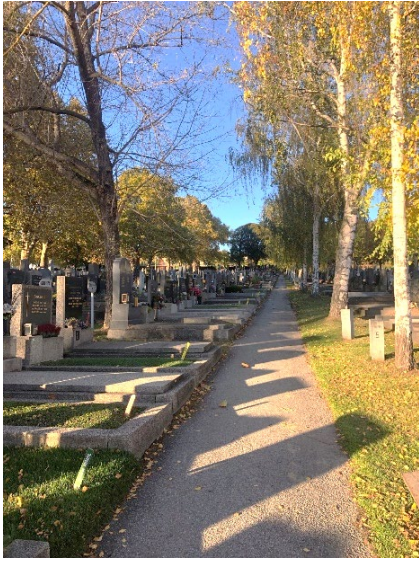
Abb. 17: Standort HER10 (Ovitrap unter Busch)



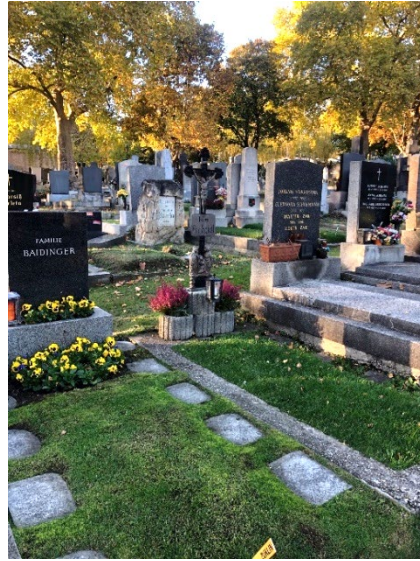
Abb. 15: Distanz zwischen HER12 und HER13



Abb. 14: Busbahnhof am Leopold-Kunschak-Platz



**Abb. 23:** Friedhof Hernals



**Abb. 20:** Friedhof Hernals



**Abb. 18:** Blumenvase an Grab mit Regenwasser



**Abb. 19:** Wassergefüllte Steintröge auf Friedhof



**Abb. 21:** Blumenuntertopf mit Regenwasser bei HER02



**Abb. 22:** Autoreifencontainer auf Mistplatz bei HER08



## Potenzielle Brutplätze

Auf den Abbildungen 20 bis 23 werden mögliche bereits vorhandene Brutplätze für die Asiatische Tigermücke in der beprobten Umgebung aufgezeigt. Auf dem Friedhof Hernals sind in kurzen, regelmäßigen Abständen große Steinwannen mit angeschlossenen Wasserhahn zu finden. Diese waren über die Sommermonate fast durchgängig mit Wasser aus Regenfällen oder der Benutzung des Wasserhahns gefüllt. An der unteren Seitenwand ist zwar ein Abflussloch vorhanden, jedoch wurde dieses oftmals durch Naturmaterial wie Blätter blockiert, sodass das Wasser nicht ablaufen konnte, zum Stehen kam und so einen potenziellen Brutplatz bildete (vgl. Abb. 24). Ähnlich wurde es bei den leeren Friedhofsvasen beobachtet, die bei einigen Gräbern stehen, aber häufig nur als Auffangbehälter für Regenwasser dienten. Am Standort HER02 (Bildhauerei „Arteum“), an welchem im vergangenen Jahr *Ae. albopictus*-Eier gefunden wurden, konnten im Garten ebenso einige mögliche Brutplätze ausgemacht werden. Man findet Gießkannen, einen kleinen Teich und mehrere wassergefüllte Blumenuntertöpfe (Abb. 22). Auch beim Standort HER08 auf dem Mistplatz MA48 Hernals wurde man aufmerksam, denn dort befindet sich unter anderem ein großer Container, in welchem Altreifen zur Entsorgung gesammelt werden. Da die Eiablage bei Wasseransammlungen in Altreifen ein beobachtetes Phänomen ist (Knudsen et al. 1996), weckte dieser Standort als potenzieller Brutplatz ebenso das Interesse (Abb. 23).



Abb. 25: Abflussloch in Steinwanne



Abb. 24: Ovitrap-Falle (befüllt)



Abb. 26: Ovitrap-Falle nah (befüllt)

## Material

Bei den verwendeten Stechmückenfallen handelt es sich um „Ovitrap-Fallen“. Sie werden häufig zum Monitoring invasiver Stechmücken verwendet und sind auch vom ECDC hierfür empfohlen (ECDC 2012). Sie zeichnen sich durch geringe Anschaffungskosten, eine

kompakte Größe und eine unkomplizierte Handhabung aus. Eine Ovitrap besteht aus einem schwarzen 1 Liter Plastikeimer, einem Holz-Mundspatel und einer Metallklemme. In den Plastikeimer wird kurz unter dem oberen Rand ein kleines Loch als Überlaufschutz gebohrt. Dann befüllt man den Behälter mit etwa 750ml Leitungswasser, und klemmt den Holz-Mundspatel mit Hilfe der Metallklemme in einem kleinen Winkel (etwa 30/40°) zur Gefäßwand fest (Abb. 25, 26). Nun ragt etwa das oberste Drittel des Holz-Mundspatels aus dem Wasser heraus. Es gibt noch die Option den Holzspatel im Voraus mit einem Schleifpapier etwas anzurauen, da *Ae. albopictus* tendenziell raue Oberflächen bevorzugt, jedoch wird dies nicht einheitlich in der Praxis durchgeführt. Es wird erwartet, dass die Stechmückeneier kurz über dem Wasserspiegel auf den Holz-Mundspatel abgelegt werden (vgl. Abb. 26) und so in der späteren mikroskopischen Auswertung zu identifizieren sind (Abb. 28).

### **3.2 Vorgehen bei der Besammlung**

Da die Brutsaison invasiver Stechmücken in gemäßigten Klimazonen von Anfang Mai bis Ende Oktober reicht (Unlu et al. 2021), werden Monitoring-Programme in diesen Gebieten auch nur in diesem Zeitfenster durchgeführt. Die Veterinärmedizinische Universität Wien empfiehlt ein Monitoring ab Juni beginnend und nach Oktober endend, weshalb auch bei dieser Besammlung der Zeitraum von Juni-Oktober bestimmt wurde. Innerhalb dieses Zeitrahmens wurden die Holz-Mundspatel der Ovitrap im wöchentlichen Intervall eingesammelt. Es wurde angestrebt, ein regelmäßiges 7-Tage-Intervall einzuhalten, jedoch sind auch geringe Unregelmäßigkeit um wenige Tage vertretbar, denn ein aussagekräftiges Ergebnis wird hierdurch vermutlich nicht beeinträchtigt. Ebenso wurde das Wasser in den Plastikgefäßen ausgetauscht und die Gefäßinnenwand abgeputzt, um so zusätzliche raue Oberflächen, an welche sich möglicherweise Stechmückeneier anheften, zu minimieren. Die Holz-Mundspatel wurden nach Entnahme aus dem Wasser makroskopisch auf *Aedes*-Eier geprüft (vgl. Abb. 27) und schließlich einzeln in passgenaue Druckverschlussbeutel aus Plastik gegeben. Bevor der Spatel für die Folgewoche eingeklemmt wurde, beschriftete man ihn mit der Standort-ID und dem Datum des Wechseltags, um die späteren Ergebnisse im Labor dann exakt zuordnen zu können. Anschließend wurden die eingesammelten Holzspatel dann bis zur mikroskopischen Auswertung im Gefrierfach bei -20°C aufbewahrt.

### 3.3 Auswertung der Proben im Labor

#### Mikroskopische Vorauswertung

Die eingesammelten Holzspatel wurden im Labor zunächst mikroskopisch beurteilt. Hierfür wurde das Stereomikroskop „Nikon SMZ1270“ genutzt. Man entnahm den Probenspatel aus seiner Druckverschlusshülle und durchmusterte diesen von beiden Seiten auf *Aedes*-Eier (Abb. 27, 28). Der Holzspatel wurde auch so gedreht, dass man alle Ränder einsehen konnte. Zum Ende wurde auch die Druckverschlusshülle betrachtet, da auch dort Eier anhaften könnten. Die mikroskopische Differenzierung der artspezifischen *Aedes*-Eier ist selbst für das geschulte Auge eine Herausforderung (vgl. Abb. 9). Aus diesem Grund wurden auch hier alle Eier der Gattung *Aedes* eingesammelt und erst in der anschließenden molekulargenetischen Arbeit genauer auf ihre Art differenziert. Hierfür wurden die *Aedes*-Eier der Positivproben unter mikroskopischer Kontrolle vorsichtig vom Holzspatel abgenommen und in ein Eppendorf-Tube gegeben. Dieses wurde mit der ID des Fundortes und einer fortlaufenden Nummer beschriftet und bis zur PCR-Bestimmung erneut bei  $-20^{\circ}\text{C}$  eingefroren.

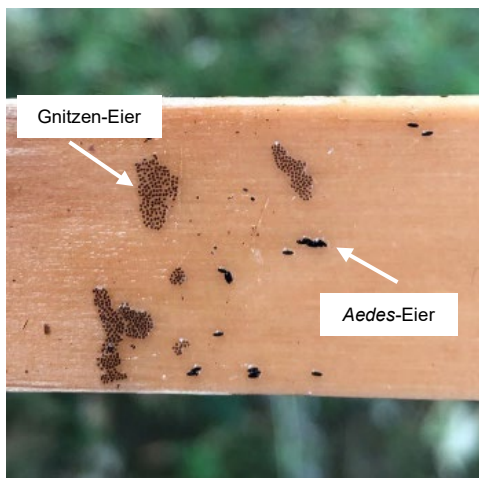


Abb. 28: *Aedes*- und Gnitzen Eier makroskopisch



Abb. 27: *Aedes*- Eier mikroskopisch

#### Molekulargenetische Bestimmung

Nach der mikroskopischen Sicherung der *Aedes*-Eier wurden nun die molekulargenetischen Schritte zur finalen Speziesdifferenzierung mit Hilfe der PCR und Gelelektrophorese eingeleitet. Hierfür musste zunächst die DNA aus dem Gewebematerial der Eier extrahiert werden. Man ging nach dem Laborprotokoll „ANALYTIK JENA innuPREP DNA Mini Kit“ (vgl. Anhang 1) vor und nutzte die Anleitung für Gewebe-Proben. Von jeder Probe wurde eine

Dopplung (sample A & B) erstellt, um unter anderem eine Kontrolle der späteren Ergebnisse zu gewährleisten. Auch die Dopplungen durchliefen alle anschließenden Verfahren.

Die durch die DNA-Extraktion gewonnenen Genomfragmente der Proben wurden anschließend mit dem Mastermix vermengt, welcher nach den Angaben des Protokolls „Mastermix“ aus Anhang 2 vorbereitet wurde. Hier wurden je 1 µL der DNA-Proben zu 19 µL Mastermix gegeben (vgl. Protokoll 3). Neben der DNA-Polymerase enthält der Mastermix auch die DNA-Nukleotide der vier verschiedenen *Aedes*-Arten. Die Proben konnten nun in den Thermocycler gegeben werden und unter dem Aedini-Multiplex-Programm nach dem Protokoll aus Anhang 3 amplifiziert werden. Durch die PCR wird das extrahierte DNA-Material der *Aedes*-Eier so vervielfältigt, dass am Ende auch Funde mit geringen Mengen an genetischem Material ausgewertet und artspezifische Banden in der folgenden Gelelektrophorese sichtbar werden.

Für die folgende Gelelektrophorese wurden nun jeweils 5 µL der amplifizierten Probe in die ihr zugeordnete Agarosegel-Tasche pipettiert. Das Agarosegel wurde zuvor aus 1,8g Agarose, 100ml TBE Buffer und 4,2 µL Midori-Green gegossen. Das Midori-Green sorgt im Anschluss dafür, dass die entstandenen Banden unter UV-Licht sichtbar gemacht werden. Man fertigte auch hier Banden beider Extraktions-Duplikate einer Probe an (sample A & B). Die erste und letzte Tasche wurde mit einer DNA-Leiter, deren Länge bekannt ist und dadurch eine Referenz zur Auswertung der verschiedenen Basenpaaranzahlen herstellen kann, besetzt. Daraufhin folgten in den nächsten Taschen jeweils sample A und B der Proben und ergänzend eine Negativ-Kontrollprobe ohne DNA-Material (vgl. Abb. 29). Nun wurden die Elektroden angelegt und die DNA-Proben wanderten je nach artspezifischer Basenpaaranzahl, Ladung und Gewicht in unterschiedlichen Geschwindigkeiten zur Anode (+Pol) umso Banden auf verschiedenen Höhen auszubilden.

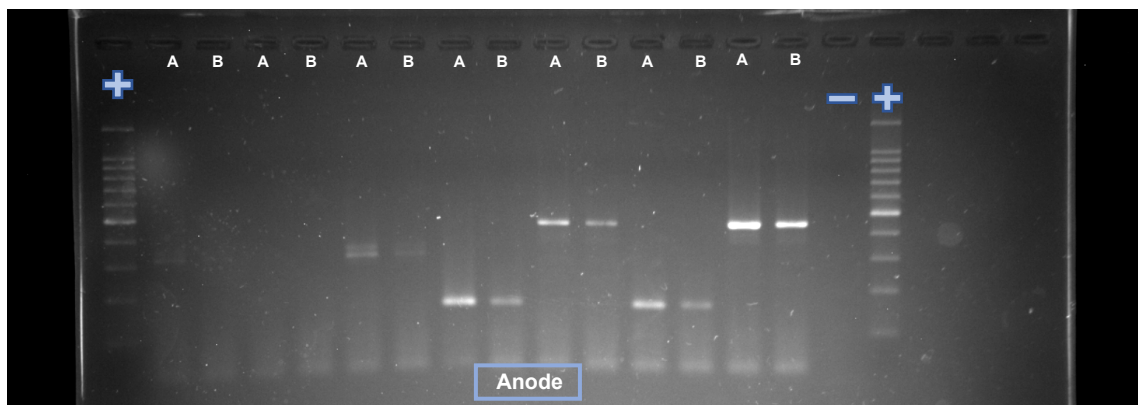


Abb. 29: Gelelektrophorese-Banden bei 8 Sekunden Belichtung mit DNA-Leiter (+) und Negativ-Probe (-)

Durch das Auflegen des Agarosegels auf die UV-Belichtungsplatte wurden die Banden sichtbar gemacht und mit unterschiedlicher Belichtungsdauer fotografiert (4, 6 und 8 Sekunden). Die entstandenen Bilder wurden anschließend mit einer Hilfsschablone, auf welcher die artspezifischen Bandenhöhen gezeigt sind, zur finalen Bestimmung verglichen. Bei den Arten *Ae. geniculatus* (272 Basenpaare) und *Ae. koreicus* (321 Basenpaare) (vgl. „Multiplex PCR for Aedini Species“ Anhang 2) war die Artbestimmung nicht eindeutig, da sie sich in ihrer Basenpaaranzahl und so in ihrer Bandenhöhe ähneln. Um hier ein eindeutiges Endergebnis zu erhalten, wurden die betroffenen Proben nachträglich in einer Einzel-PCR für *Ae. geniculatus* sowie *Ae. koreicus* erneut amplifiziert und in ein Agarosegel pipettiert. Wenn sich nun also bei einer auf *Ae. geniculatus* amplifizierten Probe eine Bande zeigt, ist dies folglich der Beweis dafür, dass es sich um *Ae. geniculatus* und nicht um *Ae. koreicus* handelt.

#### 4 Ergebnisse

Insgesamt konnten sieben Proben mit *Aedes*-Eiern detektiert werden. Der erste Fund wurde Ende Juni und der letzte Mitte September verzeichnet. Es wurden also in einem Zeitraum von etwa zweieinhalb Monaten *Aedes*-Funde beobachtet. Unter den Funden konnten drei der vier in Österreich vorkommenden Container-brütenden *Aedes*-Arten nachgewiesen werden: *Aedes geniculatus*, *Ae. japonicus* und *Ae. albopictus*. Nur *Ae. koreicus* konnte nicht verzeichnet werden. Bei einer der sieben Proben wurde nach der Gelelektrophorese keine Bande sichtbar, weshalb diese als negativ zu werten ist. Die anderen sechs Proben verteilten sich gleichmäßig mit jeweils zwei Funden pro nachgewiesener Art.

Die ersten zwei Funde der Saison stammen beide von der heimischen Baumlochmücke *Ae. geniculatus* und wurden in der Zeit vom 22.-29.06. und 13.-20.07.2022 beobachtet. In der Juni-Woche wurde ebenfalls an einem weiteren Standort ein einzelnes *Aedes*-Ei gefunden, welches jedoch nicht auszuwerten war, da sich keine Bande bei der Gelelektrophorese darstellte. Nur kurze Zeit später wurden zwischen dem 20.-26.07.2022 bei einer Probe schließlich auch Eier der bereits in Österreich etablierten Asiatischen Buschmücke gefunden. Jeder dieser vier ersten Funde ist einem Standort auf dem Friedhof Hernals zuzuordnen. Eine Besonderheit stellt der nur wenige Wochen drauffolgende Fund der Asiatischen Tigermücke dar. Zwischen dem 09.-16.08.2022 wurden Eier von *Ae. albopictus* an derselben Stelle gefunden, an der diese auch im Vorjahr 2021 erstmals innerhalb der Gegend Hernals nachgewiesen wurden.

Auch der Zeitraum der beiden Funde ist ein ähnlicher, denn im Vorjahr wurden die Eier dort nur wenige Tage später im August zwischen dem 16.-29.08.2021 verzeichnet (Bakran-Lebl 2022). Etwa drei Wochen nach dem erneuten Auffinden der Asiatischen Tigermücke am Standort HER02, wurden dieses Jahr erstmals auch wenige hundert Meter entfernt weitere Eier in einer Ovitrapp des Friedhof-Standorts HER18 gefunden. Zum gleichen Zeitraum (05.-14.09.2022) stellte man ein zweites Mal Eier der etablierten Asiatischen Buschmücke fest. Diese beiden Funde stellen jedoch die letzten dieser Saison dar. Bis Ende Oktober konnten keine weiteren Positiv-Funde generiert werden.

Das wiederholte Auffinden der Asiatischen Tigermücke am selben Standort sowie das erstmalige Auffinden an einem weiteren umliegenden Standort erhärtet den Verdacht einer Überwinterung in dieser Gegend und lässt zusätzlich eine fortschreitende regionale Ausbreitung für die Zukunft erwartbar werden.

**Tab. 2:** Übersicht der Funde des Stechmücken-Monitorings 2022 in Hernals

| Proben-ID | Zeitraum der Eiablage | Fundort-ID                      | Anzahl der Eier | Nachgewiesene Art            |
|-----------|-----------------------|---------------------------------|-----------------|------------------------------|
| AB 001    | 22.- 29.06.22         | HER20<br>(Friedhof Hernals)     | 23              | <i>Ae. geniculatus</i>       |
| AB 002    | 22.- 29.06.22         | HER19<br>(Friedhof Hernals)     | 1               | negativ<br>(keine Bande)     |
| AB 003    | 13.- 20.07.22         | HER16<br>(Friedhof Hernals)     | 5               | <i>Ae. geniculatus</i>       |
| AB 004    | 20.- 26.07.22         | HER17<br>(Friedhof Hernals)     | 43              | <i>Ae. japonicus</i>         |
| AB 005    | 09.- 16.08.22         | HER02<br>(Bildhauerei „Arteum“) | 4               | <b><i>Ae. albopictus</i></b> |
| AB 006    | 05.- 14.09.22         | HER08<br>(Mistplatz Hernals)    | 9               | <i>Ae. japonicus</i>         |
| AB 007    | 05.- 14.09.22         | HER18<br>(Friedhof Hernals)     | 7               | <b><i>Ae. albopictus</i></b> |

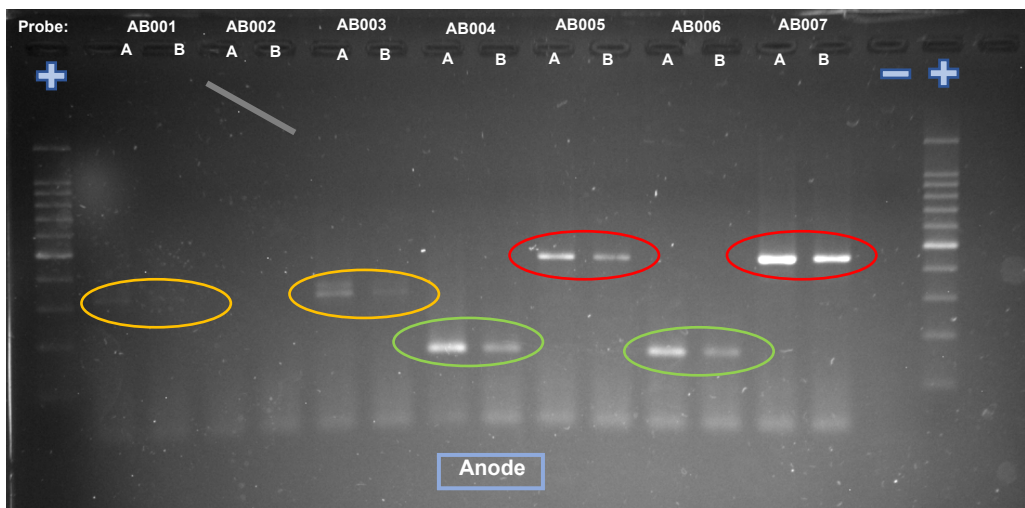
Genauso wie sich die *Aedes*-Funde auf unterschiedliche Zeiträume verteilen, wurden sie auch jeweils an verschiedenen Standorten detektiert, sodass sich keiner der Fundorte doppelt. Dennoch ist auf der geografischen Übersicht aus Abb. 30 zu erkennen, dass sich alle Funde in einer gewissen Nähe zueinander befinden. Vor allem beim Betrachten der Standorte HER16-HER20 auf dem Friedhof Hernals fällt auf, dass sich all diese Standorte auf dem südlichen Teil des Friedhofs befinden. Der Friedhof Hernals ist an einem Hang gelegen, wobei sich der höchstgelegene, nördlichere Standort HER13 auf 235 m über dem Meeresspiegel und der tiefst gelegene, südlichere Standort HER20 auf 212 m über dem Meeresspiegel befinden, womit eine ungefähre Höhendifferenz von 20 m auszumachen ist. Keiner der Fundorte befindet sich also auf dem oberen Hang. Der Friedhof ist ebenfalls recht homogen in seiner Gestaltung aufgebaut, sodass sich die Begrünung durch Bäume, das Vorhandensein von Rasenflächen und die Installation von wassergefüllten Sammeltrögen gleichmäßig über den Friedhof verteilt (vgl. Abb. 18 & 19) und auf den ersten Blick keine Gründe für eine umgebungsabhängige Brutplatzpräferenz offensichtlich sind. Eine mögliche Erklärung für die Verteilung der Funde könnte also zum einen bei wiederholtem Fund der gleichen Stechmückenart die recht nahe Distanz der jeweiligen Standorte zueinander sein, mögliche günstige Brutplatzbedingungen wie sonnen- und windgeschützte Umgebung oder ein vermehrtes Aufkommen von präferierten Blutwirten, sowie bereits etablierte oder überwinterte Generationen in der unmittelbaren Umgebung.



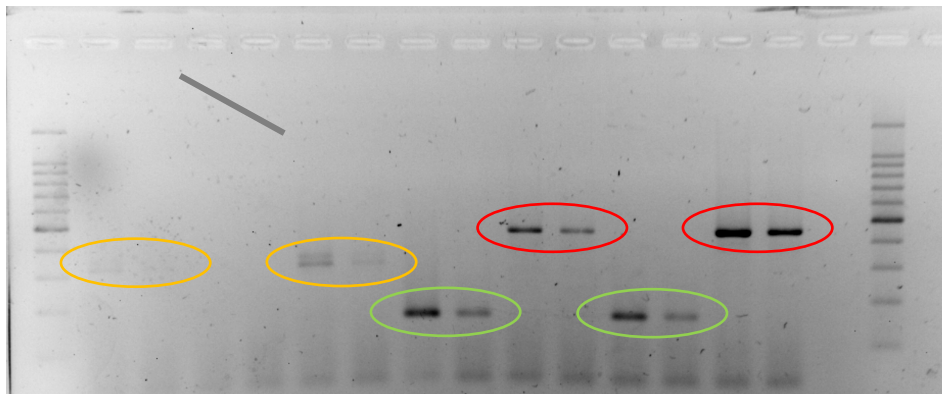
**Abb. 30:** Satelliten-Aufsicht über Besammlungsgebiet in Hernals mit markierten Ovitrapp-Koordinaten und deren Standort-IDs (02-20) sowie einer farblichen Kodierung der Arten-Funde, Screenshot via Google Maps, Stand Februar 2023, mod. von Amelie Bittler (Markierungen und Zahlen beigefügt)

## Labordiagnostische Ergebnisse

Die vier in Österreich vorkommenden Container-brütenden *Aedes*-Arten unterscheiden sich bei der verwendeten Multiplex PCR in ihrer Basenpaaranzahl, weshalb sie auch eine charakteristische Bandenhöhe bei der Auswertung der Gelelektrophorese aufweisen (vgl. Abb. 31). Je weniger Basenpaare in den DNA-Fragmenten enthalten sind, desto schneller wandern sie unter Stromfluss zur Anode (Pluspol). So lassen sich die unterschiedlichen Banden den einzelnen Stechmückenarten zuordnen. Nur die beiden Arten *Ae. geniculatus* und *Ae. koreicus* ähneln sich in ihrer Basenpaaranzahl, weshalb hierfür die jeweilige Art zur eindeutigen Aussage mit einer Einzel-PCR des DNA-Materials bestimmt wurde. Da mehrere Aufnahmen des Agarosegels mit wechselnder Belichtungszeit angefertigt wurden, wählt man die anschaulichste Aufnahme aus, wobei manchmal eine invertierte Aufnahme die Banden deutlicher darstellt (Abb. 32).



**Abb. 32:** Gelelektrophorese-Banden bei 8 Sekunden Belichtung mit DNA-Leiter (+), Negativ-Probe (-), *Ae. geniculatus* (gelb, 272 Basenpaare), Probe ohne Bande (grau), *Ae. japonicus* (grün, 120 Basenpaare) und *Ae. albopictus* (rot, 398 Basenpaare)



**Abb. 31:** Gelelektrophorese-Banden bei 8 Sekunden Belichtung, invertierte Aufnahme zu Abb. 31



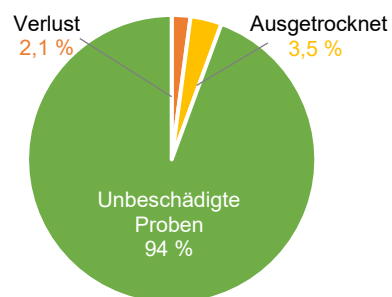
Insgesamt wurden die 18 Ovitrap-Fallen über 21 Zeitfenster von je etwa sieben Tagen beprobt. Die Fallen wurden am 01.06.2022 erstmals aufgestellt und mit dem 25.10.2022 endgültig eingesammelt und somit auch die Saison beendet. Es wurde angestrebt einen regelmäßigen Zeitabstand von sieben Tagen zwischen dem Austauschen der Holzspatel und des Wassers zu erreichen, wobei über die etwa fünf Monate Besammlungszeitraum durchschnittlich ein Zeitabstand von 6,89 Tagen erreicht werden konnte.

Insgesamt wurden über den gesamten Zeitraum bei allen aufgestellten Ovitrap 375-Mal das Probenstäbchen und Wasser ausgewechselt. In 21 Fällen wurden die Ovitrap am Besammlungstag als manipuliert dokumentiert, was einen kompletten Verlust der Falle, das Fehlen des Holzspatels oder Wassers sowie das Umkippen der Ovitrap und so auch ein Trockenlegen des Holzspatels meint (vgl. Tab. 3 & Abb. 33). Falls das Probenstäbchen dennoch, wenn auch ausgetrocknet, vorhanden war, wurde es ebenfalls in der mikroskopischen Analyse beachtet und ausgewertet.

**Tab. 3:** Übersicht manipulierter Ovitrap

|                       | <b>Absolut</b> | <b>Relativ in %</b> |
|-----------------------|----------------|---------------------|
| <b>Ovitrap gesamt</b> | 375            | 100                 |
| Manipuliert gesamt    | 21             | 5,6                 |
| davon Verluste        | 8              | 2,1                 |
| davon ausgetrocknet   | 13             | 3,5                 |
| Unbeschädigte Proben  | 354            | 94,4                |

**Übersicht manipulierter Ovitrap**



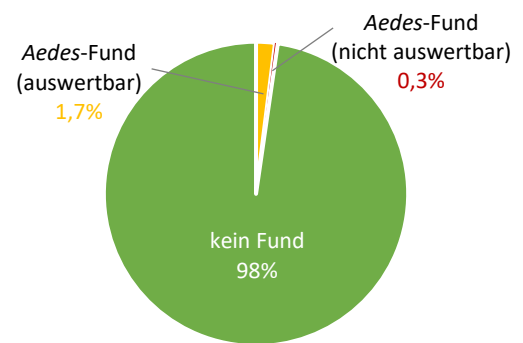
**Abb. 33:** Übersicht manipulierter Ovitrap

Von den 354 unbeschädigten Proben konnten insgesamt auf sieben Holzspateln *Aedes*-Eier detektiert werden, was einen Anteil von 2% Positivproben darstellt. Eine dieser sieben Proben war molekulargenetisch im Labor nicht auswertbar, weshalb sich die auswertbaren Positivproben auf 1,7% des Gesamtanteils schmälern (vgl. Tab. 4 & Abb. 34).

**Tab. 4:** Übersicht Positivproben

|                         | Absolut | Relativ in % |
|-------------------------|---------|--------------|
| Unbeschädigte Ovitrap   | 354     | 100          |
| Fund <i>Aedes</i> -Eier | 7       | 2            |
| davon auswertbar        | 6       | 1,7          |
| davon nicht auswertbar  | 1       | 0,3          |
| kein Fund               | 347     | 98           |

**Übersicht Positivproben**



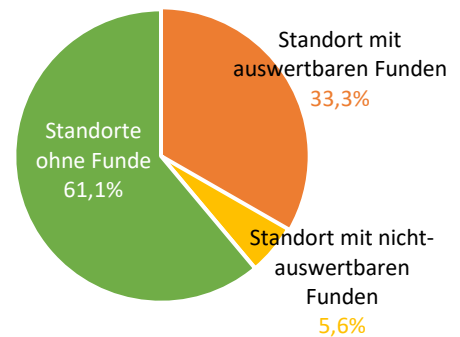
**Abb. 34:** Übersicht Positivproben

Die insgesamt sieben *Aedes*-Funde verteilen sich ebenso auf sieben unterschiedliche Standorte, sodass an keinem Standort ein wiederholter Fund von Eiern beobachtet werden konnte. So ergibt es sich, dass an rund 40% der vorhandenen Standorte einmalig *Aedes*-Eier gefunden werden konnten (vgl. Tab. 5 & Abb. 35).

**Tab. 5:** Übersicht Funde an Standorten

|                        | Absolut | Relativ in % |
|------------------------|---------|--------------|
| Standorte gesamt       | 18      | 100          |
| Standorte mit Funden   | 7       | 38,9         |
| davon auswertbar       | 6       | 33,3         |
| davon nicht auswertbar | 1       | 5,6          |
| Standorte ohne Funde   | 11      | 61,1         |

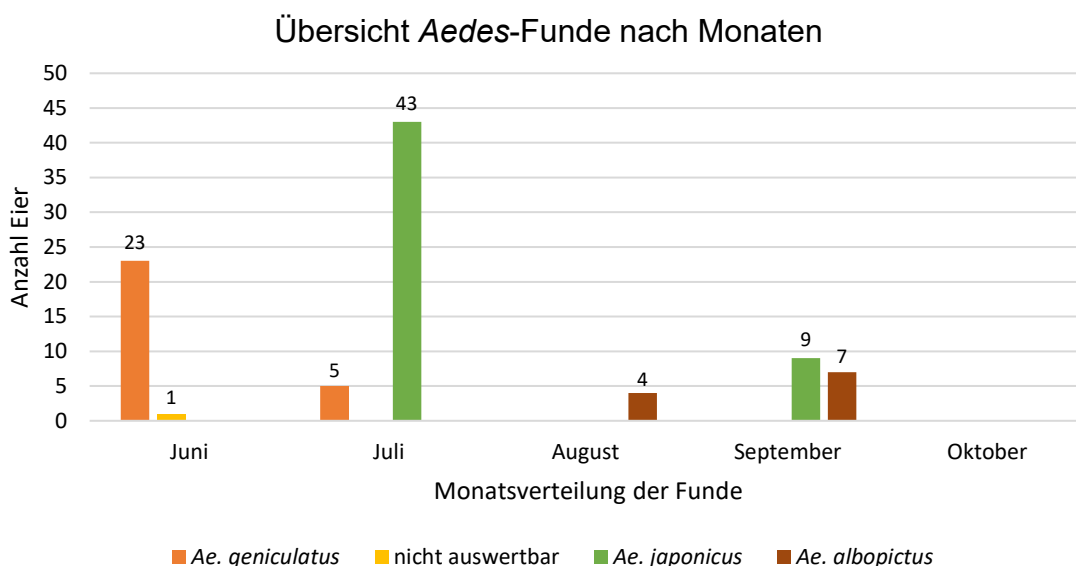
**Übersicht Funde an Standorten**



**Abb. 35:** Übersicht Funde an Standorten

Diese Funde verteilen sich breit gefächert über den gesamten Besammlungszeitraum, sodass im Juni, Juli, August und September, nur nicht im Oktober, mindestens eine positive Probe dokumentiert werden konnte. Die Baumlochmücke *Ae. geniculatus* wurde im Juni und Juli beobachtet. Im Juli konnte ebenso die Asiatische Buschmücke *Ae. japonicus* gefunden werden. Im August wurde erstmals die Asiatische Tigermücke *Ae. albopictus* verzeichnet. Ihr Auffinden wiederholte sich im September gemeinsam mit dem von *Ae. japonicus*. Im Juni, Juli und September konnten jeweils zwei positive Funde gemacht werden, wobei einer der beiden Funde aus dem Monat Juni morphologisch nicht auswertbar war. Es ist zu beachten, dass es

sich bei den Zweifach-Funden dieser Monate nie um die gleiche *Aedes*-Art handelte. Im August konnte nur ein Fund dokumentiert werden. Es kann charakteristisch beobachtet werden, dass der Monat Oktober keine Funde aufweist, da die Temperaturen hier schon meist zu gering sind und sich ebenso die Sonnenstunden pro Tag verkürzen. Dies ist ebenso im Monat Mai zu beobachten, welcher in diesem Monitoring auf Grund dieser Faktoren nicht beprobt wurde (vgl. Ergebnisse Bakran-Lebl 2022). Ebenso auffällig ist, dass die heimische Art *Ae. geniculatus* eher zu Beginn des Monitorings zu finden war und die gebietsfremden Arten sich auf einen Zeitraum von weniger als zwei Monaten (Ende Juli bis Anfang/Mitte September) der insgesamt fünf beprobten Monate verteilten (vgl. Abb. 36 & Tab. 2).



**Abb. 36:** Übersicht *Aedes*-Funde nach Monaten

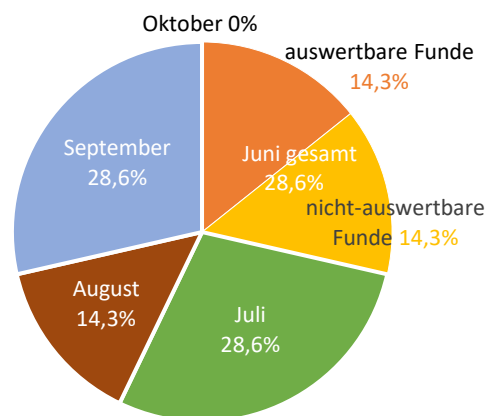
Der genaue Zeitabstand zwischen den einzelnen Funden einer gleichen Stechmückenart kann nicht exakt bestimmt werden, da nicht rekonstruiert werden kann, ob das Weibchen seine Eier kurz nachdem das neue Holzstäbchen in der Ovitrap positioniert wurde oder kurz bevor es wieder entnommen wurde, gelegt hat. Wenn die Eiablage also z.B. zu Beginn des ersten Fundzeitraums, jedoch zu Ende des zweiten stattfand, ergibt sich eine zusätzliche Differenz von etwa zwei Wochen. So liegt der Zeitabstand zwischen den beiden auswertbaren Funden der Baumlochmücke also bei mindestens zwei und maximal vier Wochen. Es wird ein mittlerer Wert von etwa drei Wochen angenommen. Die Asiatische Buschmücke weist den längsten mittleren Zeitabstand von sieben Wochen zwischen ihren einzelnen Funden auf und die Asiatische Tigermücke einen Mittelwert von vier Wochen (vgl. Tab. 2).

Die beiden Monate Juli und September weisen mit jeweils 28,6% Anteil an der Gesamtfundmenge die meisten auswertbaren *Aedes*-Funde auf, gefolgt von den Monaten Juni und August mit je 14,3% (Tab. 6 & Abb. 37).

**Tab. 6:** Verteilung *Aedes*-Funde auf Monate

|                          | Absolut | Relativ in %<br>(Aufgerundet) |
|--------------------------|---------|-------------------------------|
| Funde gesamt             | 7       | 100                           |
| Juni                     | 2       | 28,6                          |
| davon nicht auswertbar   | 1       | 14,3                          |
| Juli                     | 2       | 28,6                          |
| August                   | 1       | 14,3                          |
| September                | 2       | 28,6                          |
| Oktober                  | 0       | 0                             |
| Auswertbare Funde gesamt | 6       | 85,7                          |

**Verteilung *Aedes*-Funde auf Monate**



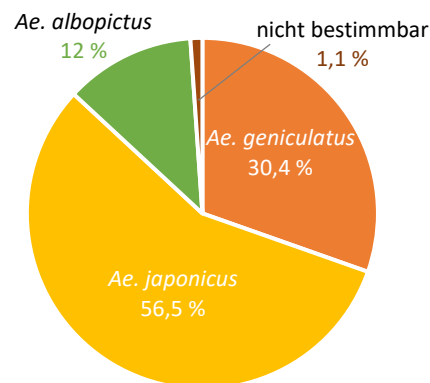
**Abb. 37:** Verteilung *Aedes*-Funde auf Monate

Wenn man die Anzahl der Eier betrachtet ist festzustellen, dass über die Hälfte der insgesamt 92 Eier von der Asiatischen Buschmücke stammt. Etwa ein Drittel stammt von der Baumlochmücke und nur ein Achtel von der Asiatischen Tigermücke (vgl. Tab. 7 & Abb. 38).

**Tab. 7:** Verteilung Eier pro Stechmückenart

|                                     | Absolut | Relativ in % |
|-------------------------------------|---------|--------------|
| gesammelte Eier gesamt              | 92      | 100          |
| <i>Ae. geniculatus</i>              | 28      | 30,4         |
| <i>Ae. japonicus</i>                | 52      | 56,5         |
| <i>Ae. albopictus</i>               | 11      | 12           |
| unbekannt                           | 1       | 1,1          |
| molekulargenetisch auswertbare Eier | 91      | 98,9         |

**Verteilung Eier pro Stechmückenart**



**Abb. 38:** Verteilung Eier pro Stechmückenart

## 5 Diskussion

Die Funde des jüngsten Stechmücken-Monitorings auf *Aedes*-Arten in Wien, Hernals 2022 zeigen sich in vielseitigem Charakter. Es konnten drei der vier in Österreich vorkommenden Container-brütenden *Aedes*-Arten unter der dortigen Besammlung mit Ovitrapp-Fallen festgestellt werden: *Aedes geniculatus*, *Ae. japonicus* und *Ae. albopictus*. Die Funde verteilten sich über einen Zeitraum von etwa zweieinhalb Monaten, ebenso wurde keiner der Standorte doppelt positiv beprobt. Bei *Ae. geniculatus* ist das Auffinden keine Ausnahme, da es sich um eine heimische *Aedes*-Art, die weitreichend in Österreich vorkommt, handelt (Bakran-Lebl et al. 2022). Ebenso gilt *Ae. japonicus* als bundesweit etablierte Art, die seit 2011 regelmäßig im Land verzeichnet wird (Seidel et al. 2012, Bakran-Lebl et al. 2022). Beide dieser Arten weisen keine gesteigerte medizinische Relevanz als Vektor zur Übertragung human- und veterinärrelevanter Krankheiten auf (Bakran-Lebl 2022, Prudhomme et al. 2019).

Der Fund von *Ae. albopictus* ist jedoch von besonderem Interesse, da es sich hier um eine potenziell invasive Stechmückenart aus dem südostasiatischen Raum handelt, welche eine wichtige Rolle als Vektor zur Erregerübertragung einnimmt (Paupy et al. 2009). Sie wurde im Jahr 2012 erstmals in Österreich und 2020 dann auch in Wien detektiert (Seidel et al. 2012, Bakran-Lebl et al. 2021) und hat die zentrale Rolle in dieser Diplomarbeit. Nach dem Erstfund in Wien 2020 konnte sie auch im darauffolgenden Jahr erneut am selben Standort, sowie an zwei weiteren dokumentiert werden. Einer dieser weiteren Standorte war der Standort „HER02“ (vgl. Tab. 1) nahe dem Busbahnhof „Leopold-Kunschak-Platz“ in 1170 Wien, Hernals (Bakran-Lebl 2022). Die zentrale Frage, ob die Asiatische Tigermücke in dieser Gegend auch erneut im Folgejahr 2022 nachzuweisen sein wird, konnte im Rahmen dieser Diplomarbeit bestätigt werden. Es wurden am selben Standort wie im Vorjahr Eier der Tigermücke gefunden. Dieses Jahr konnte ebenso erstmals ein weiterer Standort in Hernals, welcher sich nur wenige hundert Meter entfernt befindet, positiv beprobt werden.

Welche konkreten Rückschlüsse und Aussagen diese beiden Funde nun auf den vorhandenen Tigermücken-Bestand in Österreich und Wien oder zukünftige Entwicklungen zulassen, ist mit Vorsicht zu beurteilen. Zunächst empfiehlt es sich einen genaueren Überblick über die Funde zu erhalten, indem man diese im Kontext mit ihrer Umgebung, dem Fundzeitpunkt sowie vergangenen Einschleppungs-Ereignissen betrachtet.

Wenn man die landschaftliche Umgebung des Besammlungsgebiets betrachtet, findet man auf dem Friedhof Hernals vornehmlich Grünflächen, Bäume und Büsche, oberhalb des Friedhofs gelegene Gärten einer Kleingartensiedlung und um den weiter unten gelegenen Busbahnhof eher beginnendes Wohngebiet, Steinmetze und Friedhofsgärtner. Eine Besonderheit der Gegend ist zudem das nahegelegene Krankenhaus „Göttlicher Heiland“ sowie das Seniorenheim „Kuratorium Wiener Pensionisten-Wohnhäuser - Haus Alszeile“. Eine fortschreitende Ausbreitung der Asiatischen Tigermücke in dieser Gegend wäre also von besonderer medizinischer Relevanz, da erkrankte sowie alte Menschen ein höheres Risiko aufweisen, bei möglichen Infektionen durch Vektoren einen schweren Krankheitsverlauf zu entwickeln.

Der Standort des ersten Tigermückenfunds (HER02) befindet sich sonnengeschützt unter einer Steinbank im Garten der Bildhauerei „Arteum“, die neben dem Busbahnhof am Leopold-Kunschak-Platz gelegen ist und im Vorjahr ebenso positiv beprobt werden konnte. Der Garten ist vielfältig begrünt und mit einem Wasserbrunnen, einem kleinen Teich und vielen Blumentöpfen bestückt. Der zweite Fund (HER18) wurde mindestens drei und maximal fünf Wochen später bei einem Busch am Friedhof Hernals detektiert (vgl. Tab. 2). Bei beiden Standorten sind viele weitere potenzielle Brutstätten zu beobachten, sowohl im Garten bei HER02 durch wassergefüllte Blumentöpfe oder Gießkannen (vgl. Abb. 22) als auch auf dem Friedhofsgelände durch wassergefüllte Steintröge als auch unbestückte Friedhofsvasen (vgl. Abb. 20 & 21). Neben den aufgestellten Ovitrap hielten die Stechmücken also eine vielseitige Auswahl an alternativen Brutstätten, weshalb die Funde in den Ovitrap nur als anschauliche Übersicht zu verstehen sind und angenommen werden kann, dass weitere *Aedes*-Eier in der Umgebung abgelegt wurden.

Typischerweise zeigt sich die Haupt-Brutsaison der Asiatischen Tigermücke zwischen Anfang Juni und Ende September, wobei dies je nach Wetterlage und Saison auch variieren kann (Unlu et al. 2021, Bakran-Lebl 2022, Bakran-Lebl und Reichl 2023). Der Zeitraum dieser Funde weicht mit Mitte August und Anfang/Mitte September also nicht von der zu erwartenden Norm ab. Es kann ebenso beim Betrachten der Ovitrap-Monitoring Berichte von Bakran-Lebl (2022) und Bakran-Lebl und Reichl (2023) verglichen werden, dass ein Abstand von wenigen Wochen zwischen den jeweiligen Funden keine Seltenheit ist. Im Jahr 2021 befand sich die mittlere Anzahl der Eier pro Tag bei jedem Tigermücken-Fund, genau wie auch bei diesen beiden Funden, unter zehn Stück (Bakran-Lebl 2022). Ähnlich wie auch im Jahr 2022, wo nur zwei

Standorte in der Steiermark mit einer höheren Eier-Anzahl von bis zu 20 Stück eine Ausnahme darstellten (Bakran-Lebl und Reichl 2023).

Der Sommer 2022 wurde von der Zentralanstalt für Meteorologie und Geodynamik (ZAMG) als der viertwärmste Sommer in Österreich seit der Messgeschichte bezeichnet (ZAMG 2022a), ebenso wie der Monat August 2022 als einer der wärmsten der Messgeschichte gewertet wurde. In Wien wurde im August weniger Niederschlag als erwartet verzeichnet während gleichzeitig jedoch  $+1,6^{\circ}\text{C}$  über dem Mittel dokumentiert wurde (ZAMG 2022b). Über den September 2022 berichtet die ZAMG, dass er zunächst warm und sommerlich, ab der Monatsmitte jedoch ungewöhnlich kühl verlaufen sei (ZAMG 2022c). Dies könnte ein Grund sein, weshalb *Ae. albopictus* nach dem letzten Fund zwischen dem 05.-14.09.22 nicht mehr nachgewiesen werden konnte. Jedoch spielen letztlich verschiedenste Faktoren zusammen, anhand welcher man in Ansätzen dann die genauen Fundzeiträume erklären kann. Neben den Lufttemperaturen oder Windgeschwindigkeiten ist nicht zuletzt der Zeitpunkt eines möglichen Einschleppungs-Ereignisses ausschlaggebend, da nicht immer von einer überwinterten oder bereits etablierten Generation ausgegangen werden kann.

Wenn man den Zeitraum des Tigermücken-Funds aus dem Jahr 2021 in Hernals mit dem aus 2022 vergleicht, fällt auf, dass sich die Fundzeiträume der beiden Jahre fast miteinander überschneiden. Im Jahr 2021 wurden die Eier bei HER02 zwischen den Kalenderwochen (KW) 33 & 34 gefunden (16.08- 29.08.21) und im Folgejahr 2022 nur kurze Zeit zuvor in den KW 32 & 33 (08.08.-21.08.22) (Bakran-Lebl 2022, Bakran-Lebl und Reichl 2023). Ob das erneute Auffinden der Asiatischen Tigermücke im August durch den generell alljährlich beobachteten Stechmücken-Peak dieses Monats in Kombination mit einem erneuten Einschleppungsereignis oder mit einer erstmaligen Überwinterung einer Generation an diesem Standort zu erklären ist, lässt sich nur vermuten. Auf der einen Seite erhärtet der erneute Fund von Tigermücken-Eiern an demselben Standort die Annahme, dass es in unmittelbarer Umgebung weitere Brutstätten und somit auch mögliche Überwinterungsereignisse gegeben haben könnte, jedoch stellt sich dann die Frage, warum es bei möglicherweise überwinterten Individuen nur zu einem singulären Fund in der Ovitrap gekommen ist. Ein weiterer Aspekt, der berücksichtigt werden muss, ist jener, dass 2021 nur insgesamt fünf Standorte in Hernals beprobt wurden, die jeweils mehrere hundert Meter voneinander entfernt lagen. Keiner dieser Standorte befand sich auf dem Friedhof Hernals, sondern in Hinterhöfen oder Gärten von Bildhauer- oder Gärtnerbetrieben. Es ist also auch ungewiss, ob der diesjährige Fund auf dem

Friedhof tatsächlich erstmalig auftrat oder bereits im Vorjahr bei dortiger Beprobung hätte verzeichnet werden können.

Um die Funde aus Hernals mit den weiteren *Aedes*-Funden des Jahres 2022 in Wien sowie in ganz Österreich zu vergleichen und so eine Entwicklungstendenz abzuleiten, werden diese im Folgenden in den Kontext zueinander gesetzt.

Im Jahr 2022 konnte die Asiatische Tigermücke erstmals in allen österreichischen Bundesländern detektiert werden. In Teilen der Städte Wien und Graz spricht man nun bereits von etablierten Populationen. Neben dem Standort Hernals wurden in Wien zehn weitere Gegenden beprobt, wovon die Asiatische Tigermücke an vier zu finden war. Dabei handelt es sich um den Prater, den Kleingartenverein Wasserwiese, das Gänsehäufel sowie den Busbahnhof Erdberg. Bei den Funden an den Standorten Wasserwiese, Gänsehäufel und Hernals handelt es sich um wiederholte Funde, die bereits im Vorjahr nachgewiesen wurden. Bei den Standorten Prater und Busbahnhof Erdberg handelt es sich um erstmalige Funde, wobei diese auch noch nicht in diesem Ausmaß im Vorjahr beprobt wurden. Aufgrund des stetigen Auffindens der Asiatischen Tigermücke über mehrere Wochen hinweg an den Standorten Gänsehäufel, Wasserwiese sowie Prater, ist von einer etablierten Population zu sprechen. Von Ende Mai bis Ende September waren hier *Aedes*-Eier zu finden, wobei sich die Funde von Anfang Juni bis Anfang September verdichteten. Dahingegen werden die Funde an den Busbahnhöfen Hernals und Erdberg als vermutlich einmaliges Einschleppungsereignis über den Busverkehr diskutiert (Bakran-Lebl und Reichl 2023).

Im Vorjahr 2021 hingegen wurden nur in fünf von neun Bundesländern Funde von *Ae. albopictus* verzeichnet. In Wien wurden insgesamt acht Standorte beprobt, wobei drei von ihnen positiv waren: Kleingartenverein Wasserwiese, Gänsehäufel und Hernals. Bereits hier konnten beim Standort Wasserwiese von Mitte Juni bis Ende September durchgängig Positivfunde generiert werden, was für eine bereits etablierte Population spricht. Am Standort Gänsehäufel konnten nur von Mitte August bis Anfang September *Aedes*-Eier gefunden werden. Im Vergleich zum Folgejahr 2022, in welchem dieser Standort dann von Mitte Juni bis Mitte September durchgängig positiv beprobt werden konnte, ist anzunehmen, dass von 2021 auf 2022 eine Überwinterung stattfand und sich deshalb im Jahr 2022 eine so starke Saison zeigte (Bakran-Lebl 2022).

Wie bereits aufgeführt, stellte der Erstfund der Asiatischen Tigermücke in Wien 2020 auch den Erstfund dieser Art im Osten Österreichs dar. Er befand sich bei der Kleingartensiedlung



Wasserwiese beim Prater, sowie an zwei Standorten nahe der Region Kaiserwasser. Bei den Kleingartensiedlungen wurden mehrere Ovitrap, sowie BG Sentinel-Fallen, die adulte Stechmücken anlocken sollen, aufgestellt. Es wurden mehr als 100 adulte Tigermücken, sowie fast 50 Eier gefunden. Diese Beprobung wurde nach einer Bürgermeldung initiiert, bei der von einer auffällig aussehenden Stechmücke, die sich als Asiatische Tigermücke erwies, berichtet wurde (Bakran-Lebl et al. 2021). Bei der Begehung der Gärten berichteten mehrere Bürger bereits davon, massiv von dem Beißverhalten der Tigermücken belästigt zu werden (Bakran-Lebl 2022). Anhand der vielzähligen, bereits 2020 generierten Funde auf *Ae. albopictus*, lässt sich auch das auffallende Ergebnis der ausführlicheren Beprobung des Praters 2022 erklären. Die Asiatische Tigermücke konnte über die letzten Jahre eine stabile Population in dieser Region aufbauen.

Da sich die Asiatische Tigermücke innerhalb der letzten Jahre zunehmend über Verkehrs- und Handelswege im Land ausbreiten konnte, wird 2022 schon von etablierten Populationen in Teilen der Städte Wien und Graz gesprochen. Die beiden Funde nahe dem Busbahnhof in Hernals stehen repräsentativ für die immer fortschreitenden Einschleppungsereignisse über Verkehrs- und Reiserouten und stellen leider keine Ausnahmen mehr dar. Mit sich weiter wiederholenden Einschleppungen steigt die Wahrscheinlichkeit auf eine lokale Etablierung an, wie man anhand der ersten einzelnen Funde in Wien nahe der Südosttangente A23 und der heutigen etablierten Population in diesen Regionen verfolgen kann. Diese beobachtete Tendenz ist alarmierend für das öffentliche Gesundheitssystem. Auch wenn es bereits einige Maßnahmen im Rahmen von Präventionsprogrammen wie die „Mosquito Alert App“, bei welcher Bürger Sichtungen von auffälligen Stechmücken melden können oder das EU-Projekt „AIM-COST“, bei welchem ein europaweit grenzüberschreitender Austausch von Probandaten sowie eine Vereinheitlichung des Monitorings für eine bessere Vergleichbarkeit forciert wird (Bakran-Lebl 2022), gibt, werden weitere Maßnahmen in Zukunft nötig sein, um die fortschreitende Etablierung zu verlangsamen. Diese würde nämlich nicht nur eine steigende human- und veterinärmedizinische Gefahr aufgrund der Vektorkompetenz der Asiatischen Tigermücke auf verschiedene Arboviren und Dirofilarien darstellen, sondern die Stadt auch vor steigende Kosten für ausgeweitete Vektorkontrollen oder auch Untersuchungen auf West-Nil-Virus in Blutspenden, falls sich die Gegend zu einem bestätigten Endemiegebiet entwickelt sollte. Es wird klar, dass zukünftig ein weiterer Anstieg etablierter Populationen in Österreich sowie in Wien zu erwarten ist und eine große Dringlichkeit für strategische Gegenmaßnahmen besteht.

## 6 Zusammenfassung

Die Gegend um den Busbahnhof Hernals wurde von Juni bis Oktober 2022 mittels Ovitrap auf Container-brütende *Aedes*-Arten beprobt. Es stellte sich die zentrale Frage, ob die potenziell invasive Asiatische Tigermücke nach dem erstmaligen Fund nahe dem Busbahnhof Hernals 2021 auch im kommenden Jahr 2022 in dieser Gegend zu detektieren sei.

Es wurden insgesamt 18 Standorte rund um den Busbahnhof Hernals ausgewählt, welche für knapp fünf Monate lang mit Ovitrap beprobt wurden. Diese wurden in einem regelmäßigen Intervall von etwa einer Woche ausgetauscht und das Holzstäbchen auf *Aedes*-Eier ausgewertet. Insgesamt konnten auf sieben Holzstäbchen *Aedes*-Eier nachgewiesen werden. Mittels PCR und Gelelektrophorese konnte man zwei der Proben als *Ae. geniculatus* (Baumlochmücke), zwei weitere als *Ae. japonicus* (Asiatische Buschmücke), eine als nicht auswertbar und ebenso zwei Proben als *Ae. albopictus* (Asiatische Tigermücke) identifizieren. Bei *Ae. geniculatus* handelt es sich um eine einheimische Stechmückenart und obwohl *Ae. japonicus* im Raum Ostasiens beheimatet, gilt diese ebenso seit mehreren Jahren als etablierte Art in Österreich. Dahingegen zählt die ebenso im asiatischen Raum beheimatete Asiatische Tigermücke als potenziell invasive Art, die bislang in Österreich vornehmlich in der Nähe von Fernverkehrsrouten detektiert wurde und als noch nicht etabliert gilt.

Da die Asiatische Tigermücke als kompetenter Vektor für human- sowie veterinärmedizinisch relevante Krankheitserreger wie das Chikungunya-, Dengue- und West-Nil-Virus sowie *Dirofilaria immitis* und *repens* verstanden wird, würde eine fortschreitende Ausbreitung der Art im Land eine zunehmende Gefährdung der öffentlichen Gesundheit darstellen.

Die Asiatische Tigermücke konnte 2022 ein wiederholtes Mal nahe dem Busbahnhof Hernals nachgewiesen werden. Eine weiter fortschreitende Ausbreitung dieser invasiven Art ist in den nächsten Jahren im Land zu erwarten, weshalb eine Einleitung organisierter Gegenmaßnahmen indiziert ist.

## 7 Summary

The area surrounding the bus terminal Hernalds was sampled for container-breeding *Aedes* species using ovitraps from June to October 2022. The central question was whether the potentially invasive Asian tiger mosquito, after its first discovery near the bus terminal Hernalds in 2021, could also be detected in this area in 2022.

A total of 18 sites around the bus terminal Hernalds were selected and sampled with ovitraps for nearly five months. These traps were replaced at regular intervals of about one week, and the wooden stick was evaluated for *Aedes* eggs. In total, *Aedes* eggs were detected on seven wooden sticks. Using PCR and gel electrophoresis, two samples were identified as *Ae. geniculatus* (tree hole mosquito), two as *Ae. japonicus* (Asian bush mosquito), one was not evaluable, and two samples as *Ae. albopictus* (Asian tiger mosquito). *Ae. geniculatus* is a native mosquito species, and although *Ae. japonicus* is native to East Asia, it has also been established as a species in Austria for several years. In contrast, the Asian tiger mosquito, which is also native to Asia, is considered a potentially invasive species that has so far in Austria been primarily detected near long-distance travel routes and is not yet established.

As the Asian tiger mosquito is understood to be a competent vector for human and veterinary pathogens such as Chikungunya, Dengue, West Nile virus, as well as *Dirofilaria immitis* and *repens*, a progressive spread of this species in the country would pose an increasing threat to public health.

The Asian tiger mosquito was detected again near the bus terminal Hernalds in 2022. A further progressive spread in the country of this invasive species in the coming years is expected, and an organized countermeasure order is indicated.

## 8 Literaturverzeichnis

Adhami J, Reiter P. (1998) Introduction and establishment of *Aedes* (*Stegomyia*) *albopictus* skuse (Diptera: Culicidae) in Albania. J Am Mosq Control Assoc. (3):340-3. PMID: 9813831.

Arnold A., Kaiser A, Schäfer M, Becker N. (2005) Die biologische Stechmückenbekämpfung am Oberrhein. In Artenvielfalt in Heidelberg, Hrsg. von Brandis D, Hollert H, Storch V., 2. bearb. u. erweiterte Aufl. – Heidelberg: Selbstverlag.

Bakran-Lebl K. (2022). Ovitrap-Monitoring gebietsfremder Gelsenarten in Österreich. Jahresbericht 2021. <https://www.ages.at/forschung/wissen-aktuell/detail/ovitrap-monitoring-gebietsfremder-gelsenarten-in-oesterreich>, Zugriff am 18.11.2022

Bakran-Lebl K, Fuehrer HP. (2020). Die Gelsen Österreichs – altbekannte und neue Plagegeister. <https://www.austrianbiologist.at/aba/magazin/blog/2020/11/18/die-gelsen-oesterreichs-altbekannte-und-neue-plagegeister/#lit3>, Zugriff am 09.11.2022

Bakran-Lebl K, Pree S, Brenner T, Daroglou E, Eigner B, Griesbacher A, Gunczy J, Hufnagl P, Jäger S, Jerrentrup H, Klocker L, Paill W, Petermann JS, Barogh BS, Schwerte T, Suchentrunk C, Wieser C, Wortha LN, Zechmeister T, Zezula D, Zimmermann K, Zित्रa C, Allerberger F, Fuehrer HP. (2022) First Nationwide Monitoring Program for the Detection of Potentially Invasive Mosquito Species in Austria. Insects. 13(3):276. doi: 10.3390/insects13030276. PMID: 35323574; PMCID: PMC8949374.

Bakran-Lebl K, Reichl J. (2023). Ovitrap-Monitoring gebietsfremder Gelsenarten in Österreich. Jahresbericht 2022. <https://www.ages.at/forschung/wissen-aktuell/detail/ovitrap-monitoring-gebietsfremder-gelsenarten-in-oesterreich-jahresbericht-2022>, Zugriff am 05.05.2023

Bakran-Lebl K, Zित्रa C, Harl J, Shahi-Barogh B, Grätzl A, Ebmer D, Schaffner F, Fuehrer HP. (2021) Arrival of the Asian tiger mosquito, *Aedes albopictus* (Skuse, 1895) in Vienna, Austria and initial monitoring activities. Transbound Emerg Dis. 68(6):3145-3150. doi: 10.1111/tbed.14169. Epub 2021 Jun 7. PMID: 34051130.

Bamou R, Mayi MPA, Djiappi-Tchamen B, Nana-Ndjangwo SM, Nchoutpouen E, Cornel AJ, Awono-Ambene P, Parola P, Tchuinkam T, Antonio-Nkondjio C. (2021) An update on the mosquito fauna and mosquito-borne diseases distribution in Cameroon. Parasit Vectors. 14(1):527. doi: 10.1186/s13071-021-04950-9. PMID: 34635176; PMCID: PMC8507310.

Becker N, Petric D, Zgomba M, Boase C, Madon M, Dahl C, Kaiser A. (2010). Mosquitoes and Their Control. Zweite Aufl. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag.

Belkin N. John (1962) *The Mosquitoes of the South Pacific (Diptera, Culicidae)*. University of California Press, Berkeley/ Los Angeles

Beltrame A, Angheben A, Bisoffi Z, Monteiro G, Marocco S, Calleri G, Lipani F, Gobbi F, Canta F, Castelli F, Gulletta M, Bigoni S, Del Punta V, Iacovazzi T, Romi R, Nicoletti L, Ciufolini MG, Rorato G, Negri C, Viale P. (2007) Imported Chikungunya Infection, Italy. *Emerg Infect Dis.* 13(8):1264-6. doi: 10.3201/eid1308.070161. PMID: 17953112; PMCID: PMC2828087.

BMSGPK, Bundesministerium für Soziales, Gesundheit, Pflege und Konsumentenschutz (2019). Malaria. <https://www.sozialministerium.at/Themen/Gesundheit/Uebertragbare-Krankheiten/Infektionskrankheiten-A-Z/Malaria.html>, Zugriff am 10.11.2022

Bonnet DD, Worcester DJ. (1946) The dispersal of *Aedes albopictus* in the territory of Hawaii. *Am J Trop Med Hyg.* 26:465-76. doi: 10.4269/ajtmh.1946.s1-26.465. PMID: 20996630.

Camp JV, Kolodziejek J, Nowotny N. (2019) Targeted surveillance reveals native and invasive mosquito species infected with Usutu virus. *Parasit Vectors.* 12(1):46. doi: 10.1186/s13071-019-3316-z. PMID: 30665453; PMCID: PMC6341546.

Cancrini G, Romi R, Gabrielli S, Toma L, Di Paolo M, Scaramozzino P. (2003) First finding of *Dirofilaria repens* in a natural population of *Aedes albopictus*. *Med Vet Entomol.* 17(4):448-51. doi: 10.1111/j.1365-2915.2003.00463.x. PMID: 14651660.

Capelli G, Drago A, Martini S, Montarsi F, Soppelsa M, Delai N, Ravagnan S, Mazzon L, Schaffner F, Mathis A, Di Luca M, Romi R, Russo F. (2011) First report in Italy of the exotic mosquito species *Aedes (Finlaya) koreicus*, a potential vector of arboviruses and filariae. *Parasit Vectors.* 4:188. doi: 10.1186/1756-3305-4-188. PMID: 21951867; PMCID: PMC3203849.

Chaiphongpachara T, Changbunjong T, Sumruayphol S, Laojun S, Suwandittakul N, Kuntawong K. (2022) Geometric morphometrics versus DNA barcoding for the identification of malaria vectors *Anopheles dirus* and *An. baimaii* in the Thai-Cambodia border. *Sci Rep.* 12(1):13236. doi: 10.1038/s41598-022-17646-6. PMID: 35918453; PMCID: PMC9345986.

Cheng G, Liu Y, Wang P, Xiao X. (2016) Mosquito Defense Strategies against Viral Infection. *Trends Parasitol.* 32(3):177-186. doi: 10.1016/j.pt.2015.09.009. Epub. PMID: 26626596; PMCID: PMC4767563.

Danks HV. (1987) *Insect dormancy: an ecological perspective (Biological Survey of Canada Monograph Series, No 1)* Broadway: Entomological Society of Canada.

Delatte H, Gimonneau G, Triboire A, Fontenille D. (2009) Influence of temperature on immature development, survival, longevity, fecundity, and gonotrophic cycles of *Aedes albopictus*, vector of chikungunya and dengue in the Indian Ocean. *J Med Entomol.* 46(1):33-41. doi: 10.1603/033.046.0105. PMID: 19198515.

Diniz DFA, de Albuquerque CMR, Oliva LO, de Melo-Santos MAV, Ayres CFJ. (2017) Diapause and quiescence: dormancy mechanisms that contribute to the geographical expansion of mosquitoes and

their evolutionary success. *Parasit Vectors*. 10(1):310. doi: 10.1186/s13071-017-2235-0. PMID: 28651558; PMCID: PMC5485599.

Dixson A, Jackson RN, Rowe RD, Nease R, Fryxell RTT. (2020) *Aedes albopictus* oviposits with other *Aedes* species in artificial oviposition cups: a case study in Knox County, Tennessee, U.S.A. *J Vector Ecol*. 45(1):2-15. doi: 10.1111/jvec.12368. PMID: 32492282.

ECDC, European Centre for Disease Prevention and Control (2012) Guidelines for the surveillance of invasive mosquitoes in Europe. Stockholm: ECDC. Stockholm, August 2012 ISBN 978-929193-378-5. 10.2900/61134

ECDC, European Centre for Disease Prevention and Control (2022). Mosquito maps. Stockholm: ECDC. <https://ecdc.europa.eu/en/disease-vectors/surveillance-and-disease-data/mosquito-maps>, Zugriff am 22.10.2022

Eldridge BF. (1968) The effect of temperature and photoperiod on blood-feeding and ovarian development in mosquitoes of the *Culex pipiens* complex. *Am J Trop Med Hyg*. 17(1):133-40. doi: 10.4269/ajtmh.17.133. PMID: 5688903.

Flacio, E., Engeler, L., Tonolla, M., & Müller, P. (2016). Spread and establishment of *Aedes albopictus* in southern Switzerland between 2003 and 2014: an analysis of oviposition data and weather conditions. *Parasites & Vectors*, 9.

Fuehrer HP, Schoener E, Weiler S, Barogh BS, Zित्रa C, Walder G. (2020) Monitoring of alien mosquitoes in Western Austria (Tyrol, Austria, 2018). *PLoS Negl Trop Dis*. 14(6):e0008433. doi: 10.1371/journal.pntd.0008433. PMID: 32574163; PMCID: PMC7337398.

Gibson G, Russell I. (2006) Flying in tune: sexual recognition in mosquitoes. *Curr Biol*. 16(13):1311-6. doi: 10.1016/j.cub.05.053. PMID: 16824918.

Hanson SM, Craig GB Jr. (1994) Cold acclimation, diapause, and geographic origin affect cold hardiness in eggs of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). *J Med Entomol*. 31(2):192-201. doi: 10.1093/jmedent/31.2.192. PMID: 8189409.

Hiepe T, Lucius R, Gottstein B. (2006). *Allgemeine Parasitologie, mit den Grundzügen der Immunologie, Diagnostik und Bekämpfung*. Erste Aufl. Stuttgart: Paul Parey Verlag.

Kampen H, Werner D. (2014) Out of the bush: the Asian bush mosquito *Aedes japonicus japonicus* (Theobald, 1901) (Diptera, Culicidae) becomes invasive. *Parasit Vectors*. 7:59. doi: 10.1186/1756-3305-7-59. PMID: 24495418; PMCID: PMC3917540.

Kauffman EB, Kramer LD. (2017) Zika Virus Mosquito Vectors: Competence, Biology, and Vector Control. *J Infect Dis*. 216(suppl\_10):S976-S990. doi: 10.1093/infdis/jix405. PMID: 29267910; PMCID: PMC5853459.

Klowden MJ. (1996) Endogenous factors regulating mosquito host-seeking behaviour. Ciba Found Symp. 200:212-23; discussion 223-32. doi: 10.1002/9780470514948.ch16. PMID: 8894300.

Knudsen AB, Romi R, Majori G. (1996) Occurrence and spread in Italy of *Aedes albopictus*, with implications for its introduction into other parts of Europe. J Am Mosq Control Assoc. 12(2 Pt 1):177-83. PMID: 8827590.

Kobayashi M, Nihei N, Kurihara T. (2002) Analysis of northern distribution of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in Japan by geographical information system. J Med Entomol. 39(1):4-11. doi: 10.1603/0022-2585-39.1.4. PMID: 11931270.

Krenn, H. W. & Aspöck, H. (2010). Bau, Funktion und Evolution der Mundwerkzeuge blutsaugender Arthropoden. In: Aspöck, H. (Hrsg.). Krank durch Arthropoden – Denisia 30. Linz: Biologiezentrum/Oberösterreichische Landesmuseen

Lapshin DN, Vorontsov DD. (2017) Frequency organization of the Johnston's organ in male mosquitoes (Diptera, Culicidae). J Exp Biol. 220(Pt 21):3927-3938. doi: 10.1242/jeb.152017. Epub 2017 Aug 29. PMID: 28851820.

Lebl K, Zित्रa C, Silbermayr K, Obwaller A, Berer D, Brugger K, Walter M, Pinior B, Fuehrer HP, Rubel F. (2015) Mosquitoes (Diptera: Culicidae) and their relevance as disease vectors in the city of Vienna, Austria. Parasitol Res. 114(2):707-13. doi: 10.1007/s00436-014-4237-6. Epub 2014 Dec 3. PMID: 25468380; PMCID: PMC4303709.

Lehane MJ (2005). The biology of blood-sucking in insects. Cambridge University Press, New York, [https://web.natur.cuni.cz/parasitology/vyuka/LekEnt\\_CV/The%20Biology%20of%20Blood-Sucking%20in%20Insects.pdf](https://web.natur.cuni.cz/parasitology/vyuka/LekEnt_CV/The%20Biology%20of%20Blood-Sucking%20in%20Insects.pdf), Zugriff am 02.11.2022

Madon MB, Mulla MS, Shaw MW, Kluh S, Hazelrigg JE. (2002) Introduction of *Aedes albopictus* (Skuse) in southern California and potential for its establishment. J Vector Ecol. 27(1):149-54. PMID: 12125866.

Martinet JP, Ferté H, Failloux AB, Schaffner F, Depaquit J. (2019) Mosquitoes of North-Western Europe as Potential Vectors of Arboviruses: A Review. Viruses. 11(11):1059. doi: 10.3390/v11111059. PMID: 31739553; PMCID: PMC6893686.

Medlock JM, Hansford KM, Versteirt V, Cull B, Kampen H, Fontenille D, Hendrickx G, Zeller H, Van Bortel W, Schaffner F. (2015) An entomological review of invasive mosquitoes in Europe. Bull Entomol Res. 105(6):637-63. doi: 10.1017/S0007485315000103. Epub. PMID: 25804287.

Medlock JM, Hansford KM, Schaffner F, Versteirt V, Hendrickx G, Zeller H, Van Bortel W. (2012) A review of the invasive mosquitoes in Europe: ecology, public health risks, and control options. Vector Borne Zoonotic Dis. 12(6):435-47. doi: 10.1089/vbz.2011.0814. Epub. PMID: 22448724; PMCID: PMC3366101.

- Mehlhorn H (2012). Die Parasiten der Tiere. Heidelberg: Spektrum Akademischer Verlag
- Mosca A, Perna MF, Giovannozzi M, Roberto P. (2022) First report of two Asian invasive mosquito species, *Aedes japonicus* and *Aedes koreicus*, in Piedmont, northwest Italy. *Ann Ist Super Sanita.* 58(3):162-165. doi: 10.4415/ANN\_22\_03\_03. PMID: 36128963.
- Mundim-Pombo APM, Carvalho HJC, Rodrigues Ribeiro R, León M, Maria DA, Miglino MA. (2021) *Aedes aegypti*: egg morphology and embryonic development. *Parasit Vectors.* 14(1):531. doi: 10.1186/s13071-021-05024-6. PMID: 34645492; PMCID: PMC8515647.
- Negri A, Arnoldi I, Brilli M, Bandi C, Gabrieli P, Epis S. (2021) Evidence for the spread of the alien species *Aedes koreicus* in the Lombardy region, Italy. *Parasit Vectors.* 14(1):534. doi: 10.1186/s13071-021-05031-7. PMID: 34649599; PMCID: PMC8515701.
- Niebylski ML, Savage HM, Nasci RS, Craig GB Jr. (1994) Blood hosts of *Aedes albopictus* in the United States. *J Am Mosq Control Assoc.* 10(3):447-50. PMID: 7807094.
- Patsoula E, Samanidou-Voyadjoglou A, Spanakos G, Kremastinou J, Nasioulas G, Vakalis NC. (2006) Molecular and morphological characterization of *Aedes albopictus* in northwestern Greece and differentiation from *Aedes cretinus* and *Aedes aegypti*. *J Med Entomol.* 43(1):40-54. doi: 10.1093/jmedent/43.1.40. PMID: 16506446.
- Paupy C, Delatte H, Bagny L, Corbel V, Fontenille D. (2009) *Aedes albopictus*, an arbovirus vector: from the darkness to the light. *Microbes Infect.* 11(14-15):1177-85. doi: 10.1016/j.micinf.2009.05.005. Epub 2009 May 18. PMID: 19450706.
- Poinar, G. O., Zavortinik, T. J., Pike, T., Johnston, P. A. (2000). *Paleoculicis minutus* (Diptera: Culicidae) n. Gen., n. Sp., from Cretaceous Canadian amber, with a summary of described fossil mosquitoes. *Acta Geologica Hispanica*, 119-130.
- Prudhomme J, Fontaine A, Lacour G, Gantier JC, Diancourt L, Velo E, Bino S, Reiter P, Mercier A. (2019) The native European *Aedes geniculatus* mosquito species can transmit chikungunya virus. *Emerg Microbes Infect.* 8(1):962-972. doi: 10.1080/22221751.2019.1634489. PMID: 31259662; PMCID: PMC6609326.
- Reiter P. (1998) *Aedes albopictus* and the world trade in used tires, 1988-1995: the shape of things to come? *J Am Mosq Control Assoc.* 14(1):83-94. PMID: 9599329.
- Reiter P, Fontenille D, Paupy C. (2006) *Aedes albopictus* as an epidemic vector of chikungunya virus: another emerging problem? *Lancet Infect Dis.* 6(8):463-4. doi: 10.1016/S1473-3099(06)70531-X. PMID: 16870524.
- Reiter P, Sprenger D. (1987) The used tire trade: a mechanism for the worldwide dispersal of container breeding mosquitoes. *J Am Mosq Control Assoc.* 3(3):494-501. PMID: 2904963.



Rossati A, Bargiacchi O, Kroumova V, Zaramella M, Caputo A, Garavelli PL. (2016) Climate, environment and transmission of malaria. *Infez Med.* 24(2):93-104. PMID: 27367318.

Schoener E, Zित्र C, Weiss S, Walder G, Barogh BS, Weiler S, Fuehrer HP. (2019) Monitoring of alien mosquitoes of the genus *Aedes* (Diptera: Culicidae) in Austria. *Parasitol Res.* 118(5):1633-1638. doi: 10.1007/s00436-019-06287-w. Epub. PMID: 30877440; PMCID: PMC6478629.

Scholte, E. J., Schaffner, F. (2007). 14. Waiting for the tiger: establishment and spread of the *Aedes albopictus* mosquito in Europe. *Emerging pests and vector-borne diseases in Europe*, 1, 241.

Seidel, B., Duh, D., Nowotny, N., Allerberger, F. (2012). Erstnachweis der Stechmücken *Aedes* (*Ochlerotatus*) *japonicus japonicus* (Theobald, 1901) in Österreich und Slowenien in 2011 und für *Aedes* (*Stegomyia*) *albopictus* (Skuse, 1895) in Österreich 2012 (Diptera: Culicidae). *Entomologische Zeitschrift*, 122, 223-226.

Shragai T, Harrington L, Alfonso-Parra C, Avila F. (2019) Oviposition site attraction of *Aedes albopictus* to sites with conspecific and heterospecific larvae during an ongoing invasion in Medellín, Colombia. *Parasit Vectors.* 12(1):455. doi: 10.1186/s13071-019-3710-6. PMID: 31533784; PMCID: PMC6751627.

Silaghi C, Beck R, Capelli G, Montarsi F, Mathis A. (2017) Development of *Dirofilaria immitis* and *Dirofilaria repens* in *Aedes japonicus* and *Aedes geniculatus*. *Parasit Vectors.* 10(1):94. doi: 10.1186/s13071-017-2015-x. PMID: 28219407; PMCID: PMC5319011.

Stough JE, Wallace JR. (2016) Oviposition Activity Patterns of *Culex pipiens* and *Culex restuans* in Pennsylvania. *J Am Mosq Control Assoc.* 32(2):156-9. doi: 10.2987/moco-32-02-156-159.1. PMID: 27280355.

Suter T, Flacio E, Fariña BF, Engeler L, Tonolla M, Müller P. (2015) First report of the invasive mosquito species *Aedes koreicus* in the Swiss-Italian border region. *Parasit Vectors.* 8:402. doi: 10.1186/s13071-015-1010-3. PMID: 26223377; PMCID: PMC4520022.

Tauber MJ, Tauber CA, Masaki S. (1986) *Seasonal Adaptations of Insects*. Oxford: Oxford University Press.

Turell MJ, Beaman JR, Tammariello RF. (1992) Susceptibility of selected strains of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) to chikungunya virus. *J Med Entomol.* 29(1):49-53. doi: 10.1093/jmedent/29.1.49. PMID: 1313111.

Turell MJ, Dohm DJ, Sardelis MR, Oguinn ML, Andreadis TG, Blow JA. (2005) An update on the potential of north American mosquitoes (Diptera: Culicidae) to transmit West Nile Virus. *J Med Entomol.* 42(1):57-62. doi: 10.1093/jmedent/42.1.57. PMID: 15691009.

Unlu I, Faraji A, Indelicato N, McNelly JR. (2021) Do tigers hunt during the day? Diel activity of the Asian tiger mosquito, *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae), in urban and suburban habitats of North America. PLoS Negl Trop Dis. 15(8):e0009438. doi: 10.1371/journal.pntd.0009438. PMID: 34415918; PMCID: PMC8409682.

Valzania L, Mattee MT, Strand MR, Brown MR. (2019) Blood feeding activates the vitellogenic stage of oogenesis in the mosquito *Aedes aegypti* through inhibition of glycogen synthase kinase 3 by the insulin and TOR pathways. Dev Biol. 2019 Oct 1;454(1):85-95. doi: 10.1016/j.ydbio.2019.05.011. Epub. PMID: 31153832; PMCID: PMC6717557.

Verordnung (EU) Nr. 1143/2014 (2014) des europäischen Parlaments und des Rates vom 22. Oktober 2014 über die Prävention und das Management der Einbringung und Ausbreitung invasiver gebietsfremder Arten, <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/DE/TXT/PDF/?uri=CELEX:32014R1143>, Zugriff am 23.10.2022

Villena OC, Terry I, Iwata K, Landa ER, LaDeau SL, Leisnham PT. (2017) Effects of tire leachate on the invasive mosquito *Aedes albopictus* and the native congener *Aedes triseriatus*. PeerJ. 5:e3756. doi: 10.7717/peerj.3756. PMID: 28890855; PMCID: PMC5590549.

Wachira SW, Ndung'u M, Njagi PG, Hassanali A. (2010) Comparative responses of ovipositing *Anopheles gambiae* and *Culex quinquefasciatus* females to the presence of *Culex* egg rafts and larvae. Med Vet Entomol. 24(4):369-74. doi: 10.1111/j.1365-2915.2010.00913.x. PMID: 21058965.

Wahid I, Sunahara T, Mogi M. (2003) Maxillae and mandibles of male mosquitoes and female autogenous mosquitoes (Diptera: Culicidae). J Med Entomol. 40(2):150-8. doi: 10.1603/0022-2585-40.2.150. PMID: 12693842.

Walder G (2017) Monitoring of *Aedes albopictus* in the Tyrol. Annual report Außervillgraten 2017

Werner D, Zielke DE, Kampen H. (2016) First record of *Aedes koreicus* (Diptera: Culicidae) in Germany. Parasitol Res. 115(3):1331-4. doi: 10.1007/s00436-015-4848-6. Epub. PMID: 26614356.

Wilkerson RC, Linton YM, Fonseca DM, Schultz TR, Price DC, Strickman DA. (2015) Making Mosquito Taxonomy Useful: A Stable Classification of Tribe Aedini that Balances Utility with Current Knowledge of Evolutionary Relationships. PLoS One. 10(7):e0133602. doi: 10.1371/journal.pone.0133602. PMID: 26226613; PMCID: PMC4520491.

Wu P, Yu X, Wang P, Cheng G. (2019) Arbovirus lifecycle in mosquito: acquisition, propagation and transmission. Expert Rev Mol Med. 21:e1. doi: 10.1017/erm.2018.6. PMID: 30862324.

ZAMG, Zentralanstalt für Meteorologie und Geodynamik (2022a). Viertwärmster Sommer der Messgeschichte. <https://www.zamg.ac.at/cms/de/klima/news/viertwaermster-sommer-der-messgeschichte-1>, Zugriff am 03.03.2023

ZAMG, Zentralanstalt für Meteorologie und Geodynamik (2022b). August 2022: einer der wärmsten der Messgeschichte. <https://www.zamg.ac.at/cms/de/klima/news/august-2022-einer-der-waermsten-der-messgeschichte>, Zugriff am 03.03.2022

ZAMG, Zentralanstalt für Meteorologie und Geodynamik (2022c). September 2022: anfangs warm, dann kühl. <https://www.zamg.ac.at/cms/de/klima/news/september-2022-anfangs-warm-dann-kuehl>, Zugriff am 03.03.2023

Zhao Z, Zung JL, Hinze A, Kriete AL, Iqbal A, Younger MA, Matthews BJ, Merhof D, Thiberge S, Ignell R, Strauch M, McBride CS. (2022) Mosquito brains encode unique features of human odour to drive host seeking. *Nature*. 605(7911):706-712. doi: 10.1038/s41586-022-04675-4. Epub. PMID: 35508661; PMCID: PMC9725754.

Zittra C, Lechthaler W, Mohrig W, Car M (2017a) Diptera: Culicidae. In Moog, O. & A. Hartmann (Hrsg.): *Fauna Aquatica Austriaca*, 3. Auflage. BMLFUW, Wien

Zittra C, Lechthaler W, Mohrig W, Car M (2017b). Diptera: Culicidae. In Moog, O. & A. Hartmann (Eds.): *Fauna Aquatica Austriaca*, 3. Lieferung. BMLFUW, Wien

## 9 Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

### Abbildungen

|  |    |
|--|----|
| Abb. 1: Überblick der verschiedenen Entwicklungsstadien und der morphologischen Differenzierung der Gattungen Anopheles, Aedes und Cluex, Autoren: Kent S. Littig und Cester J. Stojanovich, <a href="https://www.cdc.gov/nceh/ehs/docs/pictorial_keys/mosquitoes.pdf">https://www.cdc.gov/nceh/ehs/docs/pictorial_keys/mosquitoes.pdf</a> , via cdc.gov ..... | 6  |
| Abb. 2: Farbige Zeichnung einer erwachsenen, weiblichen Mücke ( <i>Culex pipiens</i> s.l.) mit anatomischen Bezeichnungen der Körperteile, Autorin: LadyofHats, Public domain via Wikimedia Commons .....  | 9  |
| Abb. 3: REM-Aufnahme eines mittels Lufttrocknung und Hexamethyldisilazan präpariertes Mückenei, Autoren: Das Murtey und Ramasamy, CC BY-SA 3.0 <a href="https://creativecommons.org/licenses/by-sa/3.0/">https://creativecommons.org/licenses/by-sa/3.0/</a> , via Wikimedia Commons .....   | 10 |
| Abb. 4: Lebenszyklus der Asiatischen Tigermücke ( <i>Aedes albopictus</i> ), Autorin: Ingeborg Schleip, Biogents AG, CC BY-SA 3.0 <a href="https://creativecommons.org/licenses/by-sa/3.0/deed.en">https://creativecommons.org/licenses/by-sa/3.0/deed.en</a> , via Wikimedia Commons .....  | 13 |
| Abb. 5: Ein <i>Aedes albopictus</i> -Weibchen bei der Blutmahlzeit auf einem Menschen, Autor: James Gathany, Public domain via Wikimedia Commons .....   | 15 |

|   |    |
|---|----|
| Abb. 6: Eiablage einer weiblichen Culex-Stechmücke auf der Wasseroberfläche, Autor Sean McCann, CC BY-NC-SA 2.0 <a href="https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.0/">https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.0/</a> , via flickr.com.....   | 17 |
| Abb. 7: Aedes-Eier aus Ovitrap-Falle in Hernals (Wien) von 2022.....  | 19 |
| Abb. 8: Asiatische Tigermücke in Ruhe (erwachsenes Weibchen), Maryland, USA, Autorin: Susan Ellis, CC BY 3.0 US <a href="https://creativecommons.org/licenses/by/3.0/us/">https://creativecommons.org/licenses/by/3.0/us/</a> , via Bugwood.org.....  | 24 |
| Abb. 9: Eier von (a) Ae. albopictus, (b) Ae. japonicus und (c) Ae. geniculatus unter dem Mikroskop, Autor*innen: Bakran-Lebl et al. 2022 (Abb.1), CC open access article, via Pubmed Central <a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8949374/">https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8949374/</a> .....  | 24 |
| Abb. 10: Funde von Ae. albopictus (lila Felder) in verschiedenen Regionen Österreichs im Jahr 2012, Autor: Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit GmbH (AGES), mod. von Amelie Bittler (Beschriftung,Umrandung + Autobahnzeichnung zugefügt), Behörde mit öffentlichem Quellenzugang, Verfügbar unter: <a href="https://www.ages.at/mensch/krankheit/infos-zu-gelsen-krankheiten#c7894">https://www.ages.at/mensch/krankheit/infos-zu-gelsen-krankheiten#c7894</a> ..... | 28 |
| Abb. 11: Funde von Ae. albopictus (lila Felder) in verschiedenen Regionen Österreichs im Jahr 2021, Autor: Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit GmbH (AGES), mod. von Amelie Bittler (Beschriftung + Umrandung zugefügt), Behörde mit öffentlichem Quellenzugang, Verfügbar unter: <a href="https://www.ages.at/mensch/krankheit/infos-zu-gelsen-krankheiten#c7894">https://www.ages.at/mensch/krankheit/infos-zu-gelsen-krankheiten#c7894</a> .....                   | 30 |
| Abb. 12: Frühere und aktuelle globale Übertragung des Dengue-Virus (A), Zika-Virus (B), Chikungunya-Virus (C) und West-Nil-Virus (D), Stand 2019, Autoren: Wu et al. 2019, CC Cambridge University Press (für Verwendung in Universitätsarbeiten freigegeben), via cambridge.org.....   | 32 |
| Abb. 13: Satelliten-Aufsicht über Besammlungsgebiet in Hernals mit markierten Ovitrap-Koordinaten (gelber Marker mit weißem Stern) und deren Standort-IDs (02-20), Screenshot via Google Maps, Stand Februar 2023, mod. von Amelie Bittler (Markierungen und Zahlen beigefügt).....   | 37 |
| Abb. 14: Standort HER07 (Ovitrap am Baumast) .....  | 39 |
| Abb. 15: Standort HER10 (Ovitrap unter Busch) .....   | 39 |
| Abb. 16: Distanz zwischen HER12 und HER13.....  | 39 |
| Abb. 17: Busbahnhof am Leopold-Kunschak-Platz.....  | 39 |
| Abb. 18: Friedhof Hernals .....   | 40 |
| Abb. 19: Friedhof Hernals .....   | 40 |
| Abb. 20: Blumenvase an Grab mit Regenwasser .....   | 40 |
| Abb. 21: Wassergefüllte Steintröge auf Friedhof .....   | 40 |
| Abb. 22: Blumenuntertopf mit Regenwasser bei HER02 .....  | 40 |
| Abb. 23: Autoreifencontainer auf Mistplatz bei HER08 .....  | 40 |
| Abb. 24: Abflussloch in Steinwanne .....  | 41 |
| Abb. 25: Ovitrap-Falle (befüllt) .....  | 41 |
| Abb. 26: Ovitrap-Falle nah (befüllt) .....  | 41 |
| Abb. 27: Aedes- und Gnitzen Eier makroskopisch .....  | 43 |
| Abb. 28: Aedes- Eier mikroskopisch .....  | 43 |
| Abb. 29: Gelelektrophorese-Banden bei 8 Sekunden Belichtung mit DNA-Leiter (+) und Negativ-Probe (-).....   | 44 |
| Abb. 30: Satelliten-Aufsicht über Besammlungsgebiet in Hernals mit markierten Ovitrap-Koordinaten und deren Standort-IDs (02-20) sowie einer farblichen Kodierung der Arten-Funde, Screenshot via Google Maps, Stand Februar 2023, mod. von Amelie Bittler (Markierungen und Zahlen beigefügt) ...  | 47 |

|   |    |
|---|----|
| Abb. 31: Gelelektrophorese-Banden bei 8 Sekunden Belichtung mit DNA-Leiter (+), Negativ-Probe (-), <i>Ae. geniculatus</i> (gelb, 272 Basenpaare), Probe ohne Bande (grau), <i>Ae. japonicus</i> (grün, 120 Basenpaare) und <i>Ae. albopictus</i> (rot, 398 Basenpaare)..... | 48 |
| Abb. 32: Gelelektrophorese-Banden bei 8 Sekunden Belichtung, invertierte Aufnahme zu Abb. 31 ...  | 48 |
| Abb. 33: Übersicht manipulierter Ovitrapts .....  | 49 |
| Abb. 34: Übersicht Positivproben .....  | 50 |
| Abb. 35: Übersicht Funde an Standorten .....  | 50 |
| Abb. 36: Übersicht Aedes-Funde nach Monaten .....   | 51 |
| Abb. 37: Verteilung Aedes-Funde auf Monate .....  | 52 |
| Abb. 38: Verteilung Eier pro Stechmückenart .....   | 52 |

## Tabellen

|   |    |
|---|----|
| Tab. 1: Übersicht von Standortkoordinaten der Ovitrapts.....                  | 38 |
| Tab. 2: Übersicht der Funde des Stechmücken-Monitorings 2022 in Hernals ..... | 46 |
| Tab. 3: Übersicht manipulierter Ovitrapts.....                                | 49 |
| Tab. 4: Übersicht Positivproben .....   | 50 |
| Tab. 5: Übersicht Funde an Standorten .....                                   | 50 |
| Tab. 6: Verteilung <i>Aedes</i> -Funde auf Monate .....                       | 52 |
| Tab. 7: Verteilung Eier pro Stechmückenart .....                              | 52 |

## 10 Anhang

### Anhang 1: Protokoll zur DNA-Extraktion

#### **ANALYTIK JENA: innuPREP DNA Mini Kit**

Isolation of genomic DNA from tissue samples -> Mosquito Eggs

#### **Before Starting:**

##### Proteinase K:

Dilute lyophilized Proteinase K with MQ water and/or thaw diluted Proteinase K (use at RT!).

Storage of Proteinase K: ~4°C (lyophilized) or ~ -20°C (diluted)

#### **Procedure**

1. A: Max. 50 mg of tissue in a 1.5 mL reaction tube: Add **400 µL Lysis Solution TLS** and **1 ceramic bead**. Homogenize with TissueLyser (f=30/s) for 3 min. Wait 20 minutes before continuing with step 1.B. (spin down)  
  
B: Add **25 µL Proteinase K**, mix vigorously by pulsed vortexing for 5 s (spin down). Incubate at **50 °C** until the sample is completely lysed (**1-2 h, 350 rpm**).
2. Centrifuge at **11,000 x g** for **1 min** to spin down unlysed material. Transfer the supernatant into another 1.5 mL tube.
3. Add **400 µL Binding Solution TBS**, mix by brief vortexing (and/or pipetting) for 15 s to get a homogeneous solution.
4. Apply the sample to the Spin Filter placed in a Receiver Tube. Centrifuge at **11,000 x g** for **2 min**. Discard the flow-through and Receiver Tube and place the Spin Filter in a new Receiver Tube.
5. Add **500 µL Washing Solution HS**. Centrifuge at **11,000 x g** for **1 min**. Discard the flow-through and Receiver Tube and place the Spin Filter in a new Receiver Tube.
6. Add **750 µL Washing Solution MS**, centrifuge at **11,000 x g** for **1 min**. Discard the flow-through and Receiver Tube and place the Spin Filter in a new Receiver Tube.
7. Centrifuge at **11,000 x g** for **3 min** to remove all traces of ethanol. Discard the flow-through and Receiver Tube.
8. Place the Spin Filter into an Elution Tube. Add **100 µL Elution Buffer**. Incubate at **RT for 1 min**. Centrifuge at **11,000 x g** for **1 min**  
(->A samples).  
Place the Spin Filter in another 1.5 mL tube and repeat the elution step  
(->B samples).

**Anhang 2:** Multiplex PCR for Aedini species (Reichl et al. – in preparation)

**Multiplex PCR for Aedini species**

| Species                  | Forward Primer  | Reverse Primer  | PCR product size |
|--------------------------|---|---|------------------|
| <i>Aedes albopictus</i>  | Universal FW primer Bang et al.<br>5' – AGGACACATGAACACCCACA – 3' | Specific Rev Primer Bang et al.<br>5' – GGAGCACACTGAGAGTTCCA – 3'                   | 398bp            |
| <i>Aedes japonicus</i>   |   | Specific Rev Primer Bang et al.<br>5' – TATACTACGCTGCCGAGAGG – 3'                   | 120bp            |
| <i>Aedes koreicus</i>    |   | Specific Rev Primer Bang et al.<br>5' – GCCTACTGATTGACGGGGTA – 3'                   | 321bp            |
| <i>Aedes geniculatus</i> |   | Specific Rev Primer calculated with CLC Genomics WB<br>5' – ATGTATTCACCAACCGGG – 3' | 272bp            |

PCR conditions:

- 94°C 5min
- 35 cycles:
  - 94°C 30sec
  - 56°C 30sec
  - 72°C 30sec
- 72°C 5min

Mastermix:

|                   | Menge in µl für 1X Mastermix |
|-------------------|------------------------------|
| RedTaq Ready Mix* | 10                           |
| H2O               | 5                            |
| AediniUni-FW      | 0,8                          |
| Alb-R             | 0,8                          |

|               |           |
|---------------|-----------|
| Jap-R         | 0,8       |
| Kor-R         | 0,8       |
| Gen-R         | 0,8       |
| DNA           | 1         |
| <b>Gesamt</b> | <b>20</b> |

\*Alternativ auch mit JumpStart Ready Mix oder TaqReady Mix möglich

#### GoTaq Polymerase

|      |                 |                      |
|------|-----------------|----------------------|
| 1x:  | 94°C 5'         | initial denaturation |
| 35x: | 94°C 30"        | denaturation         |
|      | <b>56°C</b> 30" | annealing            |
|      | 72°C 30"        | extension            |
| 1x:  | 72°C 5'         | final extension      |
|      | 15°C            | final hold           |

|              |                           |
|--------------|---------------------------|
| 1,000        | DNA                       |
| 0,800        | AediniUni-FW (10 pmol/μl) |
| 0,800        | Alb-R (10 pmol/μl)        |
| 0,800        | Jap-R (10 pmol/μl)        |
| 0,800        | Kor-R (10 pmol/μl)        |
| 0,800        | Gen-R (10 pmol/μl)        |
| 0,125        | GoTaq (5 U/ml)            |
| 0,200        | dNTP mix with dUTP (25mM) |
| 5,000        | 5 x buffer green          |
| <u>9,675</u> | water                     |
| 20           |                           |

Primer sind in der Box mit „Aedini“ beschriftet (seitlich, mit Gummiring)

Programm eingespeichert in beiden Eppendorf Geräten unter HPF → Aedini species Multip, Dauer ca. 1:45h

Gel: 76min laufen lassen (ca. 80min)

Nur zwei Kämme (lange Laufzeit, gute Auftrennung)

Zwei Leitern, links und rechts von den Proben eine Leiter auftragen.



### Anhang 3: PCR-Protokoll für Proben der Besammlung

#### 221124-Mp Aedini sp. Ovitrap AB1-7 A+B

| n samples | mastermix     | 20 µL rxn    | stock solutions   | final conc           |    |
|-----------|---------------|--------------|---|----------------------|----|
|           | µL            | µL           |   |                      |    |
|           |               | 1,000        | DNA   |                      |    |
| 17        | <b>13,60</b>  | 0,800        | AediniUni-FW (10 pmol/µl)                                     | 400 nM               |    |
| 17        | <b>13,60</b>  | 0,800        | Alb-R (10 pmol/µl)  | 400 nM               |    |
| 17        | <b>13,60</b>  | 0,800        | Jap-R (10 pmol/µl)  | 400 nM               |    |
| 17        | <b>13,60</b>  | 0,800        | Kor-R (10 pmol/µl)  | 400 nM               |    |
| 17        | <b>13,60</b>  | 0,800        | Gen-R (10 pmol/µl)  | 400 nM               |    |
| 17        | <b>2,13</b>   | 0,125        | GoTaq (10 U/ml)   | 1 U                  |    |
| 17        | <b>3,40</b>   | 0,200        | dNTP mix with dUTP (25mM)                                     | 0.2                  |    |
| 17        | <b>85,00</b>  | 5,000        | 5 x buffer green  | 1x                   |    |
| 17        | <b>164,48</b> | <b>9,675</b> | water   |                      |    |
|           | 323,00        | 20           |   |                      |    |
|           |               |              | MM aliquotieren   | 19,00                | µl |
|           |               |              | Temp.: 56°C   |                      |    |
|           |               |              | expected product: <i>Ae.alb.</i> 398bp, <i>Ae.jap.</i> 120bp, |                      |    |
|           |               |              | Aekor. 321bp, <i>Ae.gen.</i> 272bp                            |                      |    |
|           |               | 1x:          | 94°C 5'   | initial denaturation |    |
|           |               | 35x:         | 94°C 30"  | denaturation         |    |
|           |               |              | 56°C 30"  | annealing            |    |
|           |               |              | 72°C 30"  | extension            |    |
|           |               | 1x:          | 72°C 5'   | final extension      |    |
|           |               |              | 15°C  | final hold           |    |
|           |               |              |   |                      |    |
| 1         |               | Nr 1         | AB1   | <b>A</b>             |    |
|           |               | Nr 2         | AB1   | <b>B</b>             |    |
|           |               | Nr 3         | AB2   | <b>A</b>             |    |
|           |               | Nr 4         | AB2   | <b>B</b>             |    |
|           |               | Nr 5         | AB3   | <b>A</b>             |    |
|           |               | Nr 6         | AB3   | <b>B</b>             |    |
|           |               | Nr 7         | AB4   | <b>A</b>             |    |

|   |       |          |          |  |
|---|-------|----------|----------|--|
|   | Nr 8  | AB4      | <b>B</b> |  |
| 2 | Nr 9  | AB5      | <b>A</b> |  |
|   | Nr 10 | AB5      | <b>B</b> |  |
|   | Nr 11 | AB6      | <b>A</b> |  |
|   | Nr 12 | AB6      | <b>B</b> |  |
|   | Nr 13 | AB7      | <b>A</b> |  |
|   | Nr 14 | AB7      | <b>B</b> |  |
|   | Nr 15 | Negative |          |  |
|   | Nr 16 |          |          |  |

|                          |                                      |   |
|--------------------------|--------------------------------------|---|
| PCR durchgeführt<br>von: | Amelie Bittler<br>Lisa Schlamadinger | 24.11.2022 / 13:30-15:15 (01:45h)<br>Eppendorf MC Nexus<br>HPF > Aedini_spezies_Multiplex |
|--------------------------|--------------------------------------|---|