

BIOLOGISCHE BESTRIJDING VAN MALARIA

# Muggen vangen met zweetsokken



**Malariamuggen ruiken ons al op honderd meter afstand, vooral zweetvoetenlucht is populair. Wageningse onderzoekers destilleerden daaruit de aantrekkelijkste geurcomponenten en gebruiken die als lokstof in muggenvallen. Dodelijke schimmels maken het werk af.**

TEKST MARION DE BOO FOTOGRAFIE HANS SMID, NIELS VERHULST, IVAR PEL ILLUSTRATIE SCHWANDT INFOGRAPHIC





**W**ageningse onderzoekers onderscheiden zich door de manier waarop zij oplossingen zoeken', zegt postdoc Niels Verhulst van het Laboratorium voor Entomologie van Wageningen University, onderdeel van Wageningen UR. 'Een mooi voorbeeld is de biologische bestrijding van plaaginsecten, die Nederlandse tuinders nu alom in hun kassen gebruiken. Die aanpak komt uit ons laboratorium. We zijn daarmee begonnen toen de insecten in de land- en tuinbouw steeds moeilijker waren aan te pakken met bestrijdingsmiddelen, omdat ze er resistent tegen werden. Bij de aanpak van malaria staan we aan de vooravond van een soortgelijke doorbraak. Vanaf de jaren dertig was men gefocust op het gebruik van insecticiden, zoals DDT en permethrine, waarmee klamboes worden geïmpregneerd. Die middelen hebben bij vlagen heel goed gewerkt, maar langzamerhand wordt resistentie – net als in de landbouw – een groot en onoplosbaar probleem. En de zoektocht naar vaccins tegen malaria is wel veelbelovend, maar dat is hij al jaren.'



**NIELS VERHULST**  
Laboratorium voor  
Entomologie van  
Wageningen University,  
onderdeel van  
Wageningen UR.

'We werken aan een toolbox  
vol nieuwe biologische  
bestrijdingsmethoden'

Het Wageningse malariaonderzoek richt zich onder meer op geurvallen – muggenvallen die werken met lokstoffen – en het gebruik van muggendodende schimmels, maar ook op nieuwe medicijnen uit plantaardige grondstoffen, zelfs uit witlof. Daarvoor kweken de onderzoekers hun eigen malaria-muggen op. 'Maar die zijn niet met de malariaparasiet besmet hoor,' vertelt Verhulst. In de broeierige kweekkamer met rood licht krijg je onwillekeurig de kriebels. Eitjes liggen als zwarte stipjes op nat filtreerpapier. Binnen een paar dagen komen ze uit en dan verschijnen de larven, die al wriemelend en wiebelend in waterbakjes met visvoer rondobberen. Na twee weken zijn die volgroeid en verpoppen ze zich tot kleine, langwerpige propjes, die met een speciaal apparaatje worden opgezogen en in kweekkooien gezet. Daar ontpoppen zich de volwassen muggen. Die vliegen gonzend rond of zitten op de gazen wanden, met hun achtereind omhoog. 'Dat is een typisch kenmerk van malaria-muggen, zegt Verhulst. 'Aan de geveerde antennes op de kop herken je de mannetjes, vrouwtjes hebben antennes met heel korte haren. Alleen de vrouwtjesmuggen steken. Die hebben een bloedmaal nodig om hun eieren te ontwikkelen. Ze gaan uitsluitend op de geur van hun slachtoffer af; wij willen weten hoe dat werkt.'

Het geuronderzoek gebeurt een paar gangen verderop, in een geavanceerd elektrofysiologisch apparaat. Het staat in een zogeheten kooi van Faraday, om elektrische velden uit de omgeving af te schermen. 'Hier kun je een mug als het ware zien ruiken', vertelt Verhulst. Hij prikt een ragfijn naaldje in een van de haartjes van de antenne van zo'n mug en een ander naaldje in de kop. 'Dien je een geurstof toe en kan de mug die ruiken, dan gaat er een stroompje lopen naar de hersenen. Dat signaalje kunnen wij meten. Ontbreekt het signaal, dan ruikt de mug blijkbaar niks.'

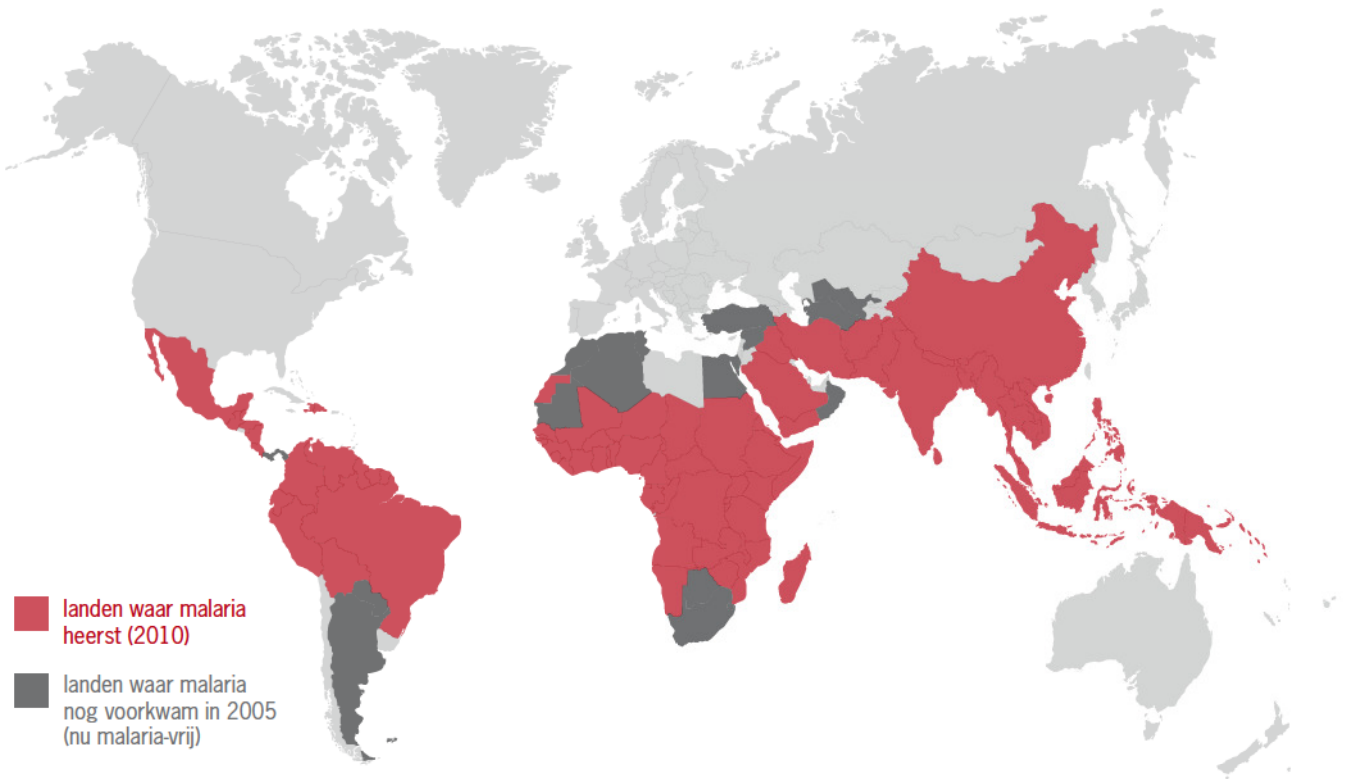
Een volgende vraag is of de mug de geur die hij ruikt ook lekker vindt en of hij op die geur afkomt om een bloedmaal op te sporen. 'Muggen gebruiken natuurlijk ook

andere geuren, bijvoorbeeld om een partner te vinden', legt Verhulst uit. 'Daarom doen we hier ook uitgebreid gedragsonderzoek.' In zijn eind vorig jaar afgeronde promotieonderzoek, gesponsord door de Bill and Melinda Gates Foundation, ontdekte Niels Verhulst waarom muggen ons zo lekker vinden. 'Ze ruiken allerlei vluchtige geurstoffen die bacteriën op onze huid produceren. Als je gaat sporten, stink je het eerste half uur niet of nauwelijks, maar daarna zijn de huidbacteriën op gang gekomen. Zij zetten zweet om in vluchtige geurstoffen en dan begin je te ruiken. De geur van menselijke zweetvoeten blijkt maar liefst driehonderd componenten te bevatten', aldus Verhulst. 'Je zou een muggenval kunnen maken met menselijke huidbacteriën erin, maar dat is lastig. Het is handiger om alleen de juiste geuren als lokstof te gebruiken.'

## 24 UUR NIET DOUCHEN

Voor een zweetvoetenexperiment nodigde de onderzoeker 48 mannelijke vrijwilligers uit, die drie ochtenden moesten langskomen voor een test. Van tevoren mochten ze zich telkens 24 uur niet douchen en niet roken of drinken. Hun laatste wasbeurt moest zonder zeep gebeuren. 'Het was een mooi experiment, we hebben veel gelachen en ook veel geroken', zegt Verhulst. 'De vrijwilligers kregen er niks voor, maar ze bleven enthousiast meedoen.' Opmerkelijk: de speciale sokken die de proefpersonen kregen om te dragen, oefenen zelfs na vier jaar in de vriezer nog steeds een grote aantrekkingskracht uit op muggen. Wel is het zo dat sommige voeten voor muggen duidelijk aantrekkelijker ruiken dan andere. Het belangrijkste verschil, zo bleek uit nadere analyses, was de bacteriesamenstelling op de voet, het bacterieprofiel. Om daarover meer te weten te komen, legde de Wageningse onderzoeker contact met de Universiteit van Braunschweig, die erg goed is in het uitvoeren van geuranalyses, en met een onderzoeksgroep in Colorado die veel expertise heeft in het sequensen, het identificeren van het DNA van huidbacteriën. Op voeten die muggen erg ➤

**MALARIA WERELDWIJD**



- landen waar malaria heerst (2010)
- landen waar malaria nog voorkwam in 2005 (nu malaria-vrij)

**Risicogroep**

Jaarlijks lopen 3,3 miljard mensen de kans op het krijgen van malaria.

Totale wereldbevolking (6,9 miljard mensen)

risicogroep:  
**3,3** miljard mensen



Vooral kinderen onder de 5 jaar en zwangere vrouwen worden het slachtoffer.

**Dodelijke slachtoffers**

Aantal dodelijke slachtoffers van malaria (2008):

**863.000**

Dat is 99 doden per uur.



**90%** van de slachtoffers valt in Afrika, met name ten zuiden van de Sahara.



Totaal aantal dodelijke slachtoffers van malaria in Afrika (2008):

**776.700**



**Mug**

Veroorzaker van malaria is de Plasmodium-parasiet, die wordt overgebracht door muggen. Er bestaan wel dertig verschillende malariamuggen, maar de belangrijkste veroorzaker van de ziekte is de soort *Anopheles gambiae sensu stricto* om deze mug zich op de mens concentreert. In toenemende mate zijn malariamuggen resistent tegen bestrijdingsmiddelen.



Geurstoffen worden getest in een olfactometer.

lekker vinden blijken vooral meer stafylokokken te groeien. Onaantrekkelijk voor muggen zijn voeten waarop veel verschillende bacteriestammen leven, en met veel *Pseudomonas*-bacteriën.

De promovendus bestelde de zestien voor muggen aantrekkelijkste geurstoffen kant en klaar bij een commercieel bedrijf. In kleine dorpjes in Kenia werden die in muggenvallen uitgetest. Die proeven lieten zien dat sommige geurstoffen wel, en andere helemaal niet aantrekkelijk zijn voor muggen. Op de leerstoelgroep worden nu nieuwe geurmengsels samengesteld. 'Sommige blends met vier componenten erin, lijken zelfs wel aantrekkelijker dan de originele zweetvoetengeur', zegt Verhulst. 'Zo'n mengsel is trouwens ook bruikbaar bij programma's voor het monitoren van muggen. Dat monitoren gebeurt nu door mensen in korte broek 's avonds buiten te laten zitten en dan het aantal landende muggen te tellen.'

### ZES EXPERIMENTEN PER OCHTEND

Om de geuren een voor een te testen, gebruiken de Wageningse muggenexperts een grote tunnel, de olfactometer. 'Niks aanraken, alsjeblieft', waarschuwt Verhulst. 'Want als de geur van je handen op dat apparaat komt, beïnvloedt dat de metingen. Kijk, aan de ene kant van de geurmeter laten we telkens dertig muggen uit eigen kweek los, aan de andere

kant blazen we schone, gefilterde lucht naar binnen met een persluchtsysteem.'

Omdat malariamuggen vooral 's nachts actief zijn, is het stikdonker in de tunnel. Om de tropische muggen te plezieren, houden de onderzoekers de ingeblazen lucht zorgvuldig warm en vochtig. 'Dat luistert heel nauw', vertelt Verhulst. 'Dit is een gesloten systeem, maar als de luchtdruk buiten daalt, merken we al dat de muggen binnen slechter vliegen. We blazen ook altijd wat kooldioxide mee, omdat we weten dat het onze muggen activeert.' In de proefopstelling krijgen de muggen links en rechts telkens verschillende geuren aangeboden: een experimentele geur en een controlestof. Zo kunnen we grote aantallen stoffen testen: we doen zes experimenten op een ochtend. Een geurstofwaar veel muggen op afkomen, is blijkbaar erg aantrekkelijk.'

### MUGGEN IN DE WINDTUNNEL

Om nog meer over het gedrag van de muggen te weten te komen, staat in het Wageningse lab ook een 3D-camera opgesteld, om muggen in een windtunnel te filmen met behulp van drie camera's onder verschillende hoeken. Omdat de muggen 's nachts actief zijn is het hier donker, er branden alleen infraroodlampen. Een computerprogramma kan de rondvliegende muggen automatisch detecteren. Het vlieg-

patroon wordt omgerekend in coördinaten om het vlieggedrag te analyseren.

Verhulst: 'Gaat de mug bijvoorbeeld sneller of juist langzamer vliegen als hij in de geurpluim komt? Maakt hij een grotere of juist een kleinere hoek als hij op de geurpluim afvliegt? En welke geur zorgt voor het inzetten van de landing?'

'Wij werken aan een toolbox vol nieuwe, biologische bestrijdingsmethoden. Zo zou je bijvoorbeeld geurvallen of lokdoosjes met voor muggen dodelijke schimmels kunnen combineren. Natuurlijk moet dat idee nog op grotere schaal worden uitgetest en geperfectioneerd, en daar gaat frustrerend veel tijd in zitten, maar ik heb er hoge verwachtingen van', aldus Verhulst.

### OM ZEEP HELPEN

Het besmetten van malariamuggen met een schimmelziekte is een veelbelovende biologische bestrijdingstechniek. Voor de mens is die schimmel ongevaarlijk; hij infecteert alleen insecten, geen zoogdieren. Promovendus Ernst-Jan Scholte en hoogleraar Entomologie Willem Takken publiceerden hierover in 2005 als eersten in het wetenschappelijke tijdschrift *Science*.

'Dit is een duurzame oplossing, zegt Marit Farenhorst. Zij promoveerde eind vorig jaar bij Wageningen University op een onderzoek waarin ze aantoonde dat schimmels insecticidenresistente muggen effectief om



zeep helpen. ‘Het is heel lastig om muggen buiten in het veld te infecteren met schimmels, maar je kunt de muggen heel goed met schimmels besmetten in hun schuilplaatsen. Ze rusten bijvoorbeeld graag in potten van klei. Die kun je met schimmelsporen insmeren.’

De resultaten waren hoopgevend. Alle besmette muggen bleken na een week dood te zijn. Bovendien kwam naar voren dat de twee onderzochte bestrijdingsmethoden, insecticiden en schimmels, elkaars werking versterken. Resistente muggen die met schimmels waren besmet, werden tevens kwetsbaarder voor insecticiden. Binnen drie jaar rondde Farenhorst haar proefschrift af. Intussen publiceerde ze in gezaghebbende tijdschriften als *Proceedings of the National Academy of Sciences* (PNAS) en *PLoS-ONE*.

‘Het is nu zaak om bruggen te slaan van het academisch onderzoek naar de praktijk’, zegt de onderzoekster. Samen met twee collega’s heeft ze een eigen onderzoeks- en ontwikkelingsbedrijf opgezet, IN2CARE. ‘Wij gaan ons richten op productontwikkeling, zoals goedkope, goede vallen en toepassingen voor biologische bestrijdingsmiddelen. Bestrijding met insecticiden werkt bij de muggen alleen maar resistentie in de hand. Er zijn maar vier veelgebruikte insecticiden en steeds meer muggen worden tegen al die middelen resistent. En dat DDT nog steeds wordt gebruikt, is toch ook een slechte zaak?’

### SCHIMMELS OP GAAS

Om de schimmelmethode praktijkrijp te maken, moeten nog veel praktische vragen worden beantwoord. Hoeveel schimmels heb je nodig, hoe lang blijven die werken, welke oplosmiddelen gebruik je en hoe kun je het middel aanbrengen? Als je de schimmels bijvoorbeeld op gaas aanbrengt, is het dan voldoende als de mug op dat gaas gaat zitten en even snel contact met de schimmelsporen maakt, of moet hij er echt doorheen kruipen om volop met sporen besmet te raken? En hoe ontwikkelt de besmetting zich precies?

Marit Farenhorst: ‘We weten inmiddels dat de schimmelinfectie er ook voor zorgt dat de ontwikkeling van de malariaparasiet in het lichaam van de mug wordt geremd, zodat de parasiet niet meer in de speekselklieren terecht komt en niet meer bij het steken kan worden overgedragen. De besmette mug vliegt misschien nog wel een week of wat rond, maar vormt geen gevaar meer.’

Tijdens veldwerk in Afrika ontdekte ze dat wat in het lab werkt, lang niet altijd handig is in het veld. ‘Wat moet je met een elektrische geurval als er nergens in het dorp een stopcontact is? En wat moeten mensen met al die uitgedeelde klamboes als ze geen eigen bed hebben? Soms slapen de ouders wel in bed, maar liggen de kinderen buiten de klamboe op de grond. Bovendien beginnen de muggen al te steken zodra het donker wordt, maar wie gaat er om zeven uur naar bed? Je kunt ook worden gestoken als je nog buiten zit, of naar de kroeg gaat, of als je ’s nachts buiten gaat plassen’, aldus de onderzoekster.

‘Daarom is het grootschalig doden van muggen een veiliger en realistischer aanpak. Het aanpakken van de mug, in al zijn levensfasen is cruciaal als we echt impact willen hebben op de overdracht van ziekten.’ ■



**MARIT FARENHORST,**  
Insectenonderzoek- en  
ontwikkelingsbedrijf  
IN2CARE.

‘Wat moet je met een elektrische geurval als er nergens in het dorp een stopcontact is?’

### CICHOREI TEGEN MALARIA

Het nieuwste wapen in de strijd tegen malaria is cichorei, een zusje van de witlof. Het Laboratorium voor Plantenfysiologie van Wageningen University, onderdeel van Wageningen UR, wil deze plant gebruiken om het malaria-geneesmiddel artemisinine te produceren. De tropische plant *Artemisia annua* (zoete alsem) bevat deze stof van nature, maar in kleine, wisselende hoeveelheden en de teeltgebieden liggen in politiek instabiele regio’s. De stof chemisch maken, is ingewikkeld en duur. De Wageningse plantenfysiologen, die samenwerken met het Belgische farmaceutische bedrijf Dafra Pharma R&D, proberen daarom het gewas cichorei geschikt te maken voor de productie van een voorloper: dihydroartemisininezuur (DHA). Dat is vervolgens relatief eenvoudig om te zetten in artemisinine. Door in cichorei de genen uit alsem voor de aanmaak van artemisinine in te bouwen gaat de productie met een factor acht omhoog. De prijs van het medicijn kan daardoor zover dalen dat het middel betaalbaar wordt voor veel mensen in ontwikkelingslanden. Inmiddels heeft hoogleraar plantenfysiologie Harro Bouwmeester de enzymen en genen geïdentificeerd die betrokken zijn bij de productie van de stof. Voordeel van cichorei is dat de plant al wordt gebruikt voor de extractie van de stof inuline. Dat alleen al maakt de teelt rendabel.