

Monitoring komarjev in peščenih muh kot prenašalcev vektorskih bolezni

Besedilo: Tea Knapič, Katja Adam, Vladimir Ivovič, Nataša Knap, Miša Korva, Katarina Resman Rus, Jana Šušnjar, Jana Mlakar, Tomi Trilar in Tatjana Avšič Županc

Prisotnost, predvsem pa širjenje nalezljivih bolezni postaja v času globalnega povezovanja ljudi in dobrin vse večja težava za prebivalstvo po vsem svetu. Edinstveno skupino povzročiteljev bolezni med porajajočimi se grožnjami tvorijo arbovirusi, kot so virusi denga, zika, virus rumene mrzlice, virus Zahodnega Nila, chikungunya, flebovirusi itd., in nekateri zajedavci, kot so lišmanija, plazmodiji ipd. Zaradi širjenja njihovih prenašalcev imajo velik širitveni potencial, zato zapolnjujejo nove ekološke niše in imajo izjemno velik vpliv na javno zdravje.

V zadnjih letih smo priča pojavljanju porajajočih se patogenov (na novo odkritih povzročiteljev ali že znanih patogenov, ki se pojavljajo na novih področjih ali v novih vrstah) na novih območjih, kjer jih pred tem nismo poznali. Vzrok je kompleksna mreža prepletajočih se dejavnikov, ki so posledica neprestanega spreminjanja okolja in podnebja ter povečane mobilnosti ljudi in živali. Zato je potreben enoten pristop k raziskavam porajajočih se patogenov in njihovih prenašalcev ter vzpostavitev občutljivih nadzornih sistemov.

Sodelavci Inštituta za mikrobiologijo in imunologijo Medicinske fakultete Univerze v Ljubljani, Oddelka za biodiverzitetno Fakulteto za matematiko, naravoslovje in informacijske tehnologije Univerze na Primorskem in Prirodoslovnega muzeja Slovenije smo združili moči in tri leta sodelovali v ciljnem raziskovalnem programu (CRP) *Vzpostavitev monitoringa prenašalcev vektorskih bolezni v Sloveniji*, ki so ga financirali Javna agencija za raziskovalno dejavnost Republike Slovenije, Ministrstvo za zdravje in Ministrstvo za okolje in prostor. V projektu smo se osredotočili na dve skupini prenašalcev vektorskih bolezni, komarje in peščene muhe, ki za ljudi predstavljajo ene najnevarnejših skupin prenašalcev. Obolevnost in smrtnost zaradi povzročiteljev bolezni, ki jih prenašajo, grozita skoraj polovici svetovnega prebivalstva.



Samica tigrastega komarja (*Aedes albopictus*) med sesanjem krvi na enem izmed toplokrvnih gostiteljev. (foto: Tomi Trilar)

Cilj projekta je bil popisati vrste komarjev in peščenih muh, ki so prisotne v Sloveniji, opredeliti razširjenost in številčnost avtohtonih in tujerodnih vrst ter pridobiti podatke o prisotnosti ali odsotnosti virusnih in zajedavskih patogenov, ki jih prenašajo. Pridobljeni podatki so ključno prispevali k razumevanju epidemiološke slike porajajočih se patogenov v Sloveniji in njeni okolici ter pripomogli k razvoju na področju raziskav medsebojnih vplivov med prenašalci, patogenimi mikroorganizmi in okoljem. Hkrati smo o prisotnosti patogenih mikroorganizmov v prenašalcih obveščali epidemiologe ter s tem pripomogli k učinkovitemu načrtovanju javnozdravstvenih ukrepov.

KOMARJI

Poznamo približno 35.000 vrst komarjev (Culicidae). Večina jih živi v tropskih in subtropskih krajih, prilagodljivost pa jim je omogočila, da so poselili tudi območja vse do arktičnega kroga. So žuželke s popolno preobrazbo, s štirimi razvojnimi stopnjami: jajčece, ličinka, buba in odrasla žival. Večinoma se odrasli komarji prehranjujejo z rastlinskim sokom in nektarjem, vendar te snovi samicam ne zadoščajo za razvoj jajčec. Potrebne beljakovi-

Arbovirusi so raznolika skupina virusov, katerih življenjski krog je vezan na členonožce, ki jih z vbodom ali ugrizom prenesejo na človeka ali druge vretenčarske gostitelje. Izraz arbovirusi izhaja iz angleščine in je okrajšava za *arthropod-borne virus*, kar pomeni virus, ki se prenaša s členonožci. Arbovirusi povzročajo širok spekter bolezni, tipska vrsta je virus klopnega meningoencefalitisa. Najpogostejši prenašalci arbovirusov iz debela členonožcev so klopi, komarji in peščene muhe.

ne in druge snovi dobijo s sesanjem krvi vretenčarjev, predvsem sesalcev, pa tudi ptic, plazilcev in nekaterih dvoživk. Kmalu po parjenju samice spremenijo vedenje in začnejo iskati vretenčarskega gostitelja, kjer bodo dobile prepotrebno kri za razvoj jajčec. Po obroku krvi samica poišče vodo, primerno za odlaganje jajčec, izbira pa je od vrste do vrste zelo različna. Samice nekaterih avtohtonih vrst izbirajo večje stoječe vode, samice tigrastega komarja (*Aedes albopictus*) pa potrebujejo le deciliter vode. Jajčeca samice običajno odložijo na površino vode. Pri vrstah iz rodov *Culex* in *Culiseta* so zlepljena skupaj v neakšne splave, samice ostalih vrst



Past za lov odraslih komarjev in peščenih muh tipa *CDC Light Trap*, ki kot vabo uporablja lučko in CO₂, ki se sprošča v okolje med taljenjem suhega ledu iz termovke. (foto: Tea Knapič)

pa jih izlegajo posamič na vodno rastlinje ali v neposredno bližino vode. Življenjska doba odraslih samic je v povprečju okoli enega meseca, v tem obdobju pa lahko jajčeca odložijo večkrat, od 50 do 500 jajčec naenkrat. Za vsako generacijo odloženih jajčec potrebujejo nov obrok krvi in tako lahko med različnimi gostitelji prenašajo povzročitelje bolezni.

PEŠČENE MUHE

Peščene muhe ali flebotomine (*Phlebotominae*) uvrščamo v družino metuljastih mušic (*Psychodidae*). Prepoznamo jih po značilni drži dlakavo obrobljenih kril, ki jih med počitkom držijo pokončno v obliki črke V, in izredno dolgih tankih nogah, ki so daljše od dolžine žuželke. Opisanih je več kot 950 vrst in so razširjene po vsem svetu. Glede na razširjenost jih lahko v grobem razdelimo na peščene muhe Starega sveta (rodovi *Phlebotomus* in *Sergentiomyia*) ter Novega sveta (rodovi *Lutzomyia*, *Brumptomyia* in *Warileya*). V Evropi so vrste, ki so pomembni prenašalci patogenov na ljudi, omejene predvsem na suha območja, kot je Sredozemlje, čeprav novejša raziskave kažejo na njihovo širjenje na sever Evrope.

Peščene muhe so žuželke s popolno preobrazbo, svoj življenjski cikel pa odvisno od vrste in okolijskih razmer zaključijo v enem do treh mesecih. Odrasle samice odložijo približno 30–70 jajčec v manjših serijah na vlažne površine, bogate s hranilnimi snovmi (prst, živalski izločki), nikoli pa v vodo. Ličinke se prehranjujejo z organskimi snovmi. Preden se zabubijo, si poiščejo suho okolje. Po dveh do treh



Past za lov predvsem tujerodnih vrst komarjev tipa *BG Sentinel*. Kot vaba se uporablja poseben atraktant, zraven pasti pa smo dodali še termovko s suhim ledom za privabljanje tudi drugih vrst komarjev. (foto: Tea Knapič)

tednih se iz bube izleže odrasla žival. Aktivne so predvsem ponoči, od mraka do zore, čez dan se skrivajo in počivajo v bolj hladnih in vlažnih okoljih, zato jih največ najdemo v skednjih, jamah, drevesnih vdolbinah, zidovih in špranjah. Njihovo proučevanje je oteženo zaradi nepoznavanja življenja odraslih osebkov podnevi in velikih težav pri iskanju ličink. Poznane so kot prenašalci zajedavca lišmanije, prav tako pa prenašajo tudi številne arbovire. Mehanizem prenašanja je podoben kot pri komarjih. Večji del življenja se prehranjujejo z rastlinskimi sokovi, samice pa za razvoj jajčec potrebujejo krvni obrok in zato aktivno iščejo toplokrvne živali.

POTEK VZORČENJA

Vzorčenje smo izvajali po celotni državi. Določili smo 165 mest vzorčenja, ki smo jih izbrali tako, da smo pokrili čim več življenjskih okolij, kjer bi potencialno lah-

Komarji zimo preživijo kot jajčeca, ki so dormantna, ali kot hibernirajoči odrasli osebki. V stanju hibernacije prezimujejo samice nekaterih vrst iz rodov *Culex*, *Culiseta*, *Anopheles* in *Uranotenia*. Samci jeseni po parjenju poginejo, samice pa se skrijejo v drevesne dupline, brloge, jame ali pod lubje. S pridom izkoriščajo tudi človeška bivališča in hleve. Tako zaščitene pred mrazom prezimijo do pomladi. V časučasne otoplitve lahko hibernacijo prekinejo in izletijo po obrok krvi, s katerim tvorijo nove zaloge energije za nadaljevanje hibernacije.

ko pričakovali komarje in peščene muhe. Osredotočili smo se na mesta, kjer smo pričakovali večje število prenašalcev, npr. v bližini živali (koz, ovc, kuncev, kokoši, konjev) ali v bližini stoječih vod.

Vzorčenje komarjev smo razdelili v tri glavne kategorije: vzorčenje odraslih osebkov, ličink in jajčec. 1) Za vzorčenje odraslih komarjev smo uporabili metode lova s pastmi. Od aprila do konca oktobra smo na izbranih mestih enkrat mesečno postavili 226 pasti in jih po 24 urah pobrali. Ker so komarji pozimi manj aktivni, smo v zimski sezoni (od novembra do marca) število mest vzorčenja omejili na 23, na katerih smo postavili 46 pasti. Za lov smo uporabili tri različne tipe pasti, s katerimi se lovi predvsem odrasle samice, in sicer pasti tipa *CDC Light Miniature Trap* in *BG Sentinel* ter pasti za lov gravidnih samic (namenjene lovu samic, ki odlagajo jajčeca). 2) Vzorčna mesta s stoječo vodo v bližini pasti za lov odraslih živali smo pregledali še za morebitno prisotnost ličink komarjev. 3) Lov komarjev s pastmi, predvsem tujerodnih invazivnih vrst, je lahko manj uspešen, ker za razvoj ličink uporabljajo umetne zadrževalnike vode, lahko tudi zelo majhne. Zato smo na določenih mestih, kjer smo pričakovali tujerodne vrste komarjev, uporabili pasti za jajčeca, t. i. *ovitraps*, ki posnemajo mesta za odlaganje jajčec teh vrst.

Pri peščenih muhah lahko vzorčimo samo odrasle živali, saj ličinke, ki so v organskem substratu (v hlevih, kurnikih ali zajčnikih), zelo težko najdemo. Vzorčenje aktivnih osebkov je precej podobno vzorčenju komarjev s svetlobnimi pastmi tipa *CDC Light Miniature Trap*, le da gre za nekoliko drugačno izbiro življenjskih okolij, ki pa se v delu lahko pokriva s komarjevimi.

Po končanem terenskem delu smo nabrane vzorce v čim krajšem času določili do vrste. Ulovljene odrasle smo že na terenu zamrznili na suhem ledu, ličinke komarjev pa smo shranili v alkoholu. Določanje komarjev je lahko sila zahtevno, nekateri morfološki znaki za razlikovanje med vrstami se med transportom hitro poškodujejo in določitev do vrste je tako skoraj nemogoča. V teh primerih smo si pomagali z metodo barkodiranja DNK, da smo posamezne osebkke lahko določili do vrste. Težavno je tudi določanje peščenih muh, saj je nujno pripraviti mikroskopske preparate, da lahko na podlagi zunanjih spolnih organov samcev in semenskih mošnjic (spermateka) samic določimo vrste.

ODKRILI TUDI NOVE VRSTE ZA SLOVENIJO

Tri leta terenskih vzorčenj so za nami, sedaj pa nas čaka še nekaj zimskih mesecev za natančen pregled in obdelavo rezultatov ter pisanje zaključkov in smernic, kako nadaljevati. V nadaljevanju podajamo nekaj dosedanjih ugotovitev, predvsem o ulovljenih odraslih komarjih in peščenih muhah.

Skupno smo ujeli 84.806 osebkov odraslih komarjev. Največ v poletni sezoni 2021, kar 35.325. Visoko število gre pripisati predvsem ugodnim vremenskim razmeram za razvoj komarjev v tistem letu. Visoke dnevne temperature že v aprilu in obilje deževja so nudili idealne pogoje za hiter razvoj ličink predvsem dveh avtohtonih vrst, rečnega poplavnega komarja (*Aedes sticticus*) in nižinskega poplavnega komarja (*Ae. vexans*), ki sta vezani na poplavna območja rek in poplavne ravnice. Za primerjavo, v sušnem letu 2022 smo z enakim naporom vzorčenja ujeli »le« 21.460, v letu 2020 pa 27.897 osebkov odraslih komarjev.

Vrstno najbogatejše območje z 20 zabeleženimi vrstami komarjev je bilo območje Kopra, kar je povsem pričakovano, saj so v Slovenski Istri pogoji za njihovo aktivnost ugodnejši, hkrati pa oblica različnih vodnih in kopenskih življenjskih okolij nudi ugoden prostor za razvoj različnih vrst komarjev.

Med najpogostejše ulovljene vrste lahko uvrstimo avtohtone rečnega poplavnega komarja, pepelastega komarja (*Ae. cinereus*) in nižinskega poplavnega komarja ter kompleks navadnega komarja (*Culex pipiens* s. l.). Tudi invazivni tigrasti komarji so predstavljali velik del skupnega ulova, kar 13 % od vseh vrst.



Past za lov gravidnih samic, ki privablja oplojene samice, ki iščejo primerno mesto za odlaganje jajčec. V črni banjici je voda. Ko pride samica blizu, jo ventilator posrka v lovilno mrežico, iz katere ne more ven. (foto: Tea Knapič)

Regijsko smo največje število odraslih komarjev ulovili na območju SV Slovenije, predvsem v okolici Ledavskega jezera in Murske šume, kjer mrtvice in poplavne ravnice predstavljajo ugodno življenjsko okolje za razvoj prej omenjenih močvirskih vrst.

Vse ulovljene odrasle komarje smo določili in dodali v vzorec za nadaljnje virološke analize. S pomočjo določevalnih ključev in barkodiranja DNK smo skupno določili 35 vrst komarjev. Tako smo seznam vrst komarjev v Sloveniji dopolnili z osmimi novimi avtohtonimi vrstami – *Anopheles hyrcanus*, *An. daciae*, *Ae. detritus*, *Ae. pulcritarsis*, *Ae. communis*, *Ae. rusticus*, *Ae. pullatus* in *Orthopodomyia pulcripalpis*. Zaradi nekaterih nejasnosti, ki nam jih ni pomagalo razrešiti niti določanje z barkodiranjem, pa pričakujemo,

da bomo v prihodnje seznam vrst komarjev dopolnili še s kakšno novo avtohtono vrsto za Slovenijo.

Peščene muhe so se začele pojavljati v bolj toplém delu leta, od maja do oktobra. Skupno smo na 80 mestih vzorčenja ulovili 1.446 živali. Kot je bilo pričakovano, je gostota populacij največja v Primorsko-notranjski in Goriški regiji, kjer smo zabeležili prisotnost 4 vrst (*Phlebotomus papatasi*, *P. neglectus*, *P. perniciosus* in *P. mascittii*) in ulovili največ peščenih muh. Na celinskih območjih, ki so pod večjim vplivom alpskega podnebja, smo ulovili le nekaj osebkov vrste *P. mascittii*, ki je značilna za celinski del Srednje Evrope. Poleti 2022 je bilo število ujetih peščenih muh pričakovano bistveno višje v primerjavi z letom 2021, saj so bile vremenske razmere zanje idealne (visoke dnevne in nočne temperature ter odsotnost padavin).



Samica (levo) in samec avtohtonega nižinskega poplavnega komarja (*Aedes vexans*), ki je bila ena izmed najštevilnejših vrst v ulovu. (foto: Tea Knapič)



Tujerodne vrste komarjev potrebujejo za odlaganje in razvoj jajčec majhne količine vode, zato smo za vzorčenje teh vrst uporabili t. i. ovitraps pasti. (foto: Katja Adam)

Komarji zaznajo prisotnost gostitelja preko povečane koncentracije ogljikovega dioksida, natančnejša prepoznavna pa je odvisna od vonjev, ki jih gostitelj oddaja. Nova študija je pokazala, da so nekateri ljudje res bolj »dišeči«, kar je verjetno povezano z njihovim vonjem. Komarjem privlačne spojine so določene kisline, ki se pojavljajo v hidrolipidnem sloju kože – tisti, ki jih imajo več, so bolj privlačni. Komarji se odzivajo tudi na telesno toploto, a zaenkrat še ni znano, ali je odziv neposreden ali pa toplota samo izboljša zaznavo CO₂ in vonjav.

Za okužbe s patogeni, ki jih vse pogostejše zaznavamo tako v Sloveniji kot v Evropi, predstavljajo tujerodne invazivne vrste komarjev vedno večje tveganje. Mednje spadajo tudi pri nas prisotni japonski, korejski in tigrasti komarji. Japonski komar (*Aedes japonicus japonicus*) je lahko vektor japonskega encefalitisa v Aziji, lahko se okuži z virusom Zahodnega Nila in virusom lacrosse. V Evropi najverjetneje ni pomemben prenašalec medicinsko pomembnih patogenov. Korejski komar (*Ae. koreicus*) je endemičen na Japonskem, na severu Kitajske, v Južni Koreji in na nekaterih območjih Rusije. V Evropi se je prvič pojavil leta 2008 v Belgiji, leta 2011 pa že v Italiji. Prvi podatki o pojavljanju komarja pri nas so iz leta 2015. Vrsta je prilagojena na mraz in naseljuje hribovita predalpska območja. Njegova vloga pri prenosu vektorsko prenosljivih bolezni trenutno ostaja nejasna. V nasprotju z njima pa tigrasti komar (*Ae. albopictus*), ki se je močno razširil tudi v Sloveniji, dokazano prenaša celo vrsto za človeka nevarnih povzročiteljev bolezni, kot so rumena mrzlica, chikungunya, denga in zika ter dirofilarija. Komar izvira iz tropskih gozdov Jugovzhodne Azije in je trenutno uvrščen med 100 najbolj invazivnih vrst na svetu. Je izredno prilagodljiva vrsta, saj so jajčeca odporna na sušo, odrasli pa prilagojeni na mraz. Izkoriščajo različna območja razmnoževanja in imajo lahko 5–17 generacij na leto. Vse to jim omogoča prilagajanje urbanim okoljem in hladnejšim regijam, kar omogoča invazijo vrste po vsem svetu.



Krhke in drobne peščene muhe prepoznamo po značilni drži dlakavo obrobljenih kril pokončno v obliki črke V. (vir: Wikipedia, CDC/ Frank Collins)

V vzorcih odraslih komarjev smo se z molekularnimi analizami osredotočili na porajajoče se arbovire (virusi Zahodnega Nila, usutu, chikungunya in sindbis) in medicinsko pomembne zajedavce (*Dirofilaria repens*, *D. imitis*, *Plasmodium* spp.), v vzorcih odraslih peščenih muh pa smo iskali RNK flebovirusov in DNK lišmanij. V več vzorcih komarjev smo potrdili prisotnost virusa usutu, ki je soroden virusu Zahodnega Nila, vendar pri ljudeh povzroča le blago bolezen ali pa okužba poteka popolnoma brez simptomov. V peščenih muhah za zdaj nismo zaznali patogenov. V času projekta v Sloveniji nismo dokazali bolezni pri ljudeh zaradi omenjenih patogenov, dobljeni rezultati prisotnosti virusov v komarjih pa so skladni z opazovanji obolevnosti ptic v naravi. Viruse kot so chikungunya in denga vsako leto dokažemo pri popotnikih. Popotniki pa so bili v preteklih letih v sosednjih državah (Italija, Hrvaška) pogosto izvor

manjših ali večjih lokalnih avtohtonih izbruhov teh eksotičnih virusov. Točne rezultate o pojavljanju vrst in laboratorijskih analizah bomo predstavili v strokovnem članku.

Ob zaključku prispevka ne moremo brez kančka nostalgije nad vsemi lepimi in včasih tudi malo manj lepimi spomini na prigode s terena ter iz laboratorija. Kljub izbruhu epidemije covid-19 in obremenjenosti laboratorija z vzorci nam je uspelo sprotno delo z določanjem in analizami vzorcev s terena. Domačini so nas na terenu v večini lepo sprejeli, marsikje so se spletla tudi prijateljstva. Kakšni babici smo polepšali dneve z mesečnimi obiski in kratkimi klepeti ob kavici, tudi štirinožni čuvaji so nas kmalu spoznali po avtu in prijazno pozdravili ob prihodu. Zgodb in nezgod se je v treh letih nabralo; od gumi defekta na začetnem terenu, nespodobnih povabil, posmeha in nenazadnje tudi ukradenih pasti ter zvitih platišč. Za konec pa še prijateljski nasvet: če na terenu zaradi udobja nosite prevelike hlače s širokimi hlačnicami, si čeznje povlecite nogavice. Modni guruji bodo zmehdano gledali za vami in se spraševali, ali uvajate nov trend, pomagalo pa vam bo tudi preprečiti obisk kakšnega nepovabljenega gosta pod hlačnico. Eno od nas je namreč v hlačah obiskala kača. ☘