

Спостереження за комарами та моніторинг хвороб

Вступ

Впродовж другої половини 20-го сторіччя, роль комарів, як векторів збудників хвороб, що становлять серйозну загрозу здоров'ю громадськості, вважалася критичною тільки для зони тропіків. Зникнення та викорінення лихоманки Денге і малярії в Європі до 1950 року, сприяло думці, що в Європі практично відсутні захворювання, що передаються комарами. Однак, на початку 21 сторіччя картина змінилася. У світі все більше налагоджуються зв'язки через подорожі, торгівлю та туризм, які сприяють регулярному поширенню хвороб в Європі, що пов'язані з передачею комарами – це тенденція, що підтвердилася прогресом у виявленні патогенів. Наразі підтверджені щорічні випадки передачі вірусу лихоманки Західного Нілу справжніми комарами родини *Culicidae* в Європейських та сусідніх країнах.

Нестабільна картина передачі збудників спостерігається на фоні змін навколишнього середовища, при чому широкомасштабні ініціативи щодо зміни ландшафту включають створення водно-болотних угідь, усунення наслідків повеней, посилення сталого міського дренажу і «інфраструктуру зеленого і блакитного простору». Разом з цим не треба забувати про кліматичні зміни, збільшення частоти екстремальних погодних умов (наприклад, повинь чи засуха). Ці фактори впливають на швидкість розповсюдження комарів та, відповідно, на зараження людей.

Трансмісивні хвороби, включно із тими що передаються комарами родини *Culicidae*, повинні бути в пріоритеті для відомств громадського та ветеринарного здоров'я в усій Європі. В деяких країнах нагляд за комарами є обмеженим, а де він проводиться - стратегії різняться.

Даний документ не є оригінальною роботою, натомість це огляд кількох робіт стосовно спостереження за комарами (посилання зазначені в кінці) з метою тренування в рамках програми «Наставництва після семінару». Читачам пропонується ознайомитися із першоджерелами для роботи над власними дослідженнями чи в рамках концепції Єдине Здоров'я.

Призначення

Розуміння суспільством навколишнього середовища та історії, разом з впровадженням застосування відповідних пасток дасть кращу картину щодо видів комарів, поширених в досліджуваній зоні та відносно наявності потенційної загрози виникнення захворювання.

Мета

Додаткова інформація по відбору зразків комарів

Метою нагляду за навколишнім середовищем є виявлення активності арбовірусів в конкретній місцевості до передачі їх людям для попередження появи захворювань та впровадження ефективних заходів боротьби.

Водні ресурси та спостереження за личинками

Водні ресурси в досліджуваній місцевості можуть слугувати ділянками для розмноження комарів. Залежно від конкретного виду, личинки можуть знаходитися у стоячих водах, несправних каналізаційних стоках обабіч доріг, чи навіть в старих шинах, залишених на задньому дворі будинку чи господарства.

Забір комарів та спостереження за дорослими особинами

Спостереження за дорослими особинами включає в себе щотижневе виловлювання комарів, з розділенням місцевості, що вивчається (місто, країну, промислову зону) на контрольні ділянки. Існує кілька типів пасток для дорослих особин з метою проведення ефективної програми спостереження, кожен тип має власні переваги, залежно від цілей програми спостереження.

- *BG-дозорна пастка (BG-Sentinel Trap)*

BG-дозорна пастка була розроблена для відловлювання комарів видів *Aedes albopictus* (Азійський тигровий комар) та *Aedes aegypti* (комар, що є вектором збудника жовтої гарячки). Дані види поширені у містах та є переносниками вірусів хвороби Зіка, Чікунгунї, Жовтої та лихоманки Денге. Обидва види використовують природні та штучні резервуари для розмноження, що значно ускладнює їхній вилов у великій кількості. BG-дозорна пастка вироблена з брезентного матеріалу, має розмір близько 20-літрового відра та в якості приманки застосовується такі речовини, як октенол, феромони людини, або карбону діоксид (CO₂). Воронка, розташована у верхній частині пастки, направляє комарів до електричного вентилятора (живлення від електричної мережі або змінних батарей), який затягує їх у збиральну сітку. BG-дозорна пастки добре застосовувати для вилову комарів роду *Aedes* при розміщенні в належних місцях і використанні відповідних приманок.



- *Гравідальні пастки (Gravid Traps)*

Додаткова інформація по відбору зразків комарів

Гравідальні пастки розроблені для вилову комарів роду *Culex*, таких як *Culex tarsalis* чи *Culex pipiens* які є переносниками вірусу гарячки Західного Нілу. Комарів роду *Culex* заманюють у пастку зі стоячою водою, яка розміщена під вентилятором з живленням від акумулятору, який задуває комарів у контейнер для збору. Вода містить розчин органічних матеріалів, часто трави або сіна, який відстоювався протягом декількох днів або довше, і слугує приманкою, імітуючи запах природної стоячої води, де комари роду *Culex* найчастіше відкладають яйця. Якщо пастка постійно залишається на своєму місці, вода з приманкою повинна обов'язково зливатися в дні, коли відлов комарів не проводиться. Це особливо важливо, якщо пастка знаходиться неподалік від громадських місць чи будівель, так як пастка може слугувати свого роду розплідником у разі відсутності батареї чи контейнеру для збору.



- **Світлові пастки Нью-Джерсі (New Jersey Light Trap)**

Світлова пастка Нью-Джерсі використовується для відлову дорослих особин широкого спектру видів комарів. Це спеціальний пристрій, призначений для більш тривалого періоду відлову, оскільки він повинен бути надійно закріплений на висоті 1.5-2 метри над землею і живитися від електричної мережі.

Безпосередньо над світловою пасткою Нью-Джерсі можна також підвішувати сухий лід у вентилязованому контейнері, що використовується в якості додаткової приманки. Завдяки здатності світлової пастки Нью-Джерсі ловити різні види комарів у великих кількостях, вона є відмінний інструмент для усіх програм контролю комарів. Дослідження виявлених видів комарів може допомогти розрахувати відносну кількість популяцій комарів для певного району, визначити місцеві види комарів-переносників і допомогти фахівцям в пошуку локальних осередків розмноження. Приманки цієї пастки приваблюють більш агресивні види комарів. Зокрема, у програмах контролю різних видів комарів краще використовувати світлові пастки Нью-Джерсі.



Додаткова інформація по відбору зразків комарів

- *CDC та EVS світлові пастки (CDC & EVS Light Trap)*

CDC та EVS світлові пастки є свого роду стандартом у сфері спостереження за комарами. Розроблені Центром контролю і профілактики захворювань, ці пастки живляться за допомогою батарейок, забезпечені механічним вентилятором та чашою для збирання. Дані пристрої є портативними і можуть використовуватися по-різному, але найпоширеніша модель включає в себе невеликий ліхтарик та приманку

(джерело CO₂). Потік вуглекислого газу приваблює дорослих особин, шляхом імітації дихальні газу, що видихають птахи або ссавці. Комари потрапляючи в пастку направляються потоком повітря в збиральну чашу, звідки не в змозі вилетіти назад. Багато видів комарів є активними протягом ночі, тому CDC пастки зазвичай встановлюють надвечір та збирають на світанку наступного дня. Живі особини можуть бути досліджені в лабораторії.



Поводження із зразками та їх обробка

Холодовий ланцюг - Необхідно докласти зусиль, щоб збір і обробка зразків мінімально піддавалася впливу умов навколишнього середовища (наприклад, нагрівання, послідовні цикли заморожування-танення), які здатні руйнувати вірус. Оптимально холодний ланцюг повинен застосовуватися з часу вилучення комарів із пастки до моменту доставки в лабораторію, а також під час можливого зберігання та обробки. З поля комарів необхідно транспортувати в холодильник або з використанням холодних елементів чи сухого льоду. Сорткування та видову ідентифікацію комарів проводьте на столі з охолодженням, якщо це можливо. Це особливо важливо, якщо зразки будуть досліджуватися з виділенням інфекційного вірусу або на виявлення антигену. Однак встановлено, що відсутність холодного ланцюга може не впливати на зниження ймовірності детекції РНК вірусу Західного Нілу методом ПЛР в реальному часі (Turell et al. 2002).

Додаткова інформація по відбору зразків комарів

Ідентифікація та підготовка пулів – Комарі мають бути визначені до видів або найменшої таксономічної одиниці. Комарів в цілому досліджують в пулах, що містять від 50 до 100 особин, згрупованих за видом; датою та місцем відбору. Великі розміри пулів можуть призвести до втрати чутливості (Sutherland and Nasci 2007). Дотримуйтесь інструкцій, що додаються до комерційних наборів для досліджень на виявлення ВЗН, в яких можуть бути зазначені менші розміри пулів (див. розділ «Діагностика»). Зазвичай лише самиці комарів досліджуються при здійсненні спостереження за ВЗН. Якщо скринінг ВЗН не проводиться одразу після видової ідентифікації комарів та їх розподілу на пули, такі пули із зразками мають зберігатися замороженими, оптимальна температура зберігання (-70) °C, але для короткочасного зберігання можливе заморожування при температурі дещо нижчій точки замерзання.



Гомогенізація та центрифугування – Після додавання відповідних засобів (середовищ), пули комарів можуть бути подрібнені або перемелені різними способами, включаючи ступку і товчач, струшуванням в пробірках з вмістом однієї або більше BBs гранул, вкритих мідною оболонкою або використовувати апарат для гомогенізації тканин, які є комерційно доступними. Після подрібнення, зразки центрифугують та відбирають аліквоти для проведення дослідження на виявлення ВЗН. Враховуючи те, що пули комарів можуть містити ВЗН та інші патогенні віруси, які можуть розпилятися під час обробки, персонал лабораторії повинен дотримуватися відповідних попереджувальних заходів, у тому числі, використання боксу біологічної безпеки II класу (БББ-II) та одягати відповідні засоби індивідуального захисту (ЗІЗ) та практики біобезпеки.

Моніторинг захворюваності та звітування – Дослідження на захворювання, що переносяться комарами, найбільш вагома причина для реалізації комплексної програми спостереження за комарами. В більшості випадків, патогени, які комарі можуть переносити людям та тваринам можуть бути виявлені в самих комарах за кілька тижнів до їх передачі, що дає змогу експертам застосувати усі відповідні заходи контролю для зниження ризику передачі збудників та захворювань серед людей.

Дослідження з детекції вірусів – Численні процедури були розроблені для виявлення в діагностичних зразках людини живих вірусів Західного Нилу, їх антигену або РНК. Більшість з них були адаптовані для детекції ВЗН в інших хребетних тваринах та в зразках комарів. Ці процедури відрізняються за своєю чутливістю, специфічністю та часом, який витрачається на проведення дослідження (Таблиця 1). Серед тестів, наведених в Таблиці 1, спеціально для дослідження комарів на наявність антигену ВЗН були розроблені Вектор-тест (Vector Test), зв'язування антигену методом ІФА та платформа швидкого вимірювання аналіту (ПШВА / від

Додаткова інформація по відбору зразків комарів

англ. Rapid Analyte Measurement Platform, RAMP), які згодом були адаптовані для тестування зразків птахів та інших хребетних та не застосовуються для діагностичних досліджень у людей.

Таблиця 1. Характеристики чутливості та часу, який витрачається для досліджень на виявлення живого вірусу ЗН, вірусної РНК та детекцію вірусного антигену <https://www.cdc.gov/westnile/resources/pdfs/wnvGuidelines.pdf> .

Найменування дослідження (тесту)	Детекція	Рівень детекції (офч/мл)	Час, що витрачається на аналіз
Вектор-тест (Vector Test)	Вірусний антиген	100 000	15 хв.
Зв'язування антигену методом ІФА	Вірусний антиген	10 000	24 год.
Платформа швидкого вимірювання аналіту	Вірусний антиген	1 500	90 хв.
Ізоляція вірусу на мишах-сисунках	Живий вірус	100	4-10 діб
Ізоляція вірусу на культурі клітин Vero	Живий вірус	100	3 доби
Стандартна ПЛР в реальному часі	Вірусна РНК	5	8 год.
NASBA-тест	Вірусна РНК	0,1	4 год.
TaqMan ПЛР в реальному часі	Вірусна РНК	0,1	4 год.
Транскрипція опосередкована ампліфікацією	Вірусна РНК	0,02	4 год.

ГІС та управління даними при спостереженні за комарами

Географічна інформаційна система (ГІС) – це набір інструментів який дозволяє нам візуалізувати, запитувати, аналізувати та інтерпретувати дані. Шляхом створення карт, звітів або графіків Ви можете виявляти взаємозв'язки, растри або тренди у даних, які часто відіграють важливу роль у прийнятті рішень.

Ключовим блоком при спостереженні за комарами є управління даними. Дані ГІС можуть бути проаналізовані та представлені у візуалізованій манері, що може їх зробити легко зрозумілими. Мапи є найкращим шляхом для висвітлення даних. Наочні посібники поєднують висновки та надають контекст, який націлений на певну аудиторію.

ГІС-технології можуть допомогти:

Додаткова інформація по відбору зразків комарів

- **Відслідковувати природні біотопи личинок та здійснювати контроль за ними** – Фахівці, що працюють в польових умовах можуть використовувати GPS координати при зборі даних щодо біотопів личинок та застосування ларвіцидів. Дані можуть включати позначення місця, яке було відвідано, примітки щодо активності личинок або відстеження скільки продукту було застосовано на даній території.
- **Дані спостереження за процесами та моніторингу за захворюваннями** - Використання ГІС може дати чітку уяву про те, що відбувається в популяціях комарів на будь-яких територіях. Перше, розташування пасток може бути записано та добавлено в базу даних. Наступне, кількість комарів та ідентифіковані види можуть бути заповнені для кожного місця розташування. Після того, результати детекції збудника захворювання можуть бути введені відносно кожної пастки та відображатися постійно. Крім того, запити на обслуговування можуть реєструватися та зіставлятися для допомоги у визначенні проблемних областей.
- **Визначати області застосування адульцитидів та виключення лікування** - Відстежуючи популяції комарів, менеджери можуть приймати виважені рішення щодо того, чи необхідно вжити заходи контролю, а також коли і де потрібно застосовувати адульцитиди (пестицидів для знищення імаго комах).
- **Відповідність нормативним вимогам** - За допомогою точного запису та відображення всіх аспектів програми, мапи можуть бути використані для забезпечення дотримання вимог законодавства та спрощення дозвільних вимог.
- **Управління запасами** – При застосуванні пестицидів дані ГІС забезпечують точні вимірювання площини, тому технічні спеціалісти знають, яку кількість продукту необхідно застосувати на кожному конкретному сайті, а управлінський персонал знає яка кількість продукту має бути в наявності для обробки усіх сайтів, залучених до програми.
- **Громадська освіта** - За допомогою картографування ризиків для здоров'я людей, пов'язаних із моніторингом патогенів в популяціях комарів у населених пунктах, ГІС може допомогти визначити їх зв'язок з захворюваннями на «комарині» інфекції, які викликають занепокоєння в певній місцевості.
- **Реагування на надзвичайні ситуації** – ГІС можуть бути застосовані для надання допомоги при усуненні надзвичайних ситуацій. ГІС відіграють значну роль у боротьбі зі спалахами комариних інфекцій після тропічних штормів, ураганів та інтенсивних повеней.

ГІС може використовуватися в будь-якому аспекті програми спостереження за комарами. З поточним розвитком технологій, перспективи ГІС – це нескінченне поліпшення діяльності з охорони здоров'я населення від комариних хвороб.

Додаткова інформація по відбору зразків комарів

Посилання та джерела

- Walter Reed Biosystematics Unit:
- UTEP Biodiversity Collections: <https://www.utep.edu/leb/mosquito/>
- CDC National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases (NCEZED) (2016): <https://www.cdc.gov/ncezid/dvbd/index.html>
- CDC Recommendations for Protecting Laboratory, Field, and Clinical Workers from West Nile Virus Exposure: <https://www.cdc.gov/niosh/docs/2006-115/pdfs/2006-115.pdf>
- CDC West Nile in the United States. Guidelines for Surveillance, Prevention and Control (2013): <https://www.cdc.gov/westnile/resources/pdfs/wnvGuidelines.pdf>
- CDC Mosquito Pictorial Keys: https://www.cdc.gov/nceh/ehs/Docs/Pictorial_Keys/Mosquitoes.pdf
- Bioquip (2017): <http://bioquip.com>
- John W. Hock Company (2017): <http://johnwhock.com>
- Vector Disease Control International (2013): <http://www.vdci.net>
- ECDC: Guidelines for the surveillance of native mosquitoes in Europe: http://www.higieneambiental.com/sites/default/files/images/pdf/surveillance-of_native-mosquitoes_-_guidelines.pdf
- Turell MJ, Spring AR, Miller MK, Cannon CE. 2002. Effect of holding conditions on the detection of West Nile viral RNA by reverse transcriptase-polymerase chain reaction from mosquito (Diptera: Culicidae) pools. J Med Entomol. 39(1):1-3.
- Sutherland GL, Nasci RS. 2007. Detection of West Nile virus in large pools of mosquitoes. J Am Mosq Control Assoc . 23:389-95.
- Lanciotti RS, Kerst AJ, Nasci RS, Godsey MS, Mitchell CJ, Savage HM, et al. 2000. Rapid detection of West Nile virus from human clinical specimens, field- collected mosquitoes, and avian samples by a TaqMan reverse transcriptase-PCR assay. J Clin Microbiol. 38:4066-71.
- Lanciotti RS, Kerst AJ. 2001. Nucleic acid sequence-based amplification assays for rapid detection of West Nile and St. Louis encephalitis viruses. J Clin Microbiol. 39(12):4506-13.