

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
ПЕРВЫЙ МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И.М. СЕЧЕНОВА
МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
(СЕЧЕНОВСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ)

На правах рукописи

Баранец Марина Сергеевна

**Медицинское значение moskitov (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae)
черноморского побережья Крымского полуострова**

03.02.11 – паразитология

Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор биологических наук, профессор
Понировский Евгений Николаевич

Москва – 2019

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	5
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	12
1.1 Заболевания, передаваемые москитами. Современная эпидемиологическая ситуация.....	12
1.1.2 Бартоinelлез.....	12
1.1.3 Арбовирусные инфекции.....	13
1.1.3.1 Вирусы комплекса везикулярного стоматита	13
1.1.3.2 Москитные лихорадки	14
1.1.4 Лейшманиозы.....	17
1.1.4.1 Висцеральный лейшманиоз Средиземноморского типа.....	18
1.1.4.2 Висцеральный лейшманиоз и ВИЧ-инфекция.....	20
1.2 Представители семейства Tгуранosomatidae, паразитирующие в москитах.....	21
1.3 Классификация москитов.....	22
1.4 Распространение москитов.....	22
1.5 Экология и биология москитов.....	23
1.6 Идентификация москитов.....	25
1.6.1 Морфологическая идентификация.....	25
1.6.2 Молекулярная идентификация.....	26
1.7 Москиты Крымского полуострова.....	27
1.7.1 История изучения и видовой состав	28
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	32
2.1 Материалы и объем исследований.....	32
2.2 Полевые методы исследований.....	33
2.3 Лабораторные методы исследований.....	37
2.3.1 Определение физиологического возраста самок.....	37
2.3.2 Приготовление постоянных препаратов.....	38
2.3.3 Морфологическая идентификация москитов.....	38

2.3.4 Молекулярная идентификация mosкитов.....	38
2.3.5 Определение зараженности mosкитов представителями семейства Trypanosomatidae.....	43
2.4 Методы статистической обработки данных.....	45
ГЛАВА 3. ОПИСАНИЕ РАЙОНА ИССЛЕДОВАНИЙ.....	46
3.1 Физико-географическая характеристика.....	46
3.2 Эпидемиологическая ситуация по заболеваниям, передаваемым mosкитами на территории Крымского полуострова.....	50
3.2.1 Москитная лихорадка.....	50
3.2.2 Висцеральный лейшманиоз.....	52
3.2.3 Висцеральный лейшманиоз и ВИЧ-инфекции.....	57
ГЛАВА 4. ИЗУЧЕНИЕ МОСКИТОВ ЧЕРНОМОРСКОГО ПОБЕРЕЖЬЯ КРЫМСКОГО ПОЛУОСТРОВА.....	60
4.1 Видовой состав mosкитов черноморского побережья Крымского полуострова.....	61
4.1.1 Результаты морфологической идентификации mosкитов.....	61
4.1.2 Генетическое подтверждение наличия в фауне mosкитов Крыма видов, имеющих эпидемиологическое значение.....	66
4.2 Распространение mosкитов на черноморском побережье Крымского полуострова.....	69
4.3 Экология mosкитов черноморского побережья Крымского полуострова и их биотопическое распределение.....	74
4.4 Сравнение фауны mosкитов черноморского побережья Крымского полуострова на современном этапе с фауной mosкитов в 1930-1960 г.....	80
4.5 Обнаружение в mosкитах ДНК <i>Crithidia brevicula</i>	82
ГЛАВА 5. МЕДИЦИНСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ МОСКИТОВ КРЫМСКОГО ПОЛУОСТРОВА.....	84
5.1 Восприимчивость переносчиков к возбудителю.....	85
5.2 Численность вида.....	86

5.3 Степень контакта возможных переносчиков с человеком.....	87
5.4 Индивидуальная продолжительность жизни переносчика.....	88
5.5 Продолжительность сохранения возбудителя в организме переносчика.....	90
5.6 Совпадение пика численности переносчика с сезоном возможной передачи возбудителя.....	90
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	93
ВЫВОДЫ.....	99
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	100
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	101
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	102

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Природно-климатические условия Крымского полуострова благоприятны для обитания различных видов moskitov, передающих трансмиссивные заболевания протозойной, вирусной и бактериальной природы.

По данным литературы [7, 18, 22, 53, 55] ранее на этой территории обитало 7 видов moskitov: *Phlebotomus (Phlebotomus) papatasi* Scopoli, 1786; *Ph. (Paraphlebotomus) sergenti* Parrot, 1917; *Ph. (Par.) sergenti var. alexandri* Sinton, 1928; *Ph. (Larroussius) major* Sinton, 1925; *Ph. (Lar.) perfiliewi* Parrot, 1930; *Ph. (Adlerius) chinensis* Theodor, 1958; *Ph. sequens / Sergentomyia (Sergentomyia) minuta* Rondani, 1843.

Из заболеваний, передаваемых москитами, в Крыму распространены висцеральный лейшманиоз и москитная лихорадка (лихорадка паппатачи).

Россия по экспертной оценке ВОЗ не является эндемичной по ВЛ, однако в Крыму спорадические случаи этого заболевания отмечали с 1932 г. у взрослых и детей, как в юго-восточной части полуострова (районы между Феодосией и Судакom) так и в южной (Севастополь, Балаклава, Алуштинский район) [6, 33, 34, 66, 73, 74]. В большинстве случаев невозможно определить, где именно произошло заражение, так как часть заболевших, особенно взрослых неиммунных людей, были туристами, путешествовавшими по черноморскому побережью Крыма. По словам больных, ранее они не посещали эндемичных по ВЛ стран.

Зарегистрировано несколько случаев с летальным исходом из-за несвоевременного и ошибочного диагноза, последний из которых произошел в 2018 г. В Крыму было выявлено 4 случая сочетания ВЛ и ВИЧ-инфекции (1997, 2009, 2011 и 2013 гг.) [27-29, 31, 58, 73].

Особенности передачи ВЛ, наличие переносчиков и резервуаров инфекции, которыми в Крыму могут являться лисицы (*Vulpes vulpes*), барсуки

(*Meles meles tauricus*), черная крыса (*Rattus rattus*) и бездомные собаки (*Canis familiaris*), не исключают возможности сезонного возникновения вспышек. Недооценка этого факта местными органами здравоохранения, отсутствие знаний медицинских работников и мониторинга ситуации в системе эпидемиологического надзора за ВЛ на полуострове, приводит к несвоевременной, ошибочной диагностике и смертельным исходам.

В середине XX столетия в Крыму была распространена МЛ – лихорадка паппатачи, крупные вспышки которой были зарегистрированы на черноморском побережье в Феодосии, Судак, Севастополе, Алуштинском и Ялтинском районах, а также в других населённых пунктах – Бахчисарае, Симферополе, Джанкое и Керчи [18, 23, 37, 45, 47, 48]. После проведенных в 1948-1950-х гг. масштабных мероприятий по борьбе с переносчиками – москитами численность последних значительно сократилась, что привело к прекращению вспышек заболевания. В настоящее время какие-либо данные о МЛ в Крыму отсутствуют, что объясняется снижением активности природных очагов, сокращением численности переносчиков и отсутствием тест-систем для специфической диагностики МЛ в лабораториях. Однако, трансовариальная передача вируса, возможность длительной циркуляции возбудителя в природе без участия человека, а также сохранение вируса в крови позвоночных, требуют постоянного мониторинга за оздоровленными ранее очагами и оценки энтомологической и эпидемиологической ситуации. Такие исследования в первую очередь включают изучение биологии и экологии москитов, их эпидемической эффективности для определения риска заражения населения, прогнозирования возможных изменений и планирования рациональных профилактических мероприятий.

Актуальность настоящих исследований состоит в определении медицинского значения москитов на основании изучения экологии, биологии, распространения и биотопического распределения видов москитов черноморского побережья Крымского полуострова, что позволит в дальнейшем создать эффективные методы по борьбе с москитами и по профилактике

заболеваний передающимися ими. Фактически энтомологические наблюдения за москитами в Крыму были прекращены в конце 50-х – начале 60-х гг. XX столетия, когда после проведения противомоскитных мероприятий численность их существенно снизилась. В последующем периоде в Крыму произошли существенные изменения, связанные с урбанизацией. Численность местного населения по сравнению с 1950 г. увеличилась в два раза, произошло освоение новых территорий. Изменился климат [30, 32, 38, 51, 52], что могло повлиять на изменение видового состава москитов и их распределение на полуострове. В настоящее время в Крым прибывает ежегодно несколько миллионов отдыхающих в санаториях и туристов, предпочитающих отдых в лесу с палатками, в природных биотопах москитов – в сезон их активности и передачи ВЛ. Кроме того в Крыму имеется несколько морских портов, что не исключает возможности завоза возбудителей инфекции, передаваемых москитами, из различных регионов Мира и дальнейшего их распространения на территории полуострова. Отсутствие каких-либо литературных сведений о москитах Крыма за последние 50 лет свидетельствует о недооценке их медицинской значимости.

Степень разработанности темы исследования

В России масштабные работы по изучению москитов Крымского полуострова проводились начиная с 1923 года и были связаны с проблематикой лихорадки паппатачи. Поскольку единственным известным переносчиком этой москитной лихорадки являлся *Phlebotomus papatasi*, то все исследования были направлены на изучение биологии, экологии и медицинского значения этого вида, остальным видам не уделялось должного внимания. Однако анализ зарубежных публикаций свидетельствует о высокой степени изученности медицинского значения москитов, некоторые виды из которых обитают и в Крыму. Последние исследования по москитам Крыма проводились А.В. Долматовой в 1950-х годах, результаты которых были представлены в диссертации на соискание ученой степени доктора биологических наук [18].

Целью работы являлось обобщением материала, накопившегося за ряд лет по изучению биологии и экологии moskitov, a также борьбы с ними за период с 1940 по 1957 г. С подавлением численности *Ph. papatasi* в очагах лихорадки паппатачи и исчезновением этого заболевания, все исследования по изучению moskitov Крыма прекратились.

Исходя из вышеизложенного, были поставлены цель и задачи исследований.

Цель исследования

Определить медицинское значение moskitov черноморского побережья Крымского полуострова на основе изучения видового состава, распространения, особенностей их биологии, экологии и фенологии на современном этапе.

Задачи исследования

1. Провести анализ эпидемиологической ситуации по заболеваниям, передаваемым moskitami на территории черноморского побережья Крымского полуострова.

2. Определить видовой состав moskitov черноморского побережья Крымского полуострова на современном этапе, используя морфометрические и молекулярно-биологические методы (ПЦР).

3. Провести молекулярно-биологические исследования на наличие ДНК представителей сем. Trypanosomatidae в moskitax с целью выявления возбудителя ВЛ *L. infantum*.

4. Определить медицинское значение moskitov, распространенных на территории черноморского побережья Крымского полуострова.

Научная новизна исследования

1. Впервые за последние 50 лет было проведено комплексное изучение фауны moskitov черноморского побережья Крымского полуострова в соответствии с современной номенклатурой, их распространение, биотопическая приуроченность и экологические особенности.

2. Установлен видовой состав moskitov черноморского побережья Крымского полуострова на современном этапе.

3. Впервые в России молекулярными методами были выявлены виды moskitov Крымского полуострова, являющиеся переносчиками возбудителей трансмиссивных заболеваний.

4. Впервые в moskitax была обнаружена ДНК *Crithidia brevicula*.

Теоретическая и практическая значимость исследования

Полученные данные могут быть использованы для разработки рекомендаций по борьбе и профилактике болезней, передаваемых moskitami на территории Крымского полуострова, составления планов мероприятий по мониторингу и контролю численности moskitov для санитарно-эпидемиологической службы. Результаты исследований расширяют представления о фауне и экологии moskitov Крымского полуострова, могут быть использованы в курсах лекций по энтомологии и экологии и при составлении регионального кадастра животного мира.

Методология и методы исследования

При выполнении работы применялись полевые методы исследований – сбор материала, и лабораторные, включающие в себя молекулярно-генетические методы, методы филогенетического анализа, морфометрические методы определения видового состава moskitov и физиологического возраста самок.

Положения, выносимые на защиту

1. Анализ данных литературы и результаты собственных исследований показали значительные изменения, произошедшие за последние 50 лет в фауне, распространении и численности moskitov черноморского побережья Крымского полуострова, связанные с урбанизацией исследуемой территории, интенсивными противомоскитными мероприятиями проведенными в 1940-1950 гг., улучшением благоустройства и санитарного состояния территории, и климатическими изменениями.

2. Наличие на черноморском побережье Крымского полуострова случаев висцерального лейшманиоза в настоящее время и заболеваний москитной лихорадкой в прошлом (лихорадка паппатачи), а также выявление переносчиков заболеваний, свидетельствует об эпидемической опасности черноморского побережья Крымского полуострова и возможном появлении новых, ранее не регистрируемых на этой территории вирусных инфекций, передаваемых москитами.

Степень достоверности и апробация результатов исследований

Достоверность результатов определяется достаточным объемом материала для исследования, использованием методов, соответствующих целям и задачам исследования и статистической обработкой полученных результатов.

Материалы исследований были доложены:

- на научной конференции «Эндемичные и завозные арбовирусные инфекции в Российской Федерации (2014-2015 г.)» - г. Москва, 24-25 ноября 2015 г.
- на IX Ежегодном Всероссийском Конгрессе по инфекционным болезням с международным участием. г. Москва, 27-29 марта 2017 г.
- на научно-практической конференции с международным участием «Паразитарные и инфекционные болезни в краевой патологии центрально-азиатского региона». – г. Самарканд, Узбекистан, 14 - 15 июня 2018 г.

Внедрение научных результатов в практику

1. Материалы исследований используются в виде лекций, семинарских и практических занятий Кафедрой тропической медицины и паразитарных болезней МПФ ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава РФ (Сеченовский Университет) по специальностям 03.02.11 – паразитология.

2. Материалы исследований используются в виде лекций, семинарских и практических занятий Кафедрой тропических, паразитарных болезней и дезинфекционного дела Российской медицинской академии непрерывного

профессионального образования Минздрава РФ по специальностям 03.02.11 – паразитология.

3. Результаты исследований внедрены в курс лекций и практических занятий на кафедре экологии и зоологии факультета биологии и химии Таврической академии ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского» по направлению 06.03.01 - биология.

Личный вклад соискателя

Лично автором были запланированы и проведены сборы moskitov в 19 населенных пунктах и их окрестностях вдоль черноморского побережья Крымского полуострова. Все собранные moskity были определены автором до вида по морфометрическим признакам, правильность определения была подтверждена методом ПЦР. Самостоятельно были обобщены материалы собственных исследований и данные литературы по медицинскому значению moskitov. Результаты исследований проанализированы лично автором.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 5 статей в рецензируемых научных журналах, включенных в перечень рекомендованных ВАК России, одна из них опубликована в журнале, индексируемом в базе данных SCOPUS.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 121 странице машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, трех глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы, включающего 170 источника, из которых 74 – отечественных и 96 зарубежных авторов. Работа иллюстрирована 8 таблицами и иллюстрирована 22 рисунками.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Заболевания, передаваемые москитами. Современная эпидемиологическая ситуация

Москиты (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) являются переносчиками возбудителей протозойных (лейшманиозы), вирусных (москитные лихорадки и вирусы комплекса везикулярного стоматита) и бактериальных инфекций (бартоinelлез). Слюна москитов токсична и у многих людей в местах укуса возникают аллергические реакции, сильный зуд, папулы, волдыри, узелки, отечность [18, 64, 65, 138].

1.1.2 Бартоinelлез

Возбудитель заболевания – *Bartonella bacilliformis*, подвижная, аэробная, грамотрицательная бактерия, локализующаяся в клетках ретикулоэндотелиальной системы человека. Переносчиками являются москиты рода *Lutzomyia* (*Lu. verrucarum*, *Lu. noguchii*, *Lu. peruensis*, *Lu. columbiana*), единственным известным резервуаром являются люди [75, 138].

У людей вызывает заболевание, известное как болезнь Карриона, которая имеет две клинические формы: острая, известная как лихорадка Оройя, и хроническая (тканевая) – под названием «перуанская бородавка». В течение жизни человек может перенести заболевание несколько раз [92]. Наиболее распространенными клиническими признаками острой формы бартоinelлеза являются боли в мышцах и суставах, лихорадка, головная боль, бред и, в конечном счете, кома, что в 40 % случаев приводит к летальному исходу. Хроническая форма характеризуется эруптивной фазой, в которой у пациентов развивается кожная сыпь, в результате пролиферации эндотелиальных клеток. Бессимптомная бактериемия встречается у 0,5 % людей в эндемичных регионах [138]. Болезнь Карриона распространена в центральном регионе Перу, Эквадоре и на юго-западе Колумбии [75].

1.1.3 Арбовирусные инфекции

Москиты являются основными переносчиками ряда арбовирусов: более 20 буньявирусов (род *Phlebovirus*), около 10 реовирусов (род *Orbivirus*), 4 рабдовирусов (род *Vesiculovirus*) и одного поксвируса [35, 40, 65, 115].

1.1.3.1 Вирусы комплекса везикулярного стоматита

Вирусы комплекса везикулярного стоматита (ВВС) относятся к семейству Rhabdoviridae, роду *Vesiculovirus*. Переносятся москитами родов *Lutzomyia* (*Lu. trapidoi*, *Lu. ylephiletor* и *Lu. shannoni*) [93], *Phlebotomus* (*Ph. papatasi*) и *Sergentomyia* [138].

Распространены в Мексике, Центральной Америке, Северной Южной Америке и восточной Бразилии, а также в некоторых регионах юго-восточной территории США, Иране, Афганистане и странах Центральной Азии [15, 65, 75]. В большинстве случаев наблюдается субклиническая форма заболевания, реже протекает в тяжелой гриппоподобной, но доброкачественной форме, с высокой температурой, часто с двухволновыми периодами лихорадки с сильным недомоганием, головными болями, миалгией, артралгией, болями в затылке, глазах и тошнотой. Иногда заболевание сопровождается образованием пузырьков на слизистой оболочке полости рта, губ и носа [93].

Москитами передаются 4 вируса из комплекса ВС: ВВС Индиана – распространен в Северной и Южной Америке [40, 65, 94]; вирус Исфаган – распространен в странах Центральной Азии и Иране [15], как и МЛ передается *Ph. papatasi* [15, 40]; вирусы Чандипура и распространен в Индии и Нигерии [40, 65], у людей вызывает единичные лихорадочные заболевания [86], но были выявлены случаи энцефалопатии [153], а в 2003 г. была описана большая вспышка острого энцефалита среди детей вызванная этим вирусом [151]. Вирус Пири был обнаружен только в Бразилии. Клиническая картина включает внезапное начало, боль в пояснице, озноб, лихорадку, головную боль, миалгию,

артралгию, иногда фотофобию. Полное выздоровление происходит через 1-2 суток [65].

1.1.3.2 Москитные лихорадки

Эти заболевания, вызываемые группой родственных вирусов, относятся к роду *Phlebovirus*, семейства *Bunyaviridae*. Передаются москитами рода *Phlebotomus* (*Phlebotomus papatasi*, *Ph. perniciosus*, *Ph. perfliewi*) в Старом Свете и рода *Lutzomyia* (*Lu. trapidoi* и *Lu. ylephiletor*) в Новом Свете [65, 93].

МЛ имеют широкое географическое распространение: на юге Европы (в Испании, Португалии, Италии, Франции, Греции, на Кипре, в странах бывшей Югославии); в Саудовской Аравии; Иране; Ираке; Турции; в ЦАР; Кении; Марокко; Алжире; Эфиопии; Египте; Сомали; Тунисе; Судане; Пакистане; Афганистане; Индии; Бангладеш [93, 155]; в Странах Центральной Азии и Закавказья; Молдавии. С 1913 по 1954 гг. вспышки МЛ наблюдались на юге России (Северный Кавказ, Краснодарский и Ставропольский край) и в Крыму [1, 14, 48, 68]. Из стран Нового Света эндемичными по МЛ являются Бразилия, Колумбия, Панама и США (штат Техас) [115, 144].

По данным Международного Комитета по таксономии вирусов (ICTV), в настоящее время в группу МЛ входит 52 вируса, 27 из которых объединены в 9 антигенных комплексов: Bujaru, Candiru, Chilibre, Frijoles, Punta Toro, Salehabad, лихорадки долины Рифт, Неаполитанской (НМЛ) и Сицилийской (СМЛ) москитной лихорадки [35, 65, 115, 136].

Эпидемиологическое значение установлено только для 14 вирусов. В Бразилии распространены – Аленквер, Кандиру, Морумби, Мунгаба, Серра Норте, Салобо; в Панаме – Пунта-Торо и Чагрес; в странах Средиземноморья, Центральной Азии и Закавказья, Молдове и юге России – вирусы комплексов СМЛ и НМЛ (Тоскана вирус) [36, 65, 89, 100, 117, 142, 144].

Инкубационный период длится 3-7 дней. Заболевание характеризуется внезапным подъемом температуры до 39-40 °С, которая держится 3-5 дней,

сильной головной болью, особенно в височной и затылочной области, болями в мышцах и глазницах. Отмечается общее недомогание, фотофобия, конъюнктивит, бледность кожных покровов, иногда сопровождается диареей, рвотой, гиперемией и отечностью ротоглотки, с пузырьками и небольшими кровоизлияниями на слизистой оболочке. Поднятие век пальцами рук болезненное. Патогномоничным является синдромом Пика – инъекция сосудов склеры в форме треугольника, обращенного вершиной к роговице, который довольно стабилен и наблюдается в течение 7-10 дней после падения температуры. Иногда на 2-3 день на теле появляется мелко папулезная сыпь, которая быстро проходит с нормализацией температуры. При заболевании наблюдается картина белой крови – анэозинофилия, нейтропения, лимфоцитоз, моноцитоз на фоне общей лейкопении. Обычно пациенты полностью сами выздоравливают в течение семи дней [36, 65, 93, 100, 155].

В целом клиническая картина МЛ напоминает грипп без признаков острого воспаления дыхательных путей и может быть ошибочно принята за другие заболевания со схожей симптоматикой, такие как грипп, малярия, и другие заболевания, сопровождающиеся лихорадкой. Однако, иногда случаются и осложнения – нервные явления, расстройство желудочно-кишечного тракта, снижение функций почек, симптом «мраморности» зева [42]. Повторное заражение на той же самой территории возможно через 1-2 года, но приезжие больше восприимчивы к инфекции из-за отсутствия иммунитета против любого серотипа МЛ [162].

Вирус Тоскана – распространен в Италии, Испании, Португалии, Франции, Словении, Хорватии, Греции, Кипре, Турции, Алжире. В зоне риска заражения находится около 250 млн человек. Передается вирус москитами видов *Ph. perniciosus* и *Ph. perfiiewi* [65, 100, 101, 114]. Совсем недавно в Хорватии была установлена роль в передаче вируса Тоскана *Ph. neglectus* [84].

Серологические исследования сывороток крови населения без признаков заболевания в эндемичных странах показывают, что иногда это заболевание

проходит бессимптомно. В большинстве случаев вирус Тоскана вызывает лихорадочное заболевание без проявлений ЦНС, такие пациенты обычно не госпитализируются и не исследуются далее. Этот факт может объяснять вероятную недооценку показателей инфицирования вирусом Тоскана. После инкубационного периода от нескольких дней до 2 недель начало заболевания интенсивное с головной болью, лихорадкой и миалгией. Образцы крови могут показать лейкоцитоз (29 %) или лейкопению (6 %). Средняя продолжительность заболевания составляет 7 дней, исход обычно благоприятный. Хотя инфекция Тоскана вируса в большинстве случаев состоит из легкого заболевания с благоприятным исходом, в 8 % случаев заболевание вызывает асептический менингит, сопровождающийся тошнотой и рвотой (67-88 %), ригидностью шейных мышц (53-95 %), парезами (1.7 %), тремором (2,6 %) и нистагмом (5.2 %). Реже развивается менингоэнцефалит с комой, сыпью и ДВС-синдромом. Так в Италии с мая по октябрь вирус Тоскана является основной причиной возникновения менингита и менингоэнцефалита в 80 % случаев у детей и в 50 % у взрослых, с пиком заболеваемости в августе. Поскольку в странах средиземноморского бассейна вирус Тоскана входит в тройку самых распространенных вирусов, связанных с менингитом в теплое время года, он представляет большую проблему общественного здравоохранения в Европе [65, 88, 89, 97, 99, 145, 162].

Вирусы МЛ способны передаваться трансвариально [163] и половым путем от инфицированных самцов неинфицированным самкам moskitov, по этой причине они являются не только переносчиками, но и резервуарами возбудителя [1, 88]. Резервуарами вирусов МЛ также служат позвоночные животные: низшие обезьяны, сумчатые, грызуны и овцы [1, 93]. Наиболее вероятными резервуарами СМЛ и некоторых НМЛ в природе служат различные виды позвоночных, включая грызунов: лесные и полевые мыши (*Apodemus spp.*), домовая мышь (*Mus musculus*), черная крыса (*Rattus rattus*), рыжая полевка (*Clethrionomys glareolus*), краснохвостая песчанка (*Meriones libycus*), карликовая

песчанка (*Gerbillus aureus*); насекомоядные: землеройки (*Soricidae*) и кротовые (*Talpidae*); плотоядные – ласка обыкновенная (*Mustela nivalis*). Подтверждением являются серологические исследования сыворотки крови этих животных на вирусы [90, 91]. Вирус Тоскана вероятнее всего не имеет резервуара, серологические исследования не выявили признаков инфекции среди домашних или диких животных, однако он был выделен из мозга летучих мышей (*Pipistrellus kuhlii*) [65, 88, 166].

Диагностика и лечение МЛ. Поскольку клиническая картина инфекций, вызываемых вирусами МЛ, не имеет патогностических признаков, при постановке диагноза необходимо проводить специфическую диагностику, включающую в себя: вирусологическую диагностику (выделение вируса из исследуемого материала с помощью заражения новорожденных белых мышей или чувствительных клеточных культур с последующей идентификацией; серологическую диагностику (ИФА: MAC-ELISA – ИФА – IgM и ИФА – IgG); молекулярную диагностику (ОТ-ПЦР, гнездовую ПЦР и ПЦР в реальном времени). Материалом для серологической диагностики служат сыворотки крови, а для ПЦР – кровь и спинномозговая жидкость (СМЖ) [13, 36].

Лечение больных МЛ заключается в основном в симптоматической терапии: покой, болеутоляющие, регидратация [162].

1.1.4 Лейшманиозы

Лейшманиозы – группа трансмиссивных заболеваний человека и животных, в основном зоонозной природы, возбудителями которых являются простейшие, относящиеся к Царству Protista, Подцарству Protozoa, типу Kinetoplastida, отряду Trypanosomatida, семейству Trypanosomatidae, роду *Leishmania*. Переносчики – москиты видов рода *Phlebotomus* в Старом Свете и *Lutzomyia* в Новом Свете [50].

Лейшманиозы имеют очень широкое географическое распространение. По данным ВОЗ, эндемичными по этим заболеваниям являются 98 стран, 350 млн. человек подвержены риску инфицирования лейшманиями и ежегодно выявляется около 2 млн. случаев заболевания [95].

Существует две группы лейшманиозов человека, отличающиеся по локализации: кожные и висцеральные. В Старом Свете имеется три разновидности висцерального лейшманиоза: Восточно-Африканский (Судан, Кения, Эфиопия); Индийский – кала-азар (Индия, Непал, Бангладеш, страны Восточной Африки); средиземноморский (детский) [64, 67].

1.1.4.1 Висцеральный лейшманиоз Средиземноморского типа

Средиземноморский висцеральный лейшманиоз (ВЛ) – заболевание с природной очаговостью, возбудителем служит *Leishmania infantum*, а переносчиками являются виды moskitov, относящиеся к под родам *Larroussius* и *Adlerius*. В Европе это – *Ph. mascittii*, *Ph. ariasi*, *Ph. perniciosus*, *Ph. perfiliewi*, *Ph. neglectus* и *Ph. syriacus* [139, 152], на Ближнем Востоке *Ph. ariasi*, *Ph. perfiliewi*, *Ph. neglectus*, *Ph. tobbi*, *Ph. langeroni* [150], на территории Северной Африки *Ph. sergenti*, *Ph. arabicus* [159], в Китае – *Ph. chinensis*, *Ph. longiductus*, *Ph. major wui* и *Ph. alexandri* [109]. На территории бывшего СССР из доказанных переносчиков – *Ph. longiductus*, *Ph. smirnovi*, *Ph. turanicus*, *Ph. kandelakii*, *Ph. transcaucasicus*, *Ph. balcanicus*, *Ph. halepensis* [3, 5, 18].

Распространен ВЛ в странах Средиземноморского бассейна, Центральной Азии, Южного Кавказа, на Среднем и Ближнем Востоке, в Восточном Китае. В России случаи заболевания зарегистрированы в Дагестане и Крыму [50, 62, 95].

В условиях дикой природы резервуаром возбудителя в основном являются представители семейства собачьих (Canidae) – лисица (*Vulpes sp.*), шакал (*Canis aureus*), енотовидная собака (*Nyctereutes procyonoides*), а в населенных пунктах – собаки [95]. Лейшмании были обнаружены у кошек [137], во внутренних органах хорьков [41], выделены из печени грызунов – черной крысы (*Rattus rattus*) и

серой (*Rattus norvegicus*) [116]. Также *L. infantum* была выделена из кожных поражений барсука [158].

Клиника и патогенез. Болеют средиземноморским ВЛ большей частью дети дошкольного возраста, реже взрослые. Заболевание характеризуется длительным течением с постепенным развитием лихорадки, увеличением селезенки, печени, иногда периферических лимфатических узлов, прогрессирующей анемией, лейкопенией, увеличением СОЭ, нарастающим истощением, часты отеки, геморрагический синдром. По характеру течения различают острую и хроническую формы болезни. У взрослых продолжительность ВЛ до постановки диагноза составляет от 3-х месяцев до 1 года, но в связи с отсутствием настороженности медицинских работников в отношении этого заболевания возможна более поздняя диагностика (1,5-3 года); у детей раннего возраста все явления нарастают более остро. У части пациентов, главным образом взрослых, ВЛ протекает субклинически и может проявиться через 2-3 и даже 10-20 лет под действием провоцирующих факторов (ВИЧ-инфекция, малярия, грипп, корь, летний понос, травмы, прием антибиотиков...) [57]. Иногда заболевание протекает в бессимптомной или стертой форме и заканчивается спонтанным выздоровлением. В некоторых регионах (страны Южной Европы, прилегающие к Средиземному морю) ВЛ протекает с кожными проявлениями [50, 66]. Своевременная диагностика и лечение приводит к полному выздоровлению в 93-95 %, у 0.5 % происходит спонтанное выздоровление, однако при несвоевременной постановки диагноза и отсутствия препаратов для лечения не редко регистрируются смертельные случаи [57].

Диагностика и лечение ВЛ. Диагностика ВЛ основывается на анамнестических, клинических и лабораторных данных. Решающим является паразитологический диагноз – обнаружение возбудителя при микроскопии в мазках из пунктата костного мозга, реже из лимфоузлов. Иногда проводят посев пунктата на питательную среду 3N-агар для обнаружения промастигот лейшманий. Кроме того, может быть использована биологическая проба:

заражение золотистых хомяков суспензией клеток, взятых из костного мозга или лимфатических узлов. В качестве дополнительных методов диагностики применяют серологические методы: реакция прямой агглютинации, РНИФ, ИФА... В последние годы для диагностики ВЛ все чаще применяют экспресс-тесты (например – rk39). Серологические методы и экспресс-тесты основаны на выявлении антител в крови больного к возбудителю ВЛ. Тесты РНИФ, ИФА имеют высокую диагностическую ценность, но для их применения требуется лабораторное оборудование и специальные реактивы, поэтому они не могут применяться в полевых условиях. Иммунохроматографический тест rk39 был специально разработан для применения в полевых условиях и продемонстрировал высокую диагностическую точность [64, 159].

Для лечения ВЛ в настоящее время применяют препараты пентавалентной сурьмы (глюкантим, пентостам), липосомальный амфотерицин В, милтефозин, паромомицин и др. Схемы лечения зависят от региональных особенностей клинического течения заболевания [64, 159].

1.1.4.2 Висцеральный лейшманиоз и ВИЧ-инфекция

В настоящее время ВЛ является одной из оппортунистических инфекцией, уносящей жизни больных СПИД в эндемичных регионах, а в некоторых из них – основной причиной смерти ВИЧ-инфицированных лиц. В настоящее время случаи ко-инфекции лейшманиоза и ВИЧ зарегистрированы более чем в 35 странах. В начале 1990-х годов был отмечен резкий рост частоты случаев ко-инфекции ВЛ-ВИЧ в странах Средиземноморья, что совпало по времени с пиком эпидемии ВИЧ-инфекции, поступавших в основном из Испании. После 2001 г. число случаев в этом регионе снизилось благодаря внедрению антиретровирусной терапии (АРТ). В настоящее время очень высокий уровень ко-инфекции ВЛ-ВИЧ отмечают в Северо-Западной Эфиопии [64]. В условиях пандемии ВИЧ-инфекции ВЛ приобретает еще большую актуальность, так как ВИЧ повышает риск развития заболевания в несколько сот раз [133]. Механизм

взаимодействия лейшманий и ВИЧ синергический, так как оба возбудителя поражают одни и те же мишени – клетки моноцитарного ряда, играющие важную роль в иммунорегуляции, и усиливают действие друг друга [79]. Лейшмании, действуя совместно с ВИЧ, индуцируют хроническую иммунную активацию, что способствует повышению вирусной нагрузки ВИЧ и более быстрому прогрессированию болезни. В то же время вызванная ВИЧ иммуносупрессия способствует размножению лейшманий и развитию выраженных клинических проявлений, особенно на поздних стадиях ВИЧ-инфекции [6].

1.2 Представители семейства Trypanosomatidae, паразитирующие в москитах

Семейство Trypanosomatidae (трипаносоматиды) — простейшие, относящиеся к отряду Kinetoplastida прежде всего известны как важные диксенные паразиты позвоночных, передающиеся различными беспозвоночными в том числе и насекомыми. Локализуются паразиты в крови, костном мозге или внутренних органах, часто вызывая заболевания у хозяев. Так некоторые представители рода *Leishmania* являются возбудителями лейшманиозов животных и человека. Несколько видов рода *Trypanosoma* вызывают серьезные и даже опасные для жизни заболевания у скота и два вида *T. brucei s.l.* и *T. cruzi*, оказывают значительное влияние на здоровье человека. Однако в случае трипаносомных инфекций любое серьезное воздействие на здоровье хозяина является скорее исключением, и многие виды трипаносом, встречающиеся в дикой природе и домашних животных, могут рассматриваться как непатогенные паразиты [146, 157]. Трипаносоматиды, передаваемые кровососущими насекомыми развиваются в пищеварительном тракте, существуют в виде сферомастигот и эпимастигот и передаются позвоночным либо путем срыгивания кишечного содержимого, фекального вещества, отложившегося в месте укуса, либо путем проглатывания насекомого [105].

Помимо диксенных, внутри сем. Trypanosomatidae существует ряд моноксенных паразитов кровососущих насекомых, в основном это представители родов *Leptomonas* и *Crithidia*, *Blastocrithidia*, *Herpetomonas*, *Wallaceina*, паразитирующих в пищевом тракте клопов, комаров, мух и мошек [146].

Что касается москитов, то генетический анализ этих насекомых, найденных при раскопках в янтаре, показал присутствие в них ДНК трипаносоматид, в связи с чем предполагается, что москиты передавали этих жгутиконосцев позвоночным еще 100 миллионов лет назад [147]. До недавних времен считалось, что москиты являются переносчиками паразитов позвоночных – относящихся к родам *Leishmania*, *Endotrypanum* и *Trypanosoma* (трипаносомы жаб сем. Bufonidae, ящериц, змей, летучих мышей и опоссумов). Однако В 1998 году из москитов рода *Lutzomia* был изолирован *Leptomonas* sp. [105, 160].

1.3 Классификация москитов

В настоящее время в мире насчитывается более 800 видов москитов [138], которые относятся к Отряду Diptera (двукрылые), Семейству Psychodidae (бабочницы), Подсемейству Phlebotominae, насчитывающее 24 рода, из которых в странах бывшего СССР обитают представители 3 родов: *Phlebotomus*, *Sergentomyia* и *Grassomyia*. Род *Phlebotomus* всего насчитывает 9 подродов: *Synphlebotomus*, *Anaphlebotomus*, *Transphlebotomus*, *Euphlebotomus*, *Kasaulius*, *Phlebotomus*, *Paraphlebotomus*, *Adlerius*, *Larroussius*, но в странах СНГ и Грузии обитают только представители последних 4 родов. Род *Sergentomyia* содержит 4 подрода: *Sergentomyia*, *Perfiliewia*, *Parrotomyia*, *Sintonius*. Род *Grassomyia* содержит один подрод *Dreyfussi* с единственным представителем – *G. turkestanica*, обитающим в странах Центральной Азии [2].

1.4 Распространение москитов

Москиты обитают в странах с теплым и жарким климатом: в южном полушарии до 40° ю.ш. от экватора; в северном – 40-50° с.ш. от экватора [128]. Распространены практически по всей Африке, на юге Европы, в Австралии, на

значительной территории Азии [3, 18, 123], в Америке, Южной и Северной до США (включая южные штаты) и отсутствуют, начиная от Новой Зеландии и Тихоокеанских островов [169]. На территории бывшего СССР москиты распространены на Юге Украины (Одесская область) и Молдовы, в Странах Закавказья (Азербайджан, Армения, Грузия) и Центральной Азии (Туркменистан, Таджикистан, Узбекистан, Кыргызстан, Казахстан), в Российской Федерации (Северный Кавказ и Крым) [3, 15, 18, 20, 54, 55].

Москиты обитают в самых разнообразных ландшафтах и их высотное распространение простирается от Мертвого моря [128] до 3300 метров над уровнем моря в Афганистане [83].

1.5 Экология и биология москитов

Характерной особенностью биологии и экологии москитов является широкое распространение в дикой природе, где они являются эктопаразитами диких млекопитающих, птиц и рептилий, а норы и убежища животных одновременно служат их местами размножения, дневок и зимовок. Дупла деревьев, пещеры, трещины в скалах также являются местами выплода москитов. Эти насекомые распространены в давно обжитых районах, где ведут синантропный образ жизни, являясь докучливыми эктопаразитами человека и домашних животных. Местами выплода и убежищами таких москитов являются подполья, хозяйственные помещения для скота и птиц, надворные туалеты, различные подвалы, норы домовых грызунов, строительный мусор, мусорные ящики, трещины в заборах. При освоении любой местности москиты быстро переселяются из природы поближе к жилищам человека [54].

Предимагинальная фаза. Москиты претерпевают полный метаморфоз, проходя через 4 стадии развития: яйцо, личинка (4 возраста), куколка и имаго.

Неполовозрелые стадии для полного развития нуждаются в достаточно влажных и теплых биотопах. Яйца самка откладывает в субстрат, богатый содержанием органических веществ, обеспечивающий личинке питание и

убежище. Сроки вылупления из яйца и последующее развитие личинки зависят от влажности и температуры субстрата, оптимальной является температура 24-30 °С, с повышением температуры развитие идет быстрее. При оптимальной температуре личинки выходят из яйца на 6-7 день, на 25-59 появляется куколка, а на 35-69 имаго [18, 104, 138, 152]. Личинка всю свою жизнь проводит на той или другой глубине в почве, питаясь органическими остатками растений и животных, а перед окукливанием перемещается на поверхность субстрата где в течение 10-15 минут окукливается и происходит вылет имаго [18, 54].

Имаго. Как самцы, так и самки москитов питаются сахаристыми выделениями растений или нектаром, продуцируемым равнокрылыми тлями (Hemiptera: Aphidoidea) [138].

Для полного развития партии яиц самки нуждаются хотя бы в одном питании кровью. У самок москитов существует гонотрофическая гармония - параллельное переваривание крови и созревание яиц в течение одного гонотрофического цикла. Самка за жизнь может проделать несколько таких циклов. Напившись крови, самки возвращаются в свои укрытия, где при температуре 22-30 °С у них происходит переваривание крови в течение 3-8 дней. За один цикл откладывается 50-70 яиц [18, 138].

Москиты наиболее активны вечером, ночью или ранним утром. Летают москиты беззвучно и порывисто, на короткие расстояния, часто соприкасаясь с поверхностью, хорошо бегают и прыгают, поэтому водные пространства являются преградой для их расселения. Скорость полета составляет менее 1 м/с, а наибольшая дальность – 1.5 км., но обычно москиты летают на расстояние не более 200-300 м. от мест выплода [18, 122].

Сезонная активность москитов зависит от температуры и осадков. В тропических странах окрыленные москиты наблюдаются круглый год, не имея стадии покоя. В умеренно теплых зонах москиты зимуют на 4 личиночной стадии, на определенной глубине почвы в закрытых биотопах. Вылет москитов первой, весенней, генерации растянут – при благоприятных условиях 30-45 дней,

а при неблагоприятных (понижение температуры, выпадение осадков) затягивается до 60-80 дней. Москиты второй, летней, генерации появляются в течение 35-45 дней. Самки второй генерации откладывают яйца, из которых развиваются зимующие личинки для весенней генерации следующего года в местах, где наблюдаются две генерации в год. В некоторых странах, например в южных районах Центральной Азии, москиты дают три генерации [18, 54].

1.6 Идентификация москитов

1.6.1 Морфологическая идентификация

Морфологическое определение москитов производится под микроскопом, по предварительно приготовленным из них постоянным препаратам, зафиксированных канадским бальзамом или жидкостью фора (гуммиарабиковой смесью). В качестве просветляющих веществ применяются молочная кислота, фенол, хлоралгидрат и глицерин [39, 54].

Москитов идентифицируют по морфологическим признакам, в соответствии с определительными таблицами.

Основные морфологические признаки идентификации самок и самцов москитов: длина третьего антеннального сегмента, антеннальная формула (число аскоидов на сегментах антенн с 3 по 15) и длина лабрума.

Самок определяют по форме сперматек и их протоков в конце брюшка и по внутренней структуре головы, а именно: наличие, форма, число и расположение цибариальных зубцов, наличие и форма пигментного пятна в цибариуме, форма глотки, форма и структура шиповатого поля в глотке.

Определение самцов происходит по терминалиям (придатки конца брюшка). Здесь важно учитывать: форму и длину коксита; отсутствие или наличие базального отростка на вершине коксита или группы волосков на его внутренней поверхности; форму базального отростка; число и расположение волосков коксита; длину и форму стилия, число и длину шипов на нем; форму

параметры, наличие на ней отростков и бугров; форму и длину эдеагуса; наличие или отсутствие шипов на вершине сюрстиля; соотношению длины филаментов и полового насоса.

Такие показатели как размер москита и степень его пигментации весьма изменчивы и используются как вспомогательные признаки при сортировке массового материала [2, 3, 44, 54].

Все вышеперечисленные признаки, или часть их используются в существующих определителях москитов. За рубежом в основном до сих пор определяют москитов по классификации O. Theodor 1948 и 1958 гг. [164, 165], для определения видов внутри рода *Larroussius* используют определительные таблицы разработанные N. Leger в 1983 г. [132]. Для неотропических москитов, многие энтомологи еще придерживаются классификации созданной в 1977 г. D.J. Lewis et. al. [135], не смотря на то, что D.G. Young и M.A. Duncan ее пересмотрели и опубликовали обновленную классификацию в 1994 г. [169]. Самой последней и всеобъемлющей является классификация E.A.B. Galati, опубликованная в 2003 г. [108].

В России так же часто пользуются определителем O. Theodor 1948 и 1958 гг. [164, 165], более современными определителями П.П. Перфильева [53], в котором подробно рассмотрены москиты СССР, и М.М. Артемьева [3], чья классификация является самой последней и полной в России.

1.6.2 Молекулярная идентификация

Морфологическая идентификация москитов требует значительных навыков и таксономической компетентности. Кроме того, морфологическое сходство между некоторыми видами, особенно среди самок, может вызвать трудности в процессе идентификации. Поэтому в настоящее время для изучения вопросов таксономии на разных иерархических уровнях используется молекулярная методология, определение ДНК видов по маркерным нуклеотидным последовательностям [96, 111, 119]. Для оценки родства внутри

семейства Phlebotominae [81] и в пределах рода *Lutzomyia* [85, 118, 120] использовались последовательности рибосомных генов (18S rDNA и домен D2 в 28S rDNA). Для постановки внутривидовых и подродовых отношений применялись последовательности генов с более быстрым темпом эволюции: митохондриальные гены (ген цитохром b, ген ND-4 НАДН-дегидрогеназного комплекса) и ядерные гены (внутренний транскрибируемый спейсер 2 (ITS2), ген субъединицы альфа фактора элонгации 1 (EF1a)) [76, 98, 99, 107, 127, 129, 130, 168, 170].

В 2003 году канадский ученый Р. Hebert предложил использовать для видовой идентификации живых организмов короткие стандартные последовательности цепи ДНК – ДНК-штрихкодированием (DNA barcoding) и в качестве штрих-кода ДНК применять 5'-фрагмент первой субъединицы митохондриального гена, кодирующего белок цитохром-С-оксидазу (COI) [112, 113]. Этот регион имеет потенциальное значение для облегчения составления кадастров биоразнообразия и идентификации биологических видов. Инициатива ДНК-штрихкода была хорошо принята из-за связности и единого языка последовательностей ДНК, позволяя исследователям во всем мире продвигаться в области таксономии и систематических исследований различных групп организмов [77, 106, 118, 126], в том числе и moskitov [87, 103, 110, 124, 125, 141, 148, 149, 154, 161, 167].

1.7 Москиты Крымского полуострова

Ландшафтно-климатические условия Крыма благоприятны для обитания moskitov. Они были обнаружены как в степной, так и в горной его части, достигая высоты 800-1300 метров [24]. Чем разнообразней микрорельеф и более изрезана территория, тем разнообразнее видовой состав. На Южном берегу Крыма (ЮБК) встречаются все виды moskitov, известные для Крымского полуострова [55]. Анализ географического распространения moskitov Крыма, проведенный А.В. Долматовой [17], показал, что все они нуждаются в сухом и

жарком климате, но требования к условиям среды у разных видов неодинаковы и их ареалы обусловлены различными комплексами климатических факторов [10, 11]. Экологически разные виды часто встречаются в одной и той же местности. При этом для некоторых из них климат данной местности является оптимальным и они здесь многочисленны и менее разборчивы в выборе убежищ, для других видов климат менее благоприятен и они здесь существуют только в убежищах с особенно благоприятными для них микроклиматами и часы активного нападения moskitov этих групп разные [17, 18].

Климатические условия Крыма позволяют развиваться 1-2 генерациям moskitov. Лет начинается в мае и заканчивается в октябре. Самыми ранними moskitami являются обитатели легко прогреваемых, природных биотопов. В природе moskity появляются на 30-40 дней раньше, чем в городах [55].

1.7.1 История изучения и видовой состав

Первое сообщение о moskitax Крыма появилось в трудах П.С. Палласа (1795-1811 гг.), который прожил в Крыму 15 лет и всесторонне исследовал его природу и животный мир [49]. Он упоминал о присутствии в Инкерманской долине мелких кровососущих насекомых, с трудом различимых, а в полете совсем незаметных, которые садясь на тело человека прокалывают кожу, оставляя маленькие красные точки. П.А. Паллас также указал, что эти насекомые появились там очень недавно, однако И.И. Пузанов [63] в своих трудах утверждает, что до 90-х годов XIX века о присутствии moskitov в Крыму ничего больше не было слышно, но с указанного времени они стали массово появляться повсюду, особенно на ЮБК, становясь истинным бичом населения. Также И.И. Пузанов сделал предположение, что moskity были завезены в Крым из Малой Азии и Закавказья. Из доказанных видов moskitov на тот момент присутствовало как минимум три – *Phlebotomus papatasi* Scop., *Ph. grimmi* Porc. (по всей видимости *Ph. similis* [2]) и *Ph. perniciosus tauricus* Nasonov (*Ph. major* в дальнейшем *Ph. neglectus* [3]) [63].

Систематические наблюдения за москитами в Крыму начались с 1932 года под руководством Е.Н. Павловского, толчком к которым послужила крупная вспышка МЛ в Севастополе в 1923 г. [37]. В дальнейшем регулярные энтомологические наблюдения за москитами проводились в рамках плановой противомоскитной борьбы, которая осуществлялась в Крыму с 1948 г. по 50-е годы XX столетия в очагах МЛ и основное внимание уделялось разностороннему изучению переносчика МЛ *Ph. papatasi*. В этой работе принимали участие специалисты Института эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи АМН СССР; Института малярии, медицинской паразитологии и гельминтологии Минздрава СССР; медицинской службы Черноморского флота; Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова (под руководством П.П. Перфильева, Б.Н. Николаева, А.В. Гуцевич и др.), а так же Крымской областной тропической станции и ряда городских и районных противомаларийных и санитарно-эпидемиологических станций [18, 23, 37, 45, 48].

Масштабные работы по изучению москитов Крымского полуострова были проведены в 30-е годы (1936-1939 гг.) П.А. Петрищевой [55]. Она провела исследования в 68 населенных пунктах полуострова, 30 из которых расположены вдоль черноморского побережья. По ее данным фауна москитов Крым включает 7 видов: *Phlebotomus papatasi*, *Ph. sergenti*, *Ph. sergenti* var. *alexandri*, *Ph. perfilievi*, *Ph. chinensis*, *Ph. major*, *Ph. sequens*.

Ею было установлено, что в крупных населенных пунктах, расположенных на границе степной и горной областей, в которых были очаги МЛ, доминирующим видом являлся *Ph. papatasi* (Севастополь – 99,8 %; Симферополь – 98 %; Бахчисарай – 57 %; Феодосия – 68 %). В населенных пунктах южного берега Крыма (Мисхор, Алушка, Ялта, Алушта) чаще всего доминировали *Ph. major* и *Ph. perfilievi*. В степной части на северо-востоке полуострова (Кировское, Советское, Нижнегорск) единственным видом был *Ph. perfilievi*, а на севере степной части (Джанкой) при доминировании *Ph. papatasi*, субдоминантом оказался *Ph. perfilievi*. Первое место по численности и

распространению в Крыму принадлежит *Ph. perfilievi*. Этот вид был обнаружен во всех обследованных населенных пунктах. На втором месте по численности находится *Ph. papatasi*. В массовом количестве в жилых помещениях и в хозяйственных помещениях, где имеются источники питания, встречаются *Ph. papatasi*, *Ph. major* и *Ph. perfilievi*. В природных биотопах (пещеры, норы диких животных) доминирующим видом, как правило был *Ph. sequens* [54 - 56].

Подробные исследования по фауне mosкитов и биологии отдельных видов были проведены А.В. Долматовой и В.П. Окуловым [23] в очаге лихорадки паппатачи в г Феодосии в 1948-1949 гг., где ими было выявлено 4 вида mosкитов: *Ph. papatasi*, *Ph. perfilievi*, *Ph. chinensis*, *Ph. alexandri* [16].

А.В. Долматовой вместе с Б.С. Кувчинским и А.Л. Лейбманом в 1948-52 гг. [22] энтомологические наблюдения за mosкитами проводились также и в очагах лихорадки паппатачи на южном берегу. Так ими была установлена фауна mosкитов ЮБК в виде 7 видов: *Phlebotomus papatasii*, *Ph. sergenti*, *Ph. sergenti* var. *alexandri*, *Ph. perfilievi*, *Ph. chinensis*, *Ph. major*, *Ph. sequens*.

В 1952 г. А.В. Долматова, П.П. Перфильев, Г.О. Лильп [24] обнаружили mosкитов в лесах южных склонов главной гряды Крымских гор, растительность которой образует несколько высотных поясов. На высоте выше 1200-1300 м, в самом верхнем поясе, поясе каменистых горных лугов и можжевельника mosкиты не обнаружены. В поясе крымского бука и красноствольной сосны, на высоте от 800 до 1300 м в небольших количествах обитает *Ph. major*. Тот же вид, но уже в большем количестве встречается в поясе крымской сосны и дуба, на высоте 400-900 м. В поясе ксерофитных можжевельново-дубовых лесов и кустарниковых зарослей (от морского побережья до 400-500 м) фауна mosкитов представлена несколькими видами. В открытых безлесных биотопах встречаются *Ph. chinensis*, *Ph. sergenti*, *Ph. perfilievi*, а в лесных - *Ph. major*.

Последние сведения о mosкитах Крыма и их видовом составе предоставили В.П. Окулов в 1980 г., они касались mosкитов Феодосии, и М.Ф. Пакшин, А.М. Никитин, С.Н. Демина в 1990 г. о mosкитах Севастополя и его окрестностях [45,

48]. Что касается Феодосии, то благодаря противомоскитным мероприятиям проведенных в 1948-1950 гг., к 1978 г. количество *Ph. papatasi* заметно сократилось в юго-западной и западной части города, а в других районах москиты не регистрировались с 1971 года. В Севастополе противомоскитные мероприятия из-за угрозы восстановления популяции переносчика МЛ на окраинах города и пригородных селений продолжались до 1958 г., в итоге к 1989 г. из 7 ранее регистрируемых видов москитов осталось только 2 – *Ph. papatasi* в жилых помещениях и *Ph. major* в природных биотопах, численность которых значительно снизилась.

Таким образом, анализ данных литературы показывает, что на территории Крымского полуострова (по наблюдениям 1932-1970 гг.) обитало 7 видов москитов, 6 из которых имеют эпидемиологическое значение в других странах: *Ph. papatasi* – доказанный переносчик МЛ и зоонозного кожного лейшманиоза (ЗКЛ), *Ph. alexandri* – возможный переносчик ВЛ, *Ph. sergenti* – доказанный переносчик АКЛ. *Ph. major*, *Ph. chinensis*, *Ph. perfiliewi* – являются доказанными или потенциальными переносчиками возбудителя ВЛ во многих регионах ареала этого заболевания [3, 64, 67].

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.1 Материалы и объем исследований

Материалом для исследований послужили сборы имаго moskitov, отловленных в течение трех лет в период их сезонной активности: 2016 г. – июль; 2017 г. июнь-июль, 2018 г. конец мая – середина августа. Всего было обследовано 19 населенных пунктов и их окрестностей вдоль черноморского побережья Крымского полуострова (с юго-запада на юго-восток): г. Севастополь, мыс Фиолент, мыс Херсонес, г. Балаклава, пос. Парковое (южный склон 13 квартала Оползневского лесничества Ялтинского горно-лесного природного заповедника), пос. Симеиз, г. Алупка, г. Ялта, пос. Гурзуф, пос. Партенит, г. Алушта, пос. Рыбачье, пос. Новый Свет, г. Судак, Ландшафтный заказник «Лисья бухта», пос. Щебетовка, пос. Курортное (Карадагская научная станция им. Т. И. Вяземского), пос. Коктебель, г. Феодосия.

За период исследований было отловлено 1562 экземпляра moskitov, из них 690 самок и 872 самца. Всего было использовано – 1319 липких листов, из которых 197 были развешаны на свет. Кроме того, 62 экземпляра было отловлено на себе эксгаустером.

Все экземпляры были определены до вида морфометрическими методами.

На наличие ДНК представителей сем. *Trypanosomatidae* было обследовано 120 самок moskitov.

Обработка материала, приготовление препаратов и морфологическая идентификация moskitov проводились в Институте медицинской паразитологии, тропических и трансмиссивных заболеваний имени Е.И. Марциновского ФГАОУ ВО МГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет).

Молекулярно-генетические исследования по видовой идентификации moskitov и на наличие в них представителей сем. *Trypanosomatidae* с целью выявления в них *L. infantum* проводили в лаборатории биологии *Trypanosomatidae*, Остравский Университет, г. Острава, Чехия.

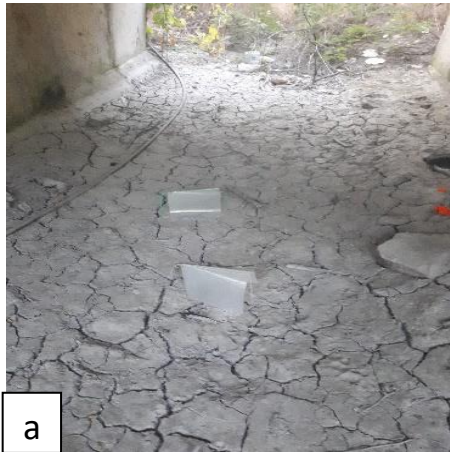
Исследования были выполнены при финансовой поддержке РФФИ и Совета Министров Республики Крым в рамках научного проекта № 17-44-92042 «Комплексное изучение современного состояния популяций moskitov в Крыму».

Для решения поставленных задач применяли полевые и лабораторные методы исследований.

2.2 Полевые методы исследования

В населенных пунктах и их ближайших окрестностях отлов moskitov проводили с помощью липких листов (А 4) пергаментной бумаги или карандашной кальки, смазанной с двух сторон касторовым маслом [54]. Приготовленные в необходимом количестве непосредственно перед вывешиванием листы (липучки) развешивали за час до захода солнца, снимали утром.

Размещали липучки внутри помещений: жилые комнаты; туалеты; хозяйственные постройки; сараи; подвалы; заброшенные постройки; и в открытых биотопах: в строительных плитах; щелях заборов; в районе фильтрационных полей (канализационных люков); в зарослях камыша, руслах пересохших рек; в зарослях кустарников, в дуплах деревьев и среди их корней, выступающих над землей; во дворах жилых усадеб; среди развалин древних крепостей и построек; на территории птичников (листы развешивались на сетки снаружи клеток для птиц), вольеров, мест содержания домашнего скота и конных фермах (Рисунок 1.1 – 1.7).



а



б



в

Рисунок 1.1 – Места сборов москитов: а – русло пересушенной реки; б – между корней деревьев; в – заросли камыша



а



б

Рисунок 1.2 – Места сборов москитов: а – птичник; б – конная ферма



а



б



в

Рисунок 1.3 – Места сборов москитов: а, б – плиты; в – фильтрационное поле



Рисунок 1.4 – Места сборов москитов: заброшенные постройки



Рисунок 1.5 – Места сборов москитов: хозяйственные постройки



Рисунок 1.6 – Места сборов москитов: щели в заборах



Рисунок 1.7 – Места сборов москитов: руины древних построек

Также москитов отлавливали на искусственный свет, как внутри помещений, так и на открытых биотопах (дворы жилых усадеб, парки, палаточные лагеря в лесу, стоянки туристов). При этом липкие листы развешивали вблизи электрических светильников, либо в виде абажура из липких листов вешали на фонарь или электрическую лампочку (Рисунок 2).



Рисунок 2 – Установка липких листов на свет

Экстаустером москитов отлавливали в ночные часы в закрытых освещенных помещениях (кухня, туалеты), а также на себе в открытых биотопах – парке на территории Карадагской научной станции им. Т.И. Вяземского и в палаточном лагере на территории пансионата «Зори России» в районе пос. Парковое.

С липких листов москитов снимали с помощью энтомологической иглы и помещали в пробирки с этиловым (96 %) спиртом. В каждую пробирку

помещали этикетку с номером, написанным простым карандашом, который соответствует записи в журнале наблюдений.

В журнале записывали: номер пробирки, дату наблюдений, наименование населенного пункта, адрес, координаты, температуру воздуха, влажность, скорость ветра, атмосферное давление, погодные условия, количество снятых липучек, биотоп.

Пробирки транспортировали в лабораторию для дальнейших исследований.

2.3 Лабораторные методы исследований

2.3.1 Определение физиологического возраста самок

С целью определения физиологического возраста москитов отобрали 173 самки, находящиеся на I стадии пищеварения. Из них 111 было собрано в пос. Парковое, в палаточном лагере и птичнике, а 63 в пос. Курортное в парке, в жилых и хозяйственных помещениях.

Сборы проводили на липкие листы и эксгаустером на себе.

Образцы по одному погружали в каплю физиологического раствора, нанесенного на предметное стекло. С помощью энтомологических игл отсекали голову, помещали в жидкость Фора, накрывали покровным стеклом и давали высохнуть препарату для дальнейшего определения видовой принадлежности по структурным элементам глотки. Далее препаровальными иглами вскрывали хитин между последними сегментами брюшка москита и вытягивали на предметно стекло пищеварительный канал, мальпигиевые сосуды и яичники. Все оставшиеся элементы москита, кроме яичников помещали в индивидуальные пробирки с этиловым спиртом (96 %) для дальнейших молекулярных исследований.

Наличие у москитов повторных гонотрофических циклов устанавливали визуально под микроскопом Nikon DS – Fi 1 (окуляр – x10, объектив x40) по

различиям в структуре яичников и яйцеводам, описанными А.В. Долматовой [15].

2.3.2 Приготовление постоянных препаратов

Для определения видовой принадлежности в условиях лаборатории приготавливали постоянные препараты, помещая москитов в гуммиарабиковую смесь (жидкость Фора) для просветления и фиксации [54].

Москитов из спирта, по одному экземпляру переносят на предметное стекло в каплю жидкости Фора, если это самка, то препаровальной иглой отсекали голову, которую оставляли здесь же, и накрывали покровным стеклом. Через 2-3 дня после просветления препарат микроскопировали.

У напитавшихся самок (с кровью) отсекали головы и делали из них постоянные препараты для морфологической идентификации, остальные части тела оставили в спирте (96 %) для молекулярных исследований.

2.3.3 Морфологическая идентификация москитов

Готовые просветленные препараты с москитами просматривали под микроскопом Nikon DS – Fi 1 (окуляр – x10, объектив x10, x20, x40). Видовую идентификацию проводили по определительным таблицам разработанным Артемьевым [3] и Перфильевым [53].

2.3.4 Молекулярная идентификация москитов

Для видовой идентификации москитов использовали метод ДНК-штрихкодирования (DNA barcoding) [110, 124, 125, 141, 148, 149, 154, 167], включающий несколько этапов: выделение ДНК, амплификация, электрофорез, секвенирование.

Выделение ДНК. ДНК выделяли из москитов, фиксированных в жидкости Фора в виде постоянного препарата, и заспиртованных напившихся крови самок.

Для извлечения москита из жидкости Фора, препараты помещали в стеклянную кювету и заливали 70 % спиртом, сверху накрывали фольгой и оставляли на сутки для растворения жидкости Фора. Затем скальпелем снимали покровное стекло и энтомологической иглой переносили москита в индивидуальную стерильную 1.5 мл пробирку с 96 % спиртом. Пробирки не закрывали, давали спирту испариться, а москиту просохнуть. Заспиртованных москитов также переносили по 1 экземпляру в стерильную 1.5 мл пробирку и давали просохнуть. Хорошо высушенных, хрупких москитов растирали стерильным пестиком до получения гомогенной массы.

Выделение ДНК проводили коммерческим набором «DNeasy Blood & Tissue Kit» (Qiagen, GmbH, Hilden, Germany) с помощью спин-колонок с силикагелевой мембраной. Набор включает в себя в себя: буфер ATL, буфер AL, буфер AW1 (concentrate), буфер AW2 (concentrate), буфер AE, протеиназа К.

Протокол от производителя мы частично изменили, поскольку он изначально направлен на выделение ДНК из крови и тканей животных, а также из клеток дрожжей, бактерий и вирусов. Изменения были направлены на лизис хитинизированных покровов москита и максимальное осаждение малого количества ДНК.

1. В каждую пробирку с полученным гомогенатом добавляли по 180 мкл буфера ATL.
2. Туда же добавляли по 20 мкл протеиназы К.
3. Встряхивали пробирки на вортексе 3-5 с (частота колебаний 3000/мин).
4. Инкубировали пробирки в термостате при 56 °C от 3 часов и более, периодически перемешивая на вортексе, до полного растворения хитинизированных покровов.
5. Встряхивали пробирки на вортексе 15 с.
6. Добавляли по 200 мкл буфера AL.
7. Тщательно перемешивали на вортексе 5 с, пока раствор не станет гомогенным.

8. Инкубировали в термостате при 56 °C 10-15 мин. до растворения осадка.
 9. Добавляли по 200 мкл 96 % спирта в каждую пробирку, тщательно перемешивали на вортексе.
 10. Переносили пипеткой содержимое пробирки в колонку из набора.
 11. Центрифугировали при 6 000 g 1 мин. при комнатной температуре (колонку сливали).
 12. Добавляли по 500 мкл буфера AW1.
 13. Центрифугировали при 6000 g 1 мин. комнатной температуре (колонку сливали).
 14. Добавляли по 500 мкл буфера AW2.
 15. Центрифугировали при 20 000 g 3 мин. при комнатной температуре.
 16. Переставляли колонку в новые пробирки объемом 1.5 мл.
 17. Нанесли в центр мембраны колонок по 50 мкл буфера AE (элюирующего раствора).
 18. Центрифугировали при 6 000 g 1 мин. при комнатной температуре.
 19. Собирали осадок пипеткой и повторяли пункт 17.
 20. Центрифугировали при 6 000 g 1 мин. при комнатной температуре.
- Далее на Thermo Scientific Nano Drop 2000 измеряли концентрацию ДНК (нг/мкл) в получившемся растворе, который использовали для амплификации.

Амплификация. Для амплификации фрагмента длиной 710 п.о. 5'-фрагмента первой субъединицы митохондриального гена, кодирующего белок цитохром-С-оксидазу (COI) использовали универсальные праймеры [106]:

- LCO1490: 5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3'
- HCO2198: 5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAAATCA-3'

Праймеры были синтезированы фирмой «Sigma-Aldrich», Чехия.

Исходные расчетные данные приведены в паспорте производителя на синтетические олигонуклеотиды, далее для постановки ПЦР и секвенирования концентрацию праймеров приводили к 10 пкмоль/мкл с помощью mQ воды.

Для приготовления реакционной смеси ПЦР использовали коммерческие наборы «2хPCRBIO Taq Mix Red» («PCR Biosystems» United Kingdom, London).

Реакционная смесь для ПЦР на 1 образец (50 мкл):

2х PCRBIO TaqMixRed – 25 мкл

LCO1490 - 2 мкл

HCO2198 – 2 мкл

mQ вода – 17 мкл

Реакционную смесь готовили на необходимое количество проб, замешивая все компоненты в 1.5 мл пробирке. Затем смесь разливали по 46 мкл в пробирки для ПЦР и добавляли по 4 мкл раствора ДНК. Содержимое встряхивали на djhntrect и центрифугировали, чтобы сбросить капли с крышки и стенок пробирки на дно. На каждую партию исследуемых образцов для ПЦР готовили отрицательный контроль (в пробирку с реакционной смесью добавляли 4 мкл mQ воды) и положительный (брали 4 мкл раствора ДНК, выделенного из клопа *Oxycarenus modestus*).

Аmplification проводили на амплификаторе Bio-Rad T100™ thermalcycler в следующем программном режиме:

1. Первичная денатурация	94 °C	5 мин	} 35 циклов
2. Денатурация	94 °C	15 с	
Отжиг праймера	45 °C	30 с	
Элонгация	72 °C	1 мин	
3. Финальная элонгация	72 °C	7 мин	
4. Хранение	4 °C	∞	

После амплификации проводили электрофорез.

Электрофорез ПЦР продуктов. ПЦР продукты разделяли электрофорезом в 1 % агарозном геле, для приготовления которого к 0.3 г тугоплавкой агарозы («Sigma», США) добавляли 30 мл 1х трис-ацетатного

буфера (TAE). Раствор нагревали в микроволновой печи до полного растворения агарозы.

В остывшую до 50-60 °C агарозу добавляли 1.5 мкл этидиум бромид и заливали смесь в подготовленную камеру с необходимым количеством гребенок. Через 20 минут, после полного застывания, гель помещали в камеру для электрофореза, заполненную 1x TAE буфером и удаляли гребенки. В лунки геля вносили по 2 мкл ПЦР продукта, в крайние лунки вносили маркер (GeneRuler DNA ladder «Thermo Scintific», США) молекулярной массы 100 - 1000 п.н.

Электрофоретическое разделение продуктов амплификации производилось в течение 25 минут при напряжении 110 вольт в горизонтальной камере для электрофореза «Bio-Rad PowerPac™ Basic». Гель визуализировался и фотографировался под ультрафиолетовыми лучами длиной $\lambda=264$ нм.

Положительные образцы отдавали на секвенирование после проведения предварительной очистки.

Подготовка образцов к секвенированию. Продукты ПЦР чистили с помощью коммерческого набора «Gene Jet Gel Extraction kit» («Thermo Scintific», США) по протоколу от производителя с внесенными изменениями:

1. Продукты ПЦР каждого образца переносили в отдельные 1.5 мл пробирки и добавляли равное им количество связывающего раствора.
2. Перемешивали на вортексе 5 с.
3. Переносили пипеткой содержимое пробирки в 2 мкл колонку из набора.
4. Центрифугировали при 12 000 g 1 мин. при комнатной температуре.
5. Добавляли по 700 мкл промывочного буфера.
6. Центрифугировали при 12 000 g 1 мин. при комнатной температуре.
7. Колонку сливали и повторяли шаг 6.
8. Переносили колонку в 1.5 мл пробирку.
9. Добавляли по 20 мкл элюирующего раствора.
10. Инкубировали при 15-25 °C 10-15 мин.
11. Центрифугировали при 12 000 g 1 мин. при комнатной температуре.

12. Собирали пипеткой осадок со дна пробирки и снова пропускали его через мембрану колонки.

13. Повторяли шаг 10,12.

Далее очищенным продукты ПЦР разделили электрофорезом в 1 % геле, (как описано в «Электрофорез ПЦР продуктов»), с подкрашиванием образцов краской (6x DNA loading «Thermo Scintific», США) перед нанесением в лунки.

С помощью программы Total Lab v 2.01 определили концентрацию ДНК в каждом образце. В зависимости от концентрации ДНК, необходимое количество каждого образца разлили в 2 пробирки, в одну добавили 2.5 мкл праймера LCO1490, а в другую HCO2198, довели объем до 10 мкл mQ водой. Полученные образцы пронумеровали и отдали на секвенирование.

После секвенирования провели выравнивание амплифицированного фрагмента с помощью БЛАСТ (BLAST – Basic Local Alignment Search Tool).

2.3.5 Определение зараженности москитов представителями семейства Trypanosomatidae

С целью выявления в москитах ДНК паразитов сем. Trypanosomatidae использовали самок напившихся кровью, сохраненных после энтомологических сборов в 96 % этаноловом спирте, и препарированных самок в жидкости Фора на стеклах. После извлечения из препаратов, самок москитов одного вида и собранных в одном месте, помещали в 1.5 мл пробирки по 5 штук в каждую.

Выделение ДНК. Из каждой группы москитов, снятых с препаратов, выделяли суммарную ДНК, а в случае самок, напившихся крови - индивидуально из каждого экземпляра. Выделение ДНК проводили коммерческим набором «DNeasy Blood & Tissue Kit» (Qiagen, GmbH, Hilden, Germany) по измененному протоколу от производителя, описанному в главе 2.3.4.

Постановка ПЦР. Первым этапом проводили ПЦР для обнаружения ДНК москитов (глава 2.3.4). В случае положительного результата вторым этапом

ставили ПЦР на выявление ДНК представителей сем. Trypanosomatidae. Для этого использовали универсальные праймеры, для амплификации фрагмента длиной 810-850 п.н. гена 18S рРНК:

- 1127F: 5'-AGGCATTCTTCAAGGATACCTTCC-3'
- 1958R: 5'-TGATGAGCTGCGCCTACGAGA-3'

Праймеры разработаны сотрудниками лаборатории биологии Trypanosomatidae, Остравский Университет, г. Острава, Чехия.

Реакционную смесь для ПЦР приготавливали с помощью коммерческого набора «2хPCRBIO Taq Mix Red» («PCR Biosystems» United Kingdom, London), с конечным объемом 50 мкл, раствора ДНК брали по 4 мкл на пробу:

2х PCR BIO TaqMixRed – 25 мкл

1127F - 2 мкл

1958R – 2 мкл

mQ вода – 17 мкл

В качестве положительного контроля использовали ДНК *leptomonas segmouri*.

Амплификацию проводили на амплификаторе Bio-Rad T100 TM thermal cycler.

Режим амплификации:

1. Первичная денатурация	94 °C	5 мин	} 35 циклов
2. Денатурация	94 °C	15 с	
Отжиг праймера	55 °C	30 с	
Элонгация	72 °C	1 мин	
3. Финальная элонгация	72 °C	5 мин	
4. Хранение	4 °C	∞	

Электрофорез и обнаружение продуктов амплификации проводили как описано в главе 2.3.4.

Образцы с положительными результатами очищали и секвенировали. Выравнивали фрагменты по БЛАСТ.

2.4 Методы статистической обработки данных

Обилие moskitov рассчитывалось по стандартной формуле (1).

$$\text{Обилие} = \frac{\text{кол-во москитов}}{\text{кол-во липучек}} \quad (1)$$

Статистическая обработка данных была проведена в табличном редакторе MS Excel 2007.

При долевом расчете видового состава moskitov в населенных пунктах черноморского побережья Крымского полуострова, биотопического распределения moskitov, соотношения самок moskitov, находящихся на повторном гонотрофическом цикле, произведены расчеты 95% доверительных интервалов к биномиальному распределению ($p=0,05$) с использованием программного обеспечения Epi Info™ (Division of Health Informatics & Surveillance (DHIS), Center for Surveillance, Epidemiology & Laboratory Services, CSELS, USA), находящегося в открытом доступе.

Выравнивания нуклеотидных и аминокислотных последовательностей проводилось с помощью алгоритма Clustal W как функции программы MEGA5. Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей был осуществлен с помощью программы MEGA5 методами максимального правдоподобия (maximum likelihood) с полным удалением отсутствующей информации (complete deletion) в рамках модели General Time Reversible model (GTR) с 1000-кратным бутстрэп-анализ.

ГЛАВА 3. ОПИСАНИЕ РАЙОНА ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Физико-географическая характеристика

Крымский полуостров находится в европейской части России между 44 и 46° с.ш. На этих широтах проходит граница двух климатических поясов: умеренного и субтропиков. Площадь Крыма – 27000 км², омывается двумя морями – с востока Азовским, а с юга и запада – Черным [4].

Исследуемая нами территория относится к южной части черноморского побережья Крымского полуострова, начинается с Севастополя, Херсонеса и мыса Фиолента, располагающихся в юго-западной его части, участок от Балаклавы до Коктебеля носит официальное название Южный Берег Крыма (ЮБК), и заканчивается Феодосией – на юго-востоке побережья (Рисунок 3).



Рисунок 3 – Обследованные населенные пункты

ЮБК находится на нижней части южного склона Главного хребта Крымских гор, защищающих территорию от холодных ветров с севера, что способствовало образованию своего климата, отличающегося от остальных

районов Крыма, и тянется вдоль побережья на 180 км. Начинается низкогорье Главной гряды у мыса Айя (Балаклава) на западе, постепенно расширяясь, оно достигает 2 км напротив Байдарских ворот, а в районе Ялты и Гурзуфа – 6 км. За Алуштой, к востоку Гряда начинает постепенно понижаться и уходить от береговой линии на расстояние 10-12 км и тянется до горы Кара-Даг (Коктебель), где обрывается и ЮБК заканчивается [59]. Некоторые авторы считают, что собственно южный берег Крыма начинается от мыса Херсонес в Севастополе и тянется до Алушты, где гряда изменяет свое положение, а участок от Алушты до мыса Ильи в Феодосии называется юго-восточный берег [12, 63]. Такое разграничение территории вполне обосновано из-за того, что Главная гряда в районе Алушты понижается и уходит от берега, изменяется не только ландшафт на остальном промежутке южного побережья, но и климатические условия, что повлияло на распределение некоторых видов растений и животных. Поэтому территорию исследования мы разделили на 2 части: южное побережье Крымского полуострова – от Севастополя до Алушты, и юго-восточное – от Алушты до Феодосии.

Сумма средних суточных температур на ЮБК составляет 3655-3940 °С [60], что не достигает необходимой суммы температур (4600 °С), для типичных субтропиков [4], однако совместное влияние атмосферной циркуляции в горах и Черное море повлияли на формирование субсредиземноморского жаркого слабо континентального климата схожего с субтропическим [60]. На западе климат засушливый, с умеренно теплой и влажной зимой, а на востоке – становится более засушливым, местами полупустынным с очень мягкой влажной зимой [4, 59]. Температура в холодное время года никогда не опускается ниже минус 20 °С, средние значения января от плюс 2 до плюс 4 °С, а июля от плюс 21 до плюс 23 °С [63].

В связи со сложным строением рельефа и особенностями циркуляции атмосферы количество осадков на ЮБК распределяется неравномерно и

составляет около 560 мм, причем в холодный период осадков выпадает больше, чем в степной части Крыма, а летом меньше [60].

В настоящее время во всем Мирове актуальным является вопрос изменения климата. По данным Всемирной метеорологической организации [38] и согласно Четвертому оценочному докладу Межправительственной группы экспертов по изменению климата [30] среднегодовая температура на всех континентах, относительно среднего значения возросла на 0.8 °C за последние 100 лет. В последние десятилетия наблюдается аномально быстрый рост среднегодовых температур, и большая доля потепления приходится на последние 50 лет [52]. Ряд авторов, занимающихся изучением климата на Крымском полуострове, пришли к выводу, что вследствие глобального потепления на этой территории тоже произошли изменения в климате – температура воздуха, как и количество атмосферных осадков растет.

Так по данным О.В. Парубец за последние 80 лет для Симферополя наблюдается рост температуры на 1 °C, для Карадага на 0.7 °C [51]. По исследованиям Е.П. Каюкова с 1998 по 2009 гг., среднегодовая температура по Крыму выросла на 1.27 °C. В настоящий период наблюдается тенденция повышения температуры на 0.37 °C в 10 лет [32]. За последние 100 лет произошло внутригодовое увеличение и перераспределение осадков – в теплые месяцы их стало выпадать больше, чем в холодные. По данным Крымских метеостанций, норма атмосферных осадков на период 1939 – 1965 гг. составляла 482 мм, 1930 – 1980 гг. – 523 мм, на современном этапе – 560 мм [32]. За 110 лет средний показатель атмосферных осадков в Судакe увеличился на 125 мм [51].

Ландшафты на южном побережье суббореальные, южные лесостепные с элементами субтропических, и имеют хорошо выраженные субсредиземноморские черты, которым характерно присутствие большого количества вечнозеленых растений [4].

Из обитателей лесов южного побережья Крыма – летучие мыши [59]; грызуны – серая и черная крысы (*Rattus norvegicus* Berk., *R. rattus* L.) [25, 26],

мыши лесная и желтогорлая (*Sylvaemus uralensis* Pall. *S. tauricus* Pall.); полевка обыкновенная (*Microtus obscurus* Eversmann) [26, 59]; хомяк обыкновенный (*Cricetus cricetus* L.); барсук (*Meles meles tauricus*); степной хорек (*Mustella eversmanni* Less.); лисица (*Vulpes vulpes* L.) и енотовидная собака (*Nyctereutes procyonoides*) [25, 59] – являются прокормителями москитов и могут участвовать в передаче ВЛ и МЛ на территории Крымского полуострова. Некоторые из этих животных благодаря своей высокой экологической пластичности освоились в населенных пунктах [26, 70].

Южная часть побережья Черного моря наиболее освоена и самые массовые застройки происходили именно на этой территории. Здесь находятся практически все известные здравницы и лечебно-оздоровительные комплексы. Расположение рядом с морем, сложное геоморфологическое строение, большое разнообразие природных и ландшафтных условий, пейзажных и природно-познавательных ресурсов, лечебный средиземноморский климат, с короткими теплыми зимами и в отличие от других приморских районов с низкой влажностью, привело к тому, что этот участок является рекреационным центром Крыма и служит привлечением туристов, привыкших не только к комфортному санаторному отдыху, но и активному, а также любителей отдыхать «дикарями» на природе. Туристический сезон на южном побережье начинается с мая и продолжается до конца сентября. Кроме перечисленного, часть приморских земель освоена под плантации сельскохозяйственных культур и виноградников. В районе крупных городов, часть из которых является и портовыми, размещаются промышленно-коммунальные агломерации и ведется активная хозяйственная деятельность.

Длительное антропогенное воздействие на территории Крымского полуострова привело к деградации многих естественных ландшафтов, формированию совершенно новых антропогенных, что не могло не отразиться на перераспределении многих видов растений и животных.

3.2 Эпидемиологическая ситуация по заболеваниям, передаваемым москитами на территории Крымского полуострова

Из болезней, передаваемых москитами, в Крыму зарегистрированы МЛ и ВЛ (Рисунок 4).

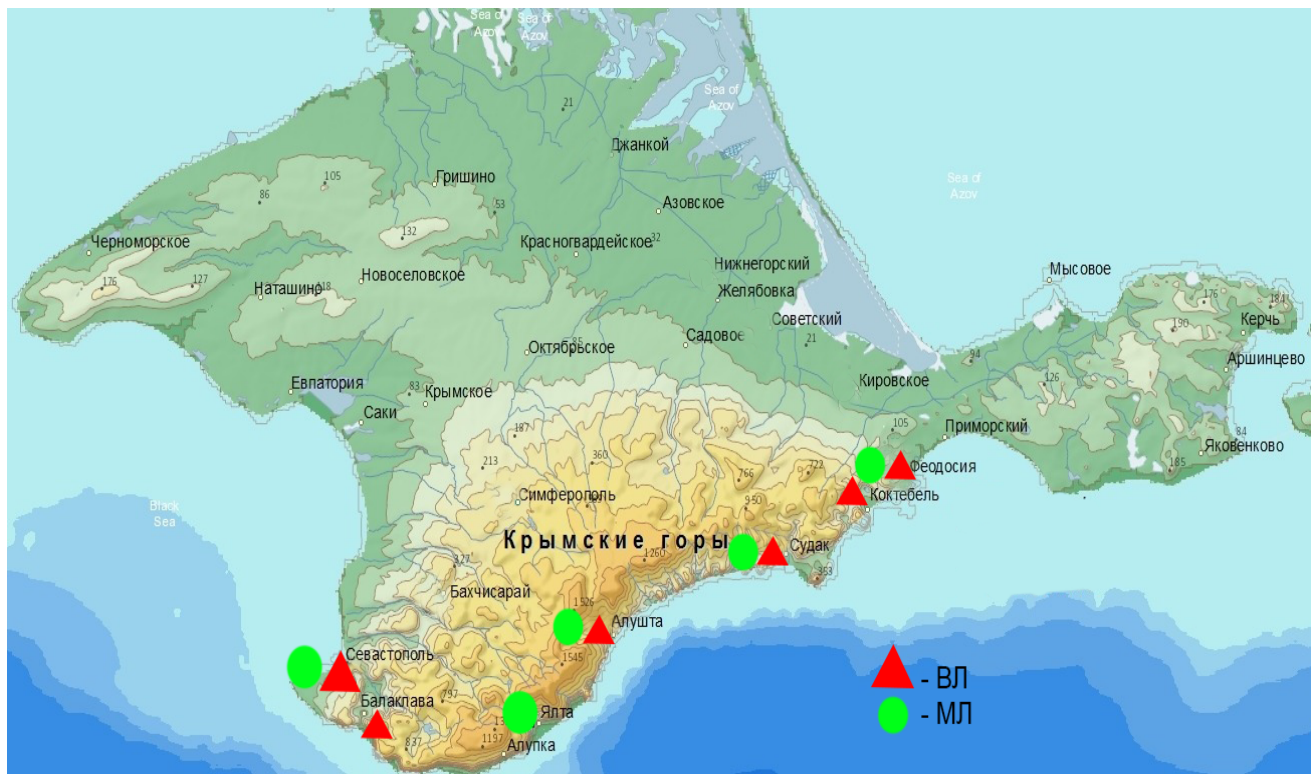


Рисунок 4 – Пункты регистрации ВЛ и МЛ на территории черноморского побережья Крымского полуострова

3.2.1 Москитная лихорадка

Впервые в Крыму МЛ (лихорадкой паппатачи) была упомянута в 1913 г. В.Я Шредерсом [47]. До 1933 года МЛ в Крыму часто называлась «летний грипп», вспышки которого отмечались ежегодно в августе-сентябре с 1898 по 1905 гг. в воинских частях Симферополя, Феодосии, Севастополя, Керчи.

В 1932-1933 гг. в Феодосии вспышки заболевания были отмечены в июле-августе. С 1934 г. после проведения ряда конференций врачей с докладами о МЛ, эта болезнь стала диагностироваться лечебными учреждениями Крыма. Первые данные о МЛ как самостоятельном заболевании, дает К.Я. Кремер,

наблюдавший крупную вспышку в Феодосии в доме отдыха южных железных дорог в 1934 г. [23]. В апреле 1944 г. после освобождения Феодосии от немецкой оккупации, в город помимо жителей стали съезжаться люди неиммунные к МЛ (строители, отдыхающие), что привело к очередной большой вспышке этого заболевания в 1946 г. (заболевших около 1500 человек). В 1947 г. (число заболевших около 950 человек) в Феодосии начали применяться первые меры борьбы с москитами (пиретрум, флицид и т.д.), а с 1948 по 1950 гг. путем сплошной обработки всех построек, заборов и развалин домов ежегодно препаратами ДДТ и ГХЦГ обрабатывалась 1/3 часть города, что привело к снижению численности переносчика и заболеваемости МЛ (1948 г. около 780 заболевших, а в 1949 г. – около 250). С 1951 г. заболеваний не наблюдалось [23, 45].

В 1923 г. наблюдалась крупная эпидемическая вспышка МЛ в Бахчисарае, а с 1948 по 1950 гг. в Алуштинском районе (1948 г. – 89 случаев заболеваний, в 1949 г. – 86, в 1950 г. – 12 случаев) и Джанкое. Случаи заболевания также регистрировались в населенных пунктах Ялтинского и Судакского района [37].

Самым крупным и стойким очагом МЛ в Крыму с ежегодными вспышками, был Севастополь – 1945 г. – 14360 случаев на 100000 населения; в 1946 г. – 17700; 1947 г. – 7600; 1948 г. – 575.7; 1949 г. – 976.1; 1950 г. – 165.3; 1951 г. – 80.0; в 1952 г. – 8.7; 1953 г. – 1.7 случая [48]. После крупной вспышки, которая произошла в Севастополе в 1923 г., специалистами кафедры общей биологии и паразитологии военно-медицинской академии им. С.М. Кирова под руководством Е.Н. Павловского, в 1932 г. были начаты систематические изучения переносчиков МЛ, поиск средств защиты населения от укусов и мер борьбы с ними [18].

К 1941 г. в результате противомоскитных мероприятий в ряде населенных пунктов Крыма численность москитов и заболеваемость МЛ были снижены, но до начала войны добиться ее полной ликвидации не удалось и к 1945 г. заболеваемость заняла одно из ведущих мест в структуре инфекционных

заболеваний. В последующие года противомоскитные мероприятия стали наращиваться и к 1954 г. заболевание перестало регистрироваться, однако противомоскитные обработки продолжались до 1958 г. в связи с угрозой восстановления популяции переносчика на окраинах города и пригородных поселков. В последующие 30 лет проводились наблюдения за видовым составом и численностью mosquitos, дезинфекция по энтомологическим показаниям. С 1987 г. дезинсекция проводилась синтетическими пиретроидами (сумицидин, цимбуш) [48].

3.2.2 Висцеральный лейшманиоз

На основании анализа данных официальной статистики, случаев с подозрением на ВЛ у больных обратившихся в клинический центр Первого МГМУ им. И.М. Сеченова, результатов паразитологических исследований материалов, присланных в референс-центр по мониторингу за лейшманиозами НИИМПиТМ им. Е.И. Марциновского, с учетом наблюдения Федерального НМЦ профилактики и борьбы со СПИДом и данных литературы о случаях ВЛ, опубликованные в отечественных и зарубежных (Украина) научных журналах и монографиях в 1932-2018 гг. нами было установлено, что в Крыму за этот период зарегистрировано 16 случаев ВЛ местного происхождения, из которых 4 случаев сочетания ВЛ и ВИЧ инфекции (Рисунок 5).

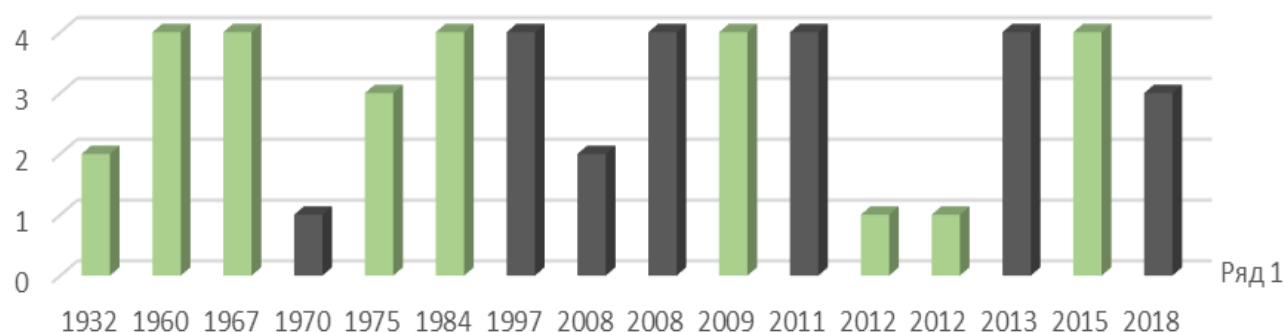


Рисунок 5 – Случаи ВЛ на территории Крымского полуострова. Ряд слева возрастная категория заболевших: 0-1 – дети до года, 1-2 – дети от года до 10 лет, 2-3 – взрослые от 20 до 30 лет, 3-4 – взрослые от 30 до 50 лет. Столбцы серого цвета – случаи с летальным исходом

Заражение происходило в южной и в юго-восточной части черноморского побережья полуострова, куда ежегодно в сезон активности переносчика ВЛ приезжают отдыхающие [6].

Первый случай ВЛ был диагностирован Н.И. Осиневским у девочки в 1932 г., родившейся и постоянно жившей в Крыму (г. Севастополь) [46]. В 1960 г. А.Н. Митропольский и соавторы наблюдали ВЛ у взрослого мужчины, который перед этим три года не выезжал из Ленинграда, а летом 1957 г. работал на объекте в районе Феодосии [43].

О.И. Келлина [33, 34] приводит сведения о 4-х больных ВЛ, заразившихся в Крыму до 1990 г. Один из них, взрослый мужчина, постоянный житель Литовской ССР, с 3 по 21 августа 1967 г. был в туристическом автобусном путешествии по Крыму. Во время путешествия ночевал в палатках. Заболел в ноябре 1967 г., лечился в гематологических клиниках Клайпеды и Вильнюса. Диагноз был подтвержден при просмотре мазков косного мозга в ИМП и ТМ им. Е.И. Марциновского, после чего было назначено специфическое лечение соллюсурмином. Исход – выздоровление. Другой случай выявлен в 1970 г. Девочка в возрасте 1 года в 2-месячном возрасте была привезена на восточный берег Крыма и в течение лета и осени 1969 г. там безвыездно жила. Заболела в декабре 1969 г. и с середины января по 18 апреля 1970 г. находилась в Областной клинической больнице г. Симферополя с предварительным диагнозом ангины, сепсиса. Несмотря на нарастание характерных для ВЛ симптомов – лихорадка, анемия, увеличение селезенки и печени, паразитологических исследований сделано не было. По подозрению на наличие опухоли почки была произведена лапаротомия, обнаружена и удалена значительно увеличенная селезенка, а по результатам гистологического исследования селезенки и лимфатического узла диагностирован «ретикулез». Больная получала интенсивное лечение антибиотиками, преднизолоном, витаминами, неоднократные переливания крови и плазмы и после некоторого улучшения была выписана. Вскоре началось ухудшение, и в конце мая ребенок

был направлен на консультацию в Институт педиатрии АМН СССР и по результатам анализа гистологических препаратов, доставленным из Симферополя, был заподозрен ВЛ. При исследовании пунктата костного мозга диагноз подтвержден паразитологически в ИМПитМ им. Е.И.Марциновского. Несмотря на начатое лечение солюсурьмином, ребенок через несколько дней умер. Другой «крымский» случай выявлен в 1975 г. у больного 27 лет, жителя г. Киржач Владимирской области, который в 1968-1971 гг. жил в Феодосии. Почувствовал себя больным в феврале 1973 г. после «гриппа», по поводу которого лечился в стационаре. Самочувствие постепенно ухудшалось, несколько раз получал больничный лист по поводу бронхита. С сентября 1973 г. лечился в больницах Владимира и Москвы с подозрением на заболевание крови. Клиническое течение ВЛ было типичным, однако диагноз был поставлен только через 2 с лишним года. Диагноз подтвержден паразитологически и серологически в ИМПитМ им. Е.И. Марциновского. Проведено специфическое лечение глюкантимом, исход – выздоровление. Еще один случай зарегистрирован у взрослого мужчины 1924 г.р., постоянно проживающего в Литве. В августе 1981 г. был в туристической поездке по Крыму (Феодосия, Алушта, Алушка, Евпатория). Первые ночевки в палатках были на холмах в окрестностях Феодосии, где группа была подвержена нападением кровососущих насекомых. В марте 1982 г. появилась слабость, потливость, кратковременные подъемы температуры до плюс 39 °С. Был госпитализирован и обследован для исключения онкологического заболевания, диагноз которого после подробного клинико-инструментального и лабораторного обследования не подтвердился. При этом выявлено умеренное увеличение размеров печени и селезенки. От стеральной пункции больной отказался и был выписан в удовлетворительном состоянии. Повторно поступил в клинику почти через 2 года (в январе 1984 г.), когда было отмечено значительное ухудшение: общая слабость, адинамия, одышка, потеря массы тела до 12 кг, выраженная гепатоспленомегалия, лимфаденопатия, анемия, СОЭ 70 мм/час. В стеральном пунктате и пунктате

пахового лимфоузла обнаружены лейшмании (выделена культура лейшманий, идентифицированная как *Leishmania infantum*). Больной прошел два курса лечения глукантимом [6, 33, 34].

В 2008 г. зарегистрировано 2 случая ВЛ заражения в Крыму с летальным исходом [74]. Первый из них был диагностирован в январе 2008 г. в Киеве у ребенка 9 лет, который из-за несвоевременной диагностики погиб. За 4 месяца до заболевания больной находился на отдыхе в Крыму, возле Феодосии, жил в палатке. Второй случай зарегистрирован в августе 2008 г. у жителя Львова, который за 5 месяцев до начала заболевания отдыхал в Крыму в окрестностях Судака. Пациент длительно лечился самостоятельно и бессистемно, проходил обследование и консультировался в медицинских учреждениях Кривого Рога, Львова, Москвы по поводу «системного заболевания соединительной ткани (с поражением почек, печени, легких с синдромами анемии, лихорадки, лимфаденопатии)». В результате поздней диагностики, несмотря на проводимую этиотропную и интенсивную терапию, больной умер [6].

В 2012 г. в Крыму зарегистрировано 2 случая ВЛ у детей до года [66]. Оба ребенка с момента рождения не покидали пределов Крыма (конкретное место проживания заболевших детей не указано). Первому из заболевших детей постановка диагноза и полный курс терапии липосомальным амфотерицином В были проведены в Израиле после безуспешных попыток установить причину длительной лихорадки в медицинских учреждениях Украины. Во втором случае у 4-месячной девочки диагностика и лечение были осуществлены на базе детской инфекционной больницы Симферополя. В значительной степени этому способствовала информация о диагнозе и положительном результате лечения первого заболевшего. Ребенок был госпитализирован на 10 день болезни с диагнозом лихорадки неясного генеза. Семья проживает в сельской местности недалеко от берега моря. По словам матери, после «нападения» на ребенка в возрасте 2-х недель мелких насекомых на лице девочки появились папулезные элементы. Через 2,5 месяца у ребенка отмечали ежедневное повышение

температуры до плюс 38-39 °С. Живот был значительно увеличен в размерах: печень выступала из-под края реберной дуги на 6 см, селезенка на 9 см. На основании клинической картины и положительного результата ИФА на ВЛ выставлен диагноз: лейшманиоз, висцеральная форма. Лечение амфотерицином В в течение 22 дней было эффективным. Кроме того, в процессе лечения применяли переливание эритроцитарной массы и антибиотики. Снижение температуры наступило на 9 день после начала лечения. На 47 день с момента госпитализации девочка выписана в удовлетворительном состоянии [6].

По данным Филиала ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Крым и городе федерального значения Севастополе» в г. Севастополе поступило 2 экстренных сообщения о больных ВЛ. Первое поступило в сентябре 2015 г. из ГБУЗС «Городская больница №9». Больной К. 1967 г.р. Дата первого обращения 31.10.2014 г., первичный диагноз лимфома. Из карты эпидемиологического обследования больного следует: клиническая картина болезни на момент выявления – повышение температуры до 40 °С, потеря в весе, дискомфорт в эпигастральной области после приёма пищи, отдышка. У больного был взят биоптат (инзиционная биопсия подчелюстного лимфоузла слева) 17.08.2015 г. и направлен на гистологическое исследование в университет им. Мечникова в г. Санкт-Петербург. По результату биопсии – лимфаденит, вызванный простейшими микроорганизмами с морфологическими характеристиками лейшманий в стадии внутриклеточных амастигот (№1921/2015 (7020)). Больной проживал в частном доме в г. Балаклаве, в эндемичные страны по ВЛ никогда не выезжал, работает в ГАУ «Севастопольский лесхоз», предположительно заражение произошло на работе. Лечение проводилось рифампицином и 23.09.2015 г. больной был выписан домой.

Второе сообщение о больной К. 1996 г.р. с диагнозом лейшманиоз, висцеральная форма поступило в Филиал ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Крым и городе федерального значения Севастополе» в городе Севастополе поступило 25.05.2018 г. из ГБУЗС

«Городская больница №1». В терапевтическое отделение поступила 20.05.2018 г. Клиническая картина на момент поступления: повышение температуры до 39 °С, вздутие живота, боли в левом подреберье, слабость. Больная была переведена в ГБУЗС «Городская инфекционная больница» 1 отделение 25.05.2018 г. Как следует из карты эпидемиологического обследования больного – женщина в эндемичные по ВЛ страны не выезжала, с 2013 по январь 2016 гг. проживала в г. Челябинск, в марте 2017 г. находилась по месту прописки в с. Целинное (Курганская область), до момента заболевания была в г. Севастополь. При паразитологическом исследовании препаратов мазка костного мозга, отправленных 31.05.2018 г. в клинко-диагностическую лабораторию Института медицинской паразитологии, тропических и трансмиссивных заболеваний им. Е.И. Марциновского ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) были обнаружены лейшмании. Была проведена антибактериальная терапия: цефтриаксон, линезолид – преднизолон, витамины В₁₂, дротаверин. Женщине стало хуже 26.06.2018 г., и она была переведена в реанимационное отделение ГБУЗС «Городская больница №1», 28.06.2018 больная скончалась.

3.2.3 Висцеральный лейшманиоз и ВИЧ-инфекции

В Крыму также были зарегистрированы случаи сочетания ВЛ и ВИЧ-инфекции.

Первый такой случай был подробно описан в 1997 г. [27, 28], у 39-летнего жителя г. Орехово-Зуево (Подмосковье), который с диагнозом «лихорадка неясного генеза» был госпитализирован в местную больницу в конце января 1997 г. после четырех месяцев нарастающих лихорадки и диарейного синдрома. В связи с длительной лихорадкой, значительным увеличением паренхиматозных органов, признаками анемии была произведена пункция костного мозга, в которой обнаружены лейшмании. При уточнении эпиданамнеза выяснилось, что больной в течение 16-17 лет почти ежегодно выезжал в район Коктебеля в

Крыму, в июле-августе 1996 г. ходил в горы, посещал пещеры, где отмечал обилие moskitov. За пределами СНГ никогда не был [6].

В 2015 году авторами из С.-Петербурга [31] было опубликовано подробное описание ВЛ у больного ВИЧ-инфекцией с выраженным иммунодефицитом, который в 2011 г. ошибочно был расценен как пустула-пятнистая форма гистоплазмоза кожи, поскольку у больного с 2008 г. регистрировались элементы сыпи с подсыпаниями. В дальнейшем пациента неоднократно госпитализировали, проводили консультации специалистов, лечение противогрибковыми препаратами и АРТ. В 2013 г. по результатам препаратов биопсии кожи было получено заключение о типичной морфологической картине лейшманиоза, при ПЦР диагностике обнаружена ДНК *Leishmania donovani complex*, а в последующем в лаборатории Центра гигиены и эпидемиологии в пункте костного мозга обнаружены *Leishmania infantum*. На фоне лечения амфотерицином В удалось достичь улучшения, однако пациент погиб в результате передозировки наркотика. В эпиданамнезе этого пациента – отдых в Крыму в 2008 г. Данный случай демонстрирует сложность диагностики ВЛ у пациента с ВИЧ-инфекцией и «необычное» его течение: сочетание висцеральных и кожных поражений, что не так уж необычно при выраженном иммунодефиците. У больных ВИЧ-инфекцией могут наблюдаться как классические симптомы ВЛ (хотя бы часть из них), так и атипичные признаки. У больных ВИЧ-инфекцией ВЛ часто протекает с кожными высыпаниями, возможно изъязвление элементов, как в следующем наблюдении [6].

В Иркутске в 2011 г. зарегистрирован случай сочетания ВЛ и ВИЧ-инфекции у пациента, который в 2008 г. отдыхал в Крыму [29, 58]. Это житель Иркутска 1971 г.р., инфицирован ВИЧ с 1999 г., однако до 2008 г. на диспансерном учете не состоял. В течение 4 месяцев до первой госпитализации в 2008 г. пациент отмечал подъем температуры до фебрильных цифр. Диагноз ВЛ был заподозрен только при последующей госпитализации в гематологическое отделение спустя 3 года после начала болезни (в феврале 2011 г.): выраженное

истощение, повышение температуры тела до 38-39 °С, язвенные элементы на коже конечностей, гепатоспленомегалия, продолжение истощения костномозгового кроветворения. В пунктате костного мозга обнаружены элементы, морфологически сходные с лейшманиями. Диагноз был подтвержден в лаборатории паразитарных болезней Роспотребнадзора. Лечение амфотерицином В в течение 7 недель со стабилизацией состояния и выпиской больного в апреле 2011 г. В течение года больной перенес несколько рецидивов и в марте 2012 г. наступило резкое ухудшение состояния, и пациент погиб [6].

В 2009 г. случай сочетания ВЛ и ВИЧ-инфекции выявлен в Сумской области (Украина) [73]. Это 40-летний житель Конотопа, уроженец Узбекистана (на родине не был с 1991 г.). В течение 8 лет проживал в Крыму, а последние 2 года - в Сумской области. В декабре 2007 г. был диагностирован туберкулез легких, в связи с чем пациент проходил лечение в туберкулезном стационаре, где был установлен диагноз ВИЧ-инфекции. С диагностической целью произведена стеральная пункция и в пунктате обнаружены лейшмании. Для дальнейшего лечения больного перевели в Сумскую областную клиническую инфекционную больницу, в которой проводили терапию амфотерицином В, а затем глукантимом. В последующем с клиническим выздоровлением по ВЛ выписан из стационара. Из эпиданамнеза установлено, что в течение 1998-2007 гг. больной работал в кафе на побережье в Алуштинском районе Крыма [6].

ГЛАВА 4. ИЗУЧЕНИЕ МОСКИТОВ ЧЕРНОМОРСКОГО ПОБЕРЕЖЬЯ КРЫМСКОГО ПОЛУОСТРОВА

В результате разработанной М.М. Артемьевым [2, 3] новой классификации фауна moskitov Kryma byla podvergnuta revizii [8]. С учетом внесенных изменений фауна moskitov Kryma vkluchala sleduyushchie vidy: *Phlebotomus* (*Phlebotomus*) *papatasi* Scopoli, 1786; *P* (*Paraphlebotomus*) *similis* Perfiliew, 1963; *P*. (*Par.*) *alexandri* Sinton, 1928; *P*. (*Larroussius*) *neglectus* Tonnoir, 1921; *P*. (*Lar.*) *perfiliewi* Parrot, 1930; *P*. (*Adl.*) *longiductus* Parrot, 1928; *Sergentomyia* (*Sergentomyia*) *dentata* Sinton, 1933 (Таблица 1).

Таблица 1 – Фауна moskitov Krymskogo poluostrova do i posle revizii, provedennoy v sootvetstvii s klassifikatsiey M.M. Artem'yeva

Прежнее название видов moskitov	Новое название видов moskitov
<i>Ph. papatasi</i>	<i>Ph. papatasi</i>
<i>Ph. sergenti</i> var. <i>alexandri</i>	<i>Ph. alexandri</i>
<i>Ph. sergenti</i>	<i>Ph. similis</i>
<i>Ph. major</i>	<i>Ph. neglectus</i>
<i>Ph. perfiliewi</i>	<i>Ph. perfiliewi</i>
<i>Ph. chinensis</i>	<i>Ph. longiductus</i>
<i>Ph. sequens</i> / <i>S. minuta</i>	<i>S. dentata</i>

Как известно из геологической истории Крыма, эта территория в четвертичное время входила в состав суши, соединявшей ее с Малой Азией, Балканским полуостровом и, возможно, с северной частью западного Закавказья, на что указывают геологические исследования, а так же присутствие в Крыму типичной средиземноморской флоры [12, 63]. По этой причине объяснимо наличие в фауне moskitov Kryma таких видов как *Ph. similis*, *Ph. neglectus*, *Ph. perfiliewi*, которые типичны для стран Балканского полуострова и Турции, три последних вида также типичны и для стран Закавказья [5, 7]. *Ph. longiductus* и *Ph. alexandri* часто встречаются в странах Центральной Азии [7, 61, 71].

4.1 Видовой состав москитов черноморского побережья Крымского полуострова

4.1.1 Результаты морфологической идентификации москитов

В результате морфологической идентификации москитов мы установили, что на территории черноморского побережья Крымского полуострова обитает 5 видов москитов, принадлежащих к одному роду *Phlebotomus*, 4 под родам: *Phlebotomus*, *Paraphlebotomus*, *Larroussius*, *Adlerius* - *Ph. perfiliewi*, *Ph. neglectus*, *Ph. longiductus*, *Ph. papatasi*, *Ph. similis*. Идентификацию проводили в соответствии с таксономическими признаками, описанными М.М. Артемьевым [3] индивидуально для самки и самца каждого вида:

***Ph. Phlebotomus papatasi* Scopoli, 1786**

Самец (Рисунок 6) – коксит имеет базальный отросток. Второй дорсальный отросток парамеры длинный и тонкий, с волосками только на вентральной стороне. 4 шипа стилиа ближе к 5, чем к трем терминальным. Сюрстиль с двумя шипами на конце. Эдеагус короткий и конический.

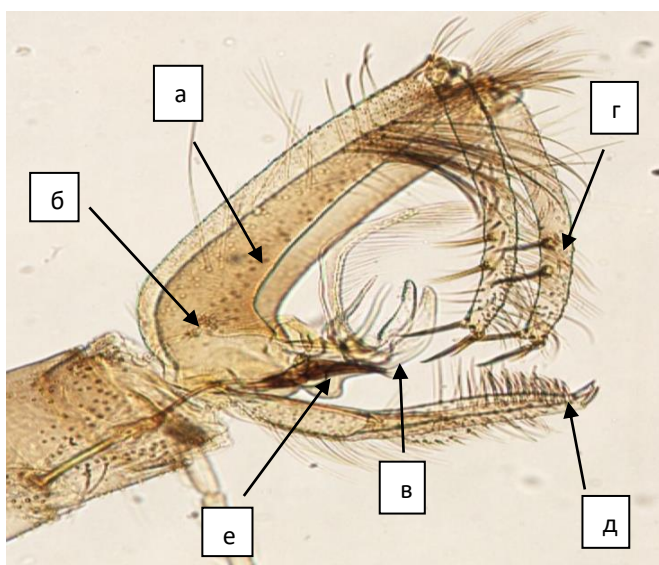


Рисунок 6 – *Ph. papatasi* гипопигии самца (x20): а – коксит, б – базальный отросток, в – парамера, г – стиль, д – сюрстиль, е – эдеагус

Самка (Рисунок 7) – шиповатое поле глотки имеет характерную для этого рода сетчатую структуру, зубчатые чешуи округлые.

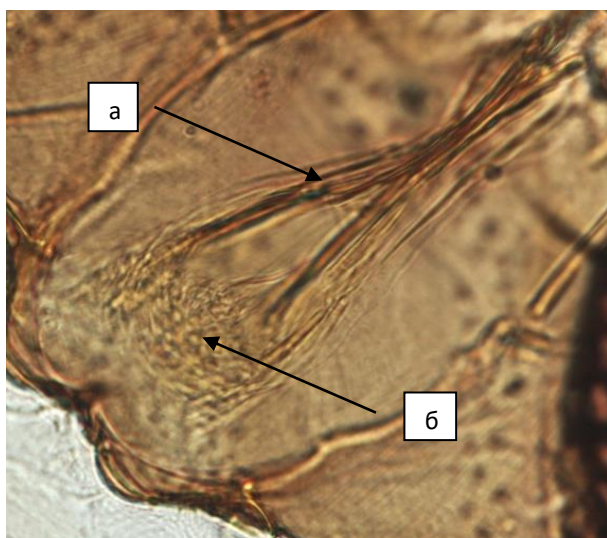


Рисунок 7 – *Ph. papatasi* глотка самки (x40): а – глотка, б – шиповатое поле

***Ph. (Paraphlebotomus) similis* Perfiliew, 1963**

Самец (Рисунок 8) – базальный отросток с симметричной головкой, чуть шире выступа, с пучком волосков, направленных косо вниз, стиль вздутый, эдеагус короткий и конический с крючковидным концом.

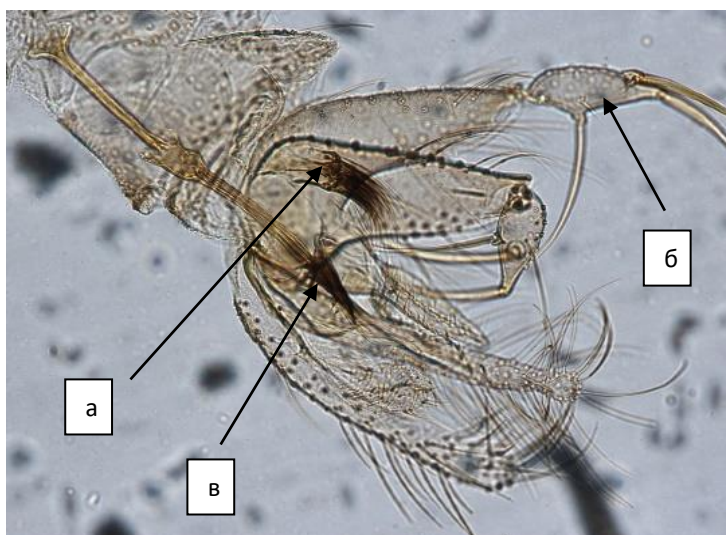


Рисунок 8 – *Ph. similis* гипопигии самца (x20): а – базальный отросток, б – стиль, в – эдеагус

Самка (Рисунок 9) – глотка с ровными боковыми краями и шиповатым полем, состоящим из длинных зубцов, передний край поля вогнут. Сперматека из 4-6 сегментов, из которых апикальный – шаровидной формы.

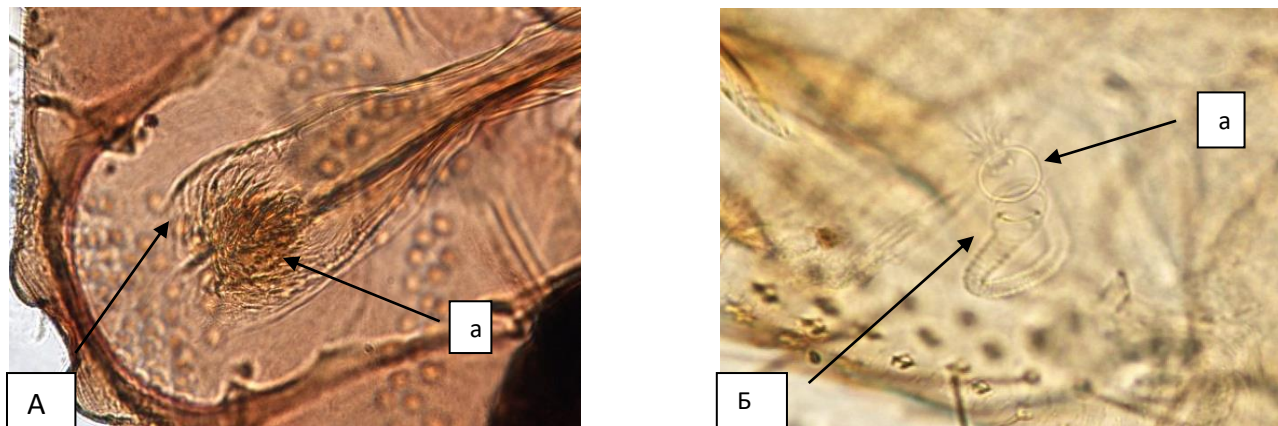


Рисунок 9. *Ph. similis* самка. А – глотка (х40): а – шиповатое поле. Б – сперматека (х100): а – апикальный сегмент

***Ph. (Larroussius) perfiliewi* Parrot, 1930**

Самец (Рисунок 10) – конец эдеагуса ассиметричный, расширенный с прозрачным выступом. Парамера с вентральным бугром и несколькими волосками. Редкая группа волосков, находится в середине вентральной части коксита.

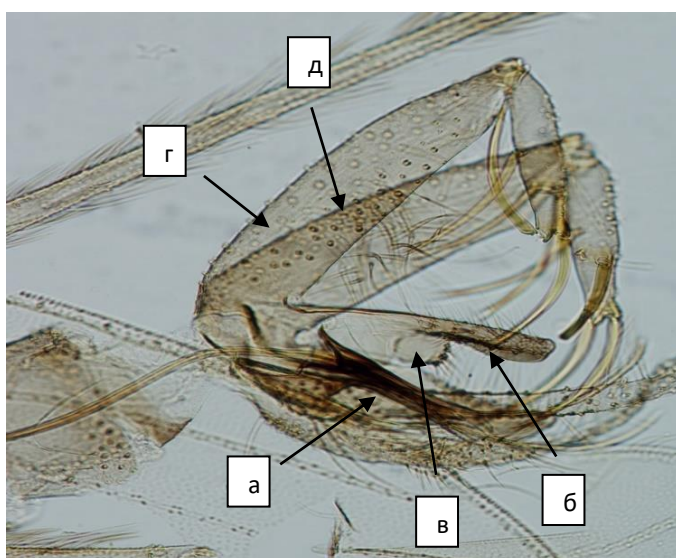


Рисунок 10 – *Ph. perfiliewi* гипопигии самца (х20): а – эдеагус, б – парамера, в – вентральный бугор, г – коксит, д – группа волосков

Самка (Рисунок 11) – глотка с поперечными рядами гребней в базальной части, без чешуек с зубчатыми краями в центре. Сперматека из 12-19 сегментов, головка с длинной шейкой и кольчатыми раздельными протоками.

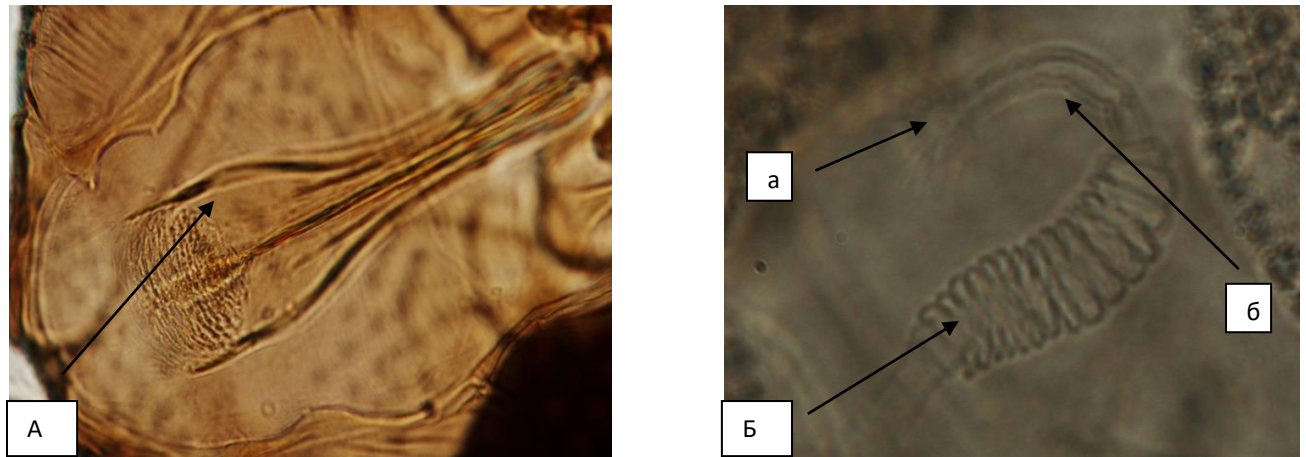


Рисунок 11 – *Ph. perfiliewi* самка: А – глотка (x40); Б – сперматека (x100): а – головка, б – шейка

***Ph. (Larroussius) neglectus* Tonnoir, 1921**

Самец (Рисунок 12) – Эдеагус прямой, длинный и тонкий, с параллельными краями и закругленной вершиной. На внутренней поверхности коксита группа волосков (23-42).

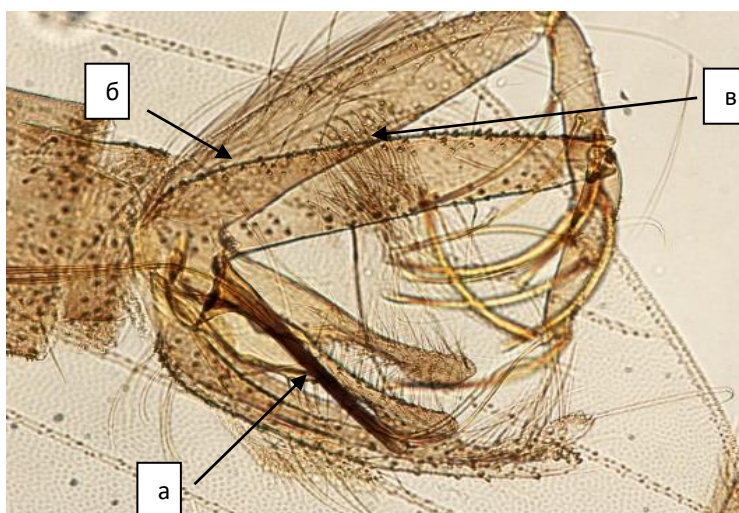


Рисунок 12 – *Ph. neglectus* гипопигии самца (x40): а – эдеагус, б – коксит, в – группа волосков

Самка (Рисунок 13) – более половины расширенной части глотки занято шиповатым полем, состоящим в базальной части из полукруглых концентрических рядов коротких гребней со спикулами и чешуевидными образованиями. Сперматека состоит из 12-14 сегментов, шейка относительно короткая.

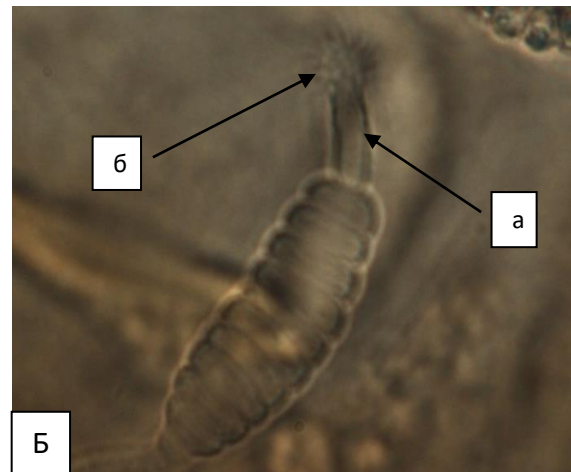
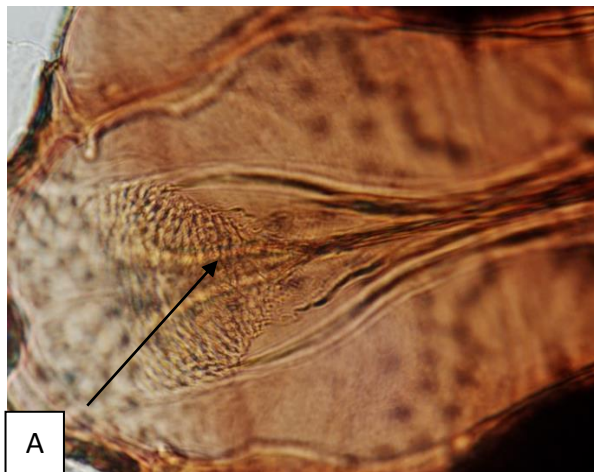


Рисунок 13 – *Ph. neglectus* самка. А – глотка (x40): а – шиповатое поле. Б – сперматека (x100): а – шейка, б – головка

***Ph. (Adlerius) longiductus* Parrot, 1928**

Самец (Рисунок 14) – имеет длинный половой насос. Коксит узкий, с группой волосков (50-80), расположенных ближе к его основанию.

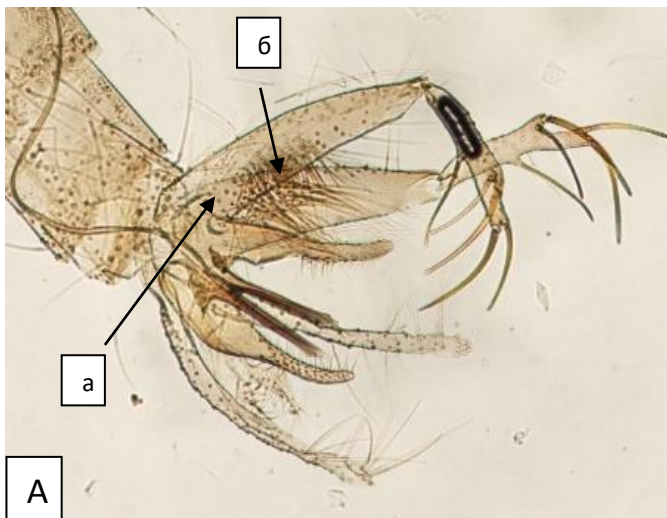


Рисунок 14 – *Ph. longiductu* самец. А – гипопигии (x20): а – коксит, б – группа волосков. Б – половой насос (x10)

Самка (Рисунок 15) – шиповатое поле глотки выдается острым углом, обрамленным короткими продольными линиями, базальные concentрические линии хорошо выражены. Сперматека с неправильной, зачаточной сегментацией, короткой шейкой и маленькой головкой.

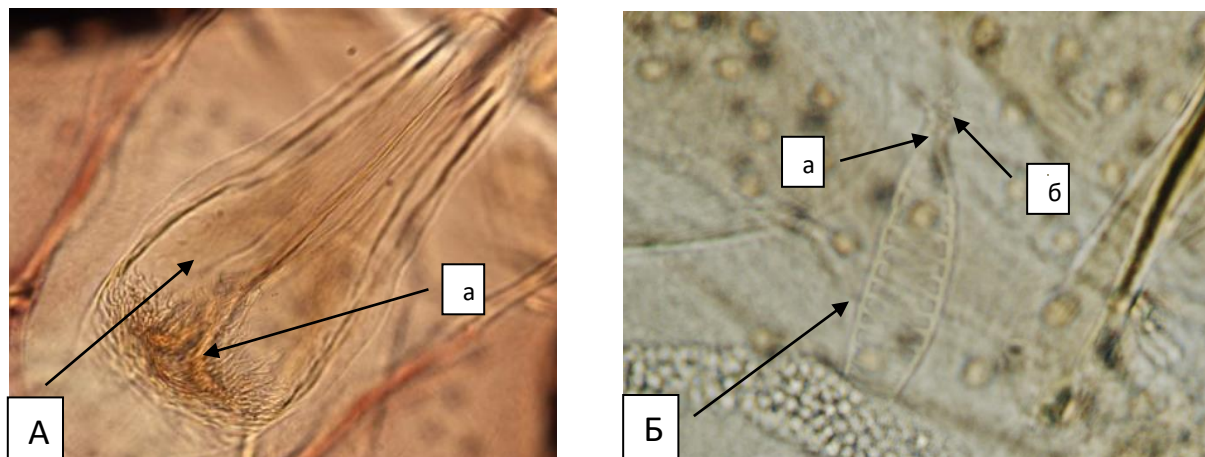


Рисунок 15 – *Ph. longiductus* самка. А – глотка (x40): а – шиповатое поле. Б – сперматека (x40): а – шейка, б – головка

4.1.2 Генетическое подтверждение наличия в фауне moskitov Крима видов, имеющих эпидемиологическое значение

На основе сравнения полученных нами нуклеотидных последовательностей гена COI цитохром с 4-х видов moskitov, собранных в Криму и последовательностей из базы данных GenBank, было построено филогенетическое дерево для этих видов moskitov (Рисунок 16).

На полученной дендрограмме можно выделить 9 кластеров, соответствующих различным видам рода *Phlebotomus*, для которых известны референсные последовательности в базе данных GenBank.

Полученные нами последовательности видов – *Ph. perfiliewi*, *Ph. neglectus*, *Ph. longiductus* и *Ph. papatasi*, имеющих эпидемиологическое значение в эндемичных странах, кластеризуются с референсными последовательностями соответствующих видов, что подтверждает их видовую принадлежность, определенную нами на основе морфологического анализа.

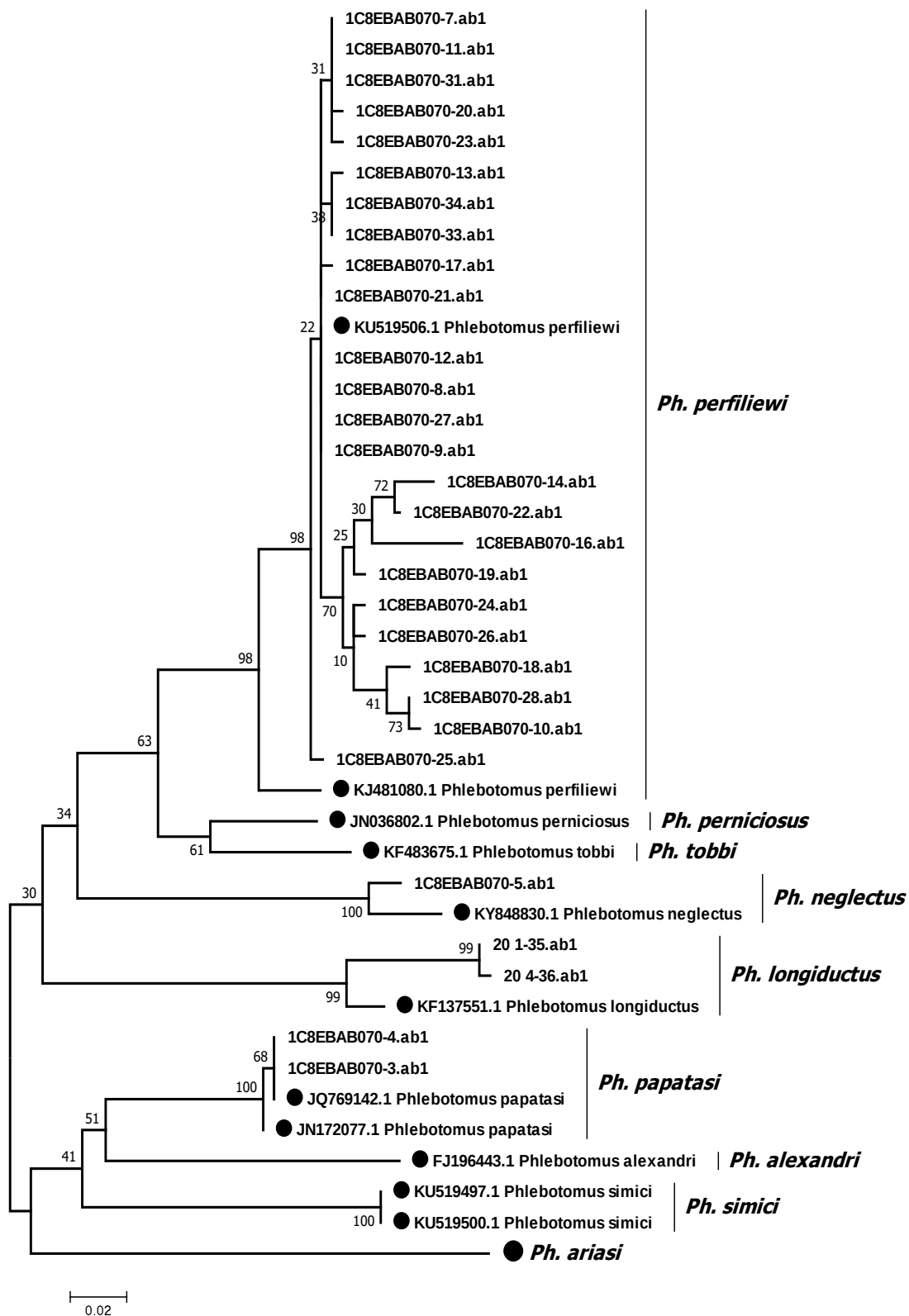


Рисунок 16 – Реконструкция филогенетического дерева для некоторых видов москитов рода *Phlebotomus* на основе сравнительного анализа частичной последовательности гена COI полученных в настоящей работе последовательностей и референсных (обозначены черным кружком)

Результаты BLAST анализа секвенированных фрагментов 4-х видов moskitov, собранных в Крыму, показали от 87 до 100 % идентичности с последовательностями гена COI цитохром c соответствующих видов опубликованных в GenBank. Крымский *Ph. neglectus* на 100 % совпал с Турецким и Греческим видом; *Ph. papatasi* имеет генетическое сходство с Сербским на 99.68 % и на 99.50 % с Испанским, *Ph. longiductus* на 93.89 % с Китайским, *Ph. perfiliewi* наиболее близок к москитам из Греции, 99.37 % - 100 % (Таблица 2).

Таблица 2 – Результаты сравнения полученных последовательностей отдельных экземпляров moskitov, собранных в Крыму с некоторыми репрезентативными последовательностями гена COI цитохром c соответствующих видов moskitov опубликованных в базе данных GenBank

№ образца	Вид москита	№ в GenBank	Страна изоляции	Идентичность
16	<i>Ph. neglectus</i>	MH431697	Турция	100 %
		KX826042.1	Кипр	96.8 %
19		KY848830	Турция	97.31 %
		KX826028.1	Кипр	95.75 %
		KX826030.1	Крит	95.58 %
419	<i>Ph. perfiliewi</i>	KU519506.1	Греция	100 %
		KT634318.1	Кипр	99.28 %
14		KX826026.1	Кипр	99.12 %
18	<i>Ph. papatasi</i>	KY848828.1	Сербия	99.68 %
		JN172083.1	Индия	99.52 %
		LC090047.1	Испания	99.50 %
20	<i>Ph. longiductus</i>	KF137552.1	Китай	93.89 %

4.2 Распространение москитов на черноморском побережье Крымского полуострова.

Из 19 обследованных нами пунктов москиты были обнаружены только в 12: г. Севастополь; мыс Херсонес; г. Балаклава; пос. Парковое (южный склон 13 квартала Оползневского лесничества Ялтинского горнолесного природного заповедника); г. Алушка; г. Ялта; пос. Гурзуф; пос. Новый Свет; г. Судак; пос. Щebetовка; пос. Курортное (Карадагская научная станция им. Т.И. Вяземского); г. Феодосия (Рисунок 17).

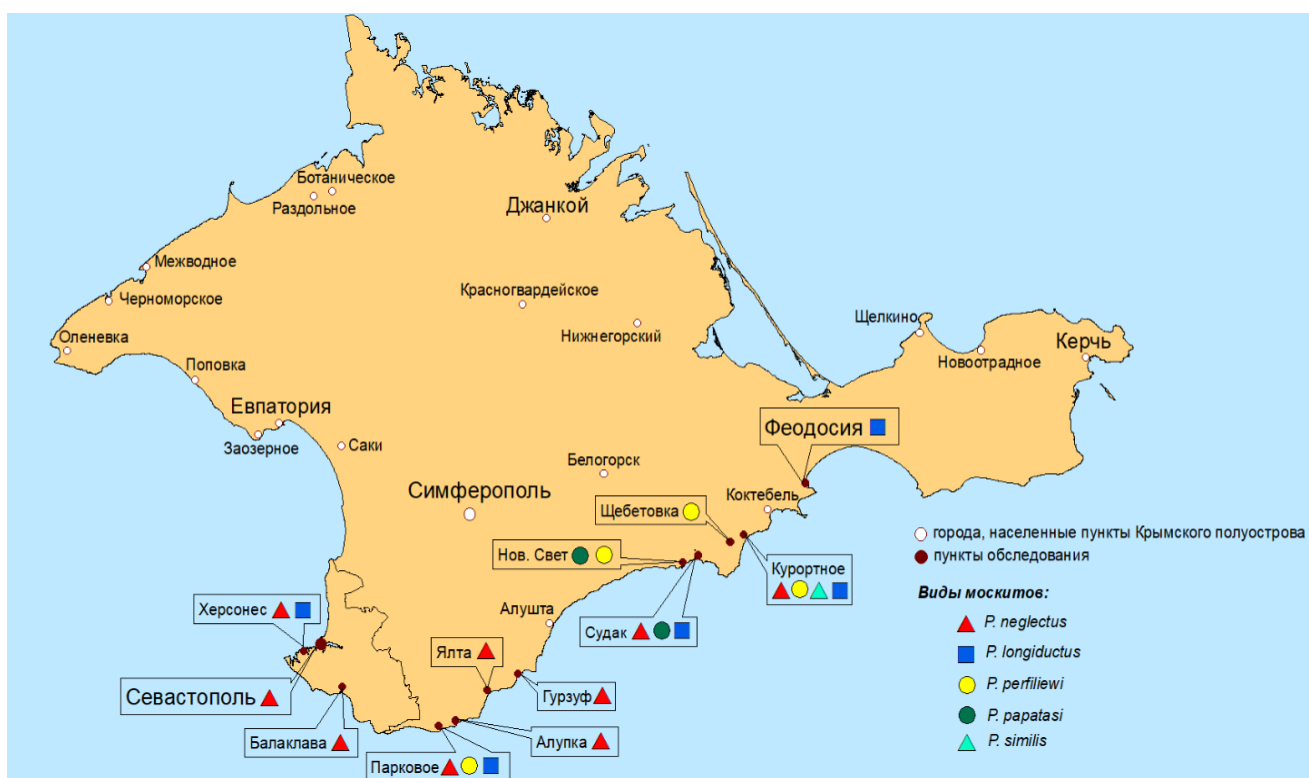


Рисунок 17 – Распространение москитов на черноморском побережье Крымского полуострова

Распределение носит неравномерный характер: начиная от Севастополя, москиты встречались на протяжении всей исследуемой территории до Гурзуфа включительно, дальше на восток москиты обнаружены не были и только от пос. Новый Свет они снова появляются и присутствуют практически во всех населенных пунктах до Феодосии.

Доминирующими видами на исследуемой территории оказались *Ph. neglectus* (49.5 %) и *Ph. perfiliewi* (47.6 %) (Рисунок 18).

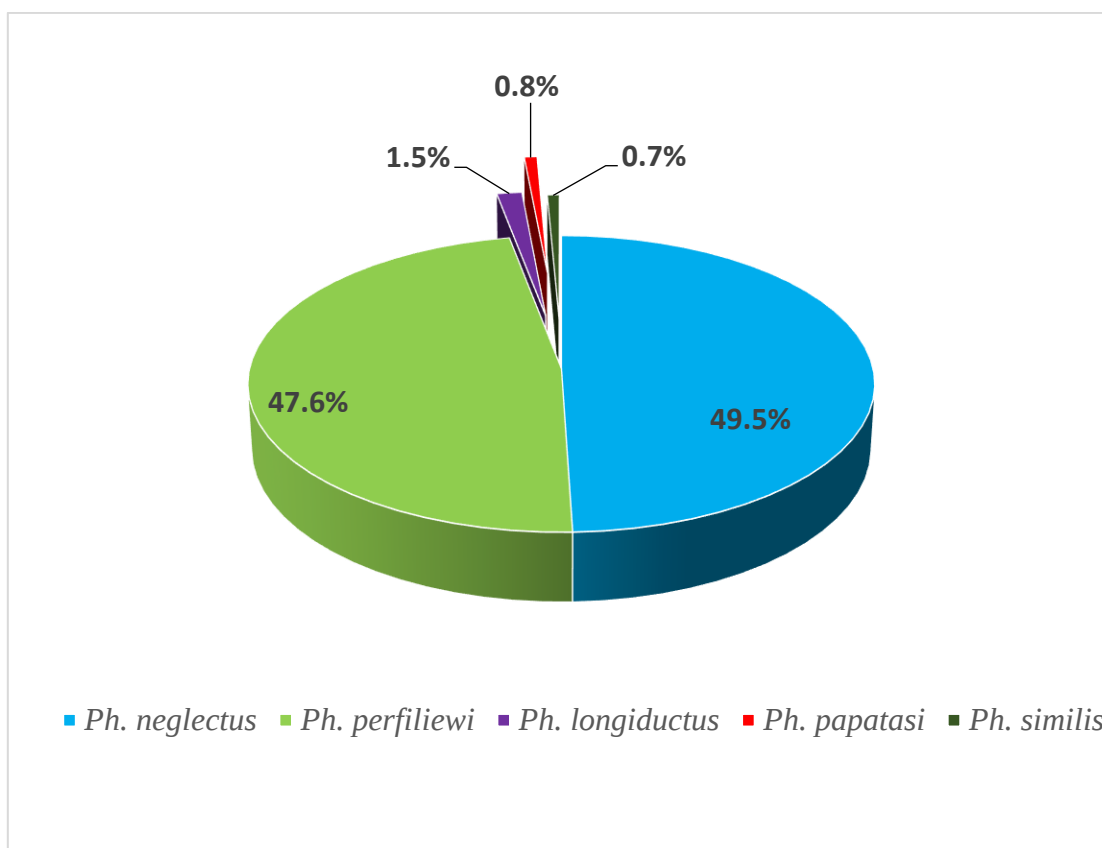


Рисунок 18 – Процентное соотношение видов mosкитов на территории черноморского побережья Крымского полуострова

Видовой состав отличается в южной и юго-восточной части побережья. На юге преобладает *Ph. neglectus*, процент доминирования которого составил 92,3 %, фауна mosкитов оказалась беднее чем на юго-востоке и представлена всего тремя видами (Рисунок 19). На юго-востоке доминирует *Ph. perfiliewi* – 94.2 %, а фауна mosкитов представлена 5 видами (Рисунок 20).

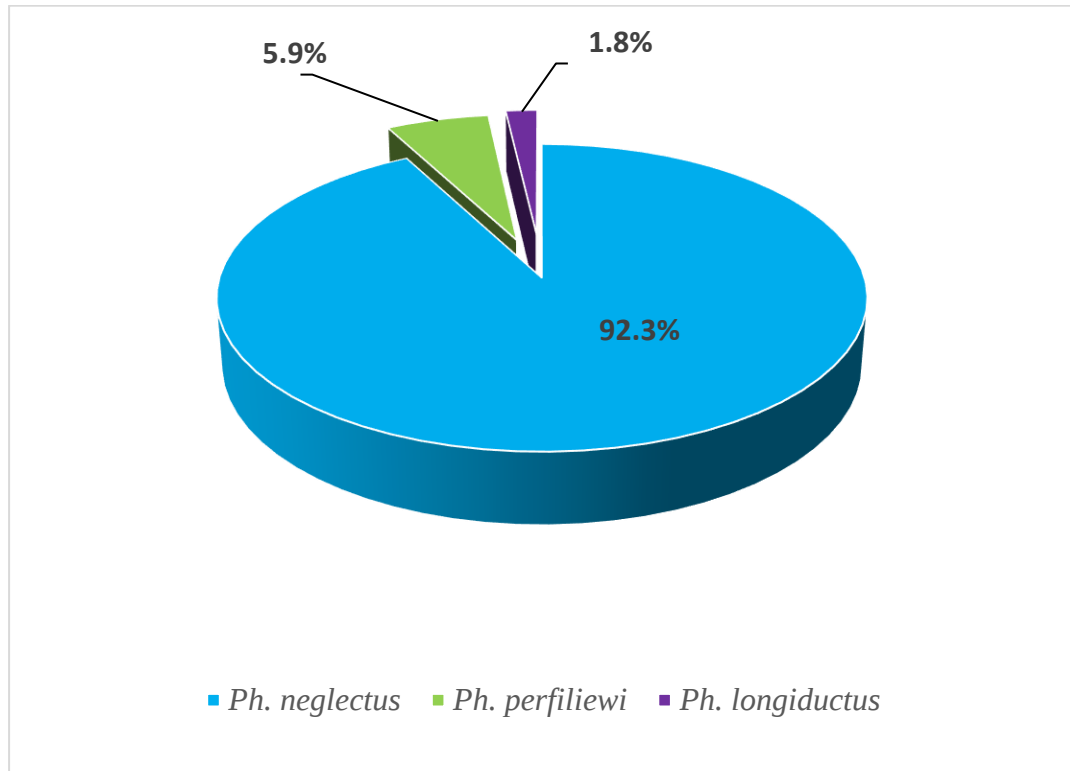


Рисунок 19 – Процентное соотношение mosкитов южной части черноморского побережья Крымского полуострова

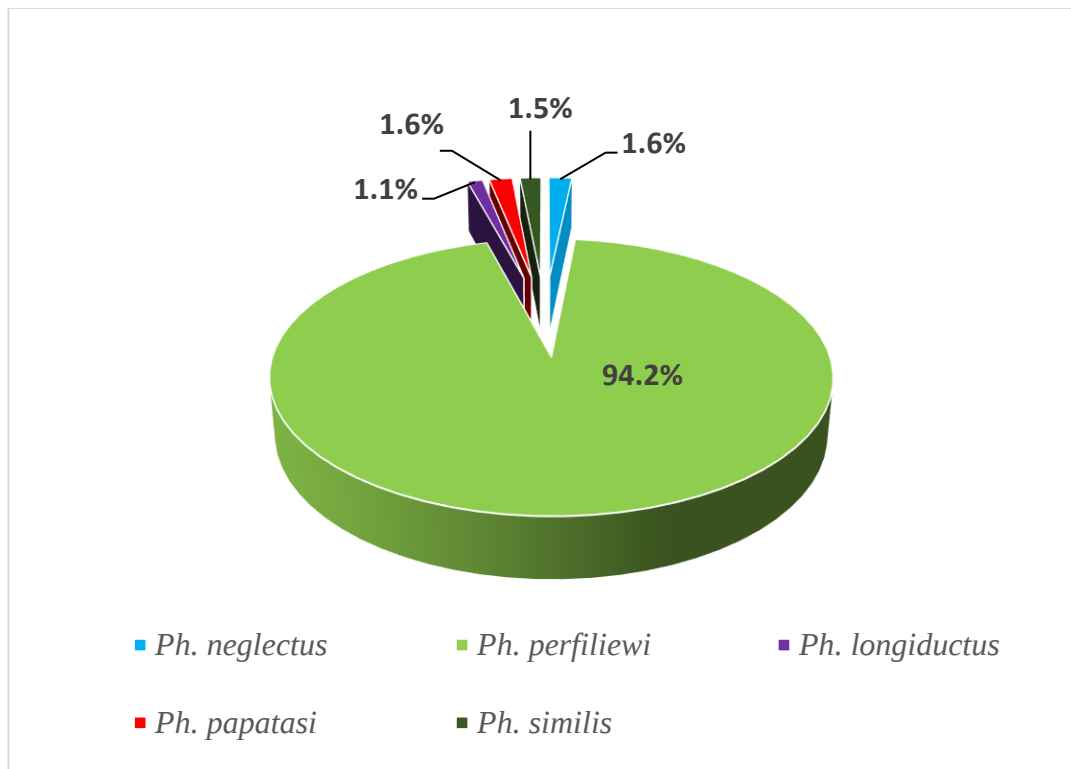


Рисунок 20 – Процентное соотношение mosкитов юго-восточной части черноморского побережья Крымского полуострова

Наибольшего разнообразия фауна mosкитов достигла в районе пос. Курортное, а именно на природно-технической территории Карадагской научной станции им. Т.И. Вяземского ФГБУН «КНС – ПЗ РАН», где было обнаружено 4 вида. В районе пос. Парковое, на территории 13 квартала Оползневского лесничества Ялтинского горнолесного природного заповедника и в Судаке было обнаружено по 3 вида, в остальных населенных пунктах – по 1-2 вида.

Доминирующим видом в пос. Курортное был *Ph. perfiliewi* (96.3 %), который отлавливался повсеместно, при максимальном обилии внутри жилых и хозяйственных помещений на свет (4.8 на липучку). В небольших количествах отлавливались *Ph. similis* (1.6 %), *Ph. neglectus* (1.4 %) и *Ph. longiductus* (0.7 %).

В пос. Парковое доминирующим видом являлся *Ph. neglectus* (91.9 %), наибольшее обилие этого вида отмечено в птичнике (3.79 на липучку), на втором месте по численности *Ph. perfiliewi* (6.4 %). *Ph. longiductus* (1.7 %) был отловлен в единичных экземплярах.

В Судаке, в курятниках отлавливались *Ph. papatasi* (71.4 %) и *Ph. neglectus* (21.4 %), *Ph. longiductus* (7.2 %) обитал только на территории старой крепости.

В остальных населенных пунктах, москиты обитают в заброшенных районах, где много старых, полуразрушенных построек, древних крепостей, глинобитных заборов, и замечено большое количество бездомных собак и кошек. В небольших поселках москиты так же отлавливались во дворах частных домов на липучки, развешенные на свет.

В таблице 3 представлены результаты изучения видового состава москитов каждого населенного пункта их процентное соотношение, а также соотношение самок и самцов (Таблица 3).

Таблица 3 – Видовой состав mosкитов в населенных пунктах черноморского побережья Крымского полуострова

Название населенных пунктов	Координаты	Даты сборов	Виды mosкитов									
			<i>Ph. papatasi</i>		<i>Ph. similis</i>		<i>Ph. neglectus</i>		<i>Ph. perfliewi</i>		<i>Ph. longiductus</i>	
			%	♂/♀	%	♂/♀	%	♂/♀	%	♂/♀	%	♂/♀
Севастополь	44°35'40" с.ш. 33°31'18" в.д.	9.07.2018	-	-	-	-	100	100/0	-	-	-	-
Херсонес	44°36'44" с.ш. 33°29'25" в.д.	10.07.2018	-	-	-	-	66.7 (35.9÷ 88.2)	100/0	-	-	33.3 (11.8÷ 64.2)	100/0
Балаклава	44°29'56" с.ш. 33°36'5" в.д.	12.07.2018 11.08.2018	-	-	-	-	100	50/50	-	-	-	-
Парковое	44°23'53" с.ш. 33°55'48" в.д.	18.07 - 22.07.2017; 17.07-18.07.2018	-	-	-	-	91.9 (89.9÷ 93.6)	62.9/37.1	6.4 (4.9÷ 8.2)	24.5/75.5	1.7 (1.0÷ 2.7)	84.6/15.4
Алупка	44°24'57" с.ш. 34°2'45" в.д.	12.08 - 13.08.2018	-	-	-	-	100	57.1/42.9	-	-	-	-
Ялта	44°29'28" с.ш. 34°9'30" в.д.	9.06.2018	-	-	-	-	100	100/0	-	-	-	-
Гурзуф	44°32'37" с.ш. 34°16'53" в.д.	28.06 - 01.07.2017; 8.06.2018, 6.07.2018	-	-	-	-	100	59.3/40.7	-	-	-	-
Новый свет	44°49'44" с.ш. 34°54'28" в.д.	25.07.2018	14.3 (3.7÷ 41.0) *	100/0	-	-	-	-	85.7 (59.0÷ 96.3)	100/0	-	-
Судак	44°51'57" с.ш. 34°57'33" в.д.	10.07 - 11.07.2017; 1.07-3.07.2018; 21.07-23.07.2018	78.6 (57.2÷ 91.6)	90.9/9.1	-	-	14.3 (4.7÷ 33.9)	50/50	-	-	7.2 (1.8÷ 23.2)	0/100
Щебетовка	44°54'13" с.ш. 35°8'58" в.д.	30.06.2018	-	-	-	-	-	-	100	86.7/13.3	-	-
Курортное	44°54'58" с.ш. 35°12'14" в.д.	12.07 – 16.07.2017; 6.06.2018; 25.06 - 29.06.2018	-	-	1.6 (0.9÷ 2.6)	63.6/36.4	1.4 (0.8÷ 2.4)	80/20	96.3 (94.8÷ 97.4)	47.2/52.8	0.7 (0.3÷ 1.5)	40/60
Феодосия	45°1'18" с.ш. 35°23'55" в.д.	1.08 - 2.08. 2018	-	-	-	-	-	-	-	-	100	50/50

Примечание: % доля mosкитов каждого вида в населенном пункте; ♂/♀ – процентное соотношение самок и самцов

* – доверительный интервал, $p=0,05$

4.3 Экология moskitov черноморского побережья Крымского полуострова и их биотопическое распределение

Нами отмечено, что в Крыму вылет moskitov каждый год происходит в разное время, в зависимости от температурного режима. Так в 2017 г. когда наблюдалась холодная весна, moskity появились в начале июля, в 2018 г., весна была ранняя, первые moskity появились в начале июня (*Ph. neglectus*, пос. Курортное). По нашим наблюдениям, вылет moskitov начинается при температурах не ниже 16 °С, а массовый лет наступает, когда температурный режим устанавливается в районе 23-26 °С. В пасмурную и ветренную погоду удавалось отловить только единичные экземпляры, в шторм и дождь – лет moskitov не отмечался. Самые большие сборы происходили в ясную, безветренную погоду, при ночной температуре 23-25 °С и влажности 65-75 %. Лет наблюдался с 11 вечера до 4 утра. Массовый лет moskitov отмечается в течении месяца, по истечении этого срока moskity не исчезают полностью, но отлавливаются единично. За два года исследований нами была отмечена только одна генерация moskitov.

Ph. (Phlebotomus) papatasi

Один из наиболее изученных видов. Имеет широкий ареал, заселяет территории с средиземноморским климатом и климатом жарких степей, а в некоторых местах проникает и в пустыню, но в основном по долинам рек [18]. Распространен в странах Средиземноморья, Восточной Африке (Судан), на Ближнем и Среднем Востоке, Кавказе, в Крыму, Центральной Азии, Индии [3].

Ph. papatasi может существовать только в условиях теплого и продолжительного лета, не менее 4-х месяцев с температурой не ниже плюс 18 °С, зима должна быть короткой со средней температурой не ниже минус 6 °С, но личинки в диапаузе способны переносить сравнительно холодную зиму. В аридных регионах (Центральная Азия, Афганистан) предпочитает увлажненную почву, во влажных (Крым, Кавказ) – более сухие участки. Везде равнинный вид, кроме Афганистана, где встречается на высоте до 2100 м [3]. Относится к

эндофильным видам и является большим синантропом [18]. Очень агрессивен по отношению к человеку и млекопитающим, нападает на птиц, реже рептилий [3].

В настоящее время для Крыма является редким видом, встречается единично только на юго-востоке черноморского побережья – в Судаке и Новом Свете, преимущественно в курятниках, 1 экземпляр был пойман в жилом помещении на свет.

Ph. (Paraphlebotomus) similis

Редкий вид, чаще всего его находили в постройках человека и хлевах, в Румынии обитает в природных биотопах. Самки охотно нападают на человека. Менее теплолюбивый, чем *P. papatasi* [3, 18]. Редко появляется в заметном количестве и встречается гораздо реже других видов. Более постоянными биотопами являются курятники [55].

В Крыму 1930-1950 гг. был свойствен исключительно Южному берегу, в настоящее время обнаружен только в юго-восточной части черноморского побережья на территории пос. Курортное в закрытых биотопах – хозяйственных постройках и щелях в заборе вместе с остальными видами.

Ph. (Larrossius) neglectus

Распространен в Италии, на Балканском полуострове, в Крыму, Палестине, Турции, Иране [3].

Имеет широкий ареал, избегает местностей с очень большим количеством осадков, но в то же время влаголюбив, чем и объясняется его многочисленность на морских побережьях [18]. В основном равнинный вид, особенно обильный среди растительности, в садах и лесах, но в Крыму поднимается до 1200 м [24]. Самки залетают в дома, где, напившись крови, улетают обратно [3]. Активны уже в первые часы сумерек. Для дневок выбирают теплые и влажные места [18]. В местах обитания обычно достигают высокой численности.

В Крыму занимает первое место по численности, является доминирующим видом в южной части черноморского побережья. Встречается во всех биотопах, как в закрытых, так и на открытых территориях, но большего

обилия достигает в курятниках (3.6 на лист). Во дворах усадеб самки активно привлекаются на свет. Агрессивен по отношению к человеку.

Ph. (Larrossius) perfiliewi

Распространен на Северном Кавказе, в Закавказье, Крыму, Молдавии, Венгрии, Румынии, странах Средиземноморья, на Мальте, в Сардинии, Тунисе, Алжире, Марокко. Очень влаголюбивый вид и наиболее обилен во влажном климате, недалеко от морей [3, 21, 55].

В Крыму занимает второе место по численности после *Ph. neglectus*, доминирует в юго-восточной части черноморского побережья. Также, как и *Ph. neglectus* встречается во всех биотопах. Является экзофилом, в жилые помещения самки залетают только на искусственный свет, и насытившись кровью сразу улетают. На открытом воздухе охотно нападают на людей без источников света.

Ph. (Adlerius) longiductus

Распространен в Румынии, на юге Украины, в Крыму, на Северном Кавказе, в Центральной Азии, Афганистане, Китае [3].

Холодостойкий вид с широким экологическим диапазоном. Обитает в скалах, горах и постройках человека. В населенных пунктах предпочитает для дневок места прохладные и влажные (такие как подвалы) с температурой на 2-4 °С ниже, чем дневки других видов [18].

В Крыму встречается как в южной части черноморского побережья, так и в юго-восточной, однако сборы этого вида единичны. Излюбленные места обитания заброшенные постройки и развалины древних городов и крепостей.

Наши наблюдения показали, что распределение видов на исследуемой территории носит неравномерный характер. Это объясняется разнообразием рельефа, при котором создаются свои микроклиматы на протяжении побережья, количеством годовых осадков и разнообразием растительного мира, являющегося в одних точках богаче, а в других беднее. Все эти факторы оказываются благоприятными для существования одних видов moskitov и

негативными для других, поскольку экологические требования moskitov у каждого вида разные. Однако, в населенных пунктах, и особенно во всевозможных постройках, создается свой микроклимат, где происходит нивелирование неблагоприятных климатических факторов. Так можно объяснить присутствие 4 видов moskitov *Ph. neglectus*, *Ph. perfiliewi*, *Ph. longiductus*, *Ph. similis*, обладающих разными экологическими требованиями в одном биотопе на территории населенного пункта. Излюбленными биотопами moskitov как в южной, так и юго-восточной части побережья оказались щели в заборах, хозяйственные и заброшенные постройки, а также фильтрационные поля. В то же время в остальных биотопах, особенно в открытых встречались в основном только доминирующие виды: *Ph. neglectus* и *Ph. perfiliewi*, а остальные либо не наблюдались вообще, либо попадались единично. Следовательно, исследуемая территория экологически отвечает всем требованиям этих двух видов, тогда как остальные виды предпочитают другие условия и находят их не в естественной среде, а внутри искусственно созданных микроклиматов.

В таблице 4 показано биотопическое распределение moskitov по видам в южной части исследуемой территории, а в таблице в юго-восточной, так же указано их обилие и процент доминирования в конкретном биотопе (Таблица 4, Таблица 5).

В ходе исследования было установлено, что на свет отлавливались moskity трех видов. В основном *Ph. perfiliewi*, в небольшом количестве *Ph. neglectus* и единично *Ph. papatasi* (в Новом Свете). Причем самок было больше, чем самцов (самцов 30.5 %, самок 69.5 %), в то время как при обычном отлове на липучки соотношение самцов и самок иное (самцов 55.8 %, самок 44.2 %).

Таблица 4 – Биотопическое распределение москитов южной части черноморского побережья Крымского полуострова

Биотоп	Число липучек и способ отлова	Виды москитов									
		<i>Ph. papatasi</i>		<i>Ph. similis</i>		<i>Ph. neglectus</i>		<i>Ph. perfiliewi</i>		<i>Ph. longiductus</i>	
		%	обилие	%	обилие	%	обилие	%	обилие	%	обилие
Открытый биотоп											
Палаточный лагерь в лесу	45, на свет	-	-	-	-	-	-	100	0.78	-	-
	эксгаустер	-	-	-	-	100	-	-	-	-	-
Во дворах усадеб	46, на свет	-	-	-	-	100	0.80	-	-	-	-
Щели в заборах	107	-	-	-	-	64.3 (47.6 ÷ 78.5) *	0.17	32.1 (18.6 ÷ 48.7)	0.08	3.6 (0.9 ÷ 12.3)	0.01
Каменные завалы	4	-	-	-	-	100	0.5	-	-	-	-
Руины древних построек	68	-	-	-	-	71.4 (42.1 ÷ 90.1)	0.07	-	-	28.6 (9.9 ÷ 57.9)	0.03
Птичники	175	-	-	-	-	99.3 (98.4 ÷ 99.7)	3.6	0.6 (0.3 ÷ 1.4)	0.02	0.1 (0.0 ÷ 0.6)	0.01
Внутри помещений											
Квартиры жилых домов	2, на свет	-	-	-	-	100	1	-	-	-	-
Заброшенные постройки	117	-	-	-	-	73.3 (60.5 ÷ 83.6)	0.28	2.3 (0.5 ÷ 7.9)	0.01	24.4 (14.6 ÷ 37.1)	0.09

Примечание: % доля москитов каждого вида в биотопе

* – доверительный интервал, $p=0,05$

Таблица 5 – Биотопическое распределение москитов юго-восточной части черноморского побережья Крымского полуострова

Биотоп	Число липучек и способ отлова	Виды москитов									
		<i>Ph. papatasi</i>		<i>Ph. similis</i>		<i>Ph. neglectus</i>		<i>Ph. perfiliewi</i>		<i>Ph. longiductus</i>	
		%	обилие	%	обилие	%	обилие	%	обилие	%	обилие
Открытый биотоп											
Палаточный лагерь в лесу	5, на свет	-	-	-	-	-	-	100	0.8	-	-
Парки	9, на свет	-	-	-	-	-	-	100	0.6	-	-
	эксагустер	-	-	-	-	-	-	100	-	-	-
Во дворах усадеб	24, на свет	-	-	-	-	-	-	100	3.6	-	-
Фильтрационные поля	50	-	-	-	-	3.5 (1.1 ÷ 9.4)	0.04	93.0 (85.4 ÷ 97.1)	1.06	3.5 (1.1 ÷ 9.4)	0.04
Строительные плиты рядом с жилыми домами	102	-	-	-	-	-	-	100	0.73	-	-
Щели в заборах	163	-	-	9.1 (4.1 ÷ 17.6)	0.03	3.6 (1.1 ÷ 9.7)	0.01	85.5 (75.5 ÷ 92.2)	0.29	1.8 (0.4 ÷ 6.5)	0.01
Руины древних построек	80	-	-	-	-	-	-	-	-	100	0.03
Птичники	45	84.6 (64.0 ÷ 95.0) *	0.28	-	-	15.4 (5.0 ÷ 36.0)	0.05	-	-	-	-
Конные фермы	30	-	-	-	-	-	-	100	0.37	-	-
Русла высушенной реки	34	-	-	-	-	-	-	100	0.29	-	-
Заросли камыша	50	-	-	-	-	-	-	100	0.26	-	-
Внутри помещений											
Жилые и хоз. помещения	66, на свет	0.3	0.02	-	-	-	-	99.7	4.65	-	-
	эксагустер	-	-	-	-	-	-	95.0 (83.2 ÷ 98.8)	-	5.0 (1.2 ÷ 16.8)	-
Хоз. постройки	70	-	-	9.0 (4.3 ÷ 16.6)	0.09	9.0 (4.3 ÷ 16.6)	0.09	80.6 (70.8 ÷ 88.1)	0.77	1.5 (0.4 ÷ 5.4)	0.01
Заброшенные постройки	27	-	-	-	-	-	-	50.0 (15.8 ÷ 84.2)	0.04	50.0 (15.8 ÷ 84.2)	0.04

Примечание: % доля москитов каждого вида в биотопе

* – доверительный интервал, $p=0,05$

4.4 Сравнение фауны mosкитов черноморского побережья Крымского полуострова на современном этапе с фауной mosкитов в 1930-1960 гг.

На основе данных литературы и собственных исследований мы сравнили фауну mosкитов черноморского побережья Крымского полуострова в настоящее время и в прошлые годы (1930-1960 гг.) в населенных пунктах, в которых мы проводили исследования.

Сравнение результатов собственных исследований с данными исследований прошлых лет (1930-1960 гг.) показало, что фауна mosкитов обеднела, вместо 7 видов осталось всего 5. Вероятнее всего эти изменения произошли в связи с урбанизацией исследуемой территории, интенсивными противомоскитными мероприятиями, проведенными в 1940-1950 гг., улучшением благоустройства и санитарного состояния исследуемой территории, и возможно климатическими изменениями. Доминирующими видами, встречающимися повсеместно, остались *Ph. perfiiewi* в юго-восточной части побережья и *Ph. neglectus* в южной. Если раньше наибольшее разнообразие видов mosкитов наблюдалось в южной части, то теперь наоборот – в юго-восточной. Из фауны южной части побережья исчез *Ph. papatasi* – переносчик МЛ, который являлся доминирующим видом во всех крупных городах побережья. На юго-восточном побережье этот вид нами был найден только в Новом Свете и в Судакe (бывшем крупном очаге МЛ). Также нами было установлено, что ареал *Ph. similis* переместился с южного побережья на юго-восточное, где ни разу в прошлые годы зарегистрирован не был (Таблица 6).

Таблица 6 – Изменение фауны mosкитов в некоторых населенных пунктах черноморского побережья Крымского полуострова, произошедшие за последние 50 лет

Название Населенных пунктов	Виды mosкитов													
	<i>Ph. papatasi</i>		<i>Ph. neglectus</i>		<i>Ph. perfiliewi</i>		<i>Ph. longiductus</i>		<i>Ph. similis</i>		<i>Ph. alexandri</i>		<i>S. dentata</i>	
	1930- 1960 гг.	2016- 2018 гг.	1930- 1960 гг.	2016- 2018 гг.	1930- 1960 гг.	2016- 2018 гг.	1930- 1960 гг.	2016- 2018 гг.	1930- 1960 гг.	2016- 2018 гг.	1930- 1960 гг.	2016- 201 гг.	1930- 1960 гг.	2016- 2018 гг.
Севастополь	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-
Фиолент	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-
Херсонес	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-
Балаклава	+	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
Парковое	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-
Симеиз	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-
Алупка	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-
Ялта	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-
Гурзуф	-	-	+	+	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-
Алушта	+	-	+	-	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-
Рыбачье	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-
Судак	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-
Щебетовка	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Курортное	-	-	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-
Феодосия	+	-	-	-	+	-	+	+	-	-	+	-	-	-

4.5 Обнаружение в москитах ДНК *Crithidia brevicula*

С целью обнаружения в москитах *L. infantum* нами были проведены молекулярные исследования на наличие ДНК представителей семейства Trypanosomatidae 100 самок двух видов – *Ph. perfiliewi* и *Ph. neglectus*, собранных в южной и юго-восточной части побережья, зафиксированных в жидкости Фора, и 20 самок с кровью сохраненных в спирте (Таблица 7).

Таблица 7 – Результаты молекулярных исследований образцов самок москитов сохраненных в спирте на наличие ДНК представителей семейства Trypanosomatidae

№ образца	Вид москита	Населенный пункт	Место сбора	Результат ПЦР	Результат секвенирования
1	<i>Ph. perfiliewi</i>	Курортное	кухня	+	-
2	<i>Ph. perfiliewi</i>		кухня	+	-
3	<i>Ph. perfiliewi</i>		туалет	-	-
4	<i>Ph. perfiliewi</i>			+	<i>Crithidia brevicula</i>
5	<i>Ph. perfiliewi</i>			+	-
6	<i>Ph. perfiliewi</i>			+	-
7	<i>Ph. perfiliewi</i>			-	-
8	<i>Ph. perfiliewi</i>		кухня	-	-
9	<i>Ph. perfiliewi</i>		туалет	+	<i>Crithidia brevicula</i>
10	<i>Ph. perfiliewi</i>		забор	-	-
11	<i>Ph. perfiliewi</i>		туалет	-	-
12	<i>Ph. perfiliewi</i>			-	-
13	<i>Ph. perfiliewi</i>			-	-
14	<i>Ph. perfiliewi</i>			+	-
15	<i>Ph. perfiliewi</i>			-	-
16	<i>Ph. neglectus</i>		ангар	-	-
17	<i>Ph. perfiliewi</i>	Щебетовка	лес	-	-
18	<i>Ph. papatasi</i>	Судак	птичник	-	-
19	<i>Ph. neglectus</i>	Парковое	забор	-	-
20	<i>Ph. longiductus</i>		птичник	-	-

Положительные результаты амплификации участка гена 18S рРНК получили только из самок, сохраненных в спирте (Рисунок 21).

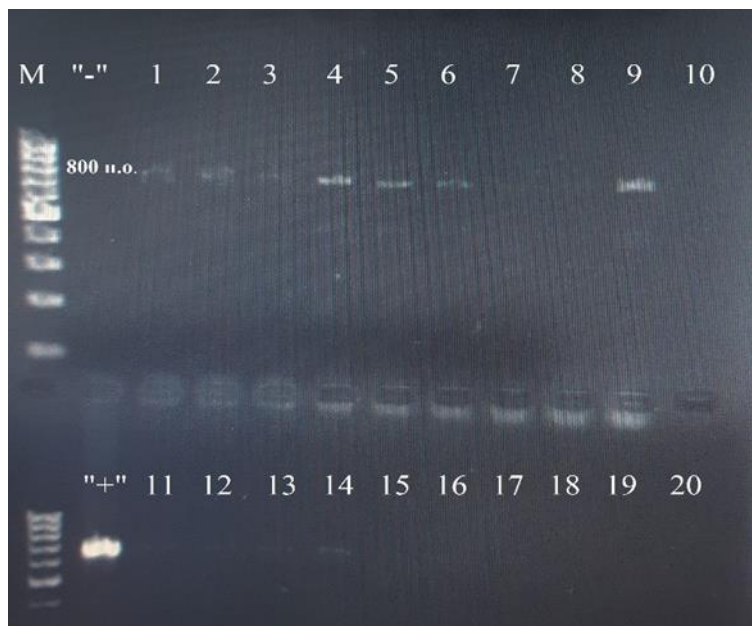


Рисунок 21 – Продукты амплификации участка гена 18S рРНК самок moskitov c кровью. Дорожки 1-15, 17 - *Ph. perfiliewi*; 16,19 - *Ph. neglectus*; 18 - *Ph. papatasi*, 20 - *Ph. longiductus*

На секвенирование отдали 7 ПЦР положительных самок, под номерами 1,2,4,5,6,9,14, в результате которого в двух самках *Ph. perfiliewi*, отловленных на свет (в туалете) на территории студенческой базы в пос. Курортное была обнаружена ДНК *Crithidia brevicula* (Таблица 7).

Ранее представителей этого рода в москитах обнаружено не было, однако экспериментально была доказана восприимчивость москитов к *Crithidia fasciculata* [146]. *Crithidia brevicula* была найдена в некоторых видах клопов (*Nabis brevis*) [72] и комарах рода *Culex* (*Cx. pipiens* and *Cx. modestus*) [157]. Специальных исследований о влиянии *Crithidia* на насекомых не проводилось, но этот род вызывает у ученых интерес с точки зрения сравнительного анализа адаптаций трипаносоматид к своим хозяевам.

ГЛАВА 5. МЕДИЦИНСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ МОСКИТОВ КРЫМСКОГО ПОЛУОСТРОВА

Москиты в Крыму являются надоедливыми кровососами, укулы которых болезненны, место укуса зудит, образуются расчесы и волдыри, через которые в организм может попасть инфекция. У многих людей укусы могут спровоцировать поднятие температуры, потерю аппетита, сна, головные боли, а иногда вызвать аллергические реакции вплоть до отека Квинке. Но главное медицинское значение москитов Крыма состоит в способности передавать возбудителей МЛ и ВЛ.

По результатам наших исследований, фауна москитов черноморского побережья полуострова в настоящее время представлена 5 видами, из которых 4 имеют медицинское значение в других странах и являются потенциальными переносчиками МЛ и ВЛ в Крыму.

Ph. papatasi на протяжении всего своего ареала является переносчиком МЛ. В Центральной Азии, Иране, Северном Афганистане, а также является основным переносчиком зоонозного кожного лейшманиоза, возбудитель *L. major* [3, 123]. *Ph. neglectus* и *Ph. perfiliewi* являются переносчиками ВЛ (*L. infantum*) в Греции, Югославии, Румынии, Италии, Северной Африке [3]. Italianские авторы считают его переносчиком КЛ (*L. tropica*) в некоторых провинциях [134]. Также эти два вида являются переносчиками вируса Тоскана (МЛ) в странах средиземноморского бассейна. *Ph. longiductus* - переносчик ВЛ в странах Центральной Азии и в Китае [3].

Наряду с факторами, определяющими распространение трансмиссивного заболевания, эпидемиологическая роль отдельных видов переносчиков, в свою очередь, зависит от ряда условий. В.Н. Беклемишев (1941) выдвинул пять основных факторов, определяющих маляриогенное значение отдельных видов комаров рода *Anopheles* [9]. А.В. Долматова (1947), изучая экологию отдельных видов москитов и их эпидемиологическое значение предположила, что подобные факторы определяют эпидемиологическую значимость отдельных видов

москитов, как переносчиков возбудителей заболеваний, а также добавила еще один, шестой фактор [19]. Таким образом факторами необходимыми для возникновения эпидемического процесса являются: 1) восприимчивость переносчиков к возбудителю; 2) численность вида; 3) степень контакта с человеком или с другим восприимчивым хозяином; 4) индивидуальная продолжительность жизни самок переносчика; 5) продолжительность сохранения возбудителя в организме переносчика 6) совпадение пика численности переносчика с сезоном возможной передачи возбудителя. Результаты последующих наблюдений и опытов полностью подтвердили это предположение [18]. Эти же факторы использованы нами в определении медицинского значения москитов черноморского побережья Крымского полуострова.

5.1 Восприимчивость переносчиков к возбудителю

Доказательства причастности определенного вида москитов к передаче возбудителей трансмиссивных заболеваний складываются из многих критериев, среди которых наиболее значимым является способность переносчика передавать инфекции при кровососании. Однако, экспериментально доказать прямую передачу возбудителя при укусе москита очень сложно, поэтому в отсутствии таких прямых доказательств исследователи собирают косвенные данные, свидетельствующие о потенциальной способности вида к передаче возбудителей заболеваний. При этом многие авторы основное внимание уделяют поискам естественно зараженных москитов в очагах трансмиссивных заболеваний, лабораторным экспериментам по заражению москитов и дальнейшей передаче возбудителя восприимчивым хозяевам. На основании данных литературы известно, что к возбудителю ВЛ наиболее восприимчивы представители подродов *Adlerius* и *Larroussius* [3, 18, 138]. В наших сборах присутствует три представителя этих подродов: *Ph. perfiliewi* и *Ph. neglectus*, *Ph. longiductus*. Методом ПЦР *L. infantum* была выделена из *Ph. perfiliewi* и *Ph.*

neglectus в странах Средиземноморского бассейна [78, 80 - 82, 102, 131], в Иране [156] и Турции [121]. *Ph. perfiliewi* является доказанным переносчиком МЛ, в частности Тоскана вируса в странах Средиземноморья, где вирус неоднократно был выделен из этого вида [65, 100, 101, 114, 140]. В 2015 г. методом ПЦР вирус Тоскана был выделен из *Ph. neglectus* в Хорватии [84]. Еще раньше, в 1985 г., из *Ph. neglectus* в Греции был выделен вирус Корфу [96]. *Ph. longiductus* – доказанный переносчик ВЛ в странах Центральной Азии и в Китае, помимо того, что в нем была найдена *L. infantum* [109], экспериментально через укус была доказана роль этого вида в передаче возбудителя ВЛ [69]. Помимо этих трех видов нами на исследуемой территории был зарегистрирован и *Ph. papatasi* - переносчик МЛ разных комплексов и вирусов комплекса везикулярного стоматита (Исфаган) [3, 65, 89, 96]. Следовательно, по этому фактору все 4 вида – *Ph. perfiliewi*, *Ph. neglectus*, *Ph. longiductus* и *Ph. papatasi* имеют медицинское значение.

5.2 Численность вида

Одним из основных факторов, определяющих эпидемиологическое значение того или иного вида москита, является его численность, так как шансы на перенос при прочих равных условиях пропорциональны численности переносчика. Как следует из наших исследований, наиболее многочисленными видами москитов в пунктах наблюдений были два вида: *Ph. perfiliewi* и *Ph. neglectus*. Первый вид наиболее распространен на юго-восточной части побережья - индекс доминирования составляет 94.2 %, при максимальном обилии 4.65 на липучку. *Ph. neglectus* преобладает в южной части – 92.3 %, а наибольшее обилие 3.6. Оба вида присутствуют повсеместно на всей территории исследования во всех биотопах, как в закрытых помещениях, так и на открытой местности. Эти обстоятельства послужили основанием в последующем рассматривать названные виды в качестве потенциальных переносчиков ВЛ и

МЛ в условиях черноморского побережья Крымского полуострова, поскольку численность остальных видов очень низкая.

5.3 Степень контакта возможных переносчиков с человеком

Этот фактор, на наш взгляд, также следует считать одним из решающих. Некоторые виды moskitov обитают только в природных биотопах и не залетают в населенные пункты, либо залетают, но редко и в небольших количествах. Следовательно, контакт с человеком у них незначителен. Другие виды хоть и обитают массово в населенных пунктах, однако являются экзофилами и не залетают в помещения, что так же понижает вероятность контакта с человеком, и соответственно – заражения или передачи заболевания. Однако, наряду с экзофильностью или эндофильностью вида, необходимо учитывать и его антропофильность. Большинство видов moskitov пьют кровь различных животных и человека, однако агрессивность по отношению к человеку отдельных видов различна. По нашим наблюдениям антропофильность обнаруживается в поведении *Ph. perfiliewi* и *Ph. neglectus*, что подтверждает тот факт, что в 2018 г. в окрестностях пос. Курортное в течении одного вечера, в жилых и хозяйственных помещениях, студенческого городка на территории Карадакской биостанции, а так же в парке на себе было отловлено 26 экз. *Ph. perfiliewi*. В пос. Парковое, также в 2018 г., в палаточном лагере на территории санатория «Зори России» в течении одного часа на себе было отловлено 34 экз. *Ph. neglectus*. Кроме того, нами было отмечено, что *Ph. perfiliewi* и *Ph. neglectus* активно летят на искусственный свет, что увеличивает возможность их контакта с человеком. Также из-за высокой численности и широкого распространения этих двух видов у них высокая вероятность контакта с предполагаемыми резервуарами ВЛ – собаками, которых очень много в населенных пунктах, а также с лисицами, черной крысой и барсуками, которые распространены не только в природных биотопах на исследуемой территории, но и в поселках [25, 26, 59]. Возможные резервуары МЛ также присутствуют на исследуемой

территории, к ним относятся некоторые виды грызунов и летучих мышей. Как известно, москиты распространены в местах обитания летучих мышей и охотно на них питаются [26, 70].

5.4 Индивидуальная продолжительность жизни самок переносчика

При оценке эпидемиологического значения того или иного вида следует учитывать частоту его кровососаний, поскольку чем чаще зараженные москиты питаются, тем выше вероятность заражения. Повторность кровососания москитов определяется числом гонотрофических циклов. Чтобы стать переносчиком лейшманий, самка должна проделать минимум 2 гонотрофических цикла [19]. Чем больше продолжительность жизни москита, тем чаще он питается кровью и тем больше у него шансов заразиться и передать возбудителя. Чем больше в составе популяции самок на повторных гонотрофических циклах, тем опаснее популяция [18]. Известно, что самки москитов в естественных условиях живут в среднем 2-3 недели, за это время они успевают проделать несколько гонотрофических циклов. Процент самок на повторных гонотрофических циклах у разных москитов колеблется от 20 до 60% [19].

Нами было проведено вскрытие выборки самок голодных москитов видов *Ph. perfilievi* и *Ph. neglectus* (I стадия пищеварения) собранных в южной и восточной части побережья. Наличие повторных гонотрофических циклов мы устанавливали по различиям в структуре яичников описанных А.В. Долматовой [20] – у самок на первом гонотрофическом цикле фолликулы в яичниках лежат плотно один к одному, они прозрачны и одноцветны, у самок на повторных гонотрофических циклах фолликулы лежат неплотно и между ними имеется сеточка, особенно заметная в центре яичника, а яйцеводы растянуты (Рисунок 22).

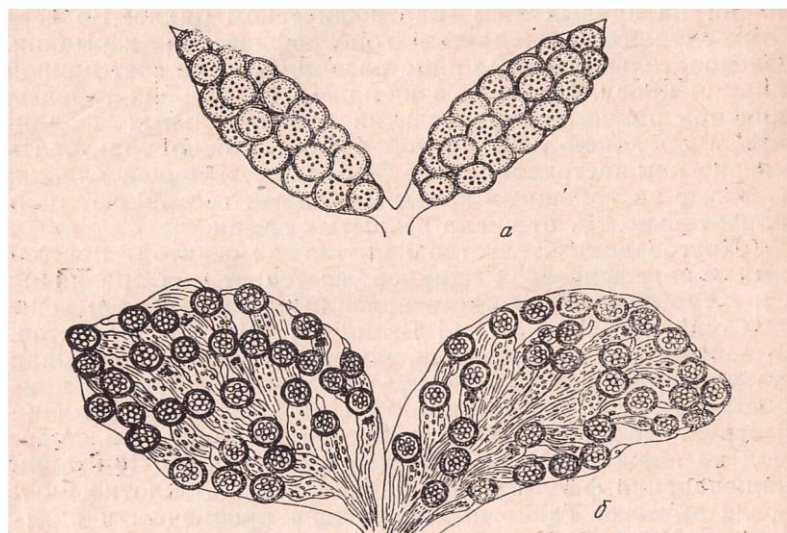


Рисунок 22 – Яичник самки москита: а – юной самки, б – отложившей яйца [20]

В результате вскрытия было установлено, что 37% самок первого вида и 41% второго находились на повторном гонотрофическом цикле (Таблица 8), что также свидетельствует об эпидемиологической значимости этих двух видов.

Таблица 8 – Процентное соотношение самок москитов, находящихся на повторном гонотрофическом цикле

Населенный пункт	Место и способ отлова	Число самок	% самок на повторном цикле
<i>Ph. neglectus</i>			
Парковое	Палаточный лагерь, на себе	29	37.9 (23.5÷54.3) *
	Птичник, липучки	52	42.3 (30.5÷54.9)
Всего		81	40.7 (31.1÷51.0)
<i>Ph. perfilievi</i>			
Парковое	Палаточный лагерь, липучки на свет	30	43.4 (28.3÷59.4)
Курортное	Хоз. помещения на себе	16	31.3 (15.2÷52.4)
	Кухня, липучки на свет	39	35.9 (23.4÷50.2)
	Парк, на себе	8	25.0 (8.5÷52.7)
Всего		93	36.6 (27.8÷46.1)

* – доверительный интервал, $p=0,05$

5.5 Продолжительность сохранения возбудителя в организме переносчика

Данные литературы по поводу продолжительности сохранения возбудителей лейшманиозов в москитах разноречивы, однако W.S. Patton и E. Hindle (1927) отмечают длительное пребывание промастиготной формы *L. donovani* в кишечнике представителей подродов *Larroussius* и *Adlerius* [143]. Другие авторы в своих работах отмечали возможность размножения и сохранения лептомонад лейшманий в кишечнике некоторых видов moskitov до 14 дней [19]. Что касается вирусов МЛ, то доказано, что они обладают способностью передаваться трансовариально, от самки москита яйцам, и половым путем от самца самке, таким образом обеспечивая способность длительной циркуляции внутри переносчика даже без участия человека и резервуаров [1, 90, 163].

5.6 Совпадение пика численности переносчика с сезоном возможной передачи возбудителя

Вследствие нестабильности погодных условий Крыма в летний период нам не удалось проследить сезонный ход численности доминирующих видов moskitov (*Ph. perfiliewi* и *Ph. neglectus*) на черноморском побережье Крыма, однако совпадение наибольшего обилия доминирующих видов с их нападением на человека свидетельствуют об их возможном участии в передаче возбудителя ВЛ.

Таким образом, из пяти видов moskitov (*Ph. papatasi*, *Ph. similis*, *Ph. longiductus*, *Ph. perfiliewi*, *Ph. neglectus*), обнаруженных нами на черноморском побережье Крымского полуострова, медицинское значение как переносчики ВЛ и МЛ, по нашему мнению, имеют *Ph. perfiliewi* и *Ph. neglectus*. Эпидемиологическая роль этих видов обусловливается хорошей восприимчивостью к *L. infantum* и вирусам комплексов МЛ, значительной численностью популяции, повсеместной распространенностью на исследуемой

территории, большой степенью контакта с человеком и потенциальным резервуаром, привлекаемостью на свет, большим процентом самок, находящихся на повторном гонотрофическом цикле. Кроме этого, на основе молекулярных исследований, нами была показана генетическая связь *Ph. perfiliewi* и *Ph. neglectus* с этими видами из других стран, эндемичным по ВЛ и МЛ, где эти виды являются доказанными переносчиками.

Остальные 2 вида малочисленны. Кроме того, Крымский полуостров не вполне отвечает экологическим требованиям для существования *Ph. longiductus*, однако этот вид является основным переносчиком ВЛ в Центральной Азии и восприимчивость его к *L. infantum* доказана, поэтому не исключена возможность его участия в передаче ВЛ на Крымском полуострове.

Известно, что ранее *Ph. papatasi* являлся переносчиком лихорадки паппатачи во многих населенных пунктах Крымского полуострова, вспышек которой не наблюдалось с 1952 года, что связано с истреблением переносчика во время противомоскитной борьбы. Однако, наши исследования показали, что идет восстановление популяции этого вида на юго-востоке побережья, *Ph. papatasi* нами был отловлен в Судаке, не только на окраине города (район Асрет), но и в центре, в частном секторе на улице Танкистов. Так же он был отловлен и в Новом Свете на территории жилой усадьбы. Сборы этого вида пока малочисленны, но поскольку противомоскитных обработок в настоящее время в Крыму не проводится, а в отличие от других редких и малочисленных видов обитающих в Крыму (*Ph. similis*, *Ph. longiductus*) *Ph. papatasi* обладает большей экологической пластичностью, и климатически территория Крымского полуострова благоприятна для его обитания, есть большая вероятность восстановления численности популяции этого вида. Кроме того, на территории Судака обитают домовая мышь *Mus musculus* и черная крыса *Rattus rattus* [26], которые служат резервуаром СМЛ в других странах, что доказывают серологические исследования сыворотки крови этих животных на вирусы [96]. Учитывая выше сказанное, а также тот факт, что вирусы МЛ способны

передаваться трансвариально и долго циркулировать в природе без участия человека, существует вполне реальная угроза возобновления этого заболевания в бывшем очаге лихорадки паппатачи.

Вышеперечисленные факторы, а также присутствие резервуаров создают реальную угрозу возникновения новых случаев ВЛ, возобновления лихорадки паппатачи и возникновение новых, ранее не известных для этой территории случаев заболевания, таких как вирус Тоскана.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании данных литературы, проведения анализа данных официальной статистики, случаев с подозрением на ВЛ у больных обратившихся в клинический центр Первого МГМУ им. И.М. Сеченова, результатов паразитологических исследований материалов, присланных в Референс-центр по мониторингу за малярией, лейшманиозами и дирофиляриозами НИИ МП и ТМ им. Е.И. Марциновского и эпидемиологических карт больных нами было установлено, что из заболеваний, передаваемых москитами на территории черноморского побережья Крымского полуострова, за последние 70 лет были зарегистрированы спорадические случаи ВЛ. В виду отсутствия осведомленности медицинских работников об эпидемиологии и клинических особенностях ВЛ, а также запоздалой диагностики, зарегистрированы случаи с летальным исходом. Следовательно, система эпидемиологического надзора за ВЛ на данной территории требует совершенствования, включающего проведение профилактических мероприятий:

- эпидемиологический и энтомологический мониторинг ситуации;
- обследование потенциальных очагов и выявление источников инфекции;
- определение сезона передачи ВЛ и МЛ москитами и информацию медицинских учреждений;
- повышение клинической и эпидемиологической настороженности к этим заболеваниям, использование протоколов ведения больных лейшманиозами в стационарах;
- в природных очагах ВЛ необходимо ограничение численности диких животных с учетом экологических показаний.

На основании результатов собственных исследований было установлено, что на территории черноморского побережья Крымского полуострова в настоящее время обитает 5 видов москитов: *Ph. perfliewi*, *Ph. neglectus*, *Ph. longiductus*, *Ph. paratasi*, *Ph. similis*, из которых первые 4 имеют медицинское значение в других

странах. Применение молекулярно-генетических методов при идентификации moskitov подтвердило правильность определения их по морфометрическим признакам. Результаты BLAST анализа секвенированных фрагментов показали генетическое сходство Крымских видов с видами из Греции, Испании, Турции, Хорватии, Сербии и Кипра – стран эндемичных по ВЛ и МЛ. Присутствие в фауне moskitov Крыма типичных видов для стран Средиземноморья и Центральной Азии можно объяснить тем фактом, что в древнее четвертичное время Крымский полуостров входил в состав суши, соединявшей его с Малой Азией, Балканским полуостровом и, возможно, с северо-западной частью Южного Кавказа.

Среди выявленных видов на исследуемой территории имеются переносчики МЛ: *Ph. papatasi* (лихорадка паппатачи, СМЛ), *Ph. perfiliewi* и *Ph. neglectus* (Тоскана вирус, вирус Корфу) последние два вида и *Ph. longiductus* являются также переносчиками ВЛ в эндемичных по этим заболеваниям странах.

При сравнении видового состава moskitov, зарегистрированного в прошлые годы, с современной энтомологической обстановкой видно, что произошли значительные изменения в структуре фауны, распределении moskitov и их численности, что вероятнее всего связано с урбанизацией, проведенными в прошлые годы противомоскитными мероприятиями, улучшением благоустройства и санитарного состояния исследуемой территории, и климатическими изменениями. Наши исследования показали, что в настоящее время энтомологическая ситуация изменилась, из 19 обследованных пунктов, moskity обнаружены только в 12. Также было установлено, что от Севастополя до Гурзуфа moskity встречаются во всех обследованных пунктах, но далее к востоку они не обнаружены. Затем появляются в районе Нового Света. Фауна moskitov обеднела с 7 до 5 видов – исчез единственный представитель рода *Sergentomyia* – *S. dentata*. *Ph. similis*, ранее обитавший исключительно в южной части исследуемой территории, обнаружен только в юго-восточной (пос. Курортное). *Ph. papatasi* – в прошлом доминант крупных городов вдоль всего

черноморского побережья полуострова, был отмечен только в юго-восточной части – в Судаке и Новом свете. Однако, 2 вида *Ph. perfiliewi* и *Ph. neglectus*, как в прошлом, так и в настоящее время распространены повсеместно, первый вид доминирует в юго-восточной части побережья, второй в южной. Также было установлено, что эти виды присутствуют во всех биотопах - встречаются как в помещениях (хозяйственные постройки, подвалы, заброшенные здания), так и на открытых территориях (парках, садах, в лесу, среди древних развалин).

Наибольшей численности *Ph. perfiliewi* достигает в пос. Курортное, в котором зарегистрирована наиболее разнообразная фауна moskitov (4 вида), а *Ph. neglectus* в районе пос. Парковое. Максимальное обилие (4.8 на липучку) *Ph. perfiliewi* наблюдалось в хозяйственных постройках, отловленных на свет, а *Ph. neglectus* (3.79) в птичнике.

Фауна юго-восточной части наиболее разнообразна, здесь встречается все 5 видов, а в южной части – только 3. В ходе исследований было отмечено, что большей численности москиты достигают в мелких населенных пунктах, особенно находящихся на территории заповедных зон, а в крупных городах сборы единичные, москиты отлавливались в основном в местах необжитых или заброшенных, либо в частных секторах, где излюбленным местом обитания являются курятники.

Наиболее благоприятные биотопы москитов – заброшенные здания, хозяйственные постройки, фильтрационные поля, места содержания животных и птиц, щели в заборах.

Было установлено, что все 5 видов москитов встречаются только в закрытых биотопах, где формируются свои микроклиматы, отвечающие экологическим требованиям каждого вида, а повсеместно встречаются только доминанты (*Ph. perfiliewi* и *Ph. neglectus*), которым климатические условия исследуемой территории более благоприятны, чем менее теплолюбивому *Ph. similis* и более холодолюбивому и высокогорному *Ph. longiductus*.

В ходе исследований было установлено, что на территории черноморского побережья Крымского полуострова наблюдается вылет одной генерации за сезон, с пиком численности не одинаковым каждый год, а в зависимости от температурного режима. Вылет первых moskitov наступает при ночных температурах не ниже 16 °С, а массовый лет происходит при установлении температуры в пределах 23-27 °С и влажности не ниже 57 %. Активно москиты летят с 23 вечера до 3 утра, при вечерней температуре 25-26 °С, влажности 60-78 % в ясную безветренную погоду.

В результате молекулярных исследований выборки самок москитов *Ph. perfiliewi* и *Ph. neglectus* на наличие представителей семейства трипаносоматид с целью выявления *L. infantum*, в двух самках *Ph. perfiliewi* была обнаружена ДНК *Crithidia brevicula*, которая ранее была найдена только в некоторых видах клопов и комаров. Медицинское значение *Crithidia brevicula* не изучено, однако этот паразит вызывает интерес у ученых с точки зрения сравнительного анализа адаптации трипаносоматид к своим хозяевам.

Основываясь на факторы, определяющие медицинское значение членистоногих – переносчиков трансмиссивных заболеваний, разработанные Беклемишевым В.Н. и добавленные Долматовой А.В., мы пришли к выводу, что наибольшую эпидемиологическую опасность на исследуемой территории представляют 2 вида: *Ph. perfiliewi* и *Ph. neglectus*, как переносчиков ВЛ и МЛ, поскольку эти виды наиболее многочисленны и распространены по всей исследуемой территории, являются антропофилами, имеют высокую вероятность контакта с человеком, активно привлекаются на свет, большой процент самок этих видов находится на повторном гонотрофическом цикле, восприимчивость этих видов к возбудителям ВЛ (*L. infantum*) и вирусам МЛ доказана в других эндемичных по этим заболеваниям странах. Обилие и встречаемость *Ph. longiductus* на обследованной территории в настоящее время незначительны. Однако, учитывая его причастность к передаче возбудителя ВЛ в

Центральной Азии и Китае не следует полностью исключать его возможную роль в передаче ВЛ на территории Крымского полуострова.

Не смотря на единичные сборы *Ph. papatasi* в Судаке и Новом Свете, которые в прошлом являлись очагами лихорадки паппатачи, не исключена возможность возобновления этого заболевания.

Одним из обязательных условий существования паразитарной системы ВЛ, является совпадение ландшафтной приуроченности паразита, резервуара и переносчика, что и определяет закономерности их распространения. Паразитарная система ВЛ состоит из возбудителя (*L. infantum*), резервуара и переносчика. Ландшафтно-климатические условия черноморского побережья Крымского полуострова, как нами было установлено, благоприятны для существования паразитарной системы ВЛ. Наиболее вероятным резервуаром и источником заражения людей в природных условиях Крыма может быть лисица, которая является доказанным резервуаром возбудителя ВЛ во многих регионах ареала этого заболевания. Лисица широко распространена на территории полуострова и часто встречается в большом количестве в непосредственной близости от населенных пунктов. Не исключено и возможное участие в поддержании эпизоотии ВЛ барсуков, которые также распространены на исследуемой территории. Вполне возможно вовлечение в эпизоотический процесс и собак, которые могут выступать в роли вида-усилителя как резервуар возбудителя в населенных пунктах.

Таким образом, полученные нами результаты эпидемиологических и энтомологических исследований позволяют вполне обоснованно утверждать, что на черноморском побережье Крымского полуострова существует реальная вероятность возникновения новых случаев ВЛ и возобновление передачи лихорадки паппатачи. Не исключена возможность появления случаев МЛ (Тоскана вирус) при наличии завоза из эндемичных стран (Греция, Испания, Италия...). Результаты проведенных исследований указывают на целесообразность дальнейшего изучения медицинского значения отдельных

видов moskitov na vsej territorii Krymskogo poluostrova. S целью ustanovleniya rezervuara возбуdiviteľa VL na danoj territorii ves'ma aktual'nym yavlyetsya takzhe provedeniye issledovaniy po vyayvleniyu возбуdiviteľa VL sredi domashnix (i brodyachix) sobak i dikiykh zhivotnykh (v pervuyu ochered' lisiy), obitayushchix v neposredstvennoy blizosti ot naselennykh punktov, s privlecheniem k etim issledovaniyam spetsialistov veterinarnoy i prirodooxrannoy sluzhb. Ukazannyye issledovaniya mogut vnesti bol'shoy vklad v izucheniye kraevoy patologii Krymskogo poluostrova, a takzhe budut sposobstvovaty razrabotke sistemy epidemiologicheskogo nadzora za zabolevaniyami peredavayemymi moskitami.

ВЫВОДЫ

1. На территории черноморского побережья Крымского полуострова с 1932 по 2018 гг. зарегистрированы спорадические случаи висцерального лейшманиоза, 4 из них в сочетании с ВИЧ-инфекцией. В результате запоздалой и неправильной диагностики отмечены случаи со смертельным исходом.

2. На современном этапе видовой состав moskitov обследованной территории включает 5 видов: *Ph. (Ph.) papatasi*, *Ph. (Par.) similis*, *Ph. (Adl.) longiductus*, *Ph. (Lar.) perfiliewi*, *Ph. (Lar.) neglectus*, с доминированием *Ph. perfiliewi* в юго-восточной части побережья, а *Ph. neglectus* – в южной. Достоверность определения 4-х видов – *Ph. papatasi*, *Ph. longiductus*, *Ph. perfiliewi*, *Ph. neglectus* с помощью морфологических методов подтверждена молекулярным методом (ПЦР). Установлено их генетическое сходство с видами – переносчиками висцерального лейшманиоза и moskitnykh lixoraдок в эндемичных по этим заболеваниям странах.

3. При исследовании moskitov на наличие представителей сем. Trypanosomatidae впервые обнаружена ДНК *Crithidia brevicula*.

4. На основании анализа факторов, определяющих эпидемиологическое значение moskitov и изучения особенностей их экологии и биологии установлено, что наибольшее медицинское значение как на обследованной территории имеют два вида: *Ph. perfiliewi* и *Ph. neglectus*. Эти виды являются доказанными переносчиками возбудителя висцерального лейшманиоза и вирусов moskitnykh lixoraдок в эндемичных странах.

5. На территории черноморского побережья Крымского полуострова возможно появление новых случаев заболеваний висцерального лейшманиоза, не исключена возможность возникновения вируса Тоскана и других комплексов moskitnykh lixoraдок, а также возобновления лихорадки паппатачи в юго-восточной части побережья.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Учреждениям санитарно-эпидемиологической службы рекомендуется проводить энтомологические наблюдения за москитами в сезон их активности (с мая по сентябрь) в населенных пунктах: Севастополь, Херсонес, Балаклава, Парковое, Алушка, Ялта, Гурзуф, Новый Свет, Судак, Щебетовка, Курортное, Феодосия.

2. Органам санитарно-эпидемиологической службы рекомендуется ежегодно проводить обработку по энтомологическим показаниям хозяйственных помещений, мест содержания животных и других возможных мест выплода москитов.

3. Медицинским работникам необходимо использовать специфические методы диагностики МЛ и ВЛ у больных, обратившихся с лихорадкой неясного генеза, в виду частого отсутствия патогноматичных симптомов этих заболеваний.

4. Местным органам здравоохранения рекомендуется проведение серозэпидемиологических обследований населения для выявления специфических антител к возбудителям ВЛ и МЛ в потенциальных очагах.

5. Работникам ветеринарных служб следует проводить регулярное обследование собак подозрительных на носительство ВЛ с целью выявления их зараженности лейшманиями и их лечение.

6. Специалистам Высших учебных заведений необходимо обеспечить обучение и практическую подготовку медицинских работников соответствующего профиля по разделам: клиника, диагностика, лечение и профилактика ВЛ и МЛ.

7. Специалистам Роспотребнадзора следует проводить санитарно-просветительскую работу среди местного населения и приезжих отдыхающих с использованием средств массовой информации (радио, телевидение, печать, интернет).

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АРТ - антиретровирусная терапия

ВВС – вирус везикулярного стоматита

ВЛ – висцеральный лейшманиоз

ВМО – всемирная метеорологическая организация

ЗКЛ – зоонозный кожный лейшманиоз

ИФА – иммуноферментный анализ

МГЭИК – межправительственная группа экспертов по изменению климата

МЛ – москитная лихорадка

НМЛ – неаполитанская МЛ

ОТ-ПЦР - полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией

п.н. – пара нуклеотидов

СМЛ – сицилийская МЛ

СМЖ – спинномозговая жидкость

СОЭ – скорость оседания эритроцитов

ОТ-ПЦР – ПЦР с обратной транскрипцией

т.п.н. – тысяча пар нуклеотидов

ЮБК – южный берег Крыма

COI – участок гена субъединицы 1 цитохромоксидазы с

ICTV – Международный комитет по таксономии вирусов (англ. International Committee on Taxonomy of Viruses)

ITS2 – внутренний транскрибируемый спейсер 2

ЦНС – центральная нервная система

IgG–иммуноглобулин класса G

IgM– иммуноглобулин класса M

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ананян С.А. Москитная лихорадка (болезнь паппатачи). Этиология, эпидемиология, клиника и профилактика: автореф. дис. ...д-ра. мед. наук / С.А. Ананян. – М., 1954. – 16 с.
2. Артемьев М.М. Классификация москитов (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae): автореф. дис. ...д-ра биол. наук: 03.00.09 / М.М. Артемьев. – М., 1990. – 300 с.
3. Артемьев М.М. Распространение и экология москитов Старого Света (род *Phlebotomus*) / М.М. Артемьев, В.М. Неронов – М., 1984. – 207 с.
4. Багрова Л.А. География Крыма / Л.А. Багрова, В.А. Боков, Н.В. Багров – Киев: Лыбедь, 2001. – 302 с.
5. Баранец М.С. Распространение и эпидемиологическое значение москитов (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) Кавказа / М.С. Баранец, Н.Н. Дарченкова, Е.Н. Понировский, Е.Н. Жиренкина // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. – 2011. – № 2. – С. 10-15.
6. Баранец М.С. Клинико-эпидемиологические особенности висцерального лейшманиоза в Республике Крым / М.С. Баранец, Т.Н. Ермак, Е.Н. Понировский // Терапевтический архив. – 2017. – Т. 89. – № 11. – С. 100-104.
7. Баранец М.С. Видовой состав и распространение москитов (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) Центральной Азии / М.С. Баранец, Е.Н. Понировский Д.С. Кадамов // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. – 2015. – № 4. – С. 10-18.
8. Баранец М.С. Москиты (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) Крыма: видовой состав, распространение, особенности экологии / М.С. Баранец, Е.Н. Понировский, Л.Ф. Морозова Н.А. Турбабина, Н.К. Федутник, А.Ю. Багреев // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. – 2016. – № 4. – С. 44-47.

9. Беклемишев В.Н. О факторах, определяющих маляриогенную роль отдельных видов анофелес / В.Н. Беклемишев // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. – 1941. – № 1. – С. 5-8.
10. Беклемишев В.Н. Закономерности географического распространения некоторых видов флеботомусов СССР. Сообщение 1 / В.Н. Беклемишев, А.В. Долматова // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. – 1948. – № 4. – С. 353-362.
11. Беклемишев В.Н. Закономерности географического распространения некоторых видов флеботомусов СССР. Сообщение 2 / В.Н. Беклемишев, А.В. Долматова // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. – 1949. – № 4. – С. 347-352.
12. Берг Л.С. Географические зоны Советского Союза. Том II / Л.С. Берг. – М.: Издательство географической литературы, 1952. – 510 с.
13. Бутенко А.М. Москитные лихорадки. Классификация вирусов, эпидемиология, профилактика / А.М. Бутенко И.С. Клименко // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. – 2010. – № 3. – С. 54-57.
14. Воинов И.И. Лихорадка паппатачи на Северном Кавказе / И.И. Воинов, Ф.Ф. Семикоз, Н.Д. Чеботаревич // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. – 1936. – Т. V, № 6. – С. 852-862.
15. Гайдамович С.Я. Арбовирусы в СССР и их значение в патологии человека / С.Я. Гайдамович // Арбовирусы. Сборник трудов. – 1978. – Вып. 3. – С. 5-12.
16. Долматова А.В. Наблюдения по биологии москитов в Феодосии / А.В. Долматова // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. – 1949. – № 6. – С. 507 – 512.
17. Долматова А.В. Различия в экологических требованиях некоторых видов москитов (*Phlebotomus*): Убежища, круговорот в убежищах / А.В. Долматова // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. – 1954. – № 1. – С. 33-42.

18. Долматова А.В. Москиты (Phlebotominae) СССР, их биология, медицинское значение и меры борьбы: дис. ...д-ра биол. наук: 03.00.09 / А.В. Долматова. М., 1959. – Т. I. – С. 548.
19. Долматова А.В. Об основных факторах, определяющих эпидемиологическое значение отдельных видов москитов (Phlebotominae) в очагах лейшманиозов / А.В. Долматова // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. – 1965. – №6. – С. 297 – 300.
20. Долматова А.В. Москиты (Phlebotominae) и болезни, передаваемые ими / А.В. Долматова, Н.А. Демина. – М.: «Медицина», 1965. – 210 с.
21. Долматова А.В. К биологии москитов *Plebotomus Perfilievi* Parr., 1930 / А.В. Долматова, А.Н. Индолева, А.Л. Лейбман // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. – 1955. – № 4. – С. 339-340.
22. Долматова А.В. Москиты (Phlebotomus) южного берега Крыма и борьба с ним / А.В. Долматова, Б.С. Кувчинский, А.Л. Лейбман // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. – 1953. – № 5. – С. 455-460.
23. Долматова А.В. Москиты и лихорадка паппатачи в Феодосии / А.В. Долматова, В.П. Окулов // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. – 1951. – № 2. – С. 160-170.
24. Долматова А.В. О москитах (Phlebotomus), встречающихся в лесах СССР / А.В. Долматова, П.П. Перфильев, Г.О. Лильп // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. – 1956. – № 1. – С. 38-40.
25. Дулицкий А.И. Биоразнообразие Крыма: Млекопитающие: История, состояние, охрана, перспективы / А.И. Дулицкий. – Симферополь: Сонат, 2001. – 208 с.
26. Евстафьев И. Мелкие млекопитающие в населенных пунктах Крыма: эколого-фаунистические аспекты / И. Евстафьев // Фауна в антропогенном средовищі. Серія: Праці Теріологічної Школи. – 2006. – вип. 8. – С. 111 – 118.

27. Ермак Т.Н. Лейшманиоз и ВИЧ-инфекция / Т.Н. Ермак // Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. – 2015. – Т. 48, № 1. – С. 48-52.
28. Ермак Т.Н. Первый случай висцерального лейшманиоза у больного с ВИЧ-инфекцией в России / Т.Н. Ермак, А.В. Кравченко, Б.М. Груздев, П.Г. Филиппов // Терапевтический архив. – 1997. – № 11. – С. 48–50.
29. Ермак Т.Н. Висцеральный лейшманиоз – новая угроза при ВИЧ-инфекции / Т.Н. Ермак, Н.В. Рубцова // Инфекционные болезни: Материалы 9-го Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням с международным участием. – 2017. – № 15, прил. 1. – С. 94.
30. Изменение климата. Обобщающий доклад Межправительственной группы экспертов по изменению климата [Электронный ресурс]. МГЭИК, Женева. – 2008. – С. 104. – Режим доступа:
[http:// www.ipcc.ch/ home_languages_main_russian.htm](http://www.ipcc.ch/home_languages_main_russian.htm)
31. Кабанова В.И. Клинический случай висцерального лейшманиоза у пациента с ВИЧ-инфекцией / В.И. Кабанова, Е.М. Базюк, Е.В. Степанова, В.А. Цинзерлинг, О.Ю. Зырянова // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. – 2015. – Т7, № 382. – С. 80-86.
32. Каюкова Е.П. Мезоклимат полигона Крымской геологической практики и современные тенденции его изменения / Е.П. Каюкова // Вестник СПбГУ. – 2010. – Сер. 7, Вып. 4. – С. 32-46.
33. Келлина О.И. Об ареале висцерального лейшманиоза в СССР (анализ случаев, выявленных вне известных эндемичных районов) / О.И. Келлина // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. – 1977. – № 6. – С. 658-661.
34. Келлина О.И. Новое подтверждение эндемичности висцерального лейшманиоза в восточном Крыму / О.И. Келлина, Р.К. Жакаускас, О.М. Пассова // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. – 1987. – № 4. – С. 22-25.

35. Клименко И.С. Молекулярно-генетическая и биологическая характеристика вирусов москитных лихорадок и создание тест-систем для диагностики этих инфекций: дис. ... канд. мед. наук: 03.00.06; 03.00.03 / И.С. Клименко. – М., 2009. – 107 с.
36. Клименко И.С. Москитные лихорадки. Клиника, патогенез, лечение, специфическая диагностика / И.С. Клименко, А.М. Бутенко // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. – 2011. – № 1. – С. 59-62.
37. Клоков Н.А. Видовой состав москитов и ликвидация очагов москитной лихорадки в Алуштинском районе Крыма / Н.А. Клоков // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. – 1952. – № 1. – С. 61-64.
38. Кокорин А.О. Обзор доклада Николаса Стерна «Экономика изменения климата» / А.О. Кокорин, С.Н. Кураев // WWF, GOF. – М.: WWF России, – 2007. – 50 с.
39. Латышев Н.И. технические указания по сбору москитов / Н.И. Латышев // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. Паразитологические заметки. – 1936. – Т. V. № 6. – С. 950-955.
40. Львов Д.К. Арбовирусы и арбовирусные инфекции / Д.В. Львов, С.М. Клименко, С.Я. Гайдамович. – М.: Медицина, 1989. – 335 с.
41. Малхазова С.М. Региональная география лейшманиозов. Ч. I / С.М. Малхазова, В.М. Неронов // Медицинская география: итоги науки и техники ВИНТИ АН СССР. – 1983. – Т.12. – С. 160.
42. Минаев А.Г. О лихорадке паппатачи / А.Г. Минаев // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. – 1936. – Т. 5, № 6. – С. 584-601.
43. Митропольский А.Н. К вопросу о длительности инкубационного периода при висцеральном лейшманиозе / А.Н. Митропольский, Щ.К. Ерыскаллова, М.Ф. Андреева // Клиническая медицина. – 1963. – № 2. – С. 126-128.
44. Методические рекомендации по учету численности и определению видового состава москитов / М.М. Артемьев, Т.И. Дергачева. – М.: Министерство здравоохранения СССР: главное управление карантинных инфекций,

- Институт медицинской паразитологии и тропической медицины им. Е.И. Марциновского, 1988. – 26 с.
45. Окулов В.П. Возможно ли заселение москитами *Phlebotomus papatasi* *copoli* вновь застраиваемых районов города – территории бывшего очага лихорадки паппатачи / В.П. Окулов // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. – 1980. – № 2. – С. 79-81.
 46. Осинковский Н.И. Пункция периферической железы, как способ диагностики лейшманиоза внутренних органов у детей / Н.И. Осинковский // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. – 1932. – № 1. – С. 3-4.
 47. Павловский Е.Н. Лихорадка паппатачи и ее переносчики / Е.Н. Павловский. – Л.: Медгиз, 1947. – 88 с.
 48. Пакшин М.Ф. Материалы по изучению природного очага москитной лихорадки в Севастополе за 1945-1988 гг./ М.Ф. Пакшин, А.М. Никитин, С.Н. Демина / Медицинская паразитология и паразитарные болезни. – 1990. – № 6. – С. 38-39.
 49. Паллас П.С. Краткое физическое и топографическое описание Таврической области [Перевод с французского] / П.С. Паллас. – СПб., 1795. – 39 с.
 50. Паразитарные болезни человека (протозоозы и гельминтозы): руководство для врачей / В.П. Сергиев, Ю.В. Лобзин, С.С. Козлов. – СПб.: Фолиант, 2011. – 586 с.
 51. Парубец О.В. Анализ климатических рядов Крымского полуострова / О.В. Парубец // Экосистемы, их оптимизация и охрана. – 2009. – Вып. 20. – С. 154-164.
 52. Парубец О.В. Природно-антропогенные факторы трансформации физико-географических процессов в Крыму в XX – нач. XXI вв.: автореф. дис. ...канд. географ. наук: 25.00.23 / О.В. Парубец. – Симферополь, 2014. – 19 с.
 53. Перфильев П.П. Двукрылые. Москиты (семейство Phlebotomidae): Фауна СССР / П.П. Перфильев. – М., Л.: Наука, 1966. – Т.3, № 2. – 383 с.

54. Петрищева П.А. Полевые методы изучения moskitov и противомоскитные мероприятия / П.А. Петрищева. – М.: Медгиз, 1954. – 177 с.
55. Петрищева П.А. Распространение и экология moskitov в Крыму / П.А. Петрищева // Труды Крымского филиала Академии наук УССР. – 1955. – Т. IX. – С. 81-109.
56. Петрищева П.А. О местах выплода *Phlebotomus* в Севастополе / П.А. Петрищева, Н.Г. Изюмская // Сборник работ, посвященный 30-летию деятельности академика Е.Н. Павловского. – 1941. – С. 243-254.
57. Петров В.П. Висцеральный лейшманиоз (кала-азар) в Ташкенте / В.П. Петров // Советская педиатрия. – 1935. – № 12. – С. 82-85.
58. Плотникова Ю.К. Клинический случай лейшманиоза у пациента с ВИЧ-инфекцией в г. Иркутске. / Ю.К. Плотникова, Т.Н. Ермак, Н.В. Рубцова, К.Н. Коваленкова и соавт. // Инфекционные болезни: материалы 9-го Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням с международным участием. – 2017. – № 15, приложение 1. – С. 94.
59. Подгородецкий П.Д. Крым: природа / П.Д. Подгородецкий. – Симферополь: Таврия, 1988. – 192 с.
60. Позаченюк Е.А. Современные ландшафты Крыма и сопредельных акваторий: монография / Е.А. Позаченюк. – Симферополь: Бизнес-Информ, 2009. – 672 с.
61. Понировский Е.Н. Видовой состав и эпидемиологическое значение moskitov (*Diptera*, *Psychodidae*, *Phlebotominae*) в очагах висцерального лейшманиоза в Папском районе Наманганской области Узбекистана / Е.Н. Понировский, Е.Н. Жиренкина, М.В. Стрелкова, М.С. Баранец и соавт. / Медицинская паразитология и паразитарные болезни. – 2012. – № 3. – С. 34-38.
62. Понировский Е.Н. Эпидемиологическая ситуация по лейшманиозам в Российской Федерации: первые достоверные случаи местной передачи / Е.Н. Понировский, М.В. Стрелкова, В.Д. Завойкин, Н.И. Тумольская, М.В.

- Мазманиян, М.С. Баранец, Е.Н. Жиренкина // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. – 2015. – № 3. – С. 3-7.
63. Пузанов И.И. Крым: путеводитель. Часть 1: очерки Крыма. / И.И. Пузанов. – Симферополь: Крымгосиздат, 1929. – 614 с.
64. Руководство по ведению случаев и эпиднадзору за лейшманиозами в Европейском регионе ВОЗ. – Женева: ВОЗ, 2017. – 74 с.
65. Руководство по вирусологии «Вирусы и вирусные инфекции человека и животных» / под ред. Академика РАН Д.К. Львова – М.: ООО «Издательство Медицинское информационное агентство», 2013. – 1197 с.
66. Рымаренко Н.В. Клинический случай висцерального лейшманиоза у ребенка раннего возраста в Крыму / Н.В. Рымаренко, С.В. Усова, Е.А. Крюгер, С.П. Романенко, С.Т. Чветко // Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины. – 2014. – Т. 4, № 16. – С. 42-45.
67. Сергиев В.П. Атлас клинической паразитологии и тропической медицины / В.П. Сергиев. – М.: Авторская академия Товарищество научных изданий КМК, 2010. – 283 с.
68. Сергиев П.Г. К вопросу о лихорадке паппатачи на Северном Кавказе / П.Г. Сергиев // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. – 1936. – Т.V, № 6. – С. 863-868.
69. Стрелкова М.В. Передача возбудителя висцерального лейшманиоза – *L. donovani* – золотистым хомякам москитами *Ph. longiductus*, Partt., и 1928 *Ph. smirnovi* Perf., 1941 в эксперименте / М.В. Стрелкова, Т.И. Дергачева, А.Н. Алексеев, О.М. Пассова // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. – 1982. – № 3. – С. 49-54.
70. Товпинец Н.Н. Распространение и особенности экологии обыкновенного хомяка в Крыму / Н.Н. Товпинец, А.Ф. Алексеев // Синантропия грызунов и ограничение их численности. — 1992. — С. 393-407.
71. Фатуллаева А.А. Дополнительные данные о видовом составе москитов (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) в очагах висцерального лейшманиоза

- Узбекистана / А.А. Фатулаева, Д.А. Коваленко, М.С. Баранец, Е.Н. Понировский // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. – 2014. – № 4. – С. 48-50.
72. Фролов А.О. *Crithidia allae* sp. и *Crithidia brevicula* sp. (Protozoa, Trypanosomatidae) из клопа *Nabis brevis*. / А.О. Фролова, М.Н. Малышева // Зоологический журнал. – 1989. – Т.68, № 7. – С 5-10.
73. Чемич М.Д. Та Вісцеральний лейшманіоз як СНІД-індикаторне захворювання: труднощі в діагностиці та лікуванні / М.Д. Чемич, І.О. Троцька, Л.П. Кулеш // Інфекційні хвороби. – 2010. – №3. – С. 81–84.
74. Чемич Н.Д. Лейшманиоз: современные аспекты / Н.Д. Чемич, Н.И. Ильина, В.В. Захлебаева, С.Е. Шолохова // Клиническая инфектология и паразитология. – 2013. – Т. 2, № 5. – С. 105-113.
75. Aagaard-Hansen J. Population movement: a key factor in the epidemiology of neglected tropical diseases / J. Aagaard-Hansen, N. Nombela, J. Alvar // Tropical Medicine and International Health. – 2010. – Vol. 15. – P. 128-1288.
76. Absavaran A. Identification of Sand flies of the Subgenus *Larroussius* based on Molecular and Morphological Characters in North Western Iran / A. Absavaran, Y. Rassi, P. Parvizi, et al. // Iranian Journal of Arthropod Borne-Diseases. – 2009. – Vol. 3, № 2. – P. 22-35.
77. Alcaide M. Disentangling Vector-Borne Transmission Networks: a Universal DNA Barcoding Method to Identify Vertebrate Hosts from Arthropod Bloodmeals / M. Alcaide, C. Rico, S. Ruiz, et al. // Plos one. – 2010. – Vol. 5, № 10. – P. 22-35.
78. Alten B. Seasonal dynamics of phlebotomine sand fly species proven vectors of Mediterranean leishmaniasis caused by *Leishmania infantum* [Электронный ресурс] / B. Alten, C. Maia, M.O. Afonso, et al. // Plos neglected tropical diseases. – 2016. – Vol. 10, № 2. – Режим доступа: <http://doi:10.1371/journal.pntd.0004458>.

79. Andreani G. Mechanisms of interaction between protozoan parasites and HIV / G. Andreani, R. Lodge, D. Richard, M.J. Tremblay // Current opinion in HIV and AIDS. – 2012. – Vol. 7, № 3. – P. 276-282.
80. Antoniou M. The role of indigenous phlebotomine sand flies and mammals in the spreading of leishmaniasis agents in the Mediterranean region / M. Antoniou, M. Gramiccia, R. Molina, V. Dvorak, P. Volf // Euro Surveill. – 2013. – Vol. 18, № 30. – P. 1-8.
81. Aransay A.M. Typing of sandflies from Greece and Cyprus by DNA polymorphism of 18S rRNA gene / A.M. Aransay, E. Scoulica, B. Chaniotis, Y. Tselentis // Insect Molecular Biology. – 1999. – Vol. 10, № 8. – P.179–184.
82. Aransay A.M. Detection and identification of Leishmania DNA within naturally infected sandflies by seminested PCR on minicircle kinetoplastic DNA / A.M. Aransay, E. Scoulica, Y. Tselentis // Applied and Environmental Microbiology. – 2000. – Vol. 66, № 5. – P.1933–1938.
83. Artemiev M.M. A revision of sandflies of the subgenus *Adlerius* (Diptera, Phlebotominae, Phlebotomus) / M.M. Artemiev // Zoologicheskyy Zhurnal. – 1980. – Vol. 59. – P. 1177–1192.
84. Ayhan N. Cocirculation of Two Lineages of Toscana Virus in Croatia / N. Ayhan, B. Alten, V. Iovic, et. al. // Frontiers in Public Health. – 2017. – Vol. 12. – P. 336.
85. Beati L. Systematic relationships among *Lutzomyia* sand flies (Diptera: Psychodidae) of Peru and Colombia based on the analysis of 12S and 28S ribosomal DNA sequences / L. Beati, A.G. Ca'ceres, J.A. Lee, L.E. Munstermann // International Journal for Parasitology. – 2004. – Vol. 34. – P. 225-234.
86. Bhatt P.N. Chandipura: a new Arbovirus isolated in India from patients with febrile illness / P.N. Bhatt, F.M. Rodrigues // Indian Journal of Medical Research. – 1967. – Vol. 55. – P. 1295-1305.
87. Bounamous A. Limits of a rapid identification of common Mediterranean sandflies using polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism / A.

- Bounamous, V. Lehrter, L. Hadj-Henni, J.C. Delecolle, J. Depaquit // *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. – 2014. – Vol. 109, № 4. – P. 466-472.
88. Charrel R.N. Emergence of Toscana virus in Europe / R.N. Charrel, P. Gallian, J.M. Navarro-Mari, et al. // *Emerging Infectious Diseases*. – 2005. – Vol. 11, № 11. – P. 1657-1663.
 89. Charrel R.N. *Emerging Infectious Diseases Clinical Case Studies* / R.N. Charrel // *Toscana Virus Infection*. – 2014. – Chapter 8. – P. 111-119.
 90. Chastel C. Arbovirus infections in Morocco: serosurvey in small wild mammals in the northern part of the country / C. Chastel, H. Launay, H. Bailly-Choumara, et al. // *Bulletin de la Société de pathologie exotique et de ses filiales*. – 1982. – Vol. 75, № 5. – P. 466-75.
 91. Chastel C. Arbovirus infections in Tunisia: new serological survey of small wild mammals / C. Chastel, D. Bach-Hamba // *Bulletin de la Société de pathologie exotique et de ses filiales*. – 1983. – Vol. 76, № 1. – P. 21-33.
 92. Chinga-Alayo E. The influence of climate on the epidemiology of bartonellosis in Ancash, Peru / E. Chinga-Alayo, E. Huarcaya, C. Nasarre, et al. // *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. – 2004. – Vol. 98. – P. 116-124.
 93. Christopher J. Fenner and White's Medical Virology: 5th Edition / J. Christopher, J. Burrell, R. Colin, A. Murphy. – Elsevier, 2016. – 416 p.
 94. Comer J.A. Phlebotomine sandflies as vectors of vesiculoviruses: a review / J.A. Comer, R.B. Tesh // *Parassitologia*. – 1991. – Vol. 33, Suppl. 1. – P. 143-150.
 95. Control of the leishmaniasis Report of a meeting of the WHO Expert Committee on the Control of Leishmaniasis [Электронный ресурс]. – Geneva, 22–26 March 2010 WHO Technical Report Series 949. – Режим доступа: <http://www.who.int/iris/handle/10665/89213>.
 96. De la Herran R. The molecular phylogeny of the Sparidae (Pisces, perciformes) based on two satellite DNA families / de la R. Herran, C. Rejon, M. Rejon, M. Garrido-Ramos // *Heredity*. – 2001. – Vol. 87. – P. 691-697.

97. Depaquit J. Arthropod-borne viruses transmitted by Phlebotomine sandflies in Europe: a review / J. Depaquit, M. Grandadam, F. Fouque, P. Andry, C. Peyrefitte // *Eurosurveillance*. – 2010. – Vol. 15. – P. 195-199.
98. Depaquit J. Molecular systematics of the Phlebotomine sandflies of the subgenus *Paraphlebotomus* (Diptera, Psychodidae, Phlebotomus) based on ITS2 rDNA sequences. Hypotheses of dispersion and speciation / J. Depaquit, H. Ferté, N. Léger, R. Killick-Kendrick, et. al. // *Insect Molecular Biology*. – 2000. – Vol. 9, № 3. – P. 293-300.
99. Di Muccio T. Phylogenetic analysis of Phlebotomus species belonging to the subgenus *Larroussius* (Diptera, Psychodidae) by ITS2 rDNA sequences / T. di Muccio, M. Marinucci, L. Frusteri, M. Maroli, et. al. // *Insect Biochemistry and Molecular Biology*. – 2000. – Vol. 30. – P. 387-393.
100. Dionisio D. Epidemiological, clinical and laboratory aspects of sandfly fever / D. Dionisio, F. Esperti, A. Vivarelli, M. Valassina // *Current Opinion in Infectious Diseases*. – 2003. – Vol.16, №5. – P. 383-388.
101. Echevarria J.M. Acute meningitis due to Toscana virus infection among patients from both the Spanish Mediterranean region and the region of Madrid / J.M. Echevarria, de F. Ory, M.E. Guisasola, et. al. // *Journal of Clinical Virology*. – 2003. – Vol. 26. – P. 79-84.
102. Eitrem R. Incidence of sand fly fever among Swedish United Nations soldiers on Cyprus during 1985 / R. Eitrem, S. Vene, B. Niklasson // *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. – 1990. – Vol. 43. – P. 207-211.
103. Ergunay K. Phlebovirus and Leishmania detection in sandflies from eastern Thrace and Northern Cyprus / K. Ergunay, O.E. Kasap, S. Orsten, et. al. // *Parasites & Vectors*. – 2014. – Vol. 7. – P. 575.
104. Feliciangeli M.D. Natural breeding places of phlebotomine sandflies / M.D. Feliciangeli // *Medical and Veterinary Entomology*. – 2004. – Vol. 18. – P. 71-80.
105. Ferreira R.C. Phylogenetic Lineage of Closely Related Trypanosomes (Trypanosomatidae, Kinetoplastida) of Anurans and Sand Flies (Psychodidae,

- Diptera) Sharing the Same Ecotopes in Brazilian Amazonia / R.C. Ferreira, De A.A. Souza, R.A. Freitas, et. al. // *Journal of Eukaryotic Microbiology*. – 2008. – Vol. 55, № 5. – P. 427-435
106. Folmer O. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates / O. Folmer, M. Black, W. Hoeh, R. Lutz, R. Vrijenhoek // *Molecular Marine Biology and Biotechnology* – 1994. – Vol. 3, № 5. – P. 294-299.
 107. Franco F.A.L. Genetic structure of *Phlebotomus* (Larroussius) ariasi populations, the vector of *Leishmania infantum* in the western Mediterranean: Epidemiological implications / F.F.L. Franco, F. Morillas-Márquez, S.D. Barón, et. al. // *International Journal for Parasitology*. – 2010. – Vol. 40. – P. 1335-1346.
 108. Galati E.A.B. Classificação de phlebotominae. Flebotomíneos do Brasil / E.A.B. Galati ed. by E. F. Rangel and R. Lainson. – Rio de Janeiro, RJ: Fiocruz, 2003. – 51 p.
 109. Guan L.R. Phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) transmitting visceral leishmaniasis and their geographical distribution in China: a review / L.R. Guan, Z.B. Zhou, C.F. Jin, Q. Fu, J.J. Chai // *Infectious Diseases of Poverty*. – 2016. – Vol. 5. – P.15-23.
 110. Gutiérrez M.A.C. DNA Barcoding for the Identification of Sand Fly Species (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) in Colombia [Электронный ресурс] / M.A.C. Gutiérrez, R.J. Vivero, I.D. Vélez, et. al. // *Plos one*. – 2014. Vol. 9, №. 1. – Режим доступа: <http://doi:10.1371/journal.pone.0085496>. eCollection 2014.
 111. Hanel R. Multiple recurrent evolution of trophic types in northeastern Atlantic and Mediterranean seabreams (Sparidae, Percoidei) / R. Hanel, C. Sturmbauer // *Journal of Molecular Evolution*. – 2000. – Vol. 50. – P. 276-283.
 112. Hebert P. Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergence, among closely related species / P. Hebert, S. Ratnasingham, de J. Waard // *Proceedings of the Royal Society*. – 2003. – Vol. 270. – P. 96-99.

113. Hebert P. Biological identifications through DNA barcodes / P. Hebert, A. Cywinska, S. Ball, J. de Waard // *Proceedings of the Royal Society*. – 2003. – Vol. 270, № 1512. – P. 313–321.
114. Hemmersbach-Miller M. Sandfly fever due to Toscana virus: an emerging infection in southern France / M. Hemmersbach-Miller, P. Parola, R.N. Charrel, J. Paul Durand, P. Brouqui // *European Journal of Internal Medicine*. – 2004. – Vol. 15. – P. 316–317.
115. International Catalogue of Arboviruses. American Society Tropical Medicine Hydrocodone [Электронный ресурс] / ed. by N. Karabatsos. – San Antonio, Texas USA, 1985. – Режим доступа:
https://catalyst.library.jhu.edu/catalog/bib_66192
116. Ivočić V. Illegal waste sites as a, potential micro foci of mediterranean Leishmaniasis: first records of Phlebotomine Sand Flies (Diptera: Psychodidae) from Slovenia / V. Ivočić, K. Kalan, S. Zupan, E. Bužan // *Acta Veterinaria (Beograd)*. – 2015. – Vol. 65, №3. – P. 348-357.
117. Izri A. Sandfly Fever Sicilian Virus, Algeria / A. Izri, S. Temmam, G. Moureau, et. al. // *Emerging Infectious Diseases*. – 2008. – Vol. 14. № 5. – P. 795-797.
118. Jinbo U. Current progress in DNA barcoding and future implications for entomology / U. Jinbo, T. Kato, M. Ito // *Entomological Science*. – 2011. – Vol. 14, № 2– P. 107–124.
119. Kato H. Establishment of a mass screening method of sand fly vectors for Leishmania infection by molecular biological methods / H. Kato, H. Uezato, E.A. Gomez, et al. // *The American journal of tropical medicine and hygiene*. – 2007. – Vol. 77. – P. 324-329.
120. Kato H. Molecular mass screening to incriminate sand fly vectors of Andean-type cutaneous leishmaniasis in Ecuador and Peru / H. Kato, A.G. Ca´ceres, E.A. Gomez E.A, et al // *The American journal of tropical medicine and hygiene*. – 2008. – Vol. 79. – P. 719–721.

121. Kavur. H. Entomological Survey for Sand Fly Fauna in Imamoglu Province (Cutaneous Leishmaniasis Endemic Region) of Adana, Turkey / H. Kavur, F. Eroglu, G. Evyapan, et. al. // Journal of Medical Entomology. – 2015. – Vol. 52, № 5. – P. 1-6.
122. Killick-Kendrick R. Preliminary field observations on the flight speed of a phlebotomine sandfly / R. Killick-Kendrick, T.J. Wilkes, M. Bailly, et. al. // Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene. – 1986. – Vol. 80. – P. 138-142.
123. Killick-Kendrick R. The biology and control of phlebotomine sandflies / R. Killick-Kendrick // Clinics in Dermatology. – 1999. – Vol. 17. – P. 279-289.
124. Kocher A. Vector soup: high-throughput identification of Neotropical phlebotomine sand flies using metabarcoding / A. Kocher, J.C. Gantier, P. Gaborit, et. al. // Molecular Ecology Resources. – 2016. – Vol. 17, № 2. – P. 172 – 182.
125. Krüger A. The sandflies (Diptera: Psychodidae, Phlebotominae) in military camps in northern Afghanistan (2007–2009), as identified by morphology and DNA 'barcoding' / A. Krüger, L. Strüven, R.J. Post, M. Fauld // Annals of Tropical Medicine and Parasitology. – 2011. – Vol. 105, № 2. – P. 163-176.
126. Kumar N.P. DNA Barcodes Can Distinguish Species of Indian Mosquitoes (Diptera: Culicidae) / N.P. Kumar, A.R. Rajavel, R. Natarajan P. Jambulingam // Journal of Medical Entomology. – 2007. – Vol. 44, № 1. – P. 1-7.
127. Kuwahara K. Genetic diversity of ribosomal RNA internal transcribed spacer sequences in *Lutzomyia* species from areas endemic for New World cutaneous leishmaniasis / K. Kuwahara, H. Kato, E.A. Gomez, et al. // Acta Tropica. – 2009. – Vol. 112. – P. 131-136.
128. Lane R.P. Sandflies (Phlebotominae): Medical Insects and Arachnids / ed. by R.P. Lane, R.W. Crosskey. – London: Chapman & Hall, 1993. – 119 p.
129. Latrofa M.S. Multilocus molecular and phylogenetic analysis of phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) from southern Italy / M.S. Latrofa, F. Dantas-

- Torresa, S. Weigla, V.D. Taralloa, et. al. // *Acta Tropica*. – 2011. – Vol. 119. – P. 91-98.
130. Latrofa M.S. Towards a rapid molecular identification of the common phlebotomine sand flies in the Mediterranean region / M.S. Latrofa, G. Annoscia, F. Dantas-Torresa, et. al. // *Veterinary Parasitology*. – 2012. – Vol. 184. – P. 267-270.
 131. Léger N. Isolation and typing of *Leishmania infantum* from *Phlebotomus neglectus* on the island of Corfu, Greece / N. Léger, M. Gramiccia, L. Gradoni, et. al. // *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. – 1988. – Vol. 82. – P. 419-420.
 132. Léger N. Sur la différenciation des femelles du sous-genre *Larrousius* Nitzulescu, 1931 (Diptera-Phlebotomidae) de la région méditerranéenne / N. Léger, B. Pesson, G. Madulo-leblond, E. Abonnence // *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*. – 1983. – Vol. 58. – P. 611-623.
 133. Leishmaniasis and HIV co-infection [Электронный ресурс]. – World Health Organization. – 2008. – Режим доступа:
http://www.who.int/leishmaniasis/burden/hiv_coinfection/burden_hiv_coinfection/en/index.html
 134. Lewis D.J. A taxonomic review of the genus *Phlebotomus* (Diptera: Psychodidae) / D.J. Lewis // *Bulletin of the British Museum*. – 1982. – Vol. 45. – P. 121-209.
 135. Lewis D.J. Proposals for stable classification of the phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) / D.J. Lewis, D.G. Young, G. Fairchild, D.M. Minter // *Systematic Entomology*. – 1977. – №2. – P. 319-332.
 136. Maes P. Taxonomy of the order Bunyavirales: Second update 2018 / P. Maes, S. Adkins, S.V. Alkhovsky, T. Avšič-Županc, et al. // *Archives of Virology*. – 2019. – Vol. 164. – P. 927-941.
 137. Maroli M. Infection of sandflies by a cat naturally infected with *Leishmania infantum* / M. Maroli, M.G. Pennisi, T. Di Muccio, C. Khoury, L. Gradoni, M. Gramiccia // *Veterinary Parasitology*. – 2007. – Vol. 145, № 3-4. – P. 356-360.

138. Maroli M. Phlebotomine sandflies and the spreading of leishmaniasis and other diseases of public health concern / M. Maroli, M.D. Feliciangeli, L. Bichaud, R.N. Charrel, L. Gradoni // *Medical and Veterinary Entomology*. – 2013. – Vol. 27, № 2 – P. 123-147.
139. Medlock J.M. A summary of the evidence for the change in European distribution of phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) of public health importance / J.M. Medlock, K.M. Hansford, W.V. Borte, H. Zeller, B. Alten // *Journal of Vector Ecology*. – 2014. – Vol. 39, № 1. – P. 72-77.
140. Mendoza-Montero J. Infections due to sandfly fever virus serotype Toscana in Spain / J. Mendoza-Montero, M.I. Gamez-Rueda, J.M. Navarro-Mari, et. al. // *Clinical Infectious Diseases*. – 1998. – Vol. 27. P. – 434-436.
141. Nzelu C.O. DNA barcoding for identification of sand fly species (Diptera: Psychodidae) from leishmaniasis-endemic areas of Peru / C.O. Nzelu, A.G. Cáceres, M.J. Arrunátegui-Jiménez // *Acta Tropica Volume*. – 2015. – Vol. 145. – P. 45-51.
142. Papa A. Sandfly fever virus outbreak in Cyprus / A. Papa, G. Konstantinou, V. Pavlidou, A. Antoniadis // *Clinical Microbiology and Infection*. – 2006. – Vol. 12, № 2. – P. 192-194.
143. Patton W.S. Development of Chinese leishmania in *Ph. major var. chinensis* and *Ph. sergenti var. mongolensis* / W.S. Patton, E. Hindle // *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. – 1927. – P. 369-390.
144. Peralta P.H. Chagres Virus: A New Human Isolate from Panama / P.H. Peralta, A. Shelokov, J.A. Brody // *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. – 1965. – Vol. 14, № 1. – P. 146-151.
145. Peyrefitte C.N. Toscana virus and acute meningitis, France / C.N. Peyrefitte, I. Devetakov, B. Pastorino, L. Villeneuve, et al. // *Toscana virus and acute meningitis // Emerging Infectious Diseases*. – 2005. – Vol. 11. – P. 778–780.

146. Podlipaev S. The more insect trypanosomatids under study-the more diverse Trypanosomatidae appears / S. Podlipaev // International Journal for Parasitology. – 2001. – Vol. 31, №. 5-6. – P. 648-652
147. Poinar G. Early Cretaceous trypanosomatids associated with fossil sand fly larvae in Burmese amber / G. Poinar // Memoirs of the Oswaldo Cruz Institute. – 2007. – Vol. 102. – P. 635–637.
148. Polseela R. Towards monitoring the sandflies (Diptera: Psychodidae) of Thailand: DNA barcoding the sandflies of Wihan Cave, Uttaradit / R. Polseela, N. Jaturas, A. Thanwisai, K.W. Sing, J.J. Wilson // Mitochondrial DNA. – 2016. – Vol. 27, № 5. – P. 1-7.
149. Pradeep Kumar N. DNA barcoding for identification of sand flies (Diptera: Psychodidae) in India / N. Pradeep Kumar, R. Srinivasan, P. Jambulingam // Molecular Ecology Resources. – 2012. – Vol.12, №. 3. – P. 414-420.
150. Quinnell R.J. Transmission, reservoir hosts and control of zoonotic visceral Leishmaniasis / R.J. Quinnell, O. Courtenay O // Parasitology. – 2009. – Vol. 136, № 14. – P. 1915-1934.
151. Rao B.L. A large outbreak of acute encephalitis with high fatality rate in children in Andhra Pradesh, India, in 2003, associated with Chandipura virus / B.L. Rao, A. Basu, N.S. Wairagkar, et. al. // Lancet. – 2004. – Vol. 364. – P. 869–874.
152. Rioux J.A. Ecologie des Leishmanioses dans le sud de la France. Dispersion horizontale de *Phlebotomus ariasi* Tonnoir, 1921. Espérience preliminaires / J.A. Rioux, R. Killick-Kendrick, A.J. Leaney, et. al. // Annales de Parasitologie Humane et Comparée. – 1979. – Vol. 54. – P. 673–682.
153. Rodrigues J.J. Isolation of Chandipura virus from the blood in acute encephalopathy syndrome / J.J. Rodrigues, P.B. Singh, D.S. Dave, et. al. // Indian Journal of Medical Research. – 1983. – Vol. 77. – P. 303-307.
154. Romero-Ricardo L. DNA barcoding to identify species of phlebotomine sand fly (Diptera: Psychodidae) in the mixed leishmaniasis focus of the Colombian

- Caribbean / L. Romero-Ricardo, N. Lastre-Meza, A. Pérez-Doria, E. Bejarano // *Acta Tropica*. – 2016. – Vol. 159. – P. 125-131.
155. Rutledge L.C. Moth Flies and Sand Flies (Psychodidae) / L.C. Rutledge, R.K. Gupta // *Medical and Veterinary Entomology*. – 2002. – P. 147-161.
 156. Sahabi Z. A preliminary report on the natural leptomonad infection of *Phlebotomus major* in an endemic focus of V.L. in Fars province, south of Iran / Z. Sahabi, M.A. Seyyedi-Rashti, A. Nadim, et. al. // *Iranian journal of public health*. – 1992. – Vol. 21. – P. 87-93.
 157. Schoener E. Trypanosomatid parasites in Austrian mosquitoes [Электронный ресурс] / E. Schoener, S.S. Uebleis, C. Cuk, et. al. // *Plos one*. – 2018. – Vol. 13. № 4. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0196052>
 158. Shurkhal A.V. Preliminary results of comparative studies on biochemical gene markers in *Leishmania* at species, strain and clone levels: *Leishmania - Taxonomie et phylogenese*/ A.V. Shurkhal, O.I. Kellina, O.M. Passova, M.V. Strelkova M.V. – Montpellier, 1986. – 104 p.
 159. Solano-Gallego L. Directions for the diagnosis, clinical staging, treatment and prevention of canine leishmaniosis / L. Solano-Gallego, A. Koutinas, G. Miro // *Veterinary Parasitology*. – 2009. – Vol. 165, № 1-2. – P. 1-18.
 160. Sousa M.A. Brandão *Leptomonas* sp. isolated from the sandfly *Lutzomyia aurozai* (Diptera: Psychodidae) / M.A. Sousa, T.V. Barrett, R.D. Naiff, et. al. // *Memoirs of the Oswaldo Cruz Institute*. – 1998. – Vol. 93, № 2. – P. 127-148.
 161. Souza P.I. DNA Barcoding of Neotropical Sand Flies (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae): Species Identification and Discovery within Brazil / P.I. Souza, B.D. Chagas, A.A.F. Rodrigues, et. al. // *Plos one*, 2015. – Vol. 27, № 10. – P. 54-58.
 162. Tavana A.M. Sandfly fever in the World / A.M. Tavana // *Annals of Tropical Medicine and Public Health*. – 2015. – Vol. 8, № 4. – P. 83-87.
 163. Tesh R.B. Biology of Arboledas virus, a new phlebotomus fever serogroup virus (Bunyaviridae Phlebovirus) isolated from sandflies in Colombia / R.B. Tesh, J.

- Boshell, D.G. Young // The American journal of tropical medicine and hygiene. – 1986. – Vol. 35, № 6. – P. 1310-1316.
164. Theodor O. Classification of the Old World species of the subfamily phlebotominae (Diptera, Psychodidae) / O. Theodor // Bulletin of Entomological Research. – 1948. – Vol. 39, № 1. - P. 85-115.
 165. Theodor O. Psychodidae – Phlebotominae. Die Fliegen der Palaearktischen Region / O. Theodor ed. by E. Lindner. – Stuttgart: Schweizerbart'sche Verlagsbuch handlung (Nägele u. Obermiller), 1958. – 55 p.
 166. Verani P. Ecology of viruses isolated from sand flies in Italy and characterized of a new Phlebovirus (Arbia virus) / P. Verani, M.G. Ciufolini, S. Caciolli, et al. The American journal of tropical medicine and hygiene. – 1988. – Vol. 38. – P. 433-439.
 167. Vivero R.J. DNA barcode for identification of immature stages of sand flies (Diptera: Psychodidae) collected from natural breeding sites / R.J. Vivero, E.E. Bejarano, L.G. Estrada, et. al. // Zootaxa. – 2017. – Vol. 4277, №2. – P. 228-236.
 168. Vivero R.J. Changes to the extreme terminal carboxyl of cytochrome b as taxonomic character in Lutzomyia (Diptera: Psychodidae) / R.J. Vivero, E.E. Bejarano, M.A. Contreras // Revista colombiana de entomología. – 2009. – Vol. 35. – P. 83-88.
 169. Young D.G. Guide to the identification and geographic distribution of Lutzomyia sandflies in Mexico, the West Indies, Central and South America (Diptera: Psychodidae) / D.G. Young, M.A. Duncan // Memoirs of the American Entomological Institute. – 1994. – Vol. 54. – P. 1-881.
 170. Zahraei-Ramazani A. Morphological and Genotypic Variations among the Species of the Subgenus Adlerius (Diptera: Psychodidae, Phlebotomus) in Iran / A. Zahraei-Ramazani, D. Kumar, H. Mirhendi, et. al. // Journal of Arthropod-Borne Diseases. – 2015. – Vol. 9, № 1. – P. 84-97.