

На правах рукописи



Патраман Иван Васильевич

Инвазивные комары – новая эпидемиологическая угроза на территории России

03.02.11 – Паразитология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Москва – 2022

Работа выполнена в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)

Научный руководитель:

доктор биологических наук

Ганушкина Людмила Алимпьевна

Официальные оппоненты:

Козлов Сергей Сергеевич, доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное военное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации, кафедра инфекционных болезней (с курсом медицинской паразитологии и тропических заболеваний), профессор кафедры

Гордеев Михаил Иванович, доктор биологических наук, профессор, Государственное образовательное учреждение высшего образования Московской области Московский государственный областной университет «Московский государственный областной университет», кафедра общей биологии и биоэкологии биолого-химического факультета, заведующий кафедры

Ведущая организация: Федеральное бюджетное учреждение науки «Ростовский научно-исследовательский институт микробиологии и паразитологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

Защита диссертации состоится «28» июня 2022 года в 14:00 часов на заседании диссертационного совета ДСУ 208.001.02 при ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет) по адресу: 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ЦНМБ ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет) (119034, г. Москва, Зубовский бульвар, д.37/1) и на сайте организации: <https://www.sechenov.ru>

Автореферат разослан «___» _____ 2022 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета ДСУ 208.001.02

кандидат медицинских наук



Турбабина Наталья Александровна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

В настоящее время здравоохранение многих стран мира осуществляет борьбу с арбовирусными инфекциями – лихорадками Денге, Западного Нила, Чикунгунья, Зика, Желтой. Согласно данным ВОЗ риску заражения вирусами Денге подвергаются 3,9 млрд. человек в 128 странах, Чикунгунья выявлена более чем в 60 странах Азии, Африки, Европы и Америки. О вирусной инфекции Зика сообщили 86 стран. Переносчиками возбудителей этих болезней являются комары *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linneus, 1762) и *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse, 1895).

На Черноморском побережье Кавказа комары *Ae. aegypti* впервые были обнаружены в 1911 г. Е.И. Марциновским в Батуми (41°38'45"с.ш. 41°38'30"в.д.), затем комаров этого вида начали выявлять далее - севернее до г. Туапсе (44°06'00"с.ш. 39°05'00"в.д.). С целью предупреждения распространения лихорадки Денге на территорию СССР, на Черноморском побережье в 30-40 годы были проведены широкомасштабные комаро-истребительные мероприятия. С 1950-х гг. комары *Ae. aegypti* на территории СССР не регистрировали.

В августе-сентябре 2001 - 2004 гг., при сборах комаров, нападающих на человека, были вновь выявлены немногочисленные самки *Ae. aegypti* в Центральном районе г. Сочи. При рекогносцировочных обследованиях, проведенных в 2007 г., в отдельных городах и населенных пунктах Черноморского побережья Кавказа на отрезке Туапсе-Сухуми были собраны личинки, а также отловлены самки и самцы комаров *Ae. aegypti*, что свидетельствовало о наличие активно размножающейся популяции этого вида.

В конце XX века большую настороженность в мире вызвало быстрое распространение за пределы своего исходного ареала в Юго-Восточной Азии другого эффективного переносчика арбовирусов – *Ae. albopictus*. В настоящее время в Европе этот вид комаров зарегистрирован уже на территории 25 стран, и его европейский ареал имеет устойчивую тенденцию к расширению. Комары *Ae. albopictus* способны даже без участия комаров *Ae. aegypti* обеспечить развитие эпидемических вспышек лихорадок Денге и Чикунгунья. На территории Российской Федерации впервые комары этого вида были обнаружены в 2011 году, а случаи лихорадки Денге официально регистрируют с 2012 г. За последние 9 лет в России, было зарегистрировано 1 618 завозных случаев Денге, 25 Зика, 5 Чикунгунья. В 2013 году на Черноморском побережье России выявлен азиатский вид *Aedes (Finlaya) koreicus* (Edwards, 1917), потенциальный переносчик арбовирусов и диروفиларий. В настоящее время Черноморское побережье Кавказа, по данным ВОЗ, является единственной территорией Европейского региона, на которой зарегистрированы все три вида комаров- активных переносчиков возбудителей арбовирусных инфекций.

Единственным способом предотвращения передачи арбовирусов является борьба с комарами-переносчиками. Трудности с контролем численности переносчиков связаны с тем, что арбовирусы и комары *Ae. aegypti* и *Ae. albopictus* активно распространяются на новые территории. В настоящее время адаптивные способности инвазивных видов комаров к вновь освоенным территориям недостаточно изучены, в связи с чем, необходим энтомологический мониторинг для проведения профилактических и истребительных мероприятий.

Степень разработанности темы исследования

Определен современный ареал инвазивных комаров на территории Российской Федерации. За 7 лет наблюдений (2012-2018 гг.) ареалы комаров *Ae. aegypti* и *Ae. albopictus* значительно изменились. Снизилась численность комаров *Ae. aegypti* и значительно расширился ареал *Ae. albopictus*, который регистрируется во влажном субтропическом климате и мягко континентальном. Комары *Ae. albopictus* в зимний период способны адаптироваться к значительным кратковременным понижениям температуры до -12°C - 20°C . Собранные на территории России комары *Ae. aegypti* и *Ae. albopictus* заражены дирофиляриями *D. immitis* и *D. repens* и *Ae. albopictus* - вирусом Западного Нила. Вид комаров *Ae. koreicus* в последнее время активно расширяет ареал как на Черноморском побережье Кавказа Российской Федерации, Республике Крым, так и в Западной Европе. Эпидемиологическое значение этих комаров требует дальнейшего изучения. Фауна кровососущих комаров, на южном побережье Крыма в августе 2016 года, представлена 8 видами, 2 из которых (*Ae. aegypti* и *Ae. koreicus*) впервые обнаружены на полуострове. В Крыму комары *Ae. aegypti* представлены только одним экземпляром самца. В дальнейшем необходим тщательный эпидемиологический надзор за территориями, на которых возможно укоренение инвазивных видов комаров.

Цели и задачи

Оценить эпидемическую значимость инвазивных видов комаров *Ae. aegypti*, *Ae. albopictus*, *Ae. koreicus* и определить ареал кровососущих комаров переносчиков трансмиссивных заболеваний. Дать прогноз их дальнейшего распространения на территории Российской Федерации.

Определить ареалы инвазивных видов комаров и по результатам наблюдений:

1. Дать морфологические и молекулярные характеристики инвазивных видов комаров.
2. Исследовать зараженность инвазивных видов комаров возбудителями трансмиссивных болезней.
3. Определить фауну комаров на южном побережье Крыма.
4. Определить факторы, влияющие на распространение инвазивных видов комаров.

Научная новизна

В результате проведенных исследований нами впервые обновлены ареалы переносчиков трансмиссивных заболеваний *Ae. aegypti*, *Ae. albopictus* на Черноморском побережье России. Впервые нами был обнаружен *Ae. koreicus*. Проведена их видовая идентификация по морфологическим признакам, подтвержденная молекулярно-генетическим методом.

Сравнение ДНК отловленных нами комаров *Ae. albopictus* и *Ae. aegypti* на Черноморском побережье с маркерами ядерной и митохондриальной ДНК, представленных в мировых молекулярно-генетических базах данных, обнаружило низкий уровень изменчивости этих видов, что свидетельствует об очень быстром расселении их по миру, при отсутствии значимых эволюционных изменений.

Обнаружены молекулярно-генетические маркеры вируса Западного Нила в инвазивных кровососущих комарах *Ae. albopictus*, собранных нами в открытой природе. Комары *Ae. aegypti*, *Ae. albopictus* способны к трансмиссии дирофиляриоза (*Dirofilaria immitis* и *Dirofilaria repens*).

Теоретическая и практическая ценность работы

Выполненная работа вносит вклад в решение важной медико-биологической проблемы на территории Российской Федерации. Изучена эпидемиологическая значимость инвазивных видов комаров - переносчиков возбудителей трансмиссивных заболеваний, их ареалы и экология.

Обследование территории в 2012-2013 годах Черноморского побережья Краснодарского края показало наличие укоренившихся популяций инвазивных видов комаров *Ae. aegypti*, *Ae. albopictus*. В течение 2012-2018 годов установлена динамика развития ареалов инвазивных видов: значительное расширение ареала отмечено у *Ae. albopictus* до широты 45°12'55" с. ш. 39°41'22" в. д. (г. Усть-Лабинск) и исчезновение комаров *Ae. aegypti*. Впервые выявлен азиатский вид *Ae. koreicus* на Черноморском побережье России при проведении рекогносцировочных работ в 2013 году. Естественным ареалом *Ae. koreicus* является Корея, Китай, Япония и Дальний Восток Российской Федерации.

Личный вклад автора

Диссертация И.В. Патрамана является самостоятельной научно-исследовательской работой, которая свидетельствует о профессиональной компетенции автора. Соискатель самостоятельно определил цель и задачи исследований, грамотно выбрал и умело использовал соответствующий поставленной задаче набор методов анализа первичного материала.

Личный вклад автора состоит в непосредственном участии в проведении всех энтомологических и эпидемиологических исследований, апробации результатов исследования, подготовке докладов и публикаций по теме диссертации. Вся обработка и интерпретация

полученных результатов выполнена лично автором. Автор неоднократно докладывал результаты работы на научных форумах.

Положения, выносимые на защиту

Положение первое. Появление на территории Российской Федерации инвазивных видов комаров *Ae. aegypti* и *Ae. albopictus* – переносчиков возбудителей арбовирусных лихорадок Денге, Зика, Чикунгунья, Западного Нила может привести к значительному ухудшению эпидемиологической ситуации в стране. Участие в качестве переносчиков возбудителей трансмиссивных болезней показано нами на примере наличия молекулярно-генетических маркеров вируса Западного Нила и дирофилярий *D. repens* и *D. immitis* в комарах *Ae. aegypti* и *Ae. albopictus*. Исследование проведенное с 2012 по 2018 год показало значительное расширение ареала инвазивных видов комаров *Ae. albopictus*; в 2012 году территория заселения этим видом составляла 6 793,9 кв. км, а в 2018 году – 12 499,4 кв. км. Зарегистрирован на этой территории третий инвазивный вид – *Ae. koreicus*. Доказана адаптация комаров *Ae. albopictus* к природным условиям на Крымском полуострове, в Краснодарском крае, в Республике Адыгея и в Республике Абхазия.

Положение второе. Изучение биологии, экологии, межвидового взаимодействия инвазивных видов комаров позволило разработать критерии, ограничивающие дальнейшее распространение инвазивных видов комаров на территории Российской Федерации.

Степень достоверности и апробация результатов

Основные положения диссертации были изложены на:

- IV Ежегодном Всероссийском Конгрессе по инфекционным болезням 25-27 марта 2013 г.,
- Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы биологической и химической экологии» 4-5 декабря 2014 г.
- XI Международной зоологической научно-практической конференции «Актуальные проблемы зоологической науки в Беларуси» 1-3 ноября 2017 г.

Внедрение в практику

Материалы исследований используются в виде лекций, семинарских и практических занятий в Институте медицинской паразитологии, тропических и трансмиссивных заболеваний им. Е.И. Марциновского ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) и на кафедре тропических, паразитарных болезней и дезинфекционного дела Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования Минздрава России по специальности 03.02.11 - «Паразитология».

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Задачи и научные положения диссертации, выносимые на защиту, соответствуют формуле специальности 03.02.11 – «Паразитология». Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования паспорту специальности 03.02.11 – «Паразитология» согласно пунктам 2,3,4.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 7 печатных работ, в том числе научных статей отражающих основные результаты диссертации - 7, из них: в изданиях перечня ВАК при Минобрнауки – 5 статей, в журналах, включенных в международные базы: Scopus – 2 статьи.

Структура и объем диссертации

Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, трех глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка цитируемой литературы. Работа изложена на 117 страницах машинописного текста, содержит 16 таблиц и 20 рисунков. В работе использованы 28 отечественных и 126 зарубежных источников литературы.

Благодарности

*Автор выражает искреннюю благодарность своему научному руководителю Ганушкиной Людмиле Алимпьевне за неоценимый вклад в проведение исследований и описании полученных результатов, постоянное внимание к моей научной работе; Богачевой Анне Сергеевне за помощь в определении зараженности комаров *Ae. albopictus* и *Ae. aegypti* дирофиляриями; Шайкевич Елене Владимировне за руководство при выполнении молекулярно-генетического анализа комаров; Вышемирскому Олегу Ивановичу за консультации по проблеме лихорадки Западного Нила и помощь в проведении полевых исследований в Сочи.*

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы

Нами были собраны комары и личинки на Черноморском побережье Краснодарского края, на Северном Кавказе на Южном берегу Крыма и в Республике Абхазия с 2012 по 2018 год (Рисунок 1). Общая площадь обследованной территории составила 45 416,98 км². Общая коллекция инвазивных видов комаров составила 29 45 особей: 1 241 особь *Ae. aegypti*, 1 639 - *Ae. albopictus*, 64 - *Ae. koreicus*. Сбор комаров проводили тремя методами: сбор имаго ловушкой Electrofrog (LMD-Komplekt Plus, Россия), сбором «на себя» эксгаустером и энтомологическим сачком залетевших в помещения комаров. Большую часть личинок и куколок оставляли в сосудах с водой для вылета из них имаго. Имаго сохраняли в сухом виде на ватных матрасиках в чашках Петри. Часть собранных личинок для идентификации морфологическим и

молекулярным методом, фиксировали в 70% спирте. Для экологической характеристики водоемов измеряли температуру и pH воды. В лабораторных исследованиях были также использованы комары, собранные в 2007 году и в 2011 году.



Рисунок 1 - Места сбора личинок *Ae. aegypti* и *Ae. albopictus*

Молекулярно-генетическая идентификация комаров

Для выделения ДНК из комаров использовали набор D1Atom™ DNA Prep (Изоген, Москва). ПЦР проводили, используя набор Evrogen Encyclo PCR kit (Евроген, Москва). Для амплификации ITS2 использовали праймеры 5,8S и 28S. Участок гена цитохром оксидазы I (COI) размером около 750 п.н. нарабатывался с помощью праймеров - TY-J-1460 и COIR. Амплификаты визуализировали в 1-2 % агарозном геле и элюировали, используя наборы Clean up extraction kit (Евроген, Москва) для последующего секвенирования с BigDye Termination kit 3.1 (Applied Biosystems, USA). Секвенировали 13 амплификатов ITS2 *Ae. aegypti* и *Ae. albopictus* по 1-2 из 10 мест сбора разных лет. Для идентификации с помощью ПЦР использовали области второго внутреннего транскрибируемого спейсера кластера генов рНК (ITS2). Видовая идентификация подтверждена молекулярно-генетическими методами, применили нуклеотидные последовательности второго внутреннего транскрибируемого спейсера (ITS2). Полученные последовательности зарегистрированы в GenBank; *Ae. koreicus* HG763830, *Ae.*

aegypti AY512668, *Ae. albopictus* AB231675, *Ae. aegypti* MG198586 - MG198594, MH251909 - MH251911; *Ae. albopictus* MG198595 - MG198606; и ITS2: *Ae. aegypti* MH142316 - MH142320; *Ae. albopictus* MH142321 - MH142326.

Таблица 1 - Дата, место и количество собранных комаров *Ae. aegypti*, *Ae. albopictus* и *Ae. koreicus*

Год	Место с бора	Координаты	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. albopictus</i>	<i>Ae. koreicus</i>
2012 г.	г. Адлер	43025'44"с.ш. 39055'26"в.д.	3	24	0
	г. Хоста	43030'53"с.ш. 39052'05"в.д.	0	47	0
	г. Сочи	43035'07"с.ш. 39043'13"в.д.	6	116	0
	мкр. Мамайка	43038'35"с.ш. 39042'34"в.д.	48	406	0
	мкр. Дагомыс	43040'11"с.ш. 39040'07"в.д.	0	24	0
	мкр. Лазаревское	43054'31"с.ш. 39019'52"в.д.	31	48	0
	г.Туапсе	44006'19"с.ш. 39004'48"в.д.	566	28	0
	г. НовыйАфон	43004'50"с.ш. 40050'17"в.д.	45	6	0
	г. Пицунда	43009'43"с.ш. 40020'27"в.д.	7	58	0
2013 г.	г. Адлер	43025'44"с.ш. 39055'26"в.д.	6	164	0
	г. Хоста	43030'53"с.ш. 39052'05"в.д.	0	23	0
	г. Сочи	43035'07"с.ш. 39043'13"в.д.	3	46	0
	мкр. Мамайка	43038'35"с.ш. 39042'34"в.д.	3	34	32
	мкр. Лазаревское	43054'31"с.ш. 39019'52"в.д.	17	19	0
	г. Туапсе	44006'19"с.ш. 39004'48"в.д.	394	21	0
2014 г.	г. Адлер	43025'44"с.ш. 39055'26"в.д.	0	25	0
	г. Сочи	43035'07"с.ш. 39043'13"в.д.	0	11	0
	мкр. Мамайка	43038'35"с.ш. 39042'34"в.д.	0	5	0
	мкр. Лазаревское	43054' с.ш. 39019'52"в.д.	0	8	0

Продолжение таблицы 1

2015 г.	г. Адлер	43°25'44"с.ш. 39°55'26"в.д.	0	120	0
	г. Туапсе	44°06'19"с.ш. 39°04'48"в.д.	30	20	0
2016 г.	г. Севастополь	44°36'00"с. ш. 33°32'00"в. д.	1	0	32
2017 г.	г. Адлер	43°25'44"с.ш. 39°55'26"в.д.	81	32	0
	г. Сочи	43°35'07"с.ш. 39°43'13"в.д.	0	67	0
2018 г.	пгт. Красная поляна, сан. «Чистый воздух»	43°69'03"с.ш. 40°21'61"в.д.	0	2	0
	п. Эстосадок кладбище	43°67'24"с.ш. 40°19'59"в.д.	0	3	0
	п. Веселое, ул. Урицкого д. 18	43°38'94"с.ш. 39°98'70"в.д.	0	20	0
	г. Адлер, кладбище	43°42'73"с.ш. 39°96'03"в.д.	0	100	0
	г. Адлер, НИИ Медицинской приматологии	43°43'52"с.ш. 39°99'62"в.д.	0	38	0
	г. Хадзыженск, кладбище	44°43'58"с.ш. 39°51'45"в.д.	0	5	0
	г. Апшеронск, кладбище	44°46'26"с.ш. 39°69'28"в.д.	0	7	0
	г. Майкоп, старое кладбище	44°63'68"с.ш. 40°09'19"в.д.	0	10	0
	г. Усть-Лабинск, кладбище	45°21'26"с.ш. 39°65'20"в.д.	0	16	0
	пгт. Яблоновское, кладбище	45°10'28"с.ш. 39°12'11"в.д.	0	7	0
	г. Туапсе, ул. Коммунистическая д. 32	44°10'28"с.ш. 39°07'48"в.д.	0	40	0
	г. Гудаута	43°10'60"с.ш. 40°61'75"в.д.	0	3	0
	г. Гали, кладбище	42°62'67"с.ш. 41°75'08"в.д.	0	3	0
	г. Сухуми, Ботанический сад	43°00'58"с.ш. 41°02'38"в.д.	0	30	0
	г. Новый Афон, приусадебный участок у Монастыря	43°08'88"с.ш. 40°82'18"в.д.	0	3	0
	Всего		1241	1639	64

Методы статистической обработки данных

Статистическая обработка данных была проведена в табличном редакторе MS Excel 2007. При долевым расчете видового состава комаров в населенных пунктах Республики Адыгея, Черноморского побережья Краснодарского края, Крымского полуострова и Республики Абхазия биотопического распределения комаров, соотношения комаров, произведены расчеты 95% доверительных интервалов, находящихся в открытом доступе.

Выявление ДНК дирофилярий проводили не индивидуально, а в пулах, для оценки зараженности использовали общепринятый метод определения минимальной частоты заражения (minimum infection rate – MIR). Этот показатель рассчитывается из предположения, что по меньшей мере один комар в пуле заражен *Dirofilaria*.

Минимальный уровень зараженности дирофиляриями вычисляли следующим образом:

$$\text{Minimum infection rate} = \frac{\text{количество положительных пулов}}{\text{общее количество комаров}} \times 100 \%$$

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Результаты исследований позволили сформулировать и обосновать два основных положения научной работы.

ПОЛОЖЕНИЕ ПЕРВОЕ. Появление на территории Российской Федерации инвазивных видов комаров *Ae. aegypti* и *Ae. albopictus* – переносчиков возбудителей арбовирусных лихорадок Денге, Зика, Чикунгунья, Западного Нила может привести к значительному ухудшению эпидемиологической ситуации в стране. Участие в качестве переносчиков возбудителей трансмиссивных болезней показано нами на примере наличия молекулярно-генетических маркеров вируса Западного Нила и дирофилярий *D. repens* и *D. immitis* в комарах *Ae. aegypti* и *Ae. albopictus*. Исследование проведенное с 2012 по 2018 год показало значительное расширение ареала инвазивных видов комаров *Ae. albopictus*; в 2012 году территория, заселения этим видом составляла 6 793,9 кв. км, а в 2018 году – 12 499,4 кв. км. Зарегистрирован на этой территории третий инвазивный вид – *Ae. koreicus*. Доказана адаптация комаров *Ae. albopictus* к природным условиям на Крымском полуострове, в Краснодарском крае, в Республике Адыгея и в Республике Абхазия.

Возбудители болезней, которых передают кровососущие комары, занимают ведущее место в мире. За последние 15 лет наблюдается значительное повышение заболеваемости лихорадками Денге, Чикунгунья, Зика в различных регионах мира. Согласно оценкам ВОЗ, в госпитализации ежегодно нуждаются 500 000 человек с тяжелой Денге, из которых 2,5% умирает. Проведенные исследования показали, что на Земном шаре территории 215 стран потенциально подходят для наиболее важных переносчиков арбовирусных заболеваний, и в более чем половине этих случаев, арбовирусные заболевания действительно представляют глобальную угрозу для

общественного здравоохранения. Должны быть использованы все меры для объединения усилий, направленных на предотвращение этих инфекций.

В Российской Федерации с каждым годом увеличивается число завозных случаев этих лихорадок. Случаи лихорадки Денге официально регистрируются с 2012 г. Заражение происходило при посещении туристами Таиланда, Вьетнама, Индонезии, Индии, Бангладеш, Гонконга, Мальдивских островов. В 2018 г. отмечались крупные вспышки лихорадки Денге в Латинской Америке (Аргентине, Венесуэле, Перу, Колумбии, Коста-Рике, Панаме, Парагвае, Эквадоре, Сальвадоре, Боливии, Никарагуа), в Юго-восточной Азии (Малайзии, Филиппинах, Фиджи, Лаосе, Камбоджи, Сингапуре, Мьянме, Индии, Шри-Ланке).

Дирофиляриоз является трансмиссивным паразитозом, распространенным на разных континентах всех стран мира. Дирофиляриозы людей и животных вызывают паразитические нематоды - филярии. Российская Федерация эндемична по дирофиляриозу. Два вида *Dirofilaria* (*D. immitis* и *D. repens*) были идентифицированы у людей. К 2014 году заражение *D. repens* было выявлено у 850 человек, постоянно проживающих на территории 42 субъектов Российской Федерации, что касается *Ae. aegypti*, то данных о зараженных дирофиляриями комаров, собранных в полевых условиях, мы не нашли. Но на лабораторных культурах этого вида комаров многократно показано развитие микрофилярий до инвазионной стадии. На зараженность личинками дирофилярий нами исследованы 74 пула (366 особей) *Ae. albopictus* и 4 пула (21 особь) *Ae. aegypti*. Среди *Ae. albopictus* один пул заражен *D. repens*, пять пулов заражены *D. immitis*. Только один пул *Ae. aegypti* заражен *D. repens*. *D. immitis* выявлены только в пулах брюшек *Ae. albopictus*, *D. repens* в пулах голово-грудных отделов комаров обоих видов (Таблица 2). Из литературы известно, что *Ae. koreicus* хорошо заражается дирофиляриями как в лабораторных условиях, так и обнаруживается в комарах, собранных в полевых условиях.

Таблица 2 - Зараженность комаров дирофиляриями *D. immitis* и *D. repens*

Вид комара	Кол-во особей	Кол-во пулов, зараженных <i>D. repens</i>			Кол-во пулов, зараженных <i>D. immitis</i>		
		Голова-грудь	Брюшко	MIR (%)	Голова-грудь	Брюшко	MIR (%)
<i>Aedes albopictus</i>	366	1	0	0,3	0	5	1,4
<i>Aedes aegypti</i>	21	1	0	4,8	0	0	0

Лихорадка Западного Нила (ЛЗН). В конце прошлого века вирус Западного Нила (ВЗН) впервые выявили в Европе в Румынии (1996). Этот патоген вызывает вспышки инфекции среди людей и животных. С момента первого обнаружения ВЗН в Румынии, вирус распространился в другие государства континента. Вспышки ЛЗН регистрировали в Италии (1998), России (1999), Франции и Сербии (2000), Венгрии (2003), Чехии (1997), Греции (2011).

В 2015 году нами проведено изучение сравнительной зараженности комаров *Ae. aegypti* и *Ae. albopictus* и комаров других видов, собранных из природных популяций в 2012-2015 годах, вирусом Западного Нила (Таблица 3). Вирус обнаружили только в комарах *Ae. albopictus*, собранных в 2015 году. В комарах других видов вируса выявлено не было. И хотя случаев лихорадки Западного Нила на Черноморском побережье Кавказа не зарегистрировано, риск появления больных существует. К основному переносчику – комарам *p. Culex* могут присоединиться и комары *Ae. albopictus*.

Эпидемическая ситуация на обследованной территории осложняется тем, что за время наших наблюдений значительно расширился ареал комаров *Ae. albopictus* и появились новые для этого региона комары *Ae. koreicus*, которые в лабораторных условиях показали способность к переносу возбудителей лихорадки Денге, Западного Нила и японского энцефалита.

Таблица 3 - Зараженность комаров ВЗН, собранных из природных популяций

№	Вид комаров	Место сбора	Число особей	Год сбора	Конц. Расч. (копий)	Сред. Ст
1	<i>Aedes aegypti</i>	Туапсе	30	2015		
2	<i>Aedes albopictus</i>	Туапсе	20	2015		
3	<i>Aedes albopictus</i>	Джубга	3	2015	250	32,10
4	<i>Aedes albopictus</i>	Небуг	2	2015	300	31,00
5	<i>Cx. pipiens, Culiseta</i> и др.	Веселое	65	2015		
6	<i>Aedes albopictus</i>	Веселое	55	2015		
7	<i>Aedes albopictus</i>	Веселое	150	2012		
8	<i>Aedes albopictus</i>	Веселое	100	2013		
9	ПКО	Образец			2500	26,77
10	К-	Отрицательный контроль				
11	К+	Положительный контроль			10 000	24,81

ПОЛОЖЕНИЕ ВТОРОЕ. Изучение биологии, экологии, межвидового взаимодействия инвазивных видов комаров позволило разработать критерии, ограничивающие дальнейшее распространение инвазивных видов комаров на территории Российской Федерации.

В связи с ранее обнаруженными в 2001-2007 гг. комарами *Ae. aegypti* и в 2011 году *Ae. albopictus* на территории России, с 17 сентября по 03 октября 2012 года нами был проведен первый энтомологический мониторинг на Черноморском побережье Кавказа от Анапы до Адлерского района г. Сочи и частично в Абхазии (Пицунда и Новый Афон).

Большой Сочи занимает общую площадь 3 502 кв. км от реки Шепси до реки Псоу у границы с Республикой Абхазия. Протяжённость территории Большого Сочи 146 км, которая уходит по горным долинам на восток на расстояние от 40 до 60 км. Сочи, как и весь участок Российского Черноморского побережья южнее Туапсе, расположен в зоне влажных субтропиков, что сильно отличает этот регион от более северного участка побережья от Анапы до Туапсе, где господствует типичный полусухой средиземноморский климат. Климат, подобный Сочинскому, наблюдается в соседней Абхазии. Большой Сочи объединяет четыре района по порядку с юго-востока на северо-запад: Адлерский, Хостинский, Центральный и Лазаревский. В Адлерском районе обследовано 3 географические точки: с/х «Россия» в поселке Веселое на границе с Абхазией, Красная поляна и Эстосадок. В с/х «Россия» в парковой зоне рядом со старыми шинами, в которых было небольшое количество воды, при сборе «на себя» нападали *Ae. albopictus*, в 100 м от этого места в железной бочке с водой были собраны личинки, из которых в дальнейшем вылетали комары *Ae. aegypti*. В Красной Поляне в скоплении воды в старой шине найдены личинки комаров *Ae. albopictus*. Следует подчеркнуть, что эта самая восточная и далекая от моря (~43,5 км) точка, где были выявлены интересующие нас комары, тогда как еще выше, 6 км восточнее (Эстосадок) в шинах были только *An. plumbeus*.

В Хостинском районе в заповеднике «Тисо-Самшитовая роща» при входе в заповедник на равнинном участке рядом с частными домами нападали *Ae. albopictus*. По мере удаления от частного сектора и прохождения по маршруту комаров не было. Искусственных емкостей с водой для вышлюда *Ae. albopictus* не обнаружено.

В центральном районе г. Сочи на Курортном проспекте в бамбуковой роще было обнаружено два рядом расположенных водоема: естественный (подтопление грунтовых вод) и искусственный (скомканный целлофан). В естественном водоеме обнаружены личинки комаров комплекса *Anopheles maculipennis*, в искусственном – личинки *Ae. albopictus*.

Комары вида *Ae. albopictus* активно нападали на человека. На Мамайке центрального района г. Сочи в частном секторе комаров собирали в разных удаленных от моря местах: в 10 м от моря нападали *Ae. albopictus*, в 100 м – в доме нападали *Ae. aegypti*, на улице - *Ae. albopictus*. Вышлюд из личинок, собранных в бочке с водой – в основном *Ae. aegypti*. *Ae. albopictus* был представлен единичными особями. На расстоянии 400 м от моря – 17-24 сентября 2012 года активно нападали *Ae. albopictus* (за 30 минут было собрано «на себе» 85 комаров). Из личинок,

собранных в бочках, флягах, ванной выплаживались комары только этого вида. 1 октября 2012 года комары *Ae. albopictus* практически не нападали, в тех же емкостях с водой отмечалась высокая численность личинок *Culex pipiens*, личинок *Ae. albopictus* не обнаружили. В ловушках для сбора яиц были кладки *Cx. pipiens*.

В Лазаревском р-не в пос. Дагомыс и Лазаревское нападали *Ae. albopictus*. Из личинок, собранных в пос. Лазаревском из искусственных водоемов, выплаживались комары *Ae. aegypti*.

В г. Туапсе и севернее в пос. Агой в шинах найдены только личинки *Ae. aegypti*. На юг от г. Туапсе в п. Южный (6 км) доминировал также *Ae. aegypti*. На востоке Туапсинского р-на в п. Кирпичный (~15 км от берега моря), были собраны личинки *Ae. aegypti* и *Ae. albopictus*. Самой северной точкой, в которой обнаружен *Ae. albopictus*, наряду с личинками комаров р. *Culex* и *Anopheles*, оказался п. Джубга.

В Абхазии в г. Пицунда на кладбище в пластиковом ведре с водой отмечались в основном личинки *Ae. albopictus*, *Ae. aegypti* были единичными. В Новом Афоне в жилой зоне в алюминиевой кастрюле соотношение другое - преобладали личинки *Ae. aegypti*

Севернее в городах Анапа, Новороссийск и Геленджик *Ae. aegypti* и *Ae. albopictus* не найдены (Рисунок 2).



Рисунок 2 - Сбор комаров на Черноморском побережье Кавказа в 2012 г

Дальнейшие наблюдения в 2013-2018 году показали, что численность собранных *Ae. albopictus* значительно превышает число *Ae. aegypti* в районе от Адлера до Дагомыса. В 2012, 2013 и 2016 годах в Хосте и Дагомысе *Ae. aegypti* вообще не были обнаружены. Однако, *Ae.*

aegypti численно преобладают в 2012 и 2013 годах на севере региона в Туапсе (Таблица 1). В 2017 году сборы проводили только в Адлере и Сочи, личинки и имаго принадлежали исключительно к виду *Ae. albopictus*. В сборах взрослых комаров вид *Ae. aegypti* отсутствовал. Личинки *Ae. aegypti* не были найдены в типичных для комаров этого вида местах размножения. Только смыв водой из высохшей автомобильной покрышки, найденной в Адлере в августе 2017 г., показал, что в ней сохранились жизнеспособные яйца *Ae. aegypti* и *Ae. albopictus*, причем с преобладанием яиц *Ae. aegypti*, из которых в лаборатории были получены личинки и имаго. В 2018 году комаров *Ae. aegypti* не обнаружено на территории от Сухуми до Туапсе (Рисунок 3).

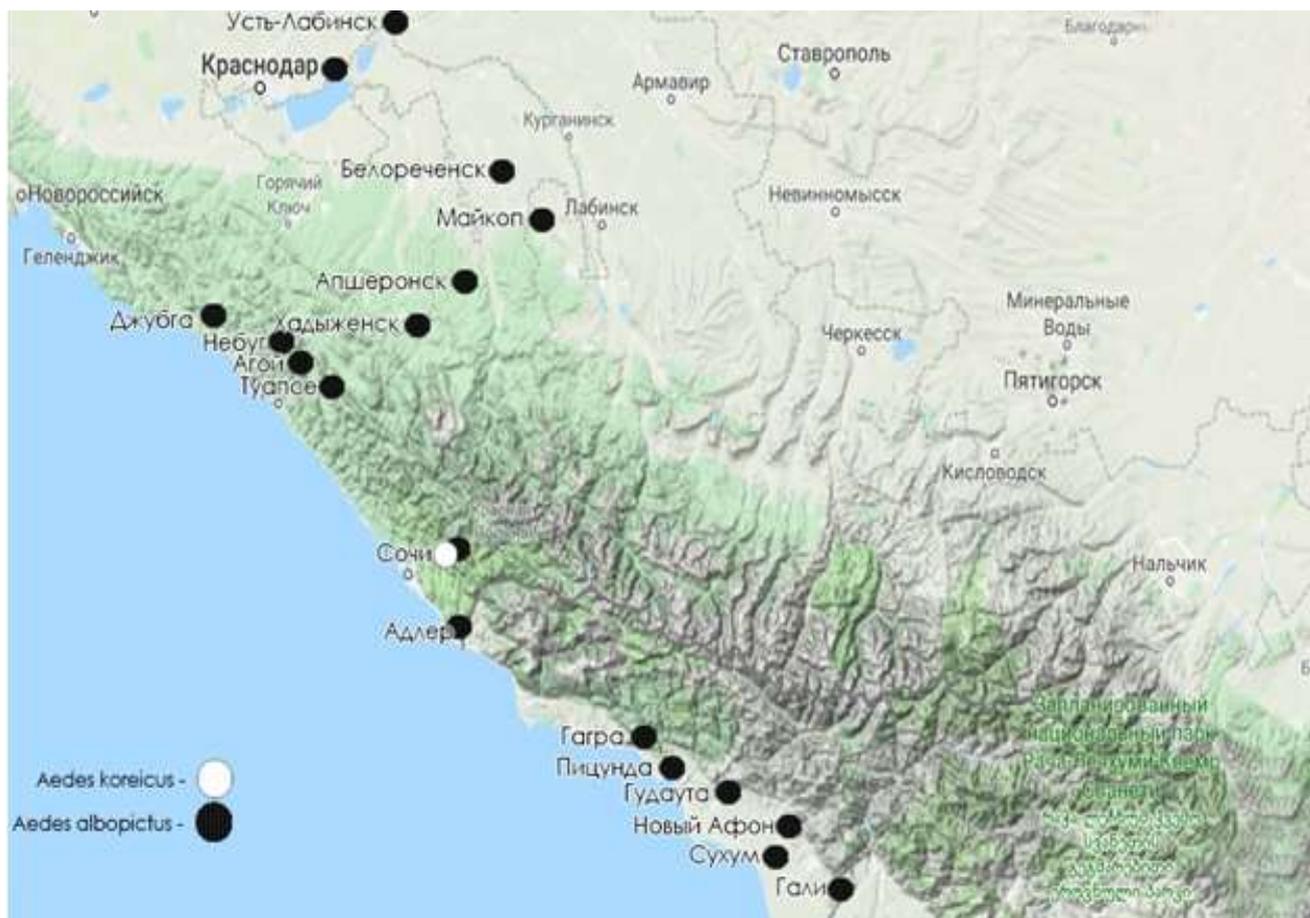


Рисунок 3 - Сбор комаров на Черноморском побережье Кавказа в 2018 г.

Анализ полученных данных свидетельствует о том, что происходит адаптация *Ae. albopictus* к более суровым условиям. Вид, характерный для зоны влажных субтропиков и мягко умеренного климата, успешно осваивает территорию с мягким континентальным климатом (Таблица 4).

Температура в зимний период играет важную ограничительную роль в распространении комаров *Ae. aegypti* и *Ae. albopictus*. Наиболее подвержены воздействию низких температур *Ae. aegypti*. Данный вид развивается без диапаузы и при понижении температуры яйца погибают. Необходимые условия (температура, влажность и количество осадков) для развития комаров

Ae. aegypti на территории Черноморского побережья Кавказа России от Адлера до Туапсе имеются. Комары в 20-40 годы прошлого века активно размножались на этой территории. Интенсивные комаро-истребительные мероприятия привели к их уничтожению. Однако *Ae. aegypti* появились вновь в начале XXI века и активно распространялись на этой территории до 2013 года. Появление на этой же территории комаров *Ae. albopictus* привело к значительному сокращению встречаемости *Ae. aegypti*. По нашему мнению, это связано с конкурентными взаимоотношениями этих двух видов комаров.

Таблица 4 - Обнаружение комаров *Ae. albopictus* в 2018 г. в разных климатических поясах

№	Места сборов	Средняя температура в январе	Средне-годовой уровень осадков (мм в год)	Климат
1	Сухум	6,1	1461	Влажный субтропический
2	Новый Афон	6,1	1461	
3	Гал	5,6	975	
4	Адлер	6,3	1700	
5	Сочи	6,1	1700	
6	Красная поляна	2,82	2023	Мягкий умеренный
7	Эстосадок	2,6	2023	
8	Туапсе	5,0	1463	Влажный субтропический
9	Апшеронск	1,8	644	Мягкий континентальный
10	Хадыженск	2,5	1000	
11	Майкоп	-0,5	772	
12	Белореченск	3,1	765	
13	Усть-Лабинск	-0,8	686	
14	Краснодар	0,6	735	

Распространение *Ae. albopictus* обусловлено экологической пластичностью вида, способностью яиц комаров сохранять жизнеспособность в течение нескольких месяцев в условиях пересыхания. Яйца *Ae. albopictus* переживают понижение температуры воздуха в стадии эмбриональной диапаузы. Наши исследования показали, что кратковременное снижение зимой температуры до -12°C -20°C не приводит к полной гибели популяции *Ae. albopictus* и там, где количество осадков за год выпадает не менее 500 мм, популяция комаров восстанавливается. Количество осадков на территории с теплым летом одна из весомых причин наличия или отсутствия инвазивных видов комаров.

Комары *Ae. aegypti* и *Ae. albopictus* размножаются в основном внутри городов, населенных пунктов, поэтому большую роль могут сыграть профилактические мероприятия, работа с населением и администрацией районов по сокращению мест выплода комаров, уборкой свалок, где в достаточном количестве встречаются пластиковые упаковки, в которых скапливается дождевая вода и там развиваются личинки комаров.



Рисунок 4 - Места сборов комаров на Крымском полуострове

Примером эффективной борьбы с переносчиком может служить п. Южный (~15 км от берега моря) на востоке Туапсинского р-на, где нами в 2012 г. в шинах были собраны личинки *Ae. aegypti* и *Ae. albopictus*. В 2013 г. в том же поселке все шины были убраны, личинок и нападающих комаров не обнаружили. Однако для снижения численности *Ae. albopictus* этих мер недостаточно, так как этот вид экзофильный и хорошо приспособлен к обитанию как в населенных пунктах так и вне их, где комары выплывают в дуплах деревьев, в бамбуковых рощах, в пазухах листьев, т. е. в естественных местах скопления воды и могут питаться на млекопитающих, а также птицах, рептилиях, амфибиях.

Комары *Ae. koreicus* встречаются преимущественно в населенных пунктах или вблизи них. Личинки встречаются в течение лета в емкостях для хранения воды. Комары экзофильные, нападают под открытым небом. Питаются в основном на людях и сельскохозяйственных животных и представляют несомненную угрозу для человека в качестве переносчика возбудителей арбовирусных лихорадок. Ареал комаров на территории России расширяется.

Этот вид мы впервые обнаружили в 2013 году в Сочи. В 2016 году в Крыму нами также обнаружен *Ae. koreicus*.

Крым по своим климатическим характеристикам представляется территорией возможного укоренения инвазивных видов комаров. Существование прогнозируемого риска изменения фауны комаров – переносчиков в Крыму диктует необходимость организации и осуществления эффективного энтомологического мониторинга, как важной составляющей обеспечения биологической безопасности России. В августе 2016 г. была обследована территория на наличие инвазивных видов комаров южного побережья Крыма. Основной сбор комаров проводили на б/о Фрунзенец, б/о Прибой, г.о. Севастополь пос. Лесное и г. Симферополь. База отдыха «Фрунзенец» расположена в километре от села им. Фрунзе на берегу озера Багайлы. Берег озера зарос камышом, глубина озера около берега достигала 1 м. В зарослях камыша были собраны личинки комаров. Из озера отмечался вылет имаго. База отдыха «Прибой» находится в поселке Прибрежное, которое расположено в 300-500 метрах северо-западнее озера Сакское. Восточнее пункта сбора в 1 километре расположен город-курорт Саки - крупный населенный пункт с хорошо развитым частным сектором. В сборах ловушкой на базе отдыха «Прибой» обнаружен один самец *Ae. aegypti*. При уточнении правильности таксономического определения по морфологическим признакам для *Ae. aegypti* был проведен анализ ДНК. Последовательность ДНК комара *Ae. aegypti*, полученная в результате секвенирования продукта амплификации ITS2 была зарегистрирована в GenBank под номером - MF072936. Недалеко от Севастополя в поселке Лесное в искусственном бетонированном водоеме площадью 23 кв. м и глубиной 0,5 м были обнаружены личинки *Cx. pipiens*, *Cs. longiareolata* и *Ae. koreicus*. Впервые на территории Крыма обнаружены не зарегистрированные ранее комары *Ae. aegypti* и *Ae. koreicus*. Город Севастополь расположен на юго-западе Крыма, климат умеренно-континентальный, с чертами субтропического средиземноморского типа, среднегодовая температура + 11⁰С, самый холодный месяц – январь +1,3⁰С, самый теплый - июль +22,3⁰С. Осадков здесь выпадает умеренное количество около 400 мм в год. Анализ ДНК области ITS2 личинок *Ae. koreicus*, зарегистрированных в Крыму, показал их идентичность ДНК *Ae. koreicus* из Бельгии (KF471636, JF430391) и из Сочи (HG763830). Последовательность ДНК *Ae. koreicus* из Крыма была зарегистрирована в GenBank под номером MF072937. В 2014 году мы предполагали, что в Крыму скорее всего появятся инвазивные комары *Ae. albopictus*, но не обнаружили ни личинок, ни имаго этого вида. Это может быть связано с тем, что недостаточное количество осадков уменьшает количество и доступность мест размножения личинок. Однако не исключали, что самым вероятным местом укоренения *Ae. albopictus* может быть г. Ялта, т. к. город защищен от холодных ветров, температура очень редко опускается до отрицательных значений, количество осадков достаточно для данного вида комаров и

действительно в 2018-2019 гг. комары *Ae. albopictus* были зарегистрированы в г. Ялте. Наличие единственного самца *Ae. aegypti* можно объяснить либо близостью частного сектора, на территории которого много временных искусственных емкостей для хранения воды, откуда возможен выплod этих комаров, либо случайным завозом с территории Черноморского побережья Кавказа. В Крыму, где был обнаружен самец *Ae. aegypti*, в июле-августе 2016 года отмечалась самая высокая температура в течение летнего сезона. Во время сбора комаров температура днем достигала 36⁰С, вечером опускалась лишь до 28-31⁰С. Влажность в июле-августе (67-68%) для этих комаров не комфортная. В периоде май - август дождь выпадал только в течение 2 дней, общее количество осадков за год составляет около 400 мм, тогда как в Большом Сочи, где зарегистрированы комары *Ae. aegypti*, этот показатель превышает 1500 мм.



Рисунок 5 – Водоем с личинками *Ae. koreicus* и *Cs. longiareolata*

ВЫВОДЫ

Доказано участие инвазивных видов комаров в качестве переносчиков возбудителей трансмиссивных болезней на территории России. Среди собранных на территории России комаров *Ae. aegypti* и *Ae. albopictus* регистрировались особи, в организме которых обнаруживались молекулярно-биологические маркеры дирофилярий *D. immitis* и *D. repens*, а в комарах *Ae. albopictus*, кроме того, и вируса Западного Нила.

Определен современный ареал инвазивных видов комаров на территории России. За 7 лет наблюдений (2012-2018 гг.) ареалы комаров *Ae. aegypti* и *Ae. albopictus* значительно изменились. Снизилась численность комаров *Ae. aegypti* и значительно расширился ареал *Ae. albopictus*, который регистрируется во влажном субтропическом климате, мягко умеренном и мягко континентальном от 43°08'88" с.ш, 40°82'18" в.д. до 45°10'28" с.ш, 39°12'11" в.д. (Абхазия - Большой Сочи - Туапсе – Майкоп - Краснодар). Азиатский вид комаров *Ae. koreicus* в последнее время активно расширяет ареал как на Черноморском побережье Кавказа, так и в Республике Крым.

Комары *Ae. albopictus* в зимний период способны адаптироваться к значительным кратковременным понижениям температуры до -12°C -20°C. Основным ограничивающим фактором для этого вида комаров является количество годовых осадков (менее 500 мм в год). Изучение комаров *Ae. albopictus* и *Ae. aegypti* Черноморского побережья по маркерам ядерной и митохондриальной ДНК и сравнение их с комарами из баз данных обнаружило низкий уровень изменчивости комаров этих видов, собранных в разных точках сбора и в разное время. Это свидетельствует о том, что расселение инвазивных видов комаров *Ae. aegypti* и особенно *Ae. albopictus* по миру происходит очень быстро и эволюционные изменения еще не успели произойти.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1) Разная биология и экология инвазивных видов комаров *Ae. aegypti*, *Ae. albopictus* требует индивидуального подхода в методах борьбы с каждым видом. Для снижения численности личинок обоих видов, в первую очередь, необходимо проводить работу по сокращению мест выплода комаров уборкой свалок, где в достаточном количестве встречается пластиковые упаковки, в которых скапливается дождевая вода и там развиваются личинки комаров. В случае возникновения эпидемических вспышек, противоэпидемические обработки необходимо проводить в местах дневок комаров: для *Ae. aegypti* - внутридомовые обработки, для *Ae. albopictus* – всевозможная растительность вокруг жилых домов, а также близлежащих лесных массивов.

2) Результаты, полученные в ходе выполнения работы, могут служить основой для разработки программы эффективного контроля численности инвазивных видов комаров на территории Российской Федерации.

3) Изученные показатели, необходимые для укоренения инвазивных видов комаров на той или иной территории, позволяют составить прогноз дальнейшего их распространения.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Ganushkina L.A., Detection of *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus*, and *Aedes koreicus* in the area of Sochi, Russia. Ganushkina L.A., **Patraman I.V.**, Litvinov S.K., Sergiev V.P., Rezza G., Migliorini L. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**. 2016. Т. 16. № 1. С. 58-60. DOI 10.1089/vbz.2014.1761 [Scopus]

2. Безжонова О.В., Первая находка инвазивного вида *Aedes* (Finlaya) *koreicus* (Edwards, 1917) в Европейской части России. Безжонова О.В., **Патраман И.В.**, Ганушкина Л.А., Вышемирский О.И., Сергиев В.П. **Медицинская паразитология и паразитарные болезни**. 2014. № 1. С. 16-19. PMID: 24738221 [Scopus]

3. Ганушкина Л.А., Распространение комаров *Aedes* (Stegomyia) *aegypti* L. и *Aedes* (Stegomyia) *albopictus* SKUSE на Черноморском побережье Кавказа. Ганушкина Л.А., Безжонова О.В., **Патраман И.В.**, Таныгина Е.Ю., Сергиев В.П. **Медицинская паразитология и паразитарные болезни**. 2013. № 1. С. 45-46. [ВАК]

4. Ганушкина Л.А., Оценка риска возникновения арбовирусных инфекций в России. Ганушкина Л.А., Морозов Е.Н., **Патраман И.В.**, Вышемирский О.И., Агумава А.А. **Медицинская паразитология и паразитарные болезни**. 2017. № 1. С. 9-14. [ВАК]

5. Ганушкина Л.А., Оценка риска расширения ареала комаров *Aedes aegypti* L. и *Aedes albopictus* Skuse. на территории России. Ганушкина Л.А., Морозова Л.Ф., **Патраман И.В.**, Сергиев В.П. **Медицинская паразитология и паразитарные болезни**. 2014. № 4. С. 8-10. [ВАК]

6. Федорова М.В., Завозные виды комаров на Черноморском побережье Кавказа: современные ареалы. Федорова М.В., Швец О.Г., **Патраман И.В.**, Медяник И.М., Отставнова А.Д., Леншин С.В., Вышемирский О.И. **Медицинская паразитология и паразитарные болезни**. 2019. № 1. С. 47-55. [ВАК]

7. Шайкевич Е.В., Инвазивные Виды *Aedes albopictus* и *Aedes aegypti* на Черноморском побережье Краснодарского края: генетика (Co1, Its2), зараженность Wolbachia и Dirofilaria. Шайкевич Е.В., Сергиев В.П., **Патраман И.В.**, Богачева А.С., Ракова В.М., Зея О.П., Ганушкина Л.А. **Вавиловский журнал генетики и селекции**. 2018. Т. 22. № 5. С. 574-585. [ВАК]