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 2020

Диссертационная работа выполнена в Институте медицинской паразитологии, тропических и трансмиссивных заболеваний им. Е.И. Марциновского ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М.Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет)

Научный руководитель:

доктор биологических наук

Ганушкина Людмила Алимпьевна

Официальные оппоненты:

Козлов Сергей Сергеевич, доктор медицинских наук, профессор, ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации, кафедра инфекционных болезней, профессор кафедры

Гордеев Михаил Иванович, доктор биологических наук, профессор, ГОУ ВО Московской области «Московский государственный областной университет (МГОУ)», заведующий кафедрой общей биологии и биоэкологии биолого-химического факультета

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 (ФБУН РостовНИИ микробиологии и паразитологии Роспотребнадзора)

Защита состоится «27» апреля 2020 года в 14.00 часов на заседании диссертационного совета Д.208.040.15 при ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по адресу: 119991, г. Москва, ул. Трубецкая д.8,стр.2.

С диссертацией можно ознакомиться в ЦНМБ ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по адресу: 119034, г. Москва, Зубовский бульвар, д. 37/1 и на сайте организации http://www.sechenov.ru

Автореферат разослан «»	_ 2020 года
Ученый секретарь	
диссертационного совета Д.208.040.15	
доктор медицинских наук, профессор	Лихтерман Болислав Леонидович

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 лихорадки. 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. 86 стран сообщили данные о вирусной инфекции Зика. 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 (41⁰38'45"с.ш. 41⁰38'30"в.д.), затем комаров этого вида начали выявлять далее, севернее до г. Туапсе (44⁰06'00"с.ш. 39⁰05'00"в.д.). С целью предупреждения распространения лихорадки Денге на территорию СССР, на Черноморском побережье в 1930-40 годы были проведены широкомасштабные комароистребительные мероприятия. С 1950-х гг. комаров *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 (Рябова Т.Е. с соавт. 2005). 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 наличии активно размножающейся популяции этого вида (Юничева Ю.В. с соавт. 2008).

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 (Ганушкина Л.А. с соавт. 2012), а случаи завоза лихорадки Денге

официально регистрируют с 2012 г. За последние 7 лет в России, было зарегистрировано 1060 завозных случаев Денге, 25 Зика, 5 Чикунгунья. В 2013 году на Черноморском побережье России выявлен азиатский вид *Aedes (Finlaya) koreicus* (Edwards, 1917), потенцильный переносчик арбовирусов и дирофилярий.

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 человеку 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. Инвазивные комары устанавливают жизнеспособную популяцию в новых для себя условиях. Прогнозирование их потенциального распространения является наиболее эффективным методом реализации адекватных контрольных действий. Однако в настоящее время адаптивные способности инвазивных комаров к вновь освоенным территориям недостаточно изучены.

Цель и задачи работы. Оценить эпидемическую значимость инвазивных комаров *Ae. aegypti*, *Ae. albopictus* и *Ae. koreicus* и дать прогноз их дальнейшего распространения на территории Российской Федерации.

Для достижения поставленной цели потребовалось решить следующие задачи:

- 1. Исследовать зараженность инвазивных комаров возбудителями трансмиссивных болезней.
- 2. Определить ареалы инвазивных видов комаров по результатам наблюдений 2012-2018 гг.
- 3. Охарактеризовать морфологические и молекулярные характеристики инвазивных комаров.
- 4. Определить фауну комаров на южном побережье Крыма.
- 5. Оценить факторы, влияющие на распространение инвазивных комаров.

Научная новизна. В результате проведенных исследований нами впервые:

1. Установлена зараженность комаров Ae. albopictus вирусом Западного Нила и Ae. aegypti, Ae. albopictus дирофиляриями Dirofilaria immitis и Dirofilaria repens.

- 2. Обновлены ареалы переносчиков трансмиссивных заболеваний *Ae. aegypti, Ae. albopictus* и впервые обнаруженного нами *Ae. koreicus* в России. Проведена их видовая идентификация, подтвержденная молекулярно-генетическим методом.
- 3. Сравнение комаров Ae. albopictus и Ae. aegypti Черноморского побережья с комарами из баз данных по маркерам ядерной и митохондриальной ДНК обнаружило низкий уровень изменчивости этих видов, собранных в разных местах и в разное время. Это свидетельствует об очень быстром расселении по миру инвазивных комаров Ae. aegypti и особенно Ae. albopictus и отсутствии эволюционных изменений.

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

Обследование территории в 2012-2013 годах Черноморского побережья Краснодарского края показало наличие укоренившихся популяций инвазивных 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. При проведении рекогносцировочных работ в 2013 году на Черноморском побережье России впервые выявлен азиатский вид Ae. koreicus. Естественным ареалом Ae. koreicus является Корея, Китай, Япония и Дальний Восток Российской Федерации.

Апробация результатов исследования. Основные положения диссертации были изложены на IV Ежегодном Всероссийском Конгрессе по инфекционным болезням 25-27 марта 2013 г., на Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы биологической и химической экологии» 4-5 декабря 2014 г., на Конференции Национальной организации дезинфекционистов декабрь 2015 г., на XI Международной зоологической научно-практической конференции «Актуальные проблемы зоологической науки в Беларуси 1-3 ноября 2017 г.

Личный вклад соискателя. Автор лично принимал активное участие в полевых сборах кровососущих комаров в течение 7 лет. Участвовал в проведении лабораторных экспериментов. Также проводил идентификацию на видовую принадлежность комаров современными методами диагностики. Активно информировал о возобновлении

популяции и появлении новых инвазивных кровососущих комаров в России, выступая на российских и международных конференциях. Автор совместно с сотрудниками НИИ Дезинфектологии Роспотребнадзора тестировал генератор аэрозоля регулируемой дисперсности (ГАРД) для регуляции численности кровососущих членистоногих.

Публикации. Является соавтором 9 публикаций. 5 из них опубликованы в журналах, индексируемых в базе Scopus/Web of Science, 7 – входят в перечень ВАК и 3 тезиса в материалах международных и всероссийских конференций, касающихся появления, распространения кровососущих комаров и оценки их эпидемиологической угрозы населению России.

Работа выполнена при частичной поддержке грантов РФФИ проект № 16-04-00091 «Комары *Aedes aegypti* L. и *Aedes albopictus* Skuse — новая биологическая угроза для юга Российской Федерации».

Участвовал в гранте РФФИ №19-04-00739 А «Распространение наследуемых бактериальных симбионтов насекомых путем горизонтального переноса».

Благодарности

Выражаю искреннюю благодарность своему научному руководителю Ганушкиной Людмиле Алимпьевне за неоценимый вклад в проведении исследований и помощь в 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.

Структура работы. Диссертация состоит из введения, пяти глав, заключения и списка использованной литературы в количестве 146 публикаций. Основная часть исследования изложена на 94 страницах, текст иллюстрирован 17 таблицами и 15 рисунками.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы. Комары нами были собраны на побережье Северного Кавказа в 2012-2018 гг. и на южном побережье Крыма в 2016 году. Для исследований были также использованы комары, собранные в 2007 году и в 2011 году. Имаго комаров *Ae*.

albopictus собирали на всех исследованных территориях в затененных местах «сбором на себе» эксгаустером. В некоторых случаях для сбора имаго использовали ловушку Electrofrog (LMD-KomplektPlus, Россия).

Самок комаров *Ae. aegypti* собирали внутри помещений, на летних кухнях, в подсобных летних помещениях также эксгаустером. Самцов этого вида - методом кошения воздушным сачком рядом с местом их выплода.

При сборе личинок комаров обследовали искусственные и естественные водоемы в городских и сельских населенных пунктах, в лесной полосе, приближенной к населенным пунктам, на кладбищах.

Из собранных личинок, куколок выплаживали имаго. Собранных имаго хранили сухими в чашках Петри на тонком слое ваты, а сверху закрывали фильтровальной бумагой. (Рис. 2).

Часть собранных личинок для морфологической и молекулярной идентификации фиксировали в 70^0 растворе спирта.

Для экологической характеристики водоемов измеряли рН и температуру воды.

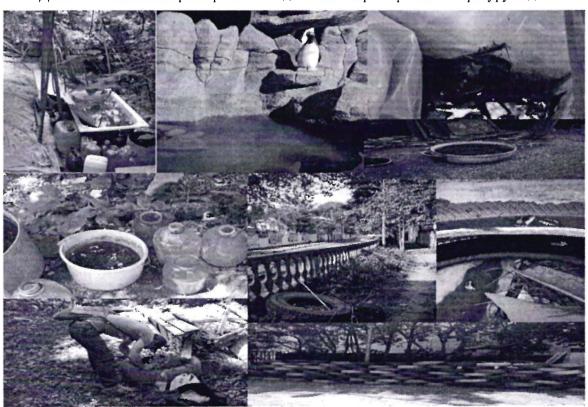


Рисунок 1. Места сбора личинок комаров Ae. albopictus и Ae. aegypti

Общая коллекция инвазивных комаров составила 3005 особей: 1430 особей Ae. aegypti, 1575 - Ae. albopictus (таблица 1), Ae. koreicus - 64.

Таблица 1. Даты и места сбора комаров Ae. aegypti и Ae. albopictus

Год/	Место	Координаты GPS	Ae.	Ae.
месяц	MICCIO	Координаты ОТ 3	aegypti	albopictus
2012 16.09 02.10	Адлер 43°25'44"с.ш.39°55'26"в.д.		3	24
	Хоста	43 ⁰ 30′53″с.ш.39 ⁰ 52'05"в.д.	0	47
	Сочи	43 ⁰ 35′07″с.ш.39 ⁰ 43′13″в.д.	6	116
	Мамайка	43 ⁰ 38′35″с.ш.39 ⁰ 42′34″в.д.	48	406
	Дагомыс	43 ⁰ 40′11″с.ш.39 ⁰ 40′07″ в.д.	0	24
	Лазаревская	43 ⁰ 54'31"с.ш.39 ⁰ 19'52"в.д.	31	48
	Туапсе	44006'19"с.ш.39004'48"в.д.	566	28
	НовыйАфон	43 ⁰ 04'50"с.ш.40 ⁰ 50'17"в.д.	45	6
	Пицунда	43 ⁰ 09'43" с.ш.40 ⁰ 20'27"в.д.	7	58
2013 г. 09.07- 29.07; 14.10- 22.10	Адлер	43°25'44"с.ш.39°55'26"в.д.	6	164
	Хоста	43 ⁰ 30′53″с.ш.39 ⁰ 52'05"в.д.	0	23
	Сочи	43 ⁰ 35′07″с.ш.39 ⁰ 43′13″в.д.	3	46
	Мамайка	43 ⁰ 38′35″с.ш.39 ⁰ 42′34″в.д.	3	34
	Лазаревское	43°54'31"с.ш.39°19'52"в.д.	17	19
	Туапсе	44 ⁰ 06'19"с.ш.39 ⁰ 04'48"в.д.	394	21
2014 г. 14.10- 28.10	Адлер	43°25°44"с.ш.39°55°26"в.д.	0	25
	Сочи	43 ⁰ 35′07″с.ш.39 ⁰ 43′13″в.д.	0	11
	Мамайка	43 ⁰ 38′35″с.ш.39 ⁰ 42′34″в.д.	0	5
	Лазаревская	43 ⁰ 54' с.ш.39 ⁰ 19'52"в.д.	0	8
2015 г.	Адлер	43 ⁰ 25'44"с.ш.39 ⁰ 55'26"в.д.	0	120
	Туапсе	44 ⁰ 06'19"с.ш.39 ⁰ 04'48"в.д.	30	20
2017 г.	Адлер	43 ⁰ 25'44"с.ш.39 ⁰ 55'26"в.д.	81	32
	Сочи	43 ⁰ 35′07″с.ш.39 ⁰ 43′13″в.д.	0	67
2018 г. 28.08.	Красная поляна сан. «Чистый воздух»	43°69′03′′с.ш. 40°21′61′′в.д.	0	2
	Эстосадок Кладбище	43°67′24′′с.ш.40°19′59′′в.д.	0	3
Веселое ул. Урицкого д. 1		43 ⁰ 38′94′′с.ш.39 ⁰ 98′70′′в.д.	0	20

Продолжение Таблицы 1

продолж	кение таолицы т.		· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	
Год/ месяц	Место	Координаты GPS	Ae. aegypti	Ae. albopictus
29.08.	Адлер Кладбище	43 ⁰ 42′73′′с.ш. 39 ⁰ 96′03′′в.д.	0	100
	Питомник для обезьян	43°43′52′′с.ш. 39°99′62′′в.д.	0	38
30.08.	Хадыженск Кладбище	44 ⁰ 43′58′′с.ш. 39 ⁰ 51′45′′в.д.	0	5
	Апшеронск Кладбище	44 ⁰ 46′26′′с.ш. 39 ⁰ 69′28′′в.д.	0	7
31.08.	Майкоп старое кладбище	44 ⁰ 63′68′′с.ш. 40 ⁰ 09′19′′в.д.	0	10
	Усть-Лабинск Кладбище	45°21′26′′с.ш. 39°65′20′′в.д.	0	16
	пгт. Яблоновское кладбище	45 ⁰ 10′28′′с.ш. 39 ⁰ 12′11′′в.д.	0	7
01.09.	Туапсе ул. Коммунистическая	44 ⁰ 10′28′′с.ш. 39 ⁰ 07′48′′в.д.	0	40
02.09.	Гудаута	43 ⁰ 10′60′′с.ш. 40 ⁰ 61′75′′в.д.	0	3
	Гали кладбище	42 ⁰ 62′67′′с.ш. 41 ⁰ 75′08′′в.д.	0	3
03.09.	Сухуми Ботанический сад	43°00′58′′с.ш. 41°02′38′′в.д.	0	30
	Новый Афон	43°08′88′′с.ш. 40°82′18′′в.д.	0	3
	Bcero		1241	1639

Определение комаров проводили как по морфологическим признакам (Гуцевич и др., 1970), так и методом ПЦР. До 30 особей из каждого места и года сбора использовали для идентификации с помощью ПЦР области второго внутреннего транскрибируемого спейсера кластера генов рРНК (ITS2). Для Ae. albopictus характерен фрагмент ПЦР размером примерно 500 п.н., для Ae. koreicus - 450 п.н., для Ae. aegypti - 340 п.н. Для выделения ДНК из комаров использовали набор DIAtom^{тм} DNAPrep (Изоген, Москва). Для амплификации области второго внутреннего транскрибируемого спейсера (ITS2) кластера генов рРНК были использованы наборы для амплификации Evrogen Encyclo PCRkit (Евроген, Москва) и праймеры, комплементарные к районам 5,8S и 28Sр ДНК. Амплификаты визуализировали в 1% агарозном геле, элюцию из геля проводили используя набор CleanUp (Евроген, Москва). Секвенирование продуктов ПЦР проводили

на ABIPRISM 310 с использованием BigDye Terminationkit (Applied Biosystems USA). Вновь полученные последовательности ДНК зарегистрированы в Генбанке.

Для выделения вируса Западного Нила использовали набор реагентов для выявления РНК вируса Западного Нила в биологическом материале методом полимеразной цепной реакции (GWH) с гибризационно – флюоресцентной детекцией «АмплиСенс®WNV-FL» R-V53RG,IQ.

Для выявления зараженности комаров дирофиляриями применяли метод анализа пулов: имаго комаров делили на брюшко и голово-грудной отдел и от 2 до 7 комаров объединяли в пулы согласно месту и дате сбора. В голово-грудном отделе регистрировали личинок L3. Зараженность комаров личинками Dirofilaria выявляли амплификацией участка ITS2 с использованием праймеров DIDR-F1 и DIDR-R1 (Rishniw et al., 2006).

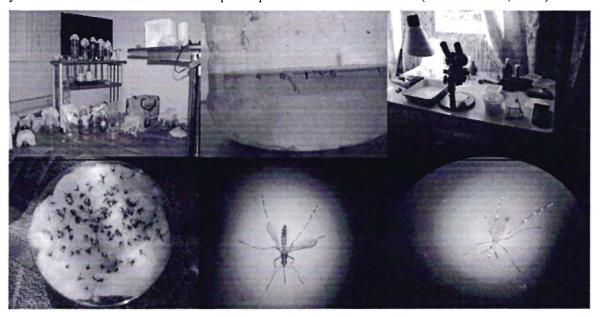


Рисунок 2. Лабораторная обработка разных стадий комаров, собранных в полевых условиях

Положение первое. Появление на территории Российской Федерации инвазивных комаров Ae. aegypti и Ae. albopictus — переносчиков 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 естественной зараженности комаров вирусом Западного Нила и

дирофиляриями: Dirofilaria repens и Dirofilaria immitis. Исследования проведенные с 2012 по 2018 год показали значительное расширение ареала комаров Ae. albopictus. Если в 2012 году территория, заселенная этим видом составляла 6 418,36 кв. км, то в 2019 году — 11 352 кв. км. Зарегистрирован на этой территории третий инвазивный вид — Ae. koreicus. Показана адаптация комаров Ae. albopictus к природным условиям Краснодарского края и республики Адыгея.

Начало XXI века ознаменовалось появлением на территории Российской Федерации в Краснодарском крае комаров Ae. aegypti в 2001-2004 гг. и Ae. albopictus в 2011 г. С этими видами комаров связаны многие эпидемические вспышки арбовирусных лихорадок во многих странах мира. За последние 15 лет наблюдается значительное повышение заболеваемости лихорадкой Денге, Чикунгунья, Зика. 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, учитывая, что с каждым годом увеличивается число завозных случаев этих лихорадок. Случаи лихорадки Денге официально регистрируются с 2012 г. За последние 7 лет в России было зарегистрированно 1 060 завозных случая Денге, 25 - Зика, 5 - Чикунгунья. Денге в 2012 году - 63 случая, в 2013 году - 170, в 2014 году - 105 случаев, в 2015 году - 136, в 2016 году – 145, в 2017 году – 196, в 2018 году – 258 случаев, за 10 месяцев 2019 года – 332 случая. Заражение происходило при посещении туристами Таиланда, Вьетнама, Индонезии, Индии, Бангладеш, Гонконга, Мальдивских островов.

Согласно оценкам ВОЗ, в госпитализации ежегодно нуждаются 500 000 человек с тяжелой Денге, из которых 2,5% умирает. Первоначально переносчиком возбудителя лихорадки Денге считали только комаров Ae. aegypti. Дальнейшие исследования доказали, что переносчиками вируса могут быть и комары Ae. albopictus.

Чикунгунья выявлена более чем в 60 странах Азии, Африки, Европы и Америки. С комарами рода *Aedes* вирус распространился в страны юго-восточной Азии и оттуда в южные регионы Европы. Переносчиком вируса на урбанизированных территориях стали комары *Ae. albopictus* и *Ae. aegypti*, в циркуляцию вируса включился человек.

По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) возбудители лихорадки Зика передаются главным образом комарами. Первые изоляты вируса Зика были получены из Aedes (Stegomyia) africanus в Африке, и от Ae. aegypti в Юго-Восточной Азии, что позволило сделать вывод о том, что комары рода Aedes являются основными переносчиками вируса Зика.

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 в качестве переносчика дирофиляриоза, где микрофилярии развивались до 3 возраста, много раз исследовались.

Нами проверены 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 (Табл.2).

Таблица 2. Зараженность комаров дирофиляриями D. immitis u D. repens

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

Из литературы известно, что *Ae. koreicus* хорошо заражается дирофиляриями как в лабораторных условиях, так и обнаруживается в комарах, обранных в полевых условиях.

Лихорадка Западного Нила (ЛЗН). В конце прошлого века ВЗН, вызывая вспышки инфекции среди людей и животных, впервые выявили в Европе, в Румынии

(1996). С момента первого обнаружения ВЗН в Европе, вирус распространился в другие государства континента. Вспышки лихорадки Западного Нила регистрировали в странах: Италия (1998), Россия (1999), Франция и Сербия (2000), Венгрия (2003), Чехия (1997), Греция (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. Вирус обнаружили только в комарах *Ae. albopictus*, собранных в 2015 году. В комарах других видов вируса не было. И хотя случаев лихорадки Западного Нила на Черноморском побережье Кавказа не зарегистрировано, ситуацию необходимо контролировать. К основному переносчику – комарам *p. Culex* могут присоединиться и комары *Ae. albopictus*.

Таблица 3. Зараженность комаров ВЗН, собранных из природных популяций.

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

Эпидемиологическая ситуация на обследованной территории осложняется еще несколькими факторами:

- За время наших наблюдений значительно расширился ареал комаров *Ae. albopictus* -в 2012 году территория, заселенная этим видом, составляла 6 418,36 кв. км, то в 2019 году 11 352 кв. км.
- Происходит адаптация комаров *Ae. albopictus* к природным условиям, вид вышел из зоны влажных субтропиков и сухого средиземноморского климата и успешно осваивает зону с мягким континентальным климатом.
- В центральном районе Сочи (мкр. Мамайка) в 2013 г. в 400 метрах от берега моря на территории дачи около лесного массива в емкостях для сбора дождевой воды (металлический бак, ванна, алюминиевая кастрюля) нами впервые выявлен азиатский вид *Ae. koreicus* на юге Европейской части России. Естественным ареалом *Ae. koreicus* является Корея, Китай, Япония и Дальний Восток Российской Федерации.

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

В связи с ранее обнаруженными в 2001-2007 гг. комарами *Ae. aegypti* и в 2011 году комарами *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 господствует типичный побережья от Анапы ДО Туапсе, где полусухой средиземноморский климат. Климат, подобный Сочинскому, наблюдается в соседней Абхазии. Большой Сочи объединяет четыре района по порядку с юго-востока на северозапад: Адлерский, Хостинский, Центральный и Лазаревский. В Адлерском районе обследовано 3 географические точки: c/x «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 Ае.

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 найдено. Искусственных емкостей с водой для выплода *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 — личинки комаров комплекса Anopheles maculipennis, в искусственном — личинки Ae. albopictus.

Комары этого вида 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. Выплод из личинок, собранных в бочке с водой — в основном Ae. aegypti, а Ae. albopictus был представлен единичными особями. На расстоянии 400 м. от моря — 17-24 сентября активно нападали Ae. albopictus (за 30 минут 85 комаров) и из личинок, собранных в бочках, флягах, ванной выплаживались комары только этого вида. 1 октября комары Ae. albopictus практически не нападали, а 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 Лазаревская 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 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, где был 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*, а *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 (Рис. 3).

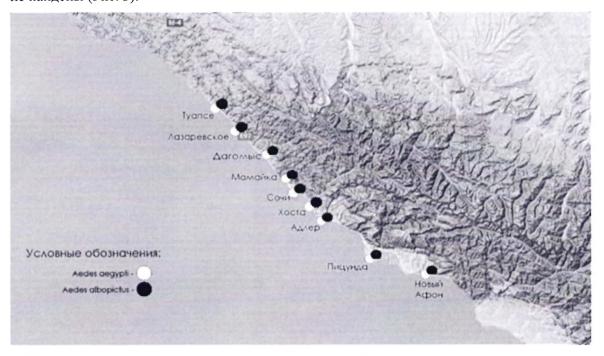


Рисунок 3. Сбор комаров на Черноморском побережье Кавказа в 2012 г.

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 4. Сбор комаров на Черноморском побережье Кавказа в 2018 г.

Анализ полученных данных свидетельствует о том, что $Ae.\ albopictus$ вышел из зоны влажных субтропиков и сухого средиземноморского климата и успешно осваивает зону с мягким континентальным климатом (Таб. 4). Считается, что северная граница ареала $Ae.\ albopictus$ проходит по январской изотерме 0°C - 5°C . Исходя из приведенных данных, препятствий для укоренения комаров $Ae.\ albopictus$ на данной территории нет. Средняя температура и количество осадков соответствует требованиям биологии данного вида комара. По последним данным ограничивающим фактором для комаров $Ae.\ albopictus$ является низкий уровень осадков за год — менее 500 мм. Сборы комаров в 2018 году показали наличие только комаров $Ae.\ albopictus$ при отсутствии комаров $Ae.\ aegypti$ в указанных пунктах (Рис. 4, таб. 4).

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

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

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 1920-40 годы прошлого века активно размножались на этой территории. Интенсивные комароистребительные 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.

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 $12-20~^{0}\mathrm{C}$ 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 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 встречается пластиковые упаковки, в которых скапливается дождевая вода и там развиваются личинки комаров. Примером 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. Численность Ae. albopictus снизить сложнее, так как этот вид экзофильный и хорошо приспособлен к обитанию как в населенных пунктах так вне их, где выплаживаются в дуплах деревьев, в бамбуковых рощах, в пазухах листьев, т. е. в естественных скоплениях воды и может питаться на млекопитающих, а также птицах, рептилиях, амфибиях.

В дальнейшем необходимо дать эпидемиологическую оценку нового для Европейской части России вида *Ae. koreicus* и определить его ареал. Мы этот вид впервые обнаружили в 2013 году в Сочи (район Мамайка), затем Федорой М.В. с соавт. в 2016 г. и 2018 г. также в Сочи. В 2016 году в Крыму нами также обнаружен этот вид комаров. Известно, что *Ae. koreicus* в лабораторных условиях показал способность к переносу арбовирусов Денге, Западного Нила и японского энцефалита.

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 южного побережья Крыма на наличие инвазивных комаров.

Основной сбор комаров проводили на б/о Фрунзенец, б/о Прибой, г.о. Севастополь пос. Лесное и г. Симферополь.

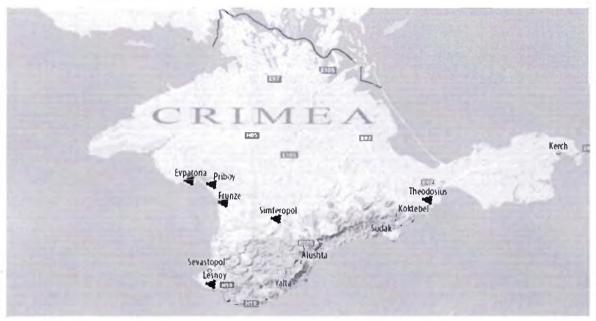


Рисунок 5. Места сбора комаров в Крыму

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*. Для уточнения правильности таксономического определения по морфологическим признакам для *Ae. aegypti* был проведен анализ ДНК. Сравнение нуклеотидных последовательностей ITS2 показало, что *Ae. aegypti* из Крыма практически идентичен *Ae. aegypti*, зарегистрированным в GenBank (например, KF471583, JX423805, KU497616, KU497614, JX423807) и отличается от обнаруженного в 2011 году в Сочи (НЕ820724) инсерцией из двух нуклеотидов. 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 M^2 и глубиной 0,5 м были обнаружены личинки Cx pipiens, Cs longiareolata и Ae koreicus.



Рисунок 6. Водоем, где были обнаружены личинки Ae. koreicus и Cs. longiareolata

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 + 11°C, самый холодный месяц - январь (+1,3°C), самый теплый - июль (+22,3°C). 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 (КF471636, JF430391) и из Сочи (НG763830). Последовательность ДНК *Ae. koreicus* из Крыма была зарегистрирована в GenBank под номером МF072937.

Наличие единственного самца *Ae. aegypti* можно объяснить либо близостью частного сектора, на территории которого много временных искусственных емкостей для хранения воды и откуда возможен выплод 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 36 °C, вечером опускалась лишь до 28-31°C. 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 *Ае. аедурті*, этот показатель превышает 1500 мм.

Выводы

- 1. Собранные на территории России комары Ae. aegypti и Ae. albopictus заражены дирофиляриями D. immitis и D. repens и Ae. albopictus вирусом Западного Нила.
- 2. Определен современный ареал инвазивных комаров на территории России. За 6 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 (мягко умеренном) 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 Тупсе Майкоп Краснодар). Азиатский вид комаров Ae. koreicus в последнее время активно расширяет ареал как на Черноморском побережье Кавказа, так и Республике Крым.
- 3. Изучение 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 Ae. aegypti и особенно Ae. albopictus по миру происходит очень быстро и эволюционные изменения еще не успели произойти.
- 4. 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.
- 5. Комары Ae. albopictus в зимний период способны адаптироваться к значительным кратковременным понижениям температуры до -12 0 C-20 0 C. Основным ограничивающим фактором для этого вида комаров является количество годовых осадков (менее 500 мм. в год).

Практические рекомендации

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

- 2) Изученные показатели, необходимые для укоренения инвазивных комаров на той или иной территории, позволяют составить прогноз дальнейшего их распространения.
- 3) Разная биология и экология инвазивных комаров Ae. aegypti, Ae. albopictus требует индивидуального подхода методов 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 противоимагинальные 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.

По теме диссертационного исследования автором опубликованы следующие работы:

- 1. Ганушкина Л.А., Безжонова О.В., Патраман И.В., Таныгина Е.Ю., Сергиев В.П. Распространение комаров Aedes (Stegomyia) aegypti L. и Aedes (Stegomyia) albopictus Skuse на Черноморском побережье Кавказа. //Медицинская паразитология и паразитарные болезни. 2013. № 1. С. 45-46.
- 2. Безжонова О.В., Патраман И.В., Ганушкина Л.А., Вышемирский О.И., Сергиев В.П. Первая находка инвазивного вида *Aedes* (*Finlaya*) *koreicus* (Edwards, 1917) в Европейской части России. //Медицинская паразитология и паразитарные болезни. 2014. № 1. С. 16-19.
- 3. Патраман И.В., Ганушкина Л.А. Инвазивные виды комаров на Черноморском побережье Российской Федерации. В сборнике: Актуальные проблемы биологической и химической экологии. //Сборник материалов IV Международной научно-практической конференции. 2014. С. 192-194.
- 4. Ганушкина Л.А., Морозова Л.Ф., Патраман И.В., Сергиев В.П. Оценка риска расширения ареала комаров Aedes aegypti L. и Aedes albopictus Skuse. на территории России. //Медицинская паразитология и паразитарные болезни. 2014. № 4. С. 8-10.
- 5. Ganushkina L.A., Patraman I.V., Litvinov S.K., Sergiev V.P., Rezza G., Migliorini L. **Detection of** *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus*, and *Aedes koreicus* in the area of Sochi, Russia. Vector-Borne and Zoonotic Diseases. 2016. T. 16. № 1. C. 58-60.

- 6. Ганушкина Л.А., Морозов Е.Н., Патраман И.В., Вышемирский О.И., Агумава А.А. Оценка риска возникновения арбовирусных инфекций в России. //Медицинская паразитология и паразитарные болезни. 2017. № 1. С. 9-14.
- 7. Сергиев В.П., Ганушкина Л.А., Патраман И.В., Жиренкина Е.Н., Ракова В.М., Баранова А.М. Внедрение результатов научных исследований в обучение врачей по специальности "Паразитология". //Медицинская паразитология и паразитарные болезни. 2017. № 2. С. 49-54.
- 8. Шайкевич Е.В., Патраман И.В., Богачева А.С., Ракова В.М., Зеля О.П., Ганушкина Л.А. Инвазивные виды Aedes albopictus и Aedes aegypti на Черноморском побережье Краснодарского края: генетика (Coi, Its2), зараженность Wolbachia и Dirofilaria. //Вавиловский журнал генетики и селекции. 2018. Т. 22. № 5. С. 574-585.
- 9. Федорова М.В., Швец О.Г., Патраман И.В., Медяник И.М., Отставнова А.Д., Леншин С.В., Вышемирский О.И. Завозные виды комаров на Черноморском побережье Кавказа: современные ареалы. //Медицинская паразитология и паразитарные болезни. 2019. № 1. С. 47-55.