

На правах рукописи

БАРАНЕЦ МАРИНА СЕРГЕЕВНА

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

03.02.11 – Паразитология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Москва – 2020

Работа выполнена в Федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первом Московском государственном медицинском университете имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет).

Научный руководитель:

доктор биологических наук,
профессор

Понировский Евгений Николаевич

Официальные оппоненты:

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

Довгалёв Анатолий Семёнович – доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра паразитологии и дезинфекционного дела, заведующий кафедрой.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Курский государственный университет».

Защита диссертации 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 имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по адресу: 119991, г. Москва, ул. Трубецкая д. 8, стр. 2.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ЦНМБ ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени 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 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета Д **208.040.15**
доктор медицинских наук, профессор

Лихтерман Болеслав Леонидович

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Природно-климатические условия Крымского полуострова благоприятны для обитания различных видов moskitov (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae), которые являются назойливыми кровососущими насекомыми, вызывающие у людей аллергические реакции, дерматиты, и переносчиками возбудителей протозойных (лейшманиозы), вирусных (moskitnye lixoradki и вирусы комплекса везикулярного стоматита) и бактериальных (бартонеллез) инфекций. Из заболеваний, передаваемых ими на этой территории, распространены moskitnaya lixoradka (МЛ) – лихорадка паппатачи и висцеральный лейшманиоз (ВЛ). Лихорадка паппатачи регистрировалась в Крыму в виде вспышек в первой половине XX столетия. В настоящее время сведения о заболеваемости отсутствуют. В тоже время трансвариальная 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. ВЛ регистрируется в настоящее время в виде спорадических случаев в южной и юго-восточной части полуострова. Особенности передачи ВЛ, наличие переносчиков и резервуаров инфекции 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.

Одним из важнейших разделов в системе эпидемиологического надзора за МЛ и ВЛ является изучение энтомологической обстановки и определение медицинского значения отдельных видов moskitov. Учитывая, что наблюдения за moskitami в Крыму были прекращены в конце 50-х – начале 60-х гг. XX столетия, а также существенные изменения, связанные с урбанизацией и климатом, весьма актуальным является изучение энтомологической обстановки в настоящее время. Такие исследования в первую очередь помогут определить риск заражения населения на конкретных территориях и разработать рациональную систему эпидемиологического

надзора. Отсутствие каких-либо литературных сведений о москитах Крыма за последние 50 лет свидетельствует о недооценке их медицинской значимости.

Степень разработанности темы исследования

В России работы по изучению москитов Крымского полуострова проводились начиная с 1923 года и были связаны с проблемой лихорадки паппатачи. Поскольку единственный известный переносчик этого заболевания – *Phlebotomus papatasi*, все исследования были направлены на изучение биологии, экологии и медицинского значения этого вида, остальным видам не уделялось должного внимания. Последние исследования по москитам Крыма проводились А.В. Долматовой в 1950-х годах. С подавлением численности *Ph. papatasi* в очагах лихорадки паппатачи и исчезновением этого заболевания все исследования по изучению москитов Крыма прекратились.

Исходя из вышеизложенного, были поставлены цель и задачи исследований.

Цель исследования: определить медицинское значение москитов 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 москитами на территории черноморского побережья Крымского полуострова.
2. Определить видовой состав москитов 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 москитах с целью выявления возбудителя ВЛ *Leishmania infantum*.
4. Определить медицинское значение москитов черноморского побережья Крымского полуострова.

Научная новизна исследования

1. Впервые за последние 50 лет было проведено комплексное изучение фауны москитов черноморского побережья Крымского полуострова в соответствии с

современной номенклатурой, их распространение, биотопическая приуроченность, 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 и могут быть использованы при составлении регионального кадастра животного мира.

Внедрение научных результатов в практику

Материалы исследований используются в виде лекций, семинарских и практических занятий на кафедре тропической медицины и паразитарных болезней МПФ 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», а также на кафедре экологии и зоологии факультета биологии и химии Таврической академии ФГАОУ ВО «Крымский Федеральный Университет им. В.И. Вернадского» по направлению 06.03.01 - биология.

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.

Основные материалы исследований были доложены и обсуждены:

- 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.

Диссертация апробирована на заседании Института медицинской паразитологии, тропических и трансмиссивных заболеваний им. Е.И. Марциновского ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (протокол № 3 от «26» июня 2019 г).

Личный вклад соискателя

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

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

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

Публикации

По материалам исследований 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 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, трех глав собственных

исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы, включающего 170 источников, из которых 74 – отечественных и 96 зарубежных авторов. Работа иллюстрирована 8 таблицами и 22 рисунками.

Благодарности

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

*Автор выражает глубокую благодарность всем участникам этого проекта – сотрудникам кафедры экологии и зоологии Таврической академии ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского», особенно ассистентам кафедры В.Н. Разумейко и М.В. Ончурову, за помощь в организации и проведении полевых исследований; руководителю лаборатории биологии *Trypanosomatidae*, Остравский Университет (Чехия) В.Ю. Юрченко и всем его сотрудникам за предоставленную возможность и помощь в проведении молекулярных исследований; сотруднику лаборатории ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Крым и городе федерального значения Севастополе» Н.Н. Товпинец за консультативную помощь.*

Искреннюю признательность автор выражает научному руководителю д.б.н., профессору, в.н.с. Института медицинской паразитологии, тропических и трансмиссивных заболеваний им. Е.И. Марциновского ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) Е.Н. Понировскому.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы, объем и методы исследования

Для решения поставленных задач применяли полевые и лабораторные методы исследований.

Полевые методы

Полевые методы включали сбор имаго москитов в течении трех лет (2016, 2017, 2019 гг.) в период их сезонной активности в 19 населенных пунктах и их окрестностях вдоль черноморского побережья Крымского полуострова, начиная от юго-западной его части г. Севастополя, и заканчивая в г. Феодосии – на юго-востоке черноморского побережья, участок от Балаклавы до Коктебеля относится к Южному Берегу Крыма (ЮБК) (Рисунок 1).



Рисунок 1 – Обследованные населенные пункты

Для удобства и по климатогеографическим признакам исследуемая территория условно разделена на 2 части: южное побережье Крымского полуострова – от г. Севастополя до г. Алушты, юго-восточное – от г. Алушты до г. Феодосии.

За период исследований отловлено 1562 экземпляра москитов с помощью – 1319 липких листов, размещенных внутри помещений и на открытых территориях, как вблизи источников света, так и без них. Также москитов отлавливали эксгаустером в ночные часы в закрытых освещенных помещениях и на себе в открытых биотопах.

Лабораторные методы исследований

На базе Института медицинской паразитологии, тропических и трансмиссивных заболеваний им. Е.И. Марциновского ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) проводилось:

1. Определение физиологического возраста самок. Физиологический возраст устанавливали путем определения количества повторных гонотрофических циклов у 173 самок, находящихся на I стадии пищеварения по различиям в структуре яичников.

2. Приготовление постоянных препаратов. Для определения видовой принадлежности в условиях лаборатории приготавливали постоянные препараты, помещая москитов в жидкость Фора.

3. Морфологическая идентификация москитов. Все собранные экземпляры определены до вида по определительным таблицам (Артемьев М.М., 1984; Перфильев П.П., 1966).

В лаборатории биологии Trypanosomatidae, Остравский Университет, г. Острава, Чехия проведены молекулярные методы исследований (ПЦР):

1. Молекулярная идентификация москитов. Для видовой идентификации москитов использовали метод ДНК-штрихкодирования (DNA barcoding) включающий несколько этапов: выделение ДНК, амплификация, электрофорез, секвенирование. Для амплификации фрагмента длиной 710 п.о. 5'-фрагмента первой субъединицы митохондриального гена, кодирующего белок цитохром-С-оксидазу (COI) использовали универсальные праймеры: LCO1490 и HCO2198.

2. Определение зараженности москитов представителями семейства Trypanosomatidae. С целью выявления в москитах возбудителя ВЛ *L. infantum*, молекулярными методами (ПЦР) обследованы 120 самок москитов на наличие ДНК представителей сем. Trypanosomatidae. Для амплификации фрагмента длиной 810-850 п.н. гена 18S рРНК использовали универсальные праймеры, разработанные сотрудниками лаборатории биологии Trypanosomatidae, Остравский Университет, г. Острава, Чехия: 1127F и 1958R.

Методы статистической обработки данных.

Обилие москитов рассчитывалось по стандартной формуле: кол-во москитов/кол-во липучек. Статистическая обработка данных проведена в табличном редакторе MS Excel 2007. При долевом расчете видового состава москитов в населенных пунктах черноморского побережья Крымского полуострова, биотопического распределения москитов, соотношения самок москитов, 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.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

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

ПЕРВОЕ ПОЛОЖЕНИЕ. Анализ данных литературы и результаты собственных исследований показали значительные изменения произошедшие за последние 50 лет в фауне, распространении и численности mosкитов 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.

Фактически энтомологические наблюдения за москитами в Крыму были прекращены в начале 1960-х гг., когда после проведения противомоскитных мероприятий их численность снизилась. В последующем периоде в Крыму произошли существенные изменения. Численность местного населения по сравнению с 1950 г. увеличилась в два раза, произошло освоение новых территорий, что привело к деградации многих естественных ландшафтов и формированию совершенно новых антропогенных. Изменился климат, по данным О.В. Парубец (2014) за последние 80 лет в Крыму наблюдается рост температуры примерно на 1 °С (в зависимости от района). В настоящий период отмечена тенденция повышения температуры на 0.37 °С в течении 10 лет (Каюкова Е.П., 2010). За последние 100 лет произошло внутригодовое увеличение и перераспределение осадков, только в Судакe средний показатель атмосферных осадков за этот период увеличился на 125 мм (Парубец О.В., 2014). Все эти изменения не могли не повлиять на видовой состав москитов и их распределение на полуострове.

В соответствии с классификацией, разработанной М.М. Артемьевым (1990), была проведена ревизия москитов Крымского полуострова, зарегистрированных до 1960 года, в результате которой было выявлено, что на этой территории обитало 7 видов москитов (Таблица 1).

Таблица 1 – Фауна mosкитов Крымского полуострова до и после ревизии, проведенной в соответствии с классификацией М.М. Артемьева

Прежнее название видов mosкитов	Новое название видов mosкитов
<i>Phlebotomus (Phlebotomus) papatasi</i>	<i>Ph. (Phl.) papatasi</i>
<i>Ph. (Paraphlebotomus) sergenti var. alexandri</i>	<i>Ph. (Par.) alexandri</i>
<i>Ph. (Par.) sergenti</i>	<i>Ph. (Par.) similis</i>
<i>Ph. (Larroussius) major</i>	<i>Ph. (Lar.) neglectus</i>
<i>Ph. (Lar.) perfiliewi</i>	<i>Ph. (Lar.) perfiliewi</i>
<i>Ph. (Adlerius) chinensis</i>	<i>Ph. (Adl.) longiductus</i>
<i>Ph. sequens / Sergentomyia minuta</i>	<i>S. (Sergentomyis) dentata</i>

В результате морфологической идентификации собранных mosкитов установлено, что на территории черноморского побережья Крымского полуострова в настоящее время обитает 5 видов, принадлежащих к одному роду *Phlebotomus* и 4 под родам: *Paraphlebotomus* – *Ph. similis*; *Phlebotomus* – *Ph. papatasi*; *Larroussius* – *Ph. neglectus*, *Ph. perfiliewi*; *Adlerius* – *Ph. longiductus*.

Видовая принадлежность последних 4 видов подтверждена молекулярно-биологическими методами (ПЦР). На основе сравнения полученных нуклеотидных последовательностей гена COI этих 4 видов, и последовательностей из базы данных GenBank построено филогенетическое дерево (Рисунок 2). Последовательности видов, определенные морфометрическими методами как – *Ph. perfiliewi*, *Ph. neglectus*, *Ph. longiductus* и *Ph. papatasi*, кластеризуются с референсными последовательностями соответствующих видов. Результаты BLAST анализа секвенированных фрагментов последовательностей mosкитов, собранных в Крыму, показали от 87 до 100 % идентичности с последовательностями соответствующих видов из стран эндемичных

по ВЛ и МЛ – Турции, Греции, Кипра, Сербии, Испании и Китая. Присутствие в фауне москитов Крыма типичных видов для стран Средиземноморья и Центральной Азии можно объяснить тем, 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.

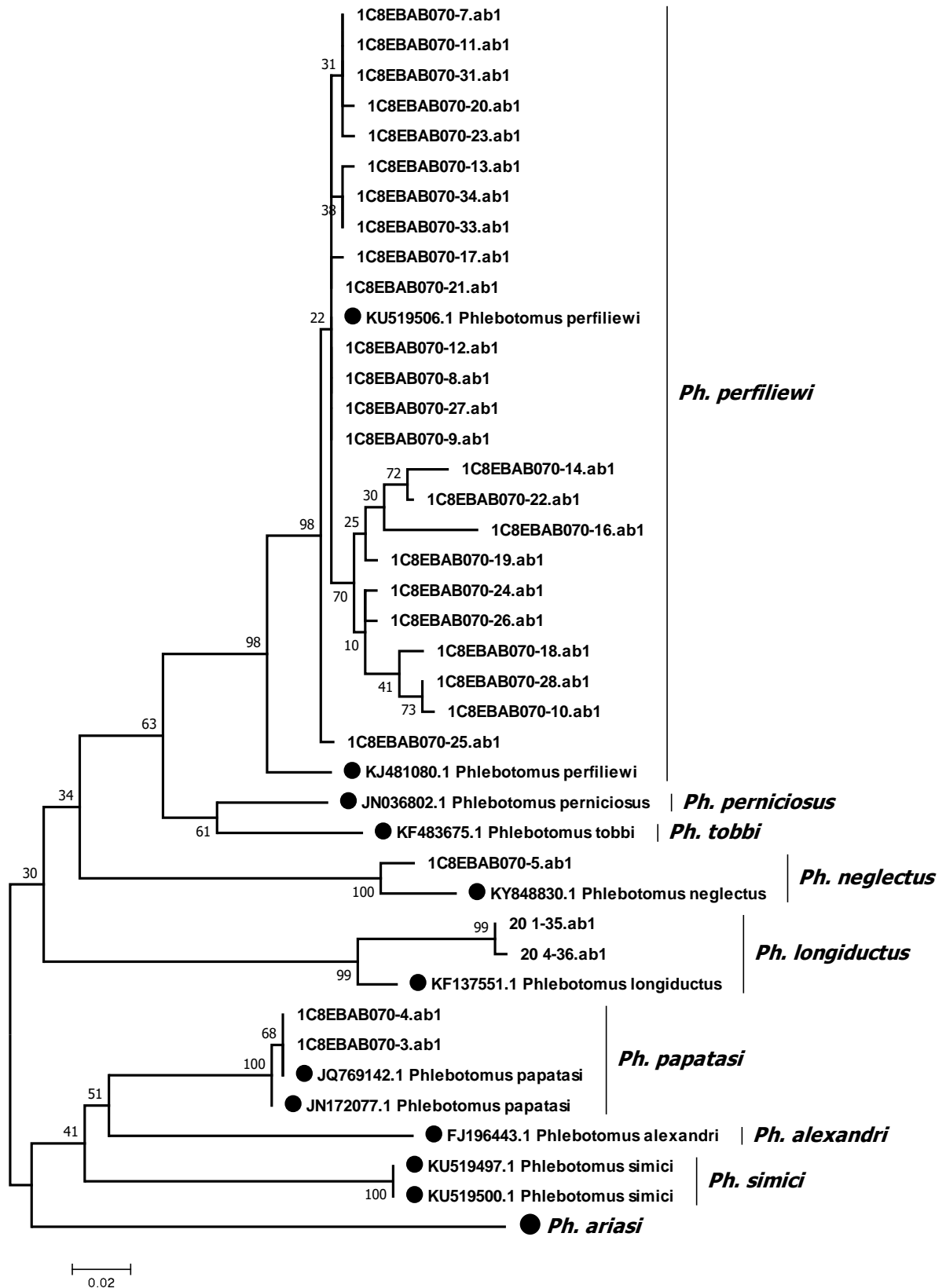


Рисунок 2 – Реконструкция филогенетического дерева для некоторых видов москитов рода *Phlebotomus* на основе сравнительного анализа частичной последовательности гена COI полученных в настоящей работе последовательностей и референсных (обозначены черным кружком)

Из 19 обследованных пунктов москиты обнаружены в 12 (Рисунок 3).



Рисунок 3 – Распространение москитов на черноморском побережье Крымского полуострова

Распределение носит неравномерный характер: начиная от Севастополя москиты встречались на протяжении всей исследуемой территории до Гурзуфа включительно, далее на восток москиты обнаружены не были, но пос. Новый Свет до Феодосии они появляются. Доминирующими видами на исследуемой территории, встречающиеся повсеместно и во всех биотопах оказались *Ph. neglectus* (49.5 %) и *Ph. perfiliewi* (47.6 %). Остальные виды встречаются только в закрытых биотопах, где формируются свои микроклиматы, отвечающие экологическим требованиям каждого вида.

Наибольшей численности *Ph. perfiliewi* достигает в пос. Курортное, на природно-технической территории Карадагской научной станции им. Т.И. Вяземского ФГБУН «КНС – ПЗ РАН», где наиболее разнообразная фауна москитов (4 вида), а *Ph. neglectus* – в районе пос. Парковое, на территории санатория «Зори России». Максимальное обилие (4.8 на липучку) *Ph. perfiliewi*, отловленных на свет, наблюдалось в хозяйственных постройках, а *Ph. neglectus* (3.79) – в птичнике.

В южной части побережья фауна москитов беднее, чем на юго-востоке и представлена тремя видами, с преобладанием *Ph. neglectus* (92,3 %) (Рисунок 4). На юго-востоке доминирует *Ph. perfiliewi* (94.2 %), а фауна москитов представлена 5 видами (Рисунок 5).

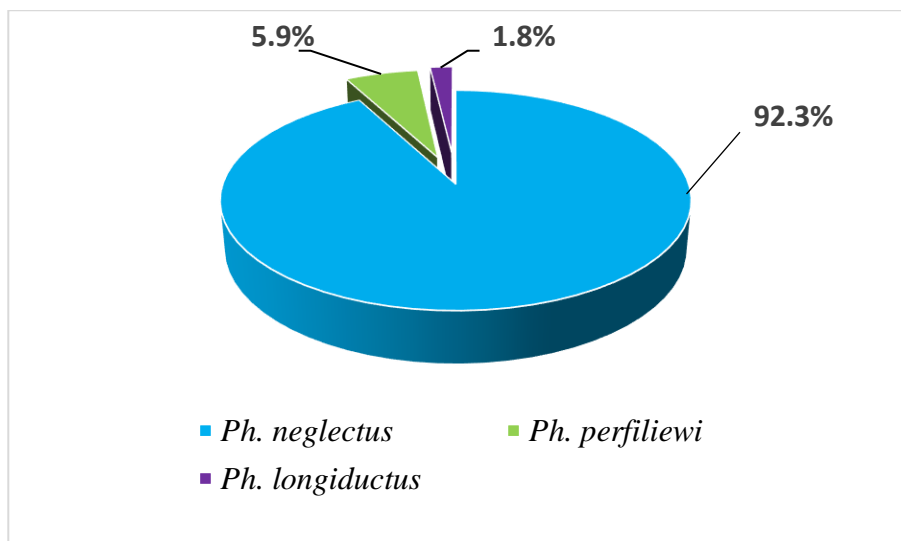


Рисунок 4 – Процентное соотношение mosкитов южной части черноморского побережья Крымского полуострова

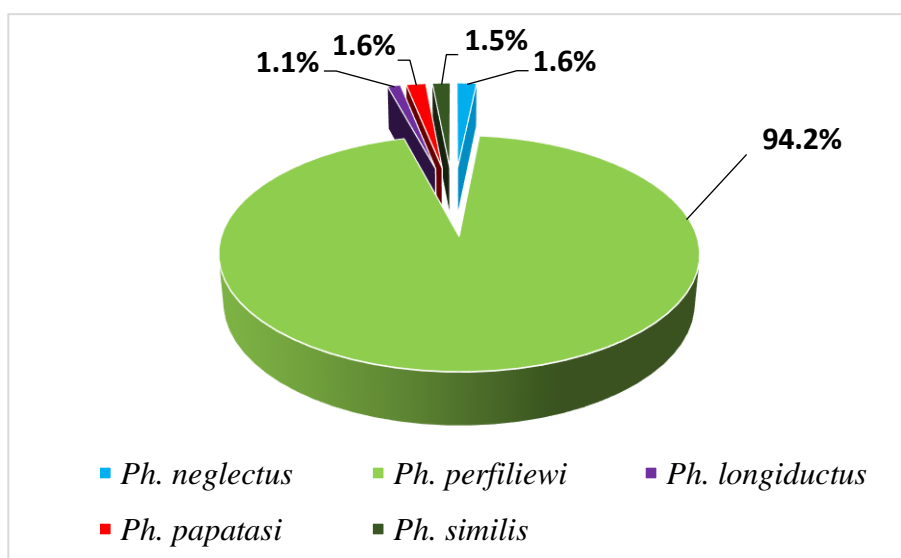


Рисунок 5 – Процентное соотношение mosкитов юго-восточной части черноморского побережья Крымского полуострова

Наибольшее обилие mosкитов отмечено в небольших населенных пунктах, а в крупных городах сборы единичны и mosкиты отлавливались в основном в местах необжитых или заброшенных, либо в частном секторе, где излюбленным местом обитания являются курятники. Наиболее благоприятные биотопы mosкитов – заброшенные здания, хозяйственные постройки, фильтрационные поля, места содержания животных и птиц, щели в заборах, руины древних городов и крепостей. Результаты изучения видового состава mosкитов каждого населенного пункта, их процентное соотношение, а также соотношение самок и самцов представлены в таблице 2 (Таблица 2).

Таблица 2 – Видовой состав москитов в населенных пунктах черноморского побережья Крымского полуострова

Название населенных пунктов	Координаты	Даты сборов	Виды москитов									
			<i>Ph. papatasi</i>		<i>Ph. similis</i>		<i>Ph. neglectus</i>		<i>Ph. perfiliewi</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 москитов каждого вида в населенном пункте; ♂/♀ – процентное соотношение самок и самцов

* – доверительный интервал, $p=0,05$

Установлено, что фауна mosкитов черноморского побережья Крымского полуострова за последние 50 лет обеднела. Из 7 видов, отмеченных в 1930-60 гг., в настоящее время зарегистрировано только 5. Не обнаружен *Ph. alexandri* и единственный представитель рода *Sergentomyia* – *S. dentata*. *P. papatasi* и *P. similis* зарегистрированы только в юго-восточной части побережья, где наблюдается наибольшее видовое разнообразие. Переносчики МЛ (*Ph. papatasi*, *Ph. perfiliewi* и *Ph. neglectus*) и ВЛ (*Ph. perfiliewi* и *Ph. neglectus*, *Ph. longiductus*) сохранились на территории побережья.

В настоящее время на территории черноморского побережья Крымского полуострова наблюдается вылет одной генерации за сезон, пик численности зависит от температурного режима. Вылет первых mosкитов наступает при ночных температурах не ниже плюс 16 °С, а массовый лет происходит при установлении температуры в пределах плюс 23-27 °С и влажности не ниже 57 %. Наиболее активный лет наблюдается 23 вечера до 3 утра, при вечерней температуре плюс 25-26 °С, влажности 60-78 % в ясную безветренную погоду.

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

На черноморском побережье Крымского полуострова крупные вспышки лихорадки паппатачи были зарегистрированы в Феодосии, Судаке, Севастополе, Алуштинском и Ялтинском районах в середине XX столетия. После проведенных в 1948-1950-х гг. масштабных мероприятий по борьбе с переносчиками – mosкитами численность последних значительно сократилась, что привело к ликвидации заболевания.

На основании данных литературы, проведения анализа 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 и эпидемиологических карт больных было установлено, что на черноморском побережье Крымского полуострова спорадические случаи ВЛ отмечаются с 1932 г. по настоящее время у взрослых и детей (Рисунок 6).

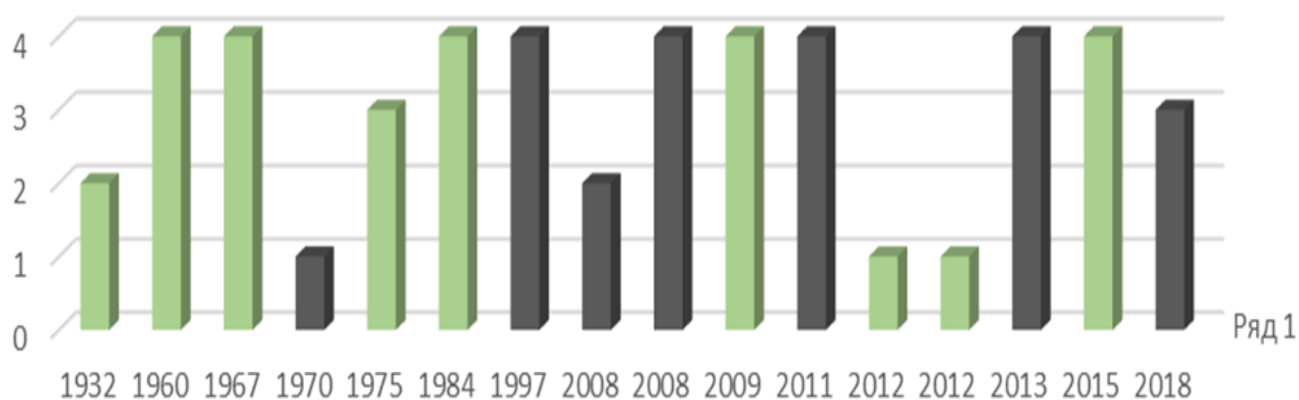


Рисунок 6 – Случаи ВЛ на территории Крымского полуострова. Ряд слева возрастная категория заболевших: 0-1 – дети до года, 1-2 – дети от года до 10 лет, 2-3 – взрослые от 20 до 30 лет, 3-4 – взрослые от 30 до 50 лет. Столбцы серого цвета – случаи с летальным исходом

Зарегистрировано несколько случаев с летальным исходом из-за несвоевременного и ошибочного диагноза, последний из которых отмечен в 2018 г. В Крыму было выявлено 4 случая сочетания ВЛ и ВИЧ-инфекции в 1997, 2009, 2011 и 2013 гг. (Ермак Т.Н., 1997, 2015; Плотникова Ю.К., 2017; Чемич М.Д., 2010).

Для определения медицинского значения mosquitos на исследуемой территории были использованы факторы предложенные В.Н. Беклемишевым (1941) определяющие маляриогенное значение комаров рода *Anopheles*. А.В. Долматова (1947) применила эти факторы для определения эпидемиологической значимости отдельных видов mosquitos в очагах лейшманиоза. Такими факторами являются: 1) восприимчивость переносчиков к возбудителю; 2) численность вида; 3) степень контакта с человеком; 4) индивидуальная продолжительность жизни самок переносчика; 5) продолжительность сохранения возбудителя в организме переносчика. Эти же факторы использованы в настоящей работе для определения медицинского значения mosquitos черноморского побережья Крымского полуострова.

Восприимчивость переносчиков к возбудителю. К возбудителю ВЛ наиболее восприимчивы представители подродов *Adlerius* и *Larroussius* (Долматова А.В., 1959; Maroli M. et al., 2013). В сборах на исследуемой территории присутствует 3 представителя этих подродов: *Ph. perfiliewi*, *Ph. neglectus*, *Ph. longiductus*. В результате

молекулярных исследований (ПЦР) выборки самок mosкитов *Ph. perfiliewi* и *Ph. neglectus* на наличие представителей сем. Трипаносоматиде в двух самках *Ph. perfiliewi* обнаружена ДНК *Crithidia brevicula*, которая ранее была найдена только в некоторых видах клопов и комаров. Медицинское значение *C. brevicula* не изучено, однако этот паразит вызывает интерес у ученых с точки зрения сравнительного анализа адаптации трипаносоматид к своим хозяевам. ДНК *L. infantum* не выявлена, но в странах эндемичных по ВЛ методом ПЦР она неоднократно была выделена из *Ph. perfiliewi* и *Ph. neglectus* (Alten B. et al. 2016; Aransay A.M. et. al., 2000; Léger N. et. al., 1988; Sahabi Z. et. al., 1992). Роль *Ph. longiductus* (переносчик ВЛ в странах Центральной Азии и в Китае) в передаче *L. infantum* была экспериментально доказана через укусы (Стрелкова М.В., 1982). Вирусы МЛ, в частности Тоскана вирус, были выделены из *Ph. perfiliewi* в странах Средиземноморского бассейна (Dionisio D. et. al., 2003; Echevarria J.M. et. al., 2003; Hemmersbach-Miller M. et. al., 2004; Mendoza-Montero J. et. al., 1998), а в 2015 г. методом ПЦР вирус Тоскана был выделен из *Ph. neglectus* в Хорватии (Ayhan N. et. al., 2017). *Ph. papatasi* – доказанный переносчик МЛ разных комплексов и вируса Исфаган во всех эндемичных по этим заболеваниям странах.

Численность вида. Одним из основных факторов, определяющих эпидемиологическое значение того или иного вида москита, является его численность, так как шансы на передачу заболевания при прочих равных условиях пропорциональны численности переносчика. Наиболее многочисленными видами в пунктах наблюдений были два: *Ph. perfiliewi* и *Ph. neglectus* (Рисунок 7).

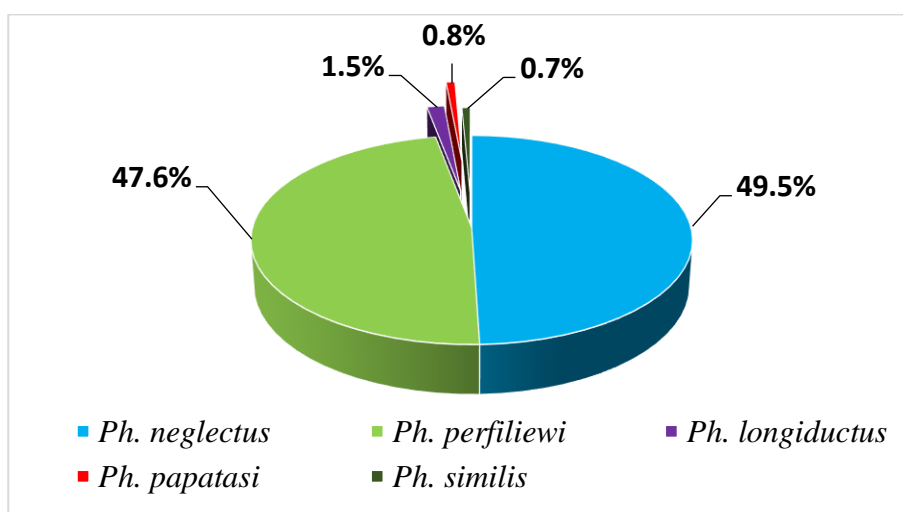


Рисунок 7 – Процентное соотношение видов москитов на территории черноморского побережья Крымского полуострова

Эти обстоятельства послужили основанием в последующем рассматривать названные виды в качестве потенциальных переносчиков ВЛ и МЛ в условиях черноморского побережья Крымского полуострова, поскольку обилие и встречаемость остальных видов незначительная.

Степень контакта возможных переносчиков с человеком. Этот фактор, на наш взгляд, также следует считать одним из решающих. Наряду с экзотфильностью или эндофильностью вида, необходимо учитывать и его антропофильность, которая, по нашим наблюдениям, прослеживается в поведении *Ph. perfilievi* и *Ph. neglectus* – в окрестностях пос. Курортное в течение одного вечера, на себе было отловлено 26 экз. *Ph. perfiliewi*, а в пос. Парковое, в палаточном лагере на территории санатория «Зори России», в течение одного часа – 34 экз. *Ph. neglectus*. Кроме того, 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 существует высокая вероятность контакта с предполагаемыми резервуарами ВЛ – собаками (*Canis familiaris*), которые отмечены в населенных пунктах, а также с лисицами (*Vulpes vulpes*), черной крысой (*Rattus rattus*) и барсуками (*Meles meles tauricus*), распространенными не только в природных биотопах на исследуемой территории, но и в поселках (Дулицкий А.И., 2001; Евстафьев И., 2006). Возможные резервуары МЛ также присутствуют на исследуемой территории, к ним относятся некоторые виды грызунов и летучих мышей (Евстафьев И., 2006).

Индивидуальная продолжительность жизни самок переносчика. При оценке эпидемиологического значения того или иного вида следует учитывать частоту его кровососаний. Чем больше продолжительность жизни moskitov, тем чаще они питаются и вероятность заражения становится выше. Повторность кровососания определяется числом гонотрофических циклов. При вскрытии выборки голодных самок moskitov видов *Ph. perfilievi* и *Ph. neglectus* (I стадия пищеварения) собранных в южной и юго-восточной части побережья, по различиям в структуре яичников описанных А.В. Долматовой (1965) было установлено, что 37% самок первого вида и 41% второго находились на повторном гонотрофическом цикле, что также свидетельствует об эпидемиологической значимости этих двух видов (Таблица 3).

Таблица 3 – 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, $p=0,05$

Продолжительность сохранения возбудителя в организме переносчика. Данные литературы свидетельствуют о длительном периоде прибывания промастигот *L. donovani* (возбудитель индийского ВЛ) в кишечнике представителей подродов *Larroussius* и *Adlerius* (Patton W.S., Hindle E., 1927). Отмечена также возможность сохранения и размножения лептонад лейшманий в кишечнике некоторых видов москитов до 14 дней (Долматова А.В., 1965). Установлено, что вирусы МЛ могут передаваться трансвариально и половым путем, таким образом обеспечивая способность длительной циркуляции внутри популяции переносчика (Ананян С.А., 1954; Chastel C., 1982).

Из пяти видов москитов, обнаруженных 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 обуславливается хорошей восприимчивостью к *L. infantum* и вирусам комплексов МЛ, значительной численностью популяции, повсеместной распространенностью на исследуемой территории, большой степенью контакта с человеком, антропофильностью, привлекаемостью на свет и большим процентом самок, находящихся на повторном гонотрофическом цикле. Кроме этого, на основе молекулярных исследований, была показана генетическая связь *Ph. perfiliewi* и *Ph.*

neglectus с этими видами из стран, эндемичным по ВЛ и МЛ, где они являются доказанными переносчиками.

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 на территории юго-восточной части побережья.

Таким образом, полученные 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. Кроме того, существует угроза появления случаев ранее неизвестных на этой территории МЛ (Тоскана вирус) при наличии завоза из эндемичных стран (Греция, Испания, Италия...). Учитывая, что ежегодно в сезон активности москитов в Крым прибывает большое число отдыхающих и на побережье расположено несколько морских портов вполне возможен завоз возбудителей инфекций, передаваемых москитами, из различных регионов Мира и дальнейшего их распространения на территории полуострова.

Результаты проведенных исследований указывают на целесообразность дальнейшего изучения медицинского значения отдельных видов москитов на всей территории Крымского полуострова. С целью установления резервуара возбудителя ВЛ на данной территории весьма актуальным является проведение исследований по выявлению возбудителя ВЛ среди домашних (и бродячих) собак и диких животных (в первую очередь лисиц), обитающих в непосредственной близости от населенных пунктов, с привлечением к этим исследованиям специалистов ветеринарной и природоохранной служб. Указанные исследования могут внести большой вклад в изучение краевой патологии Крымского полуострова, а также будут способствовать разработке системы эпидемиологического надзора за заболеваниями передаваемыми москитами.

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 москитных лихорадок в эндемичных по этим заболеваниям странах.
3. При исследовании москитов на наличие представителей сем. Trypanosomatidae впервые обнаружена ДНК *Crithidia brevicula*.
4. На основании анализа факторов, определяющих эпидемиологическое значение москитов и изучения особенностей их биологии и экологии установлено, что наибольшее медицинское значение на обследованной территории имеют два вида: *Ph. perfiliewi* и *Ph. neglectus*. Эти виды являются доказанными переносчиками возбудителя висцерального лейшманиоза и вирусов москитных лихорадок в эндемичных странах.
5. На территории черноморского побережья Крымского полуострова возможно появление новых случаев заболеваний висцеральным лейшманиозом, не исключена возможность возникновения вируса Тоскана и других комплексов москитных лихорадок, 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, ввиду частого отсутствия патогноматичных симптомов этих заболеваний.
4. Местным органам здравоохранения рекомендуется проведение выборочных сероэпидемиологических 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 ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Понировский Е.Н., Стрелкова М.В., Завойкин В.Д., Тумольская Н.И., Мазманян М.В., **Баранец М.С.**, Жиренкина Е.Н. Эпидемиологическая ситуация по лейшманиозам в Российской Федерации: первые достоверные случаи местной передачи // **Медицинская паразитология и паразитарные болезни.** – 2015. – №3. – С. 3-7.
2. **Баранец М.С.**, Понировский Е.Н., Морозова Л.Ф., Турбабина Н.А., Федутик Н.К., Багреев А.Ю. Москиты (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) Крыма: видовой состав, распространение, особенности экологии // **Медицинская паразитология и паразитарные болезни.** – 2016. – № 4. – С. 44-47.
3. **Баранец М.С.**, Ермак Т.Н., Понировский Е.Н. Клинико-эпидемиологические особенности висцерального лейшманиоза в Республике Крым // **Терапевтический архив.** – 2017. – Т. 89, №11. – С. 100-104.
4. **Баранец М.С.**, Понировский Е.Н., Разумейко В.Н., Морозова Л.Ф. Видовой состав москитов (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) черноморского побережья Крымского полуострова // **Медицинская паразитология и паразитарные болезни.** – 2019. – № 1. – С. 44-47.
5. **Баранец М.С.**, Понировский Е.Н., Разумейко В.Н. Современные данные о москитах (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) Крымского полуострова // **Паразитология.** – 2019. – Т. 53, № 2. – С. 164 -171.