

Москиты Черноморского побережья Крымского полуострова

Баранец М.С., кандидат медицинских наук
shizotorex@mail.ru

ФГБУ Научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. Н. Ф. Гамалеи, 123098,
Россия, г. Москва, ул. Гамалеи, д. 18

Вдоль Черноморского побережья Крымского полуострова (от г. Севастополь до г. Феодосия) на наличие москитов было обследовано 19 населенных пунктов. Москиты были обнаружены в 12 пунктах сбора и принадлежали к 5 видам: *Phlebotomus perfliewi*, *Ph. neglectus* (49,5%), *Ph. longiductus* (1,5%), *Ph. paratasi* (0,8%) *Ph. similis* (0,7%). Распространение москитов на побережье Крыма носит неравномерный характер. Доминирующими видами на всей исследуемой территории являются *Ph. neglectus* и *Ph. Perfliewi*. Остальные виды малочисленны и встречаются только в закрытых биотопах. Молекулярными методами (ДНК-штрихкодирование) была подтверждена видовая идентификация 4 видов, являющихся переносчиками висцерального лейшманиоза (ВЛ) и москитных лихорадок (МЛ). Результаты BLAST-анализа секвенированных фрагментов последовательностей этих видов показали от 87 до 100% идентичности с последовательностями соответствующих видов из стран, эндемичных по ВЛ и МЛ. На Черноморском побережье Крымского полуострова существует угроза возникновения новых случаев ВЛ, возобновления передачи лихорадки паппатачи и появления ранее неизвестных на этой территории заболеваний, передаваемых москитами.

Ключевые слова: Крымский полуостров, москиты, энтомологические исследования, ДНК-штрихкодирование, висцеральный лейшманиоз, москитные лихорадки.

ВВЕДЕНИЕ

Природно-климатические условия Крымского полуострова благоприятны для обитания различных видов москитов (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae). Из заболеваний, передаваемых ими на этой территории, распространены москитная лихорадка (МЛ) – лихорадка паппатачи и висцеральный лейшманиоз (ВЛ). Лихорадка паппатачи регистрировалась в Крыму в виде вспышек в первой половине XX столетия [3, 4, 5]. В настоящее время сведения о заболеваемости отсутствуют, однако возможность длительной циркуляции возбудителя МЛ в природе без участия человека требует постоянного мониторинга за бывшими очагами. ВЛ регистрируется в настоящее время в виде спорадических случаев в южной и юго-восточной части полуострова [2].

Наблюдения за москитами в Крыму были прекращены более 50 лет назад. За этот период произошли существенные изменения, связанные с урбанизацией и климатом, поэтому весьма актуальным является изучение энтомологической обстановки и определение роли отдельных видов москитов в передаче возбудителей в настоящее время. Такие исследования помогут определить риск заражения населения на конкретных терри-

ториях и разработать рациональную систему эпидемиологического надзора за болезнями, передаваемыми москитами.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Сборы москитов проводили в течение трех лет (2016, 2017, 2019 гг.) в период их сезонной активности в 19 населенных пунктах и окрестностях вдоль Черноморского побережья Крымского полуострова, начиная от г. Севастополя, и заканчивая в г. Феодосией (рисунок 1).

Москитов отлавливали по стандартной методике на липкие листы (A4) пергаментной бумаги, смазанной касторовым маслом [1], которые размещали внутри жилых и хозяйственных помещений, а также на открытых территориях.

Все отловленные москиты были определены до вида по морфологическим признакам, с использованием определительных таблиц [1, 6].

Для подтверждения видовой принадлежности москитов использовали метод ДНК-штрихкодирования (DNA barcoding), включающий несколько этапов: выделение ДНК, амплификация, электрофорез, секвенирование [10]. Для амплификации фрагмента длиной 710 п. о. 5'-фрагмента первой субъединицы митохондриального гена, кодирующего белок цитохром-С-оксидазу (COI), использовали универсальные праймеры: LC01490 и HCO2198 [9].



Рисунок 1 – Обследованные населенные пункты

АНАЛИЗ ДАННЫХ

Обилие mosquitos рассчитывалось по стандартной формуле: количество mosquitos, деленное на количество липучек [7]. При долевом расчете видового состава mosquitos 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).

Выравнивание нуклеотидных и аминокислотных последовательностей проводилось с помощью алгоритма Clustal W как функции программы MEGA5.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

За период исследований отловлено 1562 экземпляра mosquitos с помощью 1319 липких листов. В результате морфологической идентификации собранных mosquitos установлено, что на территории Черноморского побережья Крымского полуострова в настоящее время обитает 5 видов, принадлежащих к одному роду *Phlebotomus* и 4 подкладам: *Phlebotomus* (*Paraphlebotomus*) – *similis* Perfiliew, 1963; *Ph.* (*Phlebotomus*) *papatasi* Scopoli, 1786; *Ph.* (*Larrousius*) *neglectus* Tonnoir, 1921; *Ph.* (*Lar.*) *perfiliewi* Parrot, 1930; *P.* (*Adl.*) *longiductus* Parrot, 1928.

Mosquitos были обнаружены в 12 из 19 исследуемых пунктов (таблица 1). Распределение носит неравномерный характер: начиная от г. Севастополя mosquitos встречались на протяжении всей исследуемой территории до пос. Гурзуф включительно, далее на восток mosquitos обнаружены не были, но от пос. Новый Свет до Фе-

досии они появляются. Доминирующими видами на исследуемой территории, встречающимися повсеместно и во всех биотопах, оказались *Ph. neglectus* (49,5 %) и *Ph. perfiliewi* (47,6 %), которые являются доказанными переносчиками ВЛ и МЛ (Тоскана вирус, Корфу) в эндемичных по этому заболеванию странах [1, 8, 11, 13] и наиболее вероятными переносчиками ВЛ на территории Крыма. Обилие и встречаемость *Ph. longiductus* (1,5%) на обследованной территории в настоящее время незначительны, однако учитывая его причастность к передаче возбудителя ВЛ в Центральной Азии и Китае [1], не следует полностью исключать его возможную роль в передаче ВЛ на полуострове Крым. *Ph. papatasi* (0,8%) – доказанный переносчик МЛ разных комплексов и вируса Исфаган [1, 12] – был отловлен только в Судак и Новом Свете, бывших очагах лихорадки паппатачи, что не исключает возможность возобновления этого заболевания на территории юго-восточной части побережья. *Ph. similis* (0,7%) обнаружен исключительно на территории Карадагской научной станции им. Т.И. Вяземского (пос. Курортное), медицинское значение этого вида не изучено.

Наибольшее обилие mosquitos отмечено в небольших населенных пунктах, а в крупных городах сборы единичны, mosquitos отлавливались в основном в местах необжитых или заброшенных либо в частном секторе. Наиболее благоприятные биотопы mosquitos – заброшенные здания, хозяйственные постройки, фильтрационные поля, места содержания животных и птиц, щели в заборах, руины древних городов и крепостей. Результаты изучения видового состава mosquitos каждого населенного пункта, их процентное соотношение,

а также соотношение самок и самцов представлены в таблице (таблица 1).

Нуклеотидные последовательности видов, определенные морфометрическими методами как *Ph. perfiliewi*, *Ph. neglectus*, *Ph. longiductus* и *Ph. papatasi*, кластеризуются с референсными последовательностями соответствующих видов из базы данных GenBank. Результаты BLAST-анализа секвенированных фрагментов последовательностей москитов, 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.

Таким образом, полученные результаты исследований позволяют утверждать, что на Черноморском побережье Крымского полуострова существует реальная вероятность возникновения новых случаев ВЛ и возобновления передачи лихорадки паппатачи. Кроме того, существует угроза появления случаев, ранее неизвест-

ных на этой территории МЛ (Тоскана вирус), при завозе из эндемичных стран (Греция, Испания, Италия). В связи с тем, 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 дальнейшее их распространение на территории полуострова.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты проведенных исследований указывают на целесообразность дальнейшего изучения 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

Таблица 1. Видовой состав москитов в населенных пунктах Черноморского побережья Крымского полуострова

	Координаты	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.	-	-	-	-	100	100/0	-	-	-	-
Херсонес	44°36'44" с.ш. 33°29'25" в.д.	-	-	-	-	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.	-	-	-	-	100	50/50	-	-	-	-
Парковое	44°23'53" с.ш. 33°55'48" в.д.	-	-	-	-	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.	-	-	-	-	100	57,1/42,9	-	-	-	-
Ялта	44°29'28" с.ш. 34°9'30" в.д.	-	-	-	-	100	100/0	-	-	-	-
Гурзуф	44°32'37" с.ш. 34°16'53" в.д.	-	-	-	-	100	59,3/40,7	-	-	-	-
Новый свет	44°49'44" с.ш. 34°54'28" в.д.	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.	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.	-	-	-	-	-	-	100	86,7/13,3	-	-
Курортное	44°54'58" с.ш. 35°12'14" в.д.	-	-	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.	-	-	-	-	-	-	-	-	100	50/50

Примечание: % доля москитов каждого вида в населенном пункте; ♂/♀ – процентное соотношение самок и самцов
* – доверительный интервал, p=0,05

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.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ REFERENCES

1. Артемьев М.М., Неронов В.М. 1984. Распространение и экология москитов Старого Света (род *Phlebotomus*). М. ИЭМЭЖ. 208 с.
2. Баранец М.С., Ермак Т.Н., Понировский Е.Н. 2017. Клинико-эпидемиологические особенности висцерального лейшманиоза в Республике Крым. Терапевтический архив. 89 (11): 100–104.
3. Долматова А.В., Кувичинский Б.С., Лейбман А.Л. 1953. Москиты (*Phlebotomus*) Южного берега Крыма и борьба с ними. Мед. паразитол. 5: 455–460.
4. Долматова А.В., Окулов В.П. 1952. Москиты и лихорадка паппатачи в Феодосии. Мед. паразитол. 2: 160–170.
5. Кувичинский Б.С. Фауна москитов Южного берега Крыма. 1952. Мед. паразитол. 1: 64–65.
6. Перфильев П. П. 1966. Фауна СССР. Двукрылые. М. Л. Наука. 3 (2): 1–383.
7. Петрищева П.А. Методы изучения и профилактики лейшманиозов и москитной лихорадки. 1961. М. Медгиз. 260 с.
8. Christodoulou V., Antoniou A., Ntais P., Messaritakis I., Iovic V., Dedet J., Pratlong F., Vitorak V., Tselentis Y. 2012. Re-Emergence of Visceral and Cutaneous Leishmaniasis in the Greek Island of Crete. *Vectorborne and zoonotic dis.* 3 (12): 214–222.
9. Folmer O. DNA. 1994. primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology.* 3 (5): 294–299.
10. Gutiérrez M.A.C. 2014. DNA Barcoding for the Identification of Sand Fly Species (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) in Colombia. *Plos one.* 9 (1): 25–29.
11. Jolyon M., Kayleigh M., Wim V., Herve Z., Bulent A. 2014. A summary of the evidence for the change in European distribution of phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) of public health importance. *Journal of Vector Ecology.* 39 (1): 72–77.
12. Killick-Kendrick R. 1999. The biology and control of phlebotomine sandflies. *Clinics in Dermatology.* 17: 279–289.
13. Li-Ren G., Zheng-Bin Z., Chang-Fa J., Qing F., JunJie C. 2016. Phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) transmitting visceral leishmaniasis and their geographical distribution in China: a review. *Infectious Diseases of Poverty.* 5 (15): 21–34.

Sand fly of the black sea coast of the Crimean Peninsula

**Baranets M.S., candidate of medical sciences,
shizotorex@mail.ru**

N.F. Gamaleya National Research Center for Epidemiology and Microbiology, 123098, Moscow, Gamalei 18.

An entomological survey was carried out in 19 settlements along the black sea coast of the Crimean Peninsula (from Sevastopol to Feodosia). Sand fly were found in 12 collection points and belonged to 5 species of *Phlebotomus* *perfliewi*, *Ph. neglectus*, *Ph. longiductus*, *Ph. similis*, *Ph. Papatasi*. Sand fly were nonuniformly distributed over the coastal areas of Crimea. *Ph. perfliewi* and *Ph. neglectus* were the prevalent species on the on the Crimean Peninsula (94,7 and 95,8% respectively), these species are found throughout the study area and in all biotopes. Other species were caught in small numbers in closed biotopes only. The species identification of 4 species (are confirmed vectors of visceral leishmaniasis and sandfly fever in other endemic countries) was confirmed by PCR (DNA barcoding). These species are 87–100% identical with species from countries endemic in VL and ML by BLAST analysis of sequenced fragments.

Can be new cases of VL and pappataci fever on the Crimean Peninsula. There is a threat of new ones for this territory of sand flyborne diseases.

Keywords: Crimean Peninsula, sand flies, entomological survey, DNA barcoding, visceral leishmaniasis, sandfly fevers.