МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ТОМСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

КОНЦЕПТУАЛЬНЫЕ И ПРИКЛАДНЫЕ АСПЕКТЫ НАУЧНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ОБРАЗОВАНИЯ В ОБЛАСТИ ЗООЛОГИИ БЕСПОЗВОНОЧНЫХ

Сборник статей
V Международной конференции

26–28 октября 2020 г.
г. Томск, Россия

Томск
Издательство Томского государственного университета
2020

УДК 595.771:576.895.132.5
DOI: 10.17223/978-5-94621-931-0-2020-81

ВИДОВОЙ СОСТАВ НИТЕВИДНЫХ НЕМАТОД МАЛЯРИЙНЫХ КОМАРОВ ТОМСКОЙ ОБЛАСТИ

Фёдорова В.С.[1], Бурлак В.А.[2], Артемов Г.Н.[1, 2]

[1]Томский государственный университет, Томск, Россия
[2]ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия
klimovavs42@gmail.com, flywings@mail.ru, glebartemov@mail.tsu.ru

Аннотация. Проведен анализ видового состава нематод и их переносчиков в Томской области. Было показано, что все три вида малярийных комаров *Anopheles messeae* s.s., *An. daciae* и *An. beklemishevi*, могут передавать *Dirofilaria repens* в 89% подтвержденных случаев. Видоспецифическая инфекция промежуточного хозяина дирофиляриями зависит от географического положения.
Ключевые слова. Малярийные комары, *Dirofilaria*, ПДРФ, ПЦР, диагностика видов.

SPECIES COMPOSITION OF NEMATODES ON MALARIA MOSQUITOES OF THE TOMSK REGION

Fedorova V.S.[1], Burlak V.A.[2], Artemov G.N.[1, 2]

[1]Tomsk State University, Tomsk, Russia
[2]Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia
klimovavs42@gmail.com, flywings@mail.ru, glebartemov@mail.tsu.ru

Abstract. The species composition of nematodes and their vectors were analyzed in the Tomsk region. It has been shown that all three species of malaria mosquitoes, *Anopheles messeae s.s.*, *An. daciae* and *An. beklemishevi*, can transmit *Dirofilaria repens* in 89% of confirmed cases. The species-specific infection of the intermediate host with dirofilarias depends on the geographical location.
Keywords: Malaria mosquitoes, *Dirofilaria*, species diagnostics.

Филярии – опасные возбудители трансмиссивных заболеваний человека и животных, распространяемые членистоногими-гематофагами, в том числе кровососущими комарами (Diptera, Culicidae). В организме самок родов *Culex*, *Aedes* и *Anopheles* развиваются личинки *Dirofilaria repens* и *D. immitis* (Spirurida, Onchocercidae), возбудителей подкожного и легочного дирофиляриоза [1, 2]. В г. Колпашево Томской области зарегистрирован случай подкожного дирофиляриоза человека местной этиологии [3], что свидетельствует об интенсивном продвижении дирофилярий в северные регионы России. При этом сведений о видовом составе паразитов и их переносчиков в этих ландшафтных зонах (ключевой информации для контроля инвазии) недостаточно.

Среди малярийных комаров роль основного переносчика дирофилярий в Западной Сибири играет *An. messeae s.l.* [4]. Этот таксон включает виды-двойники *An. messeae s.s.* и *An. daciae.* До сих пор не ясно какой вклад вносит каждый из видов в распространение дирофиляриоза и каково эпидемическое значение еще одного «северного» вида – *An. beklemishevi.*

Целью нашего исследования являлось изучение видового состава паразитических нематод и их промежуточных хозяев, обитающих на территории Томской области. Самок малярийных комаров отлавливали на дневках, диссектировали и микроскопией определяли наличие микрофилярий, интенсивность инвазии и физиологическое состояние паразита. Зараженных самок и содержащие нематод смывы с предметных стекол фиксировали в 96% этаноле. Для определения видов нематод и комаров материал гомогенизировали в STE-буфере [5]. Для постановки ПЦР использовали универсальные праймеры, специфичные к региону ITS2 *D. repens, D. immitis, Acanthocheilonema reconditum*, *A. dranunculoides*, *Brugia pahangi*, *B. malayi*, *B. timori*, *Mansonella ozzardi*, *Onchocerca volvulus*, а также праймеры, комплементарные гену COI митохондриальной ДНК *D. repens* и *D. immitis* [6]. Видовую принадлежность зараженных самок *An. daciae, An. messeae и An. beklemishevi* устанавливали с помощью ПДРФ анализа второго внутреннего транскрибируемого спейсера ITS2. ITS2 амплифицировали, используя праймеры к участкам 5,8S и 28S рДНК [7], рестрикцию проводили Rsa I.

Всего было проанализировано 1918 самок из девяти населенных пунктов пяти районов Томской области (таблица). Выявлено 44 случая заражения комаров паразитическими нематодами. Экстенсивность инвазии в выборках варьировала от 0,6% до 8,3%, интенсивность инвазии – от 1–2 до 120–130 микрофилярий на особь в зависимости от даты выборки и возраста микрофилярий. В некоторых квотах зараженные самки не обнаружены, что мы связываем с пониженными субпороговыми температурами июньских ночей. У 41 особи личинки нематод L-2 локализовались в мальпигиевых сосудах, 39 из них (89%) идентифицированы как *D. repens.* В двух случаях вид паразитов установить не удалось из-за недостаточной сохранности материала. Второй вид, *D. immitis*, ранее отмеченный в г. Томске, не был обнаружен у малярийных комаров.

В Томском районе (с. Коларово, с. Яр, с. Курлек) зараженные самки принадлежали виду *An. daciae*, поскольку он здесь доминировал с частотой почти 100%. В Колпашевском (п. Тогур, с. Волково) и Тегульдетском (п. Тегульдет) районах *An. daciae* детектировался в меньшинстве, а зараженными оказались самки только «северных» видов *An. messeae* и *An. beklemishevi*, эпидемическое значение которых исследовать еще предстоит.

Видовой состав малярийных комаров, собранных в населенных пунктах Томской области и зараженных микрофиляриями

Населенный пункт	Дата сбора	Собрано образцов	Образцы с нитевидными нематодами с учетом вида комара		
			An. daciae	*An. messeae*	*An. beklemishevi*
с. Коларово	30.05.19	77	2	0	0
	11.07.19	80	5	0	0
	30.07.19	326	13	0	0
	09.08.19	291	12	0	0
	19.08.19	200	3	0	0
	16.08.19	136	4	0	0
с. Курлек	14.08.19	67	1	0	0
с. Тегульдет	15.06.19	28	0(5)	2(15)	0(7)
с. Тогур	22.07.19	12	0(2)	0(2)	1(7)
с. Волково	22.07.19	55	0(2)	1(6)	0(46)
Итого:			40	3	1

Примечание: в скобках указано число незараженных особей. В таблице не отражены выборки, в которых не выявлены случаи заражения (с. Коларово: 11.06.19, 21.06.19, 03.09.2019; с. Яр: 02.07.2019; с. Тегульдет: 07.07.2019; с. Новоселово: 23.06.2019; с. Белый яр: 23.06.2019; с. Бакчар: 17.08.2019).

В итоге, *D. repens* обнаружена у всех трех широко распространенных в Томской области видов малярийных комаров, что делает их потенциально опасными для человека переносчиками в связи с их синантропностью, а подкожный дирофиляриоз в ближайшие годы может перейти из разряда редких гельминтозов в обычные.

Помимо идентифицированных паразитов, из двух самок *An. daciae* были выделены крупные нитевидные нематоды, видовую принадлежность и локализацию в организме хозяина которых установить не удалось. Это могли быть как микрофилярии L-3, так и представители других таксонов. Нами просеквенирован фрагмент ITS2 одной из таких нематод. Последовательность не выявила точных совпадений в базах данных, однако наибольшую гомологию фрагмент показал с ITS2 *Setaria digitata* (25%) и *Onchocerca volvulus* (14%). Это означает, что *An. daciae* переносит не только дирофилярий, но и других паразитических нематод, в том числе пока не идентифицированных представителей местной гельминтофауны.

Отдельно отметим факт обнаружения нематоды в хоботке самки *An. daciae*, свидетельствующий в пользу достаточной благоприятности климата Томской области для развития микрофилярий до инвазионной стадии и являющийся прямым доказательством местной передачи паразита дефинитивным хозяевам.

Таким образом, в Томской области обитают три вида малярийных комаров – промежуточных хозяев дирофилярий, причем *An. beklemishevi* отмечен в этом списке впервые. Малярийные комары – переносчики, в основном, *D. repens* (89% подтвержденных случаев). Видовая специфика заражения промежуточного хозяина дирофиляриями зависела от географического положения населенного пункта.

Работа выполнена при финансовой поддержке проекта № 8.1.03.2019, в рамках Программы повышения конкурентоспособности ТГУ, грантов РФФИ № 18-34-20106 и РНФ № 19-14-00130.

Литература

1. Ганушкина Л.А., Ракова В.М., Иванова И.Б., Супряга В.Г., Сергиев В.П. Энтомологический мониторинг территории для оценки возможности передачи дирофилярий // Мед. паразитол. 2014. № 3. С. 9–12.

2. Shaikevich E et al. Dirofilaria and Wolbachia in mosquitoes (Diptera: Culicidae) in central European Russia and on the Black Sea coast // Parasite. 2019. Т. 26.

3. Полторацкая Н.В., Бурлак В.А., Панкина Т.М., Полторацкая Т.Н., Шихин А.В. О зараженности кровососущих комаров (Diptera; Culicidae) личинками дирофилярий (Spirurida, Onchocercidae) в г. Томске // Мед. паразитол. 2018. № 3. С. 10–15.

4. Старостина О.Ю. Дирофиляриоз – актуальная проблема паразитарной патологии в Омской области: информационно-методическое письмо. Омск, 2018. 7 с.

5. Debrunner-Vossbrinck B.A. et al. Restriction analysis of the ribosomal DNA internal transcribed spacer region of Culex restuans and mosquitoes in the *Culex pipiens* complex // Journal of the American Mosquito Control Association-Mosquito News. 1996. Т. 12, № 3. С. 477.

6. Rishniw M. et al. Discrimination between six species of canine microfilariae by a single polymerase chain reaction // Veterinary parasitology. 2006. Т. 135, № 3–4. С. 303–314.

7. Vaulin O.V. et al. Dynamics of malaria mosquito species composition in Siberian populations detected by restriction analysis // Russian journal of genetics. 2018. Т. 54, №. 7. С. 838–847.