

А.М.Поршаков, С.А.Яковлев, К.С.Захаров, А.Н.Матросов, Т.В.Князева, А.А.Кузнецов, В.Н.Чекашов, М.М.Шилов, С.И.Толоконникова, Е.В.Казорина, Т.Ю.Красовская, Е.В.Найденова, И.Н.Шарова, С.А.Щербакова, Н.В.Попов

## РОЛЬ КОМАРОВ КОМПЛЕКСА *CULEX PIPPIENS* В СОХРАНЕНИИ ВИРУСА ЛИХОРАДКИ ЗАПАДНОГО НИЛА В УРБАНИЗИРОВАННЫХ БИОЦЕНОЗАХ САРАТОВА

ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация

Исследования осуществляли осенью 2013 г. в закрытых биотопах (подвалы, подъезды многоэтажных домов) в районах эпидемических проявлений ЛЗН на территории Саратова. Проведен учет численности имаго и личинок комаров *Culex pipiens*. Установлена высокая численность переносчиков: в подвалах – от 10 до 800 экз. на 1 кв.м, в подъездах – от 1 до 30 экз. Численность личинок в затопленных подвалах составила от 600 до 3800 экз. на 1 кв.м. В пробах личинок и вновь выплывших имаго комаров выявлены маркеры вируса Западного Нила, что свидетельствует о возможности трансвариальной и трансфазовой передачи вируса в популяции комаров урбанизированных биоценозов. Обосновано, что автогенно размножающиеся самки подвальных комаров *Culex pipiens* обеспечивают сохранение вируса в межэпидемический период. Последнее подтверждает возможность формирования стойких, эпидемически активных микроочагов ЛЗН в селитебных ландшафтах, что необходимо учитывать при оценке рисков заражения городского населения.

**Ключевые слова:** лихорадка Западного Нила, трансвариальная передача, трансфазовая передача, урбанизированные биоценозы, популяция комаров.

A.M.Porshakov, S.A.Yakovlev, K.S.Zakharov, A.N.Matrosov, T.V.Knyazeva, A.A.Kuznetsov, V.N.Chekashov, M.M.Shilov, S.I.Tolokonnikova, E.V.Kazorina, T.Yu.Krasovskaya, E.V.Naidenova, I.N.Sharova, S.A.Shcherbakova, N.V.Popov

## Role of Mosquitoes, *Culex pipiens* Complex, in West Nile Fever Virus Persistence in Urbanized Biocoenoses of Saratov

Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation

Epidemiological investigations were performed in autumn, 2013 in the closed biotopes in the areas of epidemiological WNF manifestations, situated in the territory of Saratov. Estimated were the numbers of *Culex pipiens* imagoes and wigglers. Registered are the high vector abundance rates: in the basements – 10–800 specimens per 1 m<sup>2</sup>, and in the entrance halls and staircases of apartment buildings – 1–30 specimens per 1 m<sup>2</sup>. The numbers of wigglers in the waterlogged basements is 600–3800 specimens per 1 m<sup>2</sup>. In wiggler samples as well as in imago ones detected are WNF virus markers, which indicate the possibility of transovarial and trans-phase transmission of virus into mosquito populations, habitant in urbanized biocoenoses. It is substantiated that *Culex pipiens* female mosquitoes, which reproduce autogenically, provide for the persistence of the virus within the inter-epidemic period. Therewith there is a possibility of sustained, epidemically-active WNF micro-foci to be formed in the residential area landscapes, and this issue should be given proper consideration when performing assessment of the risks associated with urban population exposure to the infection.

**Key words:** West Nile fever, transovarial transmission, trans-phase transmission, urbanized biocoenoses, mosquito population.

В настоящее время для многих стран мира актуальной является проблема расширения нозоареала лихорадки Западного Нила (ЛЗН). На территории России заболевания ЛЗН впервые были зарегистрированы в Астраханской области в 1967 г. Эпидемические проявления вспышечного характера стали отмечаться с 1997 г. [3, 6]. На территории Саратовской области циркуляция вируса Западного Нила (ВЗН) в природных биотопах установлена в 90-х гг. прошлого века. Маркеры вируса обнаруживали при исследовании водоплавающих птиц и птиц антропогенного комплекса (большого баклана, серой цапли, сизой чайки, речной крачки, серой вороны, обыкновенного скворца, полевого воробья), а также кровососущих членистоногих (комаров *Anopheles maculipennis* и *Ochlerotatus cataphylla*, иксодовых клещей *Rhipicephalus rossicus*, *Rh. schulzei*, *Dermacentor marginatus* и *D. reticulatus*). Антиген и РНК вируса выявлены также в пробах грызунов: домового и малой лесной мышей, обыкновенной, общественной и рыжей полевки [2, 5, 10].

Кровососущие комары играют ключевую роль в трансмиссивной передаче и сохранении ВЗН [4, 8, 11, 12]. В природных ландшафтах основными биотопами для развития преимагинальных фаз и выплота комаров являются прибрежные участки различных водоемов. На территории населенных пунктов эти кровососущие насекомые обитают и размножаются в сырых подвалах, погребах, во временных водоемах лесопарковых зон, емкостях для хранения воды, глубоких лужах. В природных биотопах высокая численность комаров отмечается только в теплый период года, чего нельзя сказать о влажных или затопленных подвальных помещениях в строениях различного назначения.

В последние десятилетия при изучении популяций кровососущих комаров урбанизированных территорий особое внимание уделяется *Culex pipiens*, которые могут иметь большое эпидемиологическое значение. Подвальные комары этого вида проявляют высокую агрессивность по отношению к человеку [1]. Так, заболеваемость ЛЗН в Волгоградской и Астраханской областях была обусловлена нападением

инфицированных подвальных комаров *Cx. pipiens* [3, 4, 9]. В настоящее время именно они рассматриваются как основные переносчики и хранители ВЗН в условиях города. Выяснение возможности сохранения вируса в популяциях подвальных комаров в межэпидемический зимний период в городских условиях имеет большое теоретическое и практическое значение.

Целью исследования было наблюдение за развитием и численностью личинок и имаго комаров, обитающих в затопляемых подвалах жилых домов, а также установление их инфицированности вирусом Западного Нила.

### Материалы и методы

Материал собирали в подвалах и подъездах многоэтажных домов на территории Заводского района Саратова, что диктовалось выявлением больных ЛЗН в этой части города. При проведении эпидемиологических расследований выяснилось, что часть случаев заражения связана с местами постоянного проживания людей в домах, где имеются затопленные подвалы, или в непосредственной близости от них. Объектами сбора являлись личинки и имаго подвальных комаров. Комаров со стен и потолка собирали с помощью пластиковых эксгаустеров [7], а также использовали автомобильный пылесос. Для предотвращения травмирования комаров, что происходит при попадании их внутрь пылесоса, была разработана специальная насадка. При сборе комары остаются в насадке целыми и пригодными для определения и исследования. Сбор личинок осуществляли сачком.

Для изучения вылета выплывающих комаров в затопленном подвале был установлен стационарный имагоуловитель – ловушка для отлова вылетающих амфибиотических насекомых (рисунок). Ловушка сконструирована так, что выплывшие из куколок комары остаются внутри имагоуловителя и не имеют возможности разлета и питания. Нижняя часть ловушки состоит из двух горизонтальных рамок, а ее боковые стенки выполнены из плотной ткани, препятствующей двухсторонней миграции личинок. Верхняя часть имагоуловителя сшита из синтетической (москитной) сетки в виде цилиндра, верхнее отверстие которого перевязано шнуром для последующего изъятия накопившихся комаров. Шнур служит также для подвешивания ловушки, что придает ей нужную форму и объем. Данная конструкция препятствует не только разлету выплывших комаров, но и попаданию в ловушку насекомых извне. Нижнюю рамку прижимали ко дну затопленной части подвала, изолируя боковыми стенками водную поверхность площадью 0,5 кв.м. Выплывших комаров, сидящих на внутренних стенках имагоуловителя, собирали с помощью эксгаустера или пылесоса.

При оценке численности комаров и личинок использовали общепринятый метод учета на единицу площади (1 кв.м). Для формирования проб на вирусологическое исследование насекомых иммобилизовали табачным дымом. В одну пробу в среднем помещали 50 особей комаров или личинок. Материал

был исследован методами иммуноферментного анализа (ИФА) и полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием следующих диагностических препаратов: «Набор реагентов для выявления антигенов вируса Западного Нила» (ЗАО «Биосервис», Боровск, Калужская обл.), «АмплиСенс WNV-F1» (ООО «ИнтерЛабСервис», Москва).

При обследовании территории Саратова с сентября по ноябрь 2013 г. было собрано 11767 экз. имаго и 6800 личинок комаров *Cx. pipiens*.

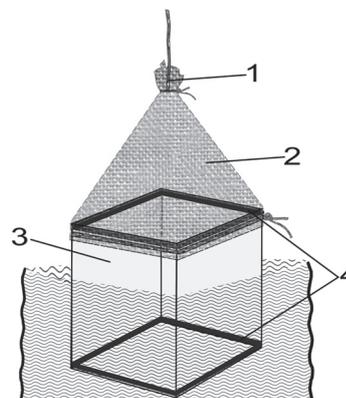
### Результаты и обсуждение

В Саратове выявляется большое число объектов с затопленными подвальными помещениями: жилые дома, производственные здания. В подвалах располагаются трубопроводы с горячей и холодной водой, отопительные и канализационные трубы. Часто наблюдаются прорывы канализационных стоков, часть подвалов подтопляется грунтовыми водами. Поэтому в них могут создаваться условия для круглогодичного обитания и размножения комаров.

При проведении исследований основное внимание было обращено на затопленные теплые подвалы многоэтажных домов. В этих объектах *Cx. pipiens* обитают и размножаются круглый год. В обследованных подвалах с уровнем воды от 5 до 60 см плотность личинок по данным учетов составила от 600 до 3800 экз./кв.м. Численность комаров на стенах и потолке подвалов варьировала от 10 до 800 экз./кв.м. На стенах в разных подъездах таких домов встречалось от нескольких единиц до трех десятков экземпляров комаров на 1 кв.м.

За период работы для лабораторного исследования собрано 6800 экз. личинок, объединенных в 136 проб. Из этого количества в 5 пробах (3,7 %) были выявлены антигены ВЗН. Полученные положительные результаты доказывают существование трансвариального пути передачи вируса внутри популяции подвальных комаров в Саратове.

В одном из затопленных подвалов, где в сентябре при исследовании личинок были обнаружены маркеры ВЗН, в ноябре в отсеке с наибольшей плотностью личинок на 1 кв.м был установлен стационарный имагоуловитель. Выемку выплывших в



Стационарный имагоуловитель:

1 – шнур; 2 – конус из москитной сетки; 3 – стенки из плотной ткани; 4 – рамки

имагоуловителе комаров проводили один раз в неделю. Продолжительность наблюдения составила 21 день, было сделано 3 выборки, собрано 2450 экз. комаров *Cx. pipiens*. Первая выборка была проведена на 5-й день после установки ловушки. Наиболее массовый выплод комаров (51 %) отмечался на 14-й день. Большое количество личинок и постоянно происходящий выплод имаго свидетельствуют об оптимальных условиях закрытого биотопа для развития всех стадий комаров. Среди комаров, выбранных на 21-й день (950 экз.), было обнаружено 12 самок, отложивших первую порцию яиц без кровососания (автогенеза). Для исследования из вышедших имаго было сформировано 49 проб по 50 комаров в каждой. Антигены ВЗН были выявлены в 4 пробах (8,2 %). Полученные результаты свидетельствуют о наличии трансфазового механизма передачи вируса.

В подвалах и подъездах многоэтажных домов со стен и потолков было собрано 9317 экз. комаров. Для исследования было сформировано 186 проб, из них антигены ВЗН выявлены в 3 пробах (1,6 %).

При исследовании полученного материала методом ПЦР-анализа РНК ВЗН не обнаружена.

Таким образом, в результате обследования урбанизированных биоценозов Саратова установили, что в затопленных теплых подвалах многоэтажных домов складываются оптимальные микроклиматические условия для круглогодичного развития комаров. В таких условиях возможно формирование стойких микроочагов ЛЗН. В процессе проведенных исследований была выявлена трансвариальная и трансфазовая передача ВЗН в популяции комаров *Cx. pipiens*. Автогенно размножающиеся самки подвальных комаров этого вида могут обеспечивать сохранение вируса в межэпидемический период в урбанизированных биоценозах. Полученные данные служат обоснованием для проведения работ по осушению подвалов и круглогодичных дезинсекционных обработок.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Виноградова Е.Б. Городские комары, или «Дети подземелья». М.—СПб.: 2004. 96 с.
2. Красовская Т.Ю., Щербакова С.А., Шарова И.Н., Найденова Е.В., Билько Е.А., Чекашов В.Н., Матросов А.Н., Яковлев С.А., Поршаков А.М., Шилов М.М., Рябова А.В., Князева Т.В., Мокроусова Т.В., Федорова З.П., Кресова У.А., Талаева Е.А., Миронова Н.И., Кутырев В.В. Изучение циркуляции вируса Западного Нила на территории Саратовской области в 2010 г. *Пробл. особо опасных инф.* 2011; 3(109):13–7.
3. Львов Д.Н., Писарев В.Б., Петров В.А., Григорьева Н.В. Лихорадка Западного Нила (по материалам вспышек в Волгоградской области в 1999–2002 гг.). Волгоград; 2004. 104 с.
4. Львов Д.Н., Щелканов М.Ю., Джаркенов А.Ф., Галкина И.В., Колобухина Л.В., Аристова В.А., Альховский С.В., Прилипов А.Г., Самохвалов Е.И., Дерябин П.Г., Воронина А.Г., Васильев А.В., Безжонова О.В., Львов Д.К. Популяционные взаимодействия вируса Западного Нила (*Flaviviridae, Flavivirus*) с членистоногими переносчиками, позвоночными животными, людьми в среднем и нижнем поясах дельты Волги, 2001–2006 гг. *Вопр. вирусол.* 2009; 2:36–43.
5. Матросов А.Н., Чекашов В.Н., Поршаков А.М., Яковлев С.А., Шилов М.М., Кузнецов А.А., Захаров К.С., Князева Т.В., Мокроусова Т.В., Толконникова С.И., Удовиков А.И., Красовская Т.Ю., Шарова И.Н., Кресова У.А., Кедрова О.В., Попов Н.В., Щербакова С.А., Кутырев В.В. Условия циркуляции вируса и предпосылки формирования природных очагов лихорадки Западного Нила в Саратовской области. *Пробл. особо опасных инф.* 2013; 3:17–22.
6. Онищенко Г.Г., Липницкий А.В., Алексеев В.В. Эпидемиологическая ситуация по лихорадке Западного Нила. *Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол.* 2011; 3:115–20.

7. Поршаков А.М., Удовиков А.И., Чекашов В.Н., Шилов М.М., Толконникова С.И. Ловушка для комаров. Патент на полезную модель РФ №132316 (A01M1/10), опубл. 29.09.2013. Бюл. 26.

8. Русев И.Т., Закусило В.Н., Винник В.Д. Эколого-фаунистические предпосылки циркуляции арбовирусов в Северо-Западном Причерноморье. *Вісник Дніпропетровського університету.* 2011; 2(2):95–109.

9. Федорова М.В., Лопатина Ю.В., Безжонова О.В., Платонов А.Е. Комплекс кровососущих комаров (*Diptera, Culicidae*) в очаге лихорадки Западного Нила в Волгоградской области. I. Видовой состав, сезонный ход численности, распределение по биотопам. *Мед. паразитол. и паразитарн. бол.* 2007; 1:41–6.

10. Щербакова С.А., Билько Е.А., Найденова Е.В., Красовская Т.Ю., Слудский А.А., Князева Т.В., Матросов А.Н., Чекашов В.Н., Шарова И.Н., Самойлова Л.В., Кутырев В.В. Выявление антигенов арбовирусов в комарах и клещах, обитающих на территории Саратовской области. *Мед паразитол. и паразитарн. бол.* 2009; 2:38–41.

11. Hubalek Z., Rudolf I., Bakonyi T. Mosquito (*Diptera: Culicidae*) surveillance for arboviruses in an area endemic for West Nile (Lineage Rabensburg) and Tahyna viruses in Central Europe. *J. Med. Entomol.* 2010; 47:466–72.

12. Rizzo C., Vescio F., Declich S. West Nile virus transmission with human cases in Italy, August–September 2009. *Euro Surveill.* 2009; 14(40):193.

#### References

1. Vinogradova E.B. [Mosquitoes Habitant in the Urban Areas, or the “Sons of the Underworld”]. M.—St. Petersburg; 2004. 96 p.
2. Krasovskaya T.Yu., Shcherbakova S.A., Sharova I.N., Naidenova E.V., Bil'ko E.A., Chekashov V.N., Matrosov A.N., Yakovlev S.A., Porshakov A.M., Shilov M.M., Ryabova A.V., Knyazeva T.V., Mokrousova T.V., Fedorova Z.P., Kresova U.A., Talaeva E.A., Mironova N.I., Kutyrev V.V. [Studies of West Nile virus circulation in the territory of the Saratov Region in 2010]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2011; 3(109):13–7.
3. L'vov D.N., Pisarev V.B., Petrov V.A., Grigor'eva N.V. [West Nile Fever (Based on the reports on the outbreaks in Volgograd Region in 1999–2002)]. Volgograd; 2004. 104 p.
4. L'vov D.N., Shchelkanov M.Yu., Dzharkenov A.F., Galkina I.V., Kolobukhina L.V., Aristova V.A., Al'khovskiy S.V., Prilipov A.G., Samokhvalov E.I., Deryabin P.G., Voronina A.G., Vasil'ev A.V., Bezzhonova O.V., L'vov D.K. [Population interactions of the West Nile fever virus (*Flaviviridae, Flavivirus*) with arthropod vectors, vertebrate animals, and humans in the territory of the central and lower Volga river estuary, 2001–2006]. *Vopr. Virusol.* 2009; 2:36–43.
5. Matrosov A.N., Chekashov V.N., Porshakov A.M., Yakovlev S.A., Shilov M.M., Kuznetsov A.A., Zakharov K.S., Knyazeva T.V., Mokrousova T.V., Tolokonnikova S.I., Udobikov A.I., Krasovskaya T.Yu., Sharova I.N., Kresova U.A., Kedrova O.V., Popov N.V., Shcherbakova S.A., Kutyrev V.V. [Conditions for virus circulation and premises for natural West Nile fever foci formation in the territory of the Saratov Region]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2013; 3:17–22.
6. Onishchenko G.G., Lipnitsky A.V., Alekseev V.V. [Epidemiological situation on West Nile fever]. *Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol.* 2011; 3:115–20.
7. Porshakov A.M., Udobikov A.I., Chekashov V.N., Shilov M.M., Tolokonnikova S.I. [Mosquito-trap]. RF Utility Model Patent 132316 (A01M1/10). Dated: 29.09.2013.
8. Rusev I.T., Zakusilo V.N., Vinnik V.D. [Ecological-faunal premises for arbovirus circulation in the North-West Black Sea Region]. *Visnik Dnipropetrovskogo Universitetu.* 2011; 2(2):95–109.
9. Fedorova M.V., Lopatina Yu.V., Bezzhonova O.V., Platonov A.E. [Complex of bloodsucking mosquitoes (*Diptera, Culicidae*) in the WNF foci in Volgograd Region. I. Species composition, seasonal fluctuations of abundance rates, dissemination in biotopes]. *Med. Parazitol. Parazitarn. Bol.* 2007; 1:41–6.
10. Shcherbakova S.A., Bil'ko E.A., Naidenova E.V., Krasovskaya T.Yu., Sludskiy A.A., Knyazeva T.V., Matrosov A.N., Chekashov V.N., Sharova I.N., Samoilova L.V., Kutyrev V.V. [Identification of Arboviral antigens in mosquitoes and ticks habitant in the territory of the Saratov region]. *Med. Parazitol. Parazitarn. Bol.* 2009; 2:38–41.
11. Hubalek Z., Rudolf I., Bakonyi T. Mosquito (*Diptera: Culicidae*) surveillance for arboviruses in an area endemic for West Nile (Lineage Rabensburg) and Tahyna viruses in Central Europe. *J. Med. Entomol.* 2010; 47:466–72.
12. Rizzo C., Vescio F., Declich S. West Nile virus transmission with human cases in Italy, August–September 2009. *Euro Surveill.* 2009; 14(40):193.

#### Authors:

Porshakov A.M., Yakovlev S.A., Zakharov K.S., Matrosov A.N., Knyazeva T.V., Kuznetsov A.A., Chekashov V.N., Shilov M.M., Tolokonnikova S.I., Kazorina E.V., Krasovskaya T.Yu., Naidenova E.V., Sharova I.N., Shcherbakova S.A., Popov N.V. Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”. 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrap@microbe.ru

#### Об авторах:

Поршаков А.М., Яковлев С.А., Захаров К.С., Матросов А.Н., Князева Т.В., Кузнецов А.А., Чекашов В.Н., Шилов М.М., Толконникова С.И., Казорина Е.В., Красовская Т.Ю., Найденова Е.В., Шарова И.Н., Щербакова С.А., Попов Н.В. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrap@microbe.ru