

Федеральное бюджетное учреждение науки
«Омский научно-исследовательский институт природно-очаговых инфекций»
Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека

ДИРОФИЛЯРИОЗ — АКТУАЛЬНАЯ ПРОБЛЕМА ПАРАЗИТАРНОЙ ПАТОЛОГИИ В ОМСКОЙ ОБЛАСТИ

Информационное письмо



ООО «Издательский центр «Омский научный вестник»»
Омск 2020

УДК 619:616.995.1 (571.13)

ББК 55.177.6

Д44

Рекомендовано к изданию решением ученого совета ФБУН «Омский НИИ природно-очаговых инфекций» Роспотребнадзора (протокол № 5 от 26.06.2018 г.)

Д44 Дирофиляриоз — актуальная проблема паразитарной патологии в Омской области : информационное письмо [Текст] / О.Ю. Старостина, С.М. Костюченко, Н.А. Пенъевская, В.В. Якименко, А.Н. Коломеец, А.Х. Нурпейсова, А.Н. Летюшев, А.А. Никитин, Н.Ю. Григорова, Е.В. Дондукова, К.С. Бондарчук; ФБУН «Омский НИИ природно-очаговых инфекций» Роспотребнадзора. — Омск : ООО Издательский центр «Омский научный вестник», 2020. — 12 с.

ISBN 978-5-91306-104-1

Представлены данные, свидетельствующие об очагах дирофиляриоза на территории г. Омска. Зараженность обследованных домашних собак составила $3,2 \pm 0,8$ %. ДНК дирофилярий обнаружена в комарах, отловленных в различных районах города. Расчетная индивидуальная зараженность переносчиков в отдельных точках достигала 11 %. Методами ПЦР и секвенирования в окончательных хозяевах (собаках) и промежуточных хозяевах-переносчиках (комарах) выявлено два вида дирофилярий: *D. repens* и *D. immitis*. Учитывая нарастающий риск заражения населения Омской области дирофиляриями, необходимо продолжение исследований, направленных на изучение структуры очагов дирофиляриоза с целью разработки эффективных профилактических мероприятий.

Документ предназначен для специалистов учреждений государственной санитарно-эпидемиологической службы, ветеринарного надзора, врачей различных специальностей, а также врачей ветеринарной службы

УДК 619:616.995.1 (571.13)

ББК 55.177.6

ISBN 978-5-91306-104-1

© ФБУН «Омский НИИ природно-очаговых инфекций» Роспотребнадзора, 2020

© Коллектив авторов, 2020

Содержание

Введение.....	4
1. Случаи дирофиляриоза в г. Омске и Омской области.....	4
2. Предпосылки к возможному росту заболеваемости дирофиляриозом.....	5
3. Результаты изучения циркуляции возбудителей дирофиляриоза на территории г. Омска	5
4. Оценка риска заражения дирофиляриями в г.Омске	8
Рекомендации	9
Список литературы.....	10

Введение

Дирофиляриоз — зоонозный гельминтоз с трансмиссивным механизмом передачи. Окончательными хозяевами дирофилярий служат млекопитающие многих отрядов (преимущественно псовые), промежуточными хозяевами и переносчиками — комары родов *Aedes*, *Anopheles*, *Culex* и др. В мире описано более 20 видов дирофилярий, распространенных в различных географических регионах, однако, эпидемиологическое значение имеет преимущественно *Dirofilaria repens* и *Dirofilaria immitis*. В Европе и России подавляющее число случаев заражения дирофиляриозом человека связаны с *D. repens*. Нематоды этого вида локализуются в органе зрения, периорбитальном пространстве, коже, подкожной клетчатке. *D. immitis*, паразитирует в полостях сердца, сосудах легких.

Случаи дирофиляриоза, вызванного *D. immitis*, часто встречаются у населения Северной и Южной Америки, Японии, и редко — в Европе и других странах. В РФ в последние несколько лет ежегодно регистрируется 85–169 случаев заболевания людей дирофиляриозом, подавляющее большинство которых городские жители. В Омской области ежегодно выявляется от 2 до 5 случаев дирофиляриоза.

1. Случаи дирофиляриоза в г. Омске и Омской области

На территории Омской области первый случай дирофиляриоза был зарегистрирован в 1999 г., причем у ребенка 10 лет, не выезжавшего за пределы области. Гельминт удален из опухолевидного образования на левом плече. Если в первые годы наблюдения регистрировались единичные случаи (с 1999 по 2006 г. выявлено 4 случая дирофиляриоза), то за период 2013 г. - февраль 2017 г. зарегистрировано 16 случаев. Возраст инвазированных лиц - от 21 года до 85 лет, при этом более 62 % случаев приходится на лиц, старше 50 лет (10 человек).

У 11 человек заражение расценено как местное, пациенты не выезжали за пределы Омской области, при этом 8 человек — городские жители. Трое из них — владельцы дачных участков, один проживает в частном секторе. Сельские пациенты были жителями Любинского, Таврического и Черлакского районов Омской области. Среди зараженных дирофиляриями преобладали женщины — 8 человек. Паразит локализовался преимущественно в органе зрения (7 чел.), в четырех случаях — под кожей на различных участках тела (передняя поверхность грудной клетки, левая рука, голова). Удаленные нематоды были идентифицированы как *D. repens*, самки (незрелые) и самцы выявлялись с одинаковой частотой.

Прогрессивный рост числа местных случаев дирофиляриоза, в том числе среди городского населения, свидетельствует о вероятной циркуляции возбудителя дирофиляриоза на территории г. Омска.

В 2009 г. Дарченковой Н.Н. с соавт. [1] была предложена дифференциация регионов РФ по риску заражения дирофиляриями, согласно которой Омская область относится к территориям низкого риска передачи инвазии. Однако в настоящее время появились предпосылки к возможному изменению эпидемиологической ситуации по данному гельминтозу.

2. Предпосылки к возможному росту заболеваемости дирофиляриозом

В последнее десятилетие стали появляться сообщения о росте зараженности дирофиляриями как животных, так и людей в умеренных климатических регионах, где ранее регистрировались единичные случаи дирофиляриоза. Развитию ситуации способствуют глобальные изменения климата, миграционные процессы, в том числе рост пассивной миграции животных (ввоз, вывоз, участие в выставках), большое число бродячих собак и кошек, рост численности комаров вследствие недостаточности мероприятий по борьбе с переносчиками. Повышение температур воздуха и почвы ведет к увеличению периода активности комаров, ускорению развития личинок у комаров, а значит, к росту числа оборотов инвазии [2].

По данным Гидрометцентра ФГБУ «Обь-Иртышское УГМС» [omsk-meteo.ru], в г. Омске прослеживается тенденция к потеплению. Отмечается рост средней годовой температуры до $+1,89^{\circ}\text{C}$ в период 2001–2010 гг. в сравнении с периодом 1901–1910 гг., когда этот показатель составлял $+0,14^{\circ}\text{C}$.

На территории г. Омска и Омской области в настоящее время существуют условия для формирования очагов (антропургических и природных) дирофиляриоза: наличие окончательных хозяев (собаки, кошки и т. д.), наличие потенциальных промежуточных хозяев и переносчиков (комары 41 вида, относящиеся к 7 родам), благоприятные природно-климатические условия.

3. Результаты изучения циркуляции возбудителей дирофиляриоза на территории г. Омска

За период с июня 2016 по май 2018 г. обследовано 476 домашних собак из административных районов города. Кровь собак забирали в пробирки с ЭДТА. Для выявления микрофилярий применяли метод цен-

трифугирования с дистиллированной водой [3]. ДНК дирофилярий в крови собак выявляли методом ПЦР с видоспецифическими праймерами. ДНК выделяли с использованием наборов реагентов «ДНК-сорб-В» (Амплипрайм, ООО «НекстБио»), согласно инструкции. В информационной базе Genbank были выбраны специфичные для *Dirofilaria repens* праймеры, амплифицирующие участок митохондриального гена цитохромоксидазы I : DiRF- ctc-ctg-aga-tgg--ggt--ttc-c и DiRR- cca-aac-aaa-cga-tcc-tta-tc, длина фрагмента 538 bp. Для скрининга ДНК *Dirofilaria immitis* использовали праймеры Dim-F и Dim-R, направленные на участок 16SrRNA и амплифицирующие фрагмент, размером 440 bp [4]. Режимы амплификации: начальная денатурация при 94 °C — 5 мин, затем 35 циклов, включающие 94 °C — 30 сек, 55 °C — 40 сек, 72 °C, элонгация при 72 °C — 10 мин. Продукты амплификации визуализировали в 2 % агарозном геле с 0,01 % бромистого этидия. Определение последовательностей полученных ампликонов проводили прямым секвенированием на генетическом анализаторе AB 3500xL (LifeTechnologies, США). Анализ полученных электрофореграмм и ассемблирование последовательностей осуществляли с использованием «DNA Dragon» (Sequenti X, Германия). Уровень гомологии последовательностей определяли с использованием GenBank.

При обследовании домашних собак микрофилярии (личинки дирофилярий, *рис. 1*) выявлены в крови у 15 (3,2 %) животных, из них 8 собак по утверждениям владельцев не вывозились за пределы Омской области. Возраст инвазированных животных колебался от 2 до 12 лет. У молодых животных в возрасте до 1 года результаты исследований были отрицательные. Получены одинаковые показатели инвазированности собак младшей (1–3 года) и старшей (10 лет и старше) возрастных групп — 4,7 %. В группе от 4 до 9 лет доля больных дирофиляриозом животных несколько выше — 5,3 %. Хотя выраженной зависимости экстенсивных показателей инвазированности от возраста животных не установлено, наибольшее количество зараженных собак — 47,4 % от общего числа инвазированных было зарегистрировано в возрастном диапазоне от 4 до 9 лет, а средний возраст заболевших собак составил $6,1 \pm 1,2$ года (у самцов) и $6,5 \pm 1,6$ лет (у самок). Среди инвазированных животных преобладали кобели — 68,2 %.

В четырех случаях собак содержали в вольерах в теплое время года (две — в городе, две — в Омском и Любинском районах области), одна собака была взята из приюта за месяц до обследования, еще в трех случаях собак содержали в благоустроенных квартирах и выгуливали на поводке, а также вывозили на дачные участки или в рекреационную зону области.



Рис. 1. Микрофилярии диروفиларий в крови собаки, увеличение 15x10, (препарат окрашен по Романовскому-Гимза)

Микрофилярии в крови животных обнаруживали в течение всего года. В пробах крови собак с паразитологическим подтверждением диروفилариоза, была выявлена ДНК *D. repens*. В образцах крови собак с отрицательным результатом паразитологического исследования ПЦР также была отрицательной. При сравнении нуклеотидных последовательностей фрагментов ДНК диروفиларий из пяти проб крови, была получена 99,0–99,8 %-ная идентичность с последовательностями *D. repens*, депонированными в GenBank.

Комаров собирали в июне-августе 2016 г. в нескольких точках в черте города: в местах выгула собак вблизи водоемов, на территории частного домовладения, на территориях двух садоводческих товариществ и рекреационной зоны, расположенной в 15 км от города [5]. Самок комаров отлавливали с помощью эксгаустера или на себе в утренние и вечерние часы. Всего было собрано 673 комара, из которых сформировали 60 пулов по 5–10 особей в пуле, 83 комара исследовали индивидуально. Также были исследованы комары из сборов 2010 г. (территории детских оздоровительных лагерей Омской области и частных домовладений в г. Омске, всего 293 экз., из них 76 исследованы индивидуально). Кроме того, в сезон 2017 г. был проведен отлов самок комаров в Знаменском и Большеуковском районах Омской области, всего 2475 особей, из которых сформировали 497 проб.

Зараженность переносчиков диروفилариями исследовали в ПЦР с видоспецифическими праймерами. Индивидуальную зараженность комаров при определении ее в пулах, проводили с использованием таблиц, предложенных Тагильцевым А.А. с соавт. (1990) и рассчитанных исходя из распределений редких событий по Пуассону [6].

ДНК *D. repens* выявлена в комарах, собранных в четырех из пяти обследованных точек города. Максимальное число зараженных *D. repens* пулов комаров (12 из 18) наблюдалось в партиях переносчиков, собранных в Кировском административном округе на территории частных домовладений, с большим числом собак и расположенной вблизи водоема. В этих сборах содержались комары только рода *Anopheles*. Параллельно исследовали комаров рода *Anopheles*, собранных на этой же территории в 2010 г. В одном из двух пулов были выявлены последовательности ДНК, характерные для *D. repens*.

ДНК дирофилярий выявлена также в двух из 14 партий комаров, собранных в 2016 г. в парке отдыха Советского АО, а также в двух из 19 пулов комаров, собранных на левом берегу в пойме р. Иртыш возле жилого массива (в сборах преобладали комары *Ochlerotatus / Aedes*). Индивидуальная расчетная зараженность переносчиков составила соответственно 1,5 %; 1,1%.

При исследовании с видоспецифическими праймерами комаров из сборов 2010 г. с территории лесопарковой зоны отдыха Октябрьского округа, ДНК *D. repens* была обнаружена в двух пулах из 31 исследованных. Индивидуальная зараженность комаров из пригородной зоны (поселок, расположенный на р. Иртыш в 20 км от города) по результатам ПЦР, составила 2,5%. В положительных пробах выявлена ДНК *D. repens*. В пробах комаров рода *Ochlerotatus / Aedes*, отловленных в 2010 г. на территории детских оздоровительных лагерей в Омской области, ДНК дирофилярий не выявлена. Однако отрицательные результаты могут быть связаны с недостаточным числом исследованных переносчиков (41 экз.). Секвенирование проб, положительных с праймерами к *D. repens*, подтвердило видовую принадлежность возбудителя. Кроме того, генетические маркеры *D. repens* выявлены в 1,8 % пулов комаров (*Ochlerotatus* гр. *communis*), отловленных в сезон 2017 г. в Знаменском районе Омской области.

4. Оценка риска заражения дирофиляриями в г. Омске

Риск заражения дирофиляриями зависит от числа оборотов инвазии. Развитие личинок дирофилярий в комарах происходит при температуре выше +14 °С. Длительность развития в организме промежуточного хозяина одного поколения инвазионных личинок (оборот инвазии в переносчике) определяется пороговой температурой (+14 °С) и суммой тепла 130 градусо-суток. Расчет числа оборотов инвазии за один сезон проводили по формуле, предложенной Ганушкиной Л.А с соавт. [7]:

$$\sum_{NI, 2,t} [T^{\circ}C \text{ ср. фактическая} - T^{\circ}C \text{ пороговая} (1^{\circ}C)] = 130^{\circ}C.$$

Для оценки потенциала очагов дирофиляриоза на территории г. Омска мы рассчитали число оборотов инвазии в летние периоды 2016–2017 гг. (табл. 1). Как видно из таблицы, за сезон происходило 3 оборота инвазии, что необходимо учитывать при оценке потенциала очагов. Продолжительность оборота колебалась от 24 до 54 дней в зависимости от температуры окружающей среды.

Таблица 1

**Обороты развития личинок дирофилярий до инвазионной стадии
в комарах в сезоны 2016–2017 годов (г. Омск)**

Обороты инвазии в переносчике		2016 г.	2017 г.
Первый оборот инвазионных личинок дирофилярий в комарах	период цикла	18.05.16–22.06.16	26.04.17–18.06.17
	длительность цикла	36 дней	54 дня
	сумма эффективных температур	133,6 градусо/суток	142,7 градусо/суток
Второй оборот инвазионных личинок дирофилярий в комарах	период цикла	23.06.16–16.07.16	19.06.17–12.07.17
	длительность цикла	24 дня	24 дня
	сумма эффективных температур	133,1 градусо/суток	130,1 градусо/суток
Третий оборот инвазионных личинок дирофилярий в комарах	период цикла	17.07.16–13.08.16	13.07.17–09.08.17
	длительность цикла	28 дней	28 дней
	сумма эффективных температур	131,2 градусо/суток	131,5 градусо/суток

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют, что в г. Омске сформированы и функционируют очаги дирофиляриоза. Сельские районы Омской области являются территорией вероятного риска заражения дирофиляриями. ДНК *D. repens* выявлена в комарах лесной зоны на севере области.

Рекомендации

1. Продолжить ежегодный отлов комаров как на территории г. Омска, так и всей Омской области с целью изучения их зараженности дирофиляриями, видового состава переносчиков, их векторной эффективности, а также генетической variability возбудителя дирофиляриоза.

2. С целью оценки динамики потенциала очагов дирофиляриоза ежегодно проводить расчеты числа оборотов инвазии в летние периоды.

3. Главному управлению ветеринарии Омской области организовать лабораторную диагностику и регистрацию случаев дирофиляриоза у собак в г. Омске и Омской области.

Список литературы

1. Дарченкова Н.Н., Супряга В.Г., Гузеева М.В., Морозов Е.Н., Жукова Л.А., Сергиев В.П. Распространение дирофиляриоза человека в России // Мед. паразитол. 2009; 2: 3–7.
2. Simon F, Siles-Lucas M, Morchon R, Gonzalez-Miguel J, Mellado I, Carreton E. Human and animal dirofilariasis: the emergence of a zoonotic mosaic. *Clin Microbiol Rev.* 2012; 25(3): 507–44.
3. Ястреб В.Б., Архипов И.А. Рекомендации по диагностике, лечению и профилактике дирофиляриоза собак в Московском регионе // Российский паразитологический журнал. 2008; 4: 109–114.
4. Hyun-Wook Oh, Hyung-Kyou, Myung-Jo You, Mineo Hayasaki, Kun-Ho Song. Ectopic migration of an adult heartworm in a dog with dirofilariasis. // *Korean J. Parasitol.* 2008; 46: 171–173.
5. Старостина О.Ю., Летюшев А.Н., Костюченко С.М., Григорова Н.Ю., Колмеец А.Н., Якименко В.В, Дондукова Е.В., Бондарчук К.С. Дирофиляриоз в городе Омске // Мед. паразитол. и паразитарные б-ни. 2018; 1: 25–28.
6. Тагильцев А.А., Тарасевич Л.Н., Богданов И.И., Якименко В.В. Изучение членистоногих убежищного комплекса в природных очагах трансмиссивных вирусных инфекций. Томск : Изд-во Томского университета, 1990. 105 с.
7. 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: 9–12.

Информационное издание

ДИРОФИЛЯРИОЗ - АКТУАЛЬНАЯ ПРОБЛЕМА
ПАРАЗИТАРНОЙ ПАТОЛОГИИ В ОМСКОЙ ОБЛАСТИ

Ольга Юрьевна Старостина
Сергей Михайлович Костюченко
Наталья Александровна Пеньевская
Светлана Анатольевна Рудакова
Анна Николаевна Коломеец
Алия Хаиргельдыновна Нурпейсова
Александр Николаевич Летюшев
Александр Александрович Никитин
Наталья Юрьевна Григорова
Екатерина Викторовна Дондукова
Кристина Сергеевна Бондарчук

Печатается в авторской редакции

Подписано к печати 24.12.2020. Формат 60x84/16.
Бумага офсетная. Гарнитура Times New Roman. Печать оперативная.
Усл.-печ. л.0,70. Уч.-изд. л.0,74. Тираж 300. Заказ № 595
Издательский центр «Омский научный вестник»
Тел.: 8-905-921-98-22. E-mail: evga-18@mail.ru

Отпечатано в РПФ «СМУКАРТ», ИП Гусев С.В.
Г. Омск, пр. Мира,7, тел.: 65-16-27
Тел. 8-904-323-38-43